



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.04.16

(51) Int. Cl. *C07D 487/04* (2006.01)
A61K 31/5517 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2018.07.05

(54) СШИТОЕ ПРОИЗВОДНОЕ ДИМЕРА ПИРРОЛОБЕНЗОДИАЗЕПИНА (PBD) И ЕГО
КОНЬЮГАТЫ

(86) PCT/CN2018/094586

(87) WO 2020/006722 2020.01.09

(71) Заявитель:
ХАНЧЖОУ ДЭК БИОТЕК КО., ЛТД
(CN)

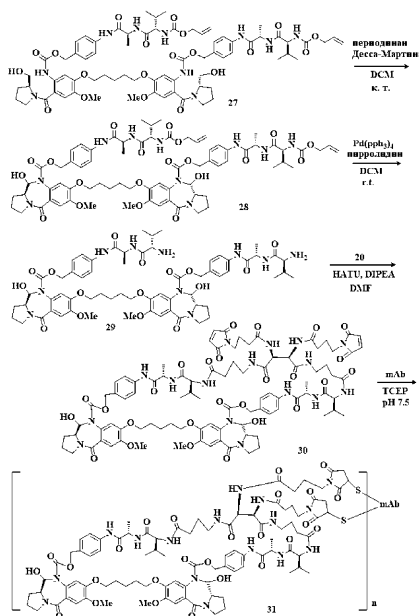
(72) Изобретатель:

Чжао Роберт Юнсинь, Чжо Сяотао,
Ян Цинлянь, Чжао Линьяо, Хуан
Юаньюань, Е Ханбо, Ян Ченюй, Лэй
Цзюнь, Гай Шунь, Го Хуэйхуэй, Цзя
Цзюньсян, Бай Лу, Се Хуншэн, Чжоу
Сяомай, Го Чжисян, Ли Вэньцзюнь,
Цао Минцзюнь, Чжэнь Цзюнь, Е
Чжиуан, Ян Яньлэй (CN)

(74) Представитель:

Ловцов С.В., Вилесов А.С., Гавриков
К.В., Коптева Т.В., Левчук Д.В.,
Стукалова В.В., Ясинский С.Я. (RU)

(57) Данное изобретение относится к новым сшитым цитотоксическим агентам, производным димера пирролобензодиазепина (PBD (англ.: pyrrollobenzodiazepine dimer)), и их конъюгатам с молекулой, связывающейся с клетками, к способу получения указанных конъюгатов и к терапевтическому применению указанных конъюгатов.



СШИТОЕ ПРОИЗВОДНОЕ ДИМЕРА ПИРРОЛОБЕНЗОДИАЗЕПИНА (PBD) И ЕГО КОНЬЮГАТЫ

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

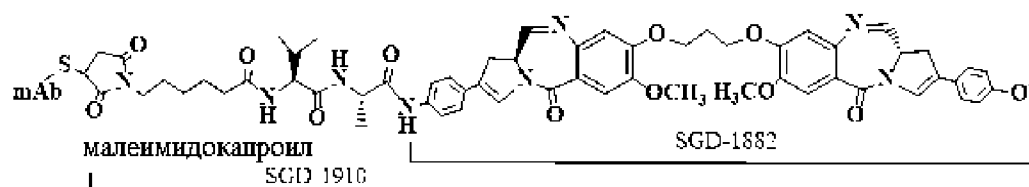
Данное изобретение относится к новым сшитым цитотоксическим агентам, производным димера пирролобензодиазепина (PBD), и их конъюгатам с молекулой, связывающейся с клетками, к способу получения указанных конъюгатов и к терапевтическому применению указанных конъюгатов.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Конъюгаты антитела-лекарственного средства (ADC) имеют большой потенциал в качестве противораковых препаратов, а четыре ADC были одобрены FDA и более 100 других находятся на стадии клинических исследований с использованием нескольких различных классов цитотоксических агентов, таких как **майтансины** (Zhao, Robert Y, et al 2011 J. Med. Chem. 54, 3606; Widdison, W.; et al 2006 J. Med. Chem., 49, 4392-4408); **ауристатины** и их исходное соединение **доластатин** (Doronina, S. O. et al, Nat. Biotechnol. 2003, 21 (7), 778–784; Maderna, A., 2014 J. Med. Chem., 57(24), 10527–10543.); **калихеамицины** (Ricart, A. D. 2011 Clin Cancer Res 2011;17:6417-6427; Ricart A. D, et al Nat Clin Pract Oncol. 2007;4:245-255), **дуокармицины** и их аналог CC-1065 (Elgersma, R. C. 2015 Mol. Pharmaceutics, 12 (6), 1813–1835; Zhao, Robert Y. et al, 2012 J. Med. Chem 55, 766-782), **тубулизины** (Li, J. Y. et al, 2016 Cancer Cell. 29(1):117-29; Tumey, L. N. et al 2016 ACS Med Chem Lett. 7(11):977-982; Huang Y.Y., Zhao, Robert Y. et al, Med Chem. #44, 249th ACS National Meeting, Denver, CO, Mar. 22~26, 2015; WO2014009774), **Эрибулины** (US20170252458); **камптотецин** и его аналог **SN-38** (Cardillo. T. M, et al, 2015 Bioconj Chem. 26(5):919-31; Cardillo. T. M, et al, 2011 Clin Cancer Res. 17(10): 3157-69; Doi T, et al, 2017 Lancet Oncol. 18(11):1512-1522; PCT/JP2013/006069; US20160333112); **аманитин** (Moldenhauer G, et al, J. Natl. Cancer Inst. 2012; 104(8):622-34; Zhao, Robert Y. et al, PCT/IB2016/052246); **винбластин** (Laguzza, B. C. et al, 1989 J. Med. Chem., 32, 548-555; Starling, J. J., et al 1992 Bioconj. Chem., 3, 315-322); **доксорубицин** (Yang, H. M. and Reisfeld, R. A., 1988 Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85, 1189-93; Sapra, P., et al 2005 Clin Cancer Res 11, 5257-64; Geretti, E. et al, 2015 Mol Cancer Ther 14, 2060-71); **криптофицин** (Verma, V. A. et al, 2015 Bioorg. Med. Chem. Lett., 25 (4), 864-8); **эрибулин** (Furuuchi, K. et al, poster MORAb-202, 8th World ADC, Sept., 19, 2017; US2017252458); и **димеры пирролобензодиазепина (PBD)** (Mantaj, J. et al 2016 Angew. Chem. Int. Ed. 55, 2–29; D. Antonow and D. Thurston, Chem. Rev. 2011, 111, 2815–2864). В последние годы увеличилось количество применений

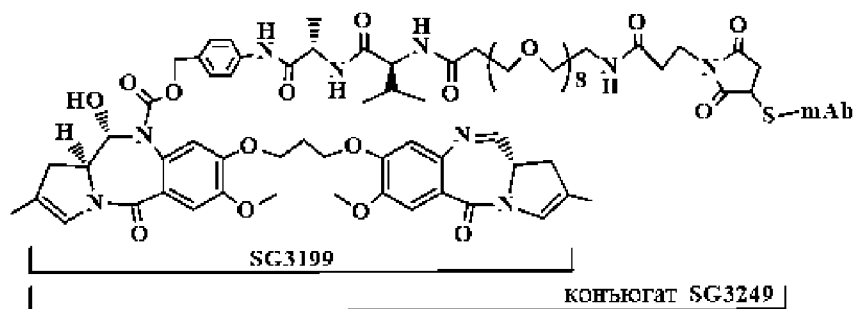
цитотоксических агентов класса PBD в качестве лекарственного средства ADC (Kung Sutherland, M. S., et al 2013 Blood 122, 1455-63; Jeffrey, S. C., 2013, Bioconjug Chem. 1256-63); Saunders, L. R. et al 2015 Sci Transl Med., 7(302):302ra136; Flynn, M. J. et al 2016 Mol Cancer Ther.,15(11), 2709-272; Zhao, Robert Y., WO2015028850; Donnell, A. F. et al 2017 Bioorg Med Chem Lett 27, 5267-5271) из-за чрезвычайной эффективности PBD против большинства панелей 60 опухолевых клеточных линий из Национального института рака США наряду с уникальным механизмом активности противоопухолевых антибиотиков (Mantaj, J. et al 2016 Angew. Chem. Int. Ed. 55, 2–29).

Как показано в структурах ниже, все PBD как правило конъюгированы с антителом с одним линкером, стабильным в определенных условиях, поскольку как правило считается, что линкеры ADC должны быть стабильными в то время, когда ADC циркулирует в крови, чтобы ограничить побочную токсичность, но позволять высвобождение лекарственного средства после того, как он находится внутри раковых клеток мишени (Alain Beck 2017 Nature Reviews Drug Discovery, doi:10.1038/nrd.2016.268). К сожалению, самый продвинутый в клинической оценке Vadastuxi-mab талирин (CD33 антитело-PBD конъюгат, имеющий линкер, стабильный в определенных условиях) (Stein, E. M., et al, 2018 Blood 131, 387-96) потерпел неудачу из-за печеночной токсичности, которая, по-видимому, убила четырех пациентов на ранних этапах клинических исследований (www.xconomy.com/seattle/2017/06/19)

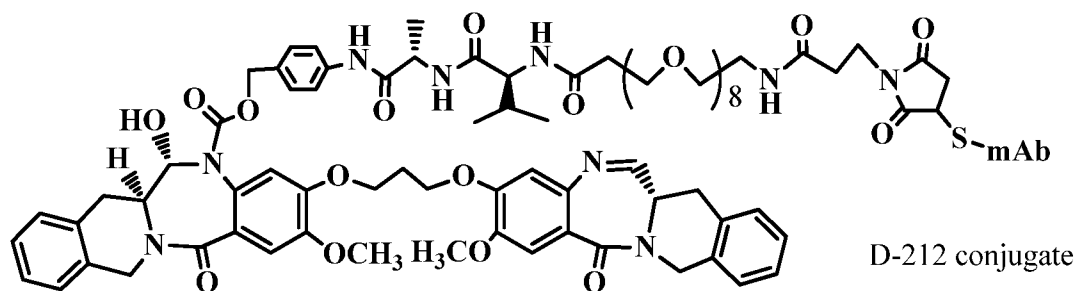


Конъюгат

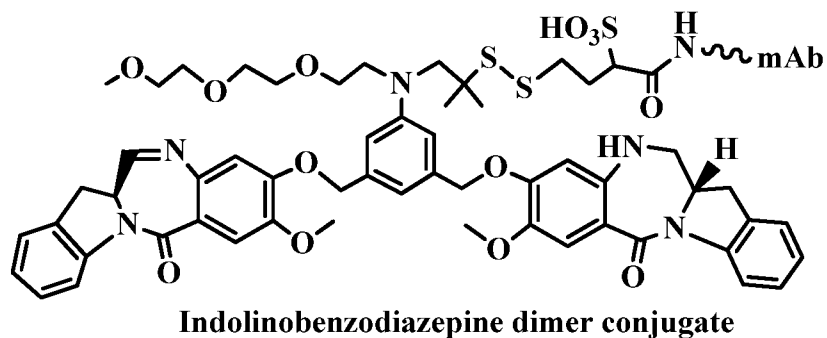
SGD-1882, исследуемый Seattle Genetics,



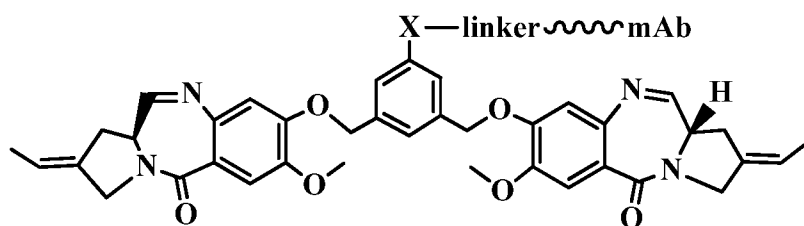
Конъюгат SG3249, исследуемый ADC Therapeutics Ltd и MedImmune/AstraZeneca.



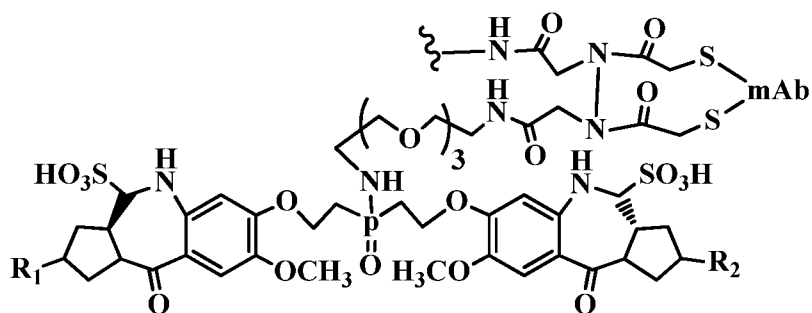
Конъюгат D-212, исследуемый Cellarant Therapeutics,



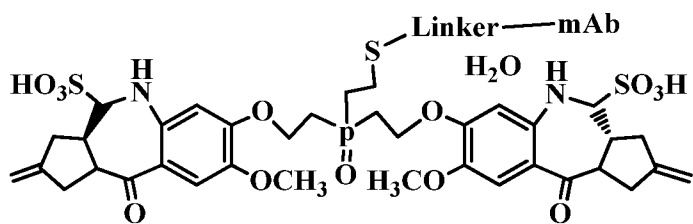
Конъюгат IGN, исследуемый ImmunoGen, Inc.,



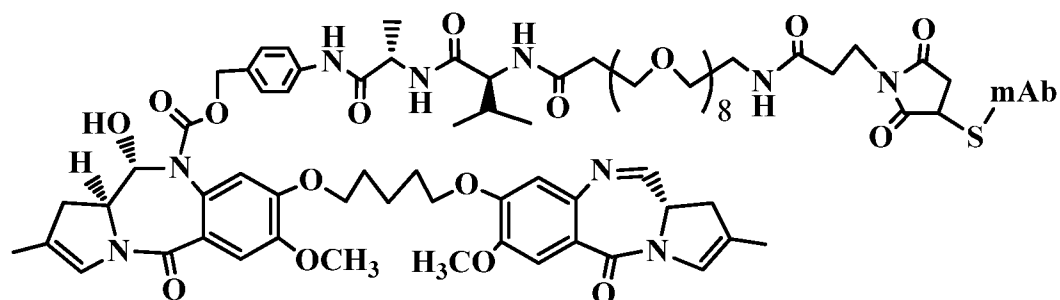
Конъюгаты димера Томаймисина (PBD) от Sanofi,



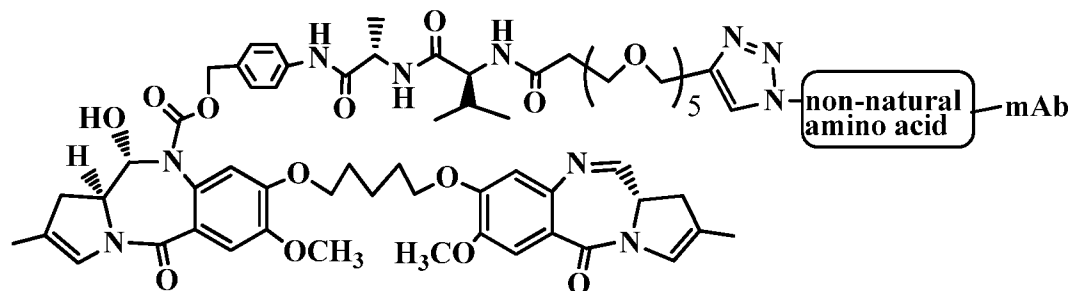
Конъюгат димера PBD, исследуемый Hangzhou DAC Biotech Co., Ltd,



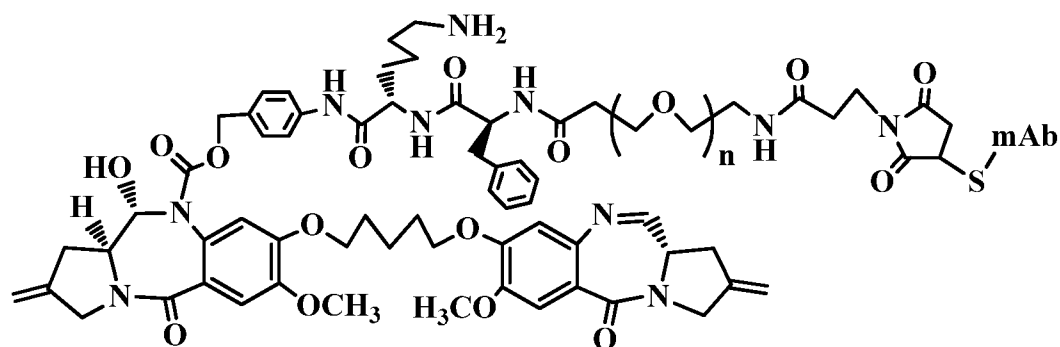
Конъюгат димера PBD, исследуемый Hangzhou DAC Biotech Co., Ltd,



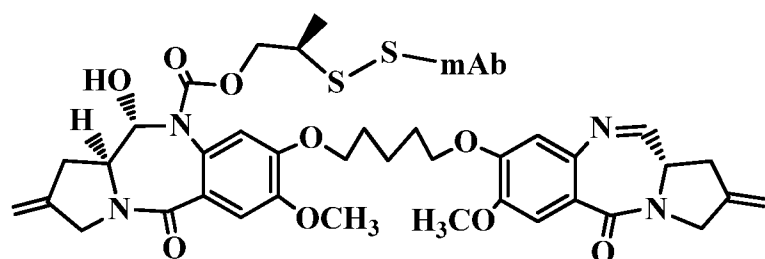
Конъюгат SG-3199, исследуемый Stemcentrx/Abbvie и ADC Therapeutics Ltd.



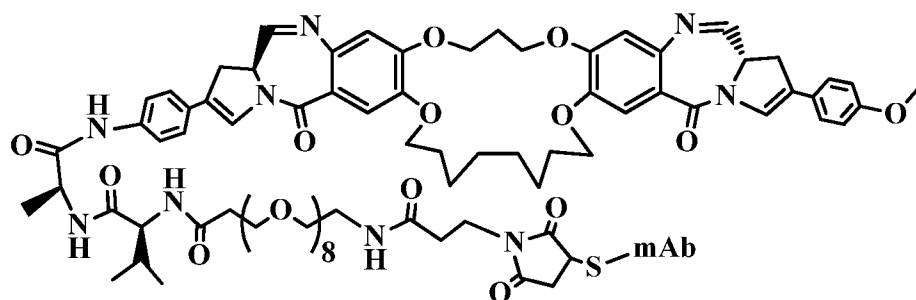
Конъюгат SG-3199, исследуемый Allozyne, Inc.



Конъюгат SG2057, используемый Genentech Inc.



Конъюгат PBD с бесследным линкером от Genentech Inc.



Конъюгат димера PBD, исследуемый Bristol-Myers Squibb.

SH (тиол); $-SR_5$ (сульфид); SOR_5 (сульфоксид); $SOOR_5$ (сульфон); SO_3 , HSO_3 , HSO_2 или соли HSO_3^{3-} , SO_3^{2-} или $-HSO_2^-$ (сульфит); OSO_3 (бисульфит); NR_5SOOR_5' (сульфонамид); $H_2S_2O_5$ или соли $S_2O_5^{2-}$ (метабисульфит); PO_3SH_3 , $PO_2S_2H_2$, POS_3H_2 , PS_4H_2 или соли PO_3S^{3-} , $PO_2S_2^{3-}$, POS_3^{3-} , PS_4^{3-} (моно-, ди-, три-, и тетра-тиофосфат); $(R_5O)_2POSR_5'$ (сложный эфир тиофосфата); HS_2O_3 или соли $S_2O_3^{2-}$ (тиосульфат); HS_2O_4 или соли $S_2O_4^{2-}$ (дитионит); $P(=S)(OR_5)(S)(OH)$ (фосфородитионат) или их соли, образованные катионом; $-NR_5OR_5'$ (производное гидроксиламина); $R_5C(=O)NOH$ (гидроксамовая кислота) или их соли, образованные катионом; $HOCH_2SO_2^-$, или его соли (формальдегидсульфоксилат); NR_5COR_5' (амид); N_3 (азидо); CN (циано); X (галоген); $C(R_5)(R_5')(R_5'')$ (триалкил), $OP(O)(OR_5)(NHR_5')$ или $OP(O)(NHR_5)(NHR_5')$ (фосфорамидат (фосфорамидная кислота), или $P(R_5)(R_5')(R_5'')$ триарилфосфония; Ак (аминокислота) или $NR_5CO(Ак)_t$ (пептид), где Ак представляет собой аминокислоту или полипептид, содержащий $t=1\sim 100$ аминокислотных остатков; группу производного аминокислоты: α -, β -, γ - или ω -аминокислоту или неприродную аминокислоту; где R_5 , R_5' и R_5'' описаны ниже;

l, m, q, l', m' и q' независимо равны 0, 1, 2, 3, 4 или 5; n равно 1~30;

X, X', Y и Y' , одинаковые или различные, независимо представляют собой N, O, S, алкил, такой как CH_2 или CHR_5 , алкен, такой как $=CH-$ или $=CR_5-$, простой эфир, такой как $-C(OR_5)H-$;

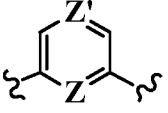
Z и Z' одинаковые или различные, независимо представляют собой N, CH, CR_5 , $CONH$, CNH_2 , $CNHR_5$ или COR_5 , или Z и Z' связаны вместе с $-COR_5OC-$. R_5 независимо выбран из $C1\sim C8$ алкила и арила;

$R_1, R_2, R_3, R_4, R_1', R_2', R_3'$ и R_4' являются одинаковыми или различными и независимо выбраны из группы, включающей $-H$, необязательно замещенный линейный, разветвленный или циклический алкил, алкенил или алкинил, имеющий от 1 до 10 атомов углерода, $-(OCH_2CH_2)_lR_5$ (остаток полиэтиленгликоля), галоген, $NH(C=NH)NH_2$ (гуанидиний), $-OR_5$, $-NR_5R_5'$, $-NO_2$, $-NCO$, $-NR_5COR_5'$, $-SR_5$, $-SOR_5$ (сульфоксид), $-SO_2R_5$ (сульфон), $--SO_3^-M^+$ или $-SO_3H$ (сульфонат), $-OSO_3^-M^+$ или OSO_3H (сульфат), $-SO_2NR_5R_5'$ (сульфонамид), CN (циано), N_3 (азидо), $--COR_5$, $--OCOR_5$, $-OCONR_5R_5'$, CF_3 , OR_5 , арил, гетероцикл или $P(O)R_5R_5'R_5''$ и линкерную группу (L'') с реакционноспособной группой или агентом, связывающимся с клетками, связанными с ней, когда Q, Q' и T отсутствуют;

R_5, R_5' и R_5'' независимо выбраны из H, $C1\sim C8$ алкила, алкенила, алкинила, гетероалкила, арила, арилалкила, карбонила или фармацевтических солей;

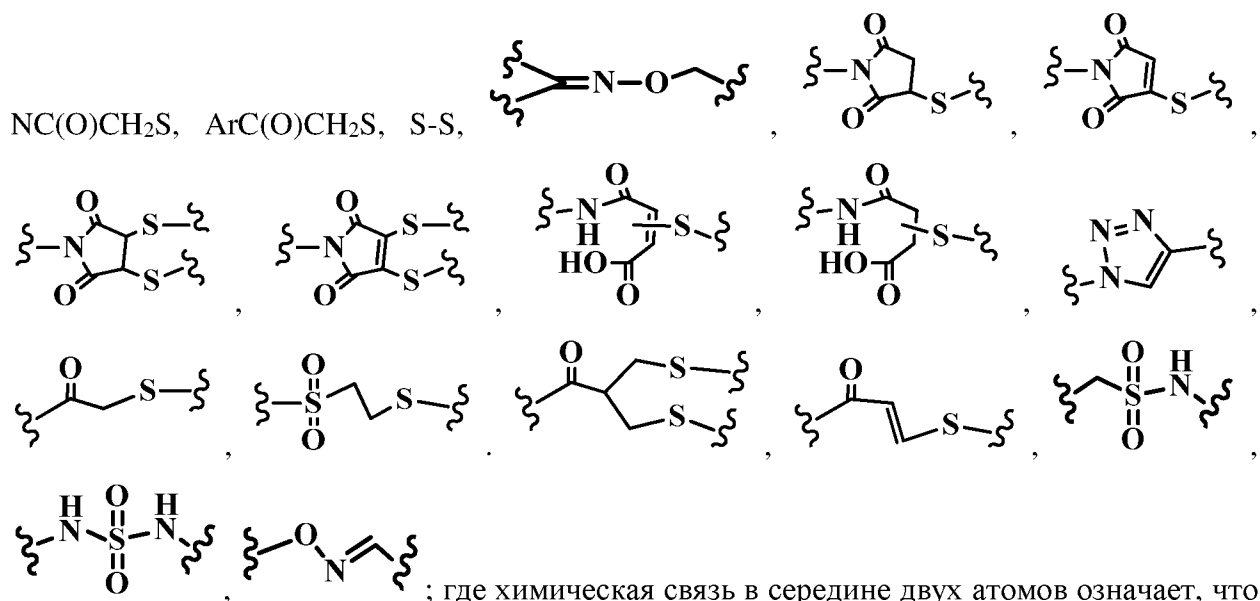
Кроме того, R_1 и R_2 соединены вместе, или R_1' и R_2' соединены вместе с образованием $=O$ (кетона), $=S$, $=NR$, $-C(=O)R$ или группы, содержащей двойную связь $=CR_5R_5'$; и R_1 и R_2

соединены вместе, или R_1' и R_2' соединены вместе, или R_3 и R_4 соединены вместе, или R_3' и R_4' соединены вместе с образованием C_3 - C_{12} ароматического, гетероциклического или гетероарильного кольца;

G представляет собой $-CH_2-$, O, $-N(R_5)-$, S, $-P(O)(OR_5)-$, $-P(O)(NR_5R_5')-$, , где Z и Z' определены выше;

U и U' независимо представляют собой C(O), C(O)O, C(O)NH, C(O)N(R_5), C(=NH), C(=NH)O, C(=NH)NH, C(=NH)N(R_5), $-C=N-$, C(=S), C(O)S, C(S)NH, C(S)N(R_5), S(O), S(O)O, S(O)NH, S(O)(OR_5), S(O)(N(R_5)), $S(O_2)$, $S(O_2)O$, P(O)(OR_5), P(O)(OR_5)O, P(O)(NH_2), P(O)(NR_5R_5'), P(O)(OR_5)NH-, P(O)(OR_5) $NR_5'-$, P(O) (N(R_5R_5')) (N(R_5), P(S)(OR_5), P(S)(OR_5)O, P(S)(NH_2), P(S)(NR_5R_5'), P(S)(OR_5)NH-, P(S)(OR_5) $NR_5'-$, P(S)(N(R_5R_5'))N(R_5), R_5 , R_5O ;

E_1 и E_2 независимо представляют собой S, R_5S , C(O)S, C(O)NH, C(O)O, C(O) R_5S , C(=NH)NH, C(=NH)N(R_5), C(=NH)S, $-C=N-$, C(=S)S, C(O)S, C(=S)NH, C(=S)N(R_5), Ar-S,



; где химическая связь в середине двух атомов означает, что она может связываться с любым из примыкающих двух атомов;

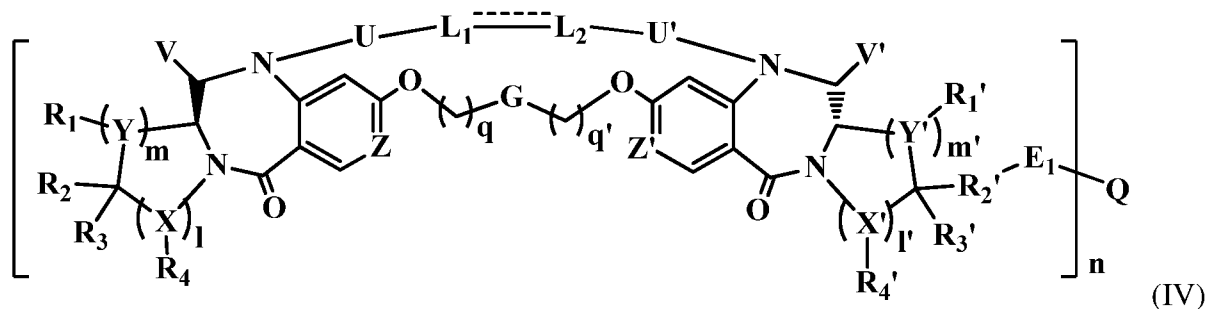
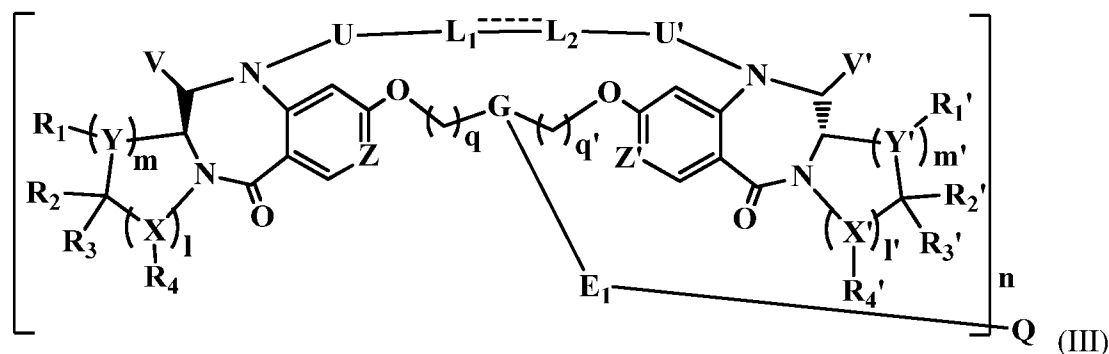
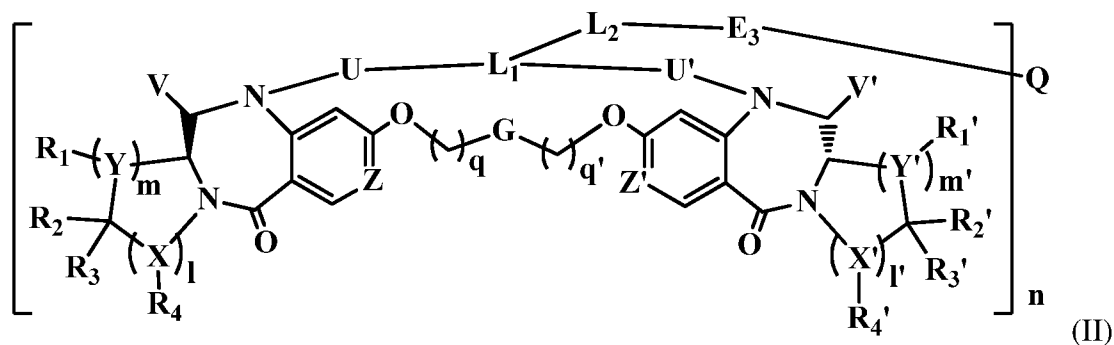
L_1 , L_2 и L' независимо представляют собой линкер или линкер, который имеет функциональную группу, которая позволяет реакцию с агентом, связывающимся с клетками (CBA), Q. L_1 , L_2 и L' предпочтительно независимо представляют собой способный к отделению линкер, который имеет формулу: $-Ww-(Ak)r-Tt-$; или $-Ww-(Ak)r-Tt-Q$; или $Q-Ww-(Ak)r-Tt-$; где: -W- представляет собой единицу вставки; w равно 0 или 1; -Ак- независимо представляет собой аминокислотный остаток; r независимо представляет собой целое число от 0 до 100; -T- представляет собой спейсерную единицу, которая может представлять собой линейный алкил, разветвленный

алкил или полиэтиленгликоль; и t равно 0 или 1~100. Указанная единица вставки W может независимо содержать саморасщепляющийся спейсер, пептидные единицы, гидразоновую связь, дисульфидную, сложноэфирную или тиоэфирную связь; w равно 1, 2 или 3; Предпочтительно, $L1$ и $L2$ независимо выбраны из O, NH, N, S, P, NNN, NNNH, $N(R_3)$, $N(R_3)N(R_3')$, CH, CO, $C(O)NH$, $C(O)O$, $NHC(O)NH$, $NHC(O)O$, полиэтиленокси единицы формулы $(OCH_2CH_2)_pOR_3$, $(OCH_2CH(CH_3))_pOR_3$, $NH(CH_2CH_2O)_pR_3$, $NH(CH_2CH(CH_3)O)_pR_3$, $N[(CH_2CH_2O)_pR_3]-[(CH_2CH_2O)_pR_3']$, $(OCH_2CH_2)_pCOOR_3$ или $CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_pCOOR_3$, где p и p' независимо представляют собой целые числа, выбранные из от 0 до около 1000, или их комбинации; C_1 - C_8 алкила; C_2 - C_8 гетероалкила, алкилциклоалкила, гетероциклоалкила; C_3 - C_8 арила, Ar-алкила, гетероцикла, карбоцикла, циклоалкила, гетероалкилциклоалкила, алкилкарбонила, гетероарила; или (Ак) $_r$, r равно 1-12 (от одного до 12 аминокислотных остатков), который состоит из природных или неприродных аминокислот, или одинаковых или различных последовательностей единицы дипептида, трипептида, тетрапептида, пентапептида, гексапептида, гептапептида, октапептида, нонапептида, декапептида, ундекапептида или додекапептида;

Q представляет собой молекулу, связывающуюся с клетками, или функциональную группу, которая позволяет реакцию с агентом, связывающимся с клетками, или функциональную группу, способную реагировать с линкером, присоединенным к агенту, связывающемуся с клетками. Указанная функциональная группа выбрана из тиола, амина, гидразина, алкоксиламино, дисульфидного заместителя, малеимида, галогенацетильной группы, N-гидрокси сукцинимидного эфира, кетона, сложного эфира, альдегида, алкинила, алкенила, защищенного тиола или дисульфидной группы, такой как SAc, SSR_1 или $SSAr$. Ar представляет собой ароматическую группу или гетероароматическую группу. Q предпочтительно представляет собой связывающийся с клеткой агент/молекулу, выбранные из группы, состоящей из антитела, одноцепочечного антитела, фрагмента антитела, который связывается с клеткой-мишенью, моноклонального антитела, одноцепочечного моноклонального антитела, фрагмента моноклонального антитела, который связывается с клеткой-мишенью, химерного антитела, фрагмента химерного антитела, который связывается с клеткой-мишенью, доменного антитела, фрагмента доменного антитела, который связывается с клеткой-мишенью, аднектина, который имитирует антитело, белков DARP, лимфокина, гормона, витамина, фактора роста, колониестимулирующего фактора или переносимых питательных веществ молекулы (трансферрина), связывающего пептида, белка или малой молекулы, прикрепленной к

альбумину, полимеру, дендримеру, липосоме, наночастице, везикуле или (вирусному) капсиду;

Во втором варианте реализации изобретения описано одинарное связывание конъюгацией производных PBD к молекуле, связывающейся с клетками, как показано в Формуле (II), (III) и (IV), для таргетированного лечения пролиферации клеток.



где $\equiv$, $\cdots$, X, X', Y, Y', Z, Z', l, l', m, m', n, q, q', R₁, R₁', R₂, R₂', R₃, R₃', R₄, R₄', V, V', U, U' L₁, L₂, G, Q, E₁, и E₂ определены такими же, как в Формуле (I).

В третьем варианте реализации в данном изобретении описана терапевтическая композиция, содержащая: (1) эффективное количество одной или более из производных пирроло[2,1-с][1,4]бензодиазепина, присоединенных к агенту, связывающемуся с клетками, в виде структуры конъюгата Формулы (I), (II), (III) или (IV); и (2) фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или вспомогательное вещество, Формулы (I) ~ (IV) в данной заявке, для убийства целевых клеток или тканей, содержащих целевые клетки.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На Фиг. 1 проиллюстрирован синтез сшитых димеров бензодиазепина.

На Фиг. 2 проиллюстрирован синтез конъюгата с антителом сшитых димеров бензодиазепина.

На Фиг. 3 проиллюстрирован синтез сшитых димеров бензодиазепина.

На Фиг. 4 проиллюстрирован синтез сшитых димеров и конъюгата бензодиазепина.

На Фиг. 5 проиллюстрирован синтез конъюгата с антителом сшитых димеров бензодиазепина.

На Фиг. 6 проиллюстрирован синтез конъюгата с антителом сшитых димеров бензодиазепина.

На Фиг. 7 проиллюстрирован синтез димеров бензодиазепина.

На Фиг. 8 проиллюстрирован синтез сшитых димеров и конъюгата бензодиазепина.

На Фиг. 9 проиллюстрирован синтез димеров бензодиазепина.

На Фиг. 10 проиллюстрирован синтез конъюгата с антителом сшитых димеров бензодиазепина.

На Фиг. 11 проиллюстрирован синтез димеров бензодиазепина.

На Фиг. 12 проиллюстрирован синтез конъюгатов димеров бензодиазепина и их линкеров.

На Фиг. 13 проиллюстрирован синтез линкеров сшивки для конъюгатов димеров бензодиазепина.

На Фиг. 14 проиллюстрирован синтез линкеров сшивки для конъюгатов димеров бензодиазепина.

На Фиг. 15 проиллюстрирован синтез линкеров сшивки для конъюгатов димеров бензодиазепина.

На Фиг. 16 проиллюстрирован синтез конъюгатов сшитых димеров бензодиазепина.

На Фиг. 17 проиллюстрирован синтез промежуточных соединений для конъюгатов димеров бензодиазепина.

На Фиг. 18 проиллюстрирован синтез конъюгатов сшитых димеров бензодиазепина.

На Фиг. 19 проиллюстрирован синтез конъюгатов сшитых димеров бензодиазепина.

На Фиг. 20 проиллюстрирован синтез конъюгатов сшитых димеров бензодиазепина.

На Фиг. 21 проиллюстрирован синтез конъюгатов сшитых димеров бензодиазепина.

На Фиг. 22 проиллюстрирован синтез промежуточных соединений для конъюгатов димеров бензодиазепина.

На Фиг. 23 проиллюстрирован синтез сшитых димеров бензодиазепина.

На Фиг. 24 проиллюстрирован синтез конъюгатов сшитых димеров бензодиазепина.

На Фиг. 25 проиллюстрирован синтез сшитых димеров бензодиазепина.

На Фиг. 26 проиллюстрирован синтез сшитых димеров бензодиазепина.

На Фиг. 27 проиллюстрирован синтез сшитых димеров бензодиазепина.

На Фиг. 28 проиллюстрирован синтез промежуточных соединений для конъюгатов димеров бензодиазепина.

На Фиг. 29 проиллюстрирован синтез конъюгатов сшитых димеров бензодиазепина.

На Фиг. 30 проиллюстрирован синтез промежуточных соединений для конъюгатов димеров бензодиазепина.

На Фиг. 31 проиллюстрирован синтез промежуточных соединений для конъюгатов димеров бензодиазепина.

На Фиг. 32 проиллюстрирован синтез конъюгатов димеров бензодиазепина.

На Фиг. 33 проиллюстрирована активность *in vivo* конъюгатов сшитых димеров бензодиазепина.

На Фиг. 34 проиллюстрированы окраски гематоксилином и эозином тканей печени мыши после дозирования конъюгатов СС-4, СС-29, Т-DM1 и буфера ФСБ мышам ICR на день 5.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

ОПРЕДЕЛЕНИЯ:

Термин «алкил» относится к алифатической углеводородной группе или одновалентным группам, полученным из алкана путем удаления одного или двух атомов водорода от атомов углерода. Он может быть прямым или разветвленным, содержащим C₁-C₈ (от 1 до 8 атомов углерода) в цепи. Термин «разветвленный» означает, что одна или более низших алкильных групп с меньшим количеством атомов C, таких как метил, этил или пропил, присоединены к линейной алкильной цепи. Типичные алкильные группы включают метил, этил, *n*-пропил, изопропил, *n*-бутил, *трет*-бутил, *n*-пентил, 3-пентил, октил, нонил, децил, циклопентил, циклогексил, 2,2-диметилбутил, 2,3-диметилбутил, 2,2-диметилпентил, 2,3-диметилпентил, 3,3-диметилпентил, 2,3,4-триметилпентил, 3-метилгексил, 2,2-диметилгексил, 2,4-диметилгексил, 2,5-диметилгексил, 3,5-диметилгексил, 2,4-диметилпентил, 2-метилгептил, 3-метилгептил, *n*-гептил, изогептил, *n*-октил и изооктил. C₁-C₈ алкильная группа может быть незамещенной или замещенной одной или более группами, включая, без ограничений, -C₁-C₈ алкил, -O-(C₁-C₈ алкил), -арил, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -SR', -S(O)₂R', -S(O)R', -ОН, -галоген, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ и -CN; где каждый R' независимо выбран из -C₁-C₈ алкила и арила.

Термин «галоген» относится к атому фтора, хлора, брома или йода; предпочтительно атому фтора и хлора.

Термин «гетероалкил» относится к C_2 - C_8 алкилу, в котором от одного до четырех атомов углерода независимо замещены гетероатомом из группы, состоящей из O, S и N.

Термин «карбоцикл» относится к насыщенному или ненасыщенному кольцу, содержащему от 3 до 8 атомов углерода в качестве моноцикла или от 7 до 13 атомов углерода в качестве бицикла. Моноциклические карбоциклы содержат от 3 до 6 кольцевых атомов, более типично 5 или 6 кольцевых атомов. Бициклические карбоциклы содержат от 7 до 12 кольцевых атомов, расположенных в виде бициклической [4,5], [5,5], [5,6] или [6,6] системы, или 9 или 10 кольцевых атомов, расположенных в виде бициклической [5,6] или [6,6] системы. Типичные C_3 - C_8 карбоциклы включают, без ограничений, -циклопропил, -циклобутил, -циклопентил, -циклопентадиенил, -циклогексил, -циклогексенил, -1,3-циклогексадиенил, -1,4-циклогексадиенил, -циклогептил, -1,3-циклогептадиенил, -1,3,5-циклогептатриенил, -циклооктил и -циклооктадиенил.

Термин « C_3 - C_8 карбоцикл» относится к 3-, 4-, 5-, 6-, 7- или 8-членному насыщенному или ненасыщенному неароматическому карбоциклическому кольцу. C_3 - C_8 -карбоциклическая группа может быть незамещенной или замещенной одной или более группами, включая, без ограничений, $-C_1$ - C_8 алкил, $-O$ -(C_1 - C_8 алкил), -арил, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-SR'$, $-S(O)R'$, $-S(O)_2R'$, $-OH$, -галоген, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ и $-CN$; где каждый R' независимо выбран из $-C_1$ - C_8 алкила и арила.

Термин «алкенил» относится к алифатической углеводородной группе, содержащей двойную углерод-углеродную связь, которая может быть прямой или разветвленной, содержащей от 2 до 8 атомов углерода в цепи. Типичные алкенильные группы включают этенил, пропенил, *n*-бутенил, изобутенил, 3-метилбут-2-енил, *n*-пентенил, гексенил, гептенил, октенил.

Термин «алкинил» относится к алифатической углеводородной группе, содержащей тройную углерод-углеродную связь, которая может быть прямой или разветвленной, содержащей от 2 до 8 атомов углерода в цепи. Типичные алкинильные группы включают этинил, пропинил, *n*-бутинил, 2-бутинил, 3-метилбутинил, 5-пентинил, *n*-пентинил, гексилинил, гептинил и октинил.

Термин «алкилен» относится к насыщенному, разветвленному или линейному или циклическому углеводородному радикалу с 1-18 атомами углерода и содержит два одновалентных радикальных центра, полученных путем удаления двух атомов водорода от

одного и того же или двух разных атомов углерода исходного алкана. Типичные алкиленовые радикалы включают, без ограничений: метилен ($-\text{CH}_2-$), 1,2-этил ($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 1,3-пропил ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 1,4-бутил ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), и т. п.

Термин «алкенилен» относится к ненасыщенному, разветвленному или линейному или циклическому углеводородному радикалу с 2–18 атомами углерода и содержит два одновалентных радикальных центра, полученных путем удаления двух атомов водорода от одного и того же или двух разных атомов углерода исходного алкена. Типичные алкениленовые радикалы включают, без ограничений: 1,2-этилен ($-\text{CH}=\text{CH}-$).

Термин «алкинилен» относится к ненасыщенному, разветвленному или линейному или циклическому углеводородному радикалу с 2–18 атомами углерода и содержит два одновалентных радикальных центра, полученных путем удаления двух атомов водорода от одного и того же или двух разных атомов углерода исходного алкина. Типичные алкиниленовые радикалы включают, без ограничений: ацетилен, пропаргил и 4-пентинил.

Термин «арил» или Ar относится к ароматической или гетероароматической группе, состоящей из одного или более колец, включающих в себя от трех до четырнадцати атомов углерода, предпочтительно от шести до десяти атомов углерода. Термин «гетероароматическая группа» относится к одному или более атомам углерода в ароматической группе, причем предпочтительно один, два, три или четыре атома углерода замещены на O, N, Si, Se, P или S, предпочтительно на O, S и N. Термин арил или Ar также относится к ароматической группе, в которой один или более атомов H независимо замещены на $-\text{R}'$, -галоген, $-\text{OR}'$, или $-\text{SR}'$, $-\text{NR}'\text{R}''$, $-\text{N}=\text{NR}'$, $-\text{N}=\text{R}'$, $-\text{NR}'\text{R}''$, $-\text{NO}_2$, $-\text{S}(\text{O})\text{R}'$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}'$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{OR}'$, $-\text{OS}(\text{O})_2\text{OR}'$, $-\text{PR}'\text{R}''$, $-\text{P}(\text{O})\text{R}'\text{R}''$, $-\text{P}(\text{OR}')(\text{OR}'')$, $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}')(\text{OR}'')$ или $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}')(\text{OR}'')$, причем R' , R'' независимо представляют собой H, алкил, алкенил, алкинил, гетероалкил, арил, арилалкил, карбонил или фармацевтические соли.

Термин «гетероцикл» относится к кольцевой системе, в которой от одного до четырех атомов углерода в кольце независимо замещены гетероатомом из группы O, N, S, Se, B, Si и P. Предпочтительными гетероатомами являются O, N и S. Гетероциклы также описаны в публикации The Handbook of Chemistry and Physics, 78th Edition, CRC Press, Inc., 1997-1998, р. 225-226, описание которой включено в настоящее описание путем ссылки. Предпочтительный неароматический гетероцикл включает эпоксид, азиридирил, тиририл, пирролидинил, пиазолидинил, имидазолидинил, оксиририл, тетрагидрофуририл, диоксоланил, тетрагидропиририл, диоксанил, диоксаланил, пиперидил, пиперазинил, морфолинил, пиририл, имидазолинил, пирролинил, пиазолинил, тиазолидинил, тетрагидротиипиририл, дитианил, тиоморфолинил, дигидропиририл,

тетрагидропиранил, дигидропиранил, тетрагидропиридил, дигидропиридил, тетрагидропиримидинил, дигидрототиопиранил, азепазил, а также конденсированные системы, образующиеся в результате конденсации с фенильной группой.

Термин «гетероарил» или ароматические гетероциклы относятся к 3–14, предпочтительно 5–10-членным ароматическим гетеро, моно-, би- или мультициклическим кольцам. Примеры включают пирролил, пиридил, пиразолил, тиенил, пиримидинил, пиазинил, тетразолил, индолил, хинолинил, пуринил, имидазолил, тиенил, тиазолил, бензотиазолил, фуранил, бензофуранил, 1,2,4-тиадиазолил, изотиазолил, триазолил, тетразолил, изохинолил, бензотиенил, изобензофурил, пиразолил, карбазолил, бензимидазолил, изоксазолил, пиридил-*N*-оксид, а также конденсированные системы, образующиеся в результате конденсации с фенильной группой.

«Алкил», «циклоалкил», «алкенил», «алкинил», «арил», «гетероарил», «гетероциклил» и т. п. относятся также к соответствующим «алкилену», «циклоалкилену», «алкенилену», «алкинилену», «арилу», «гетероарилу», «гетероциклу» и т. п., которые образуются при удалении двух атомов водорода.

Термин «арилалкил» относится к ациклическому алкильному радикалу, в котором один из атомов водорода, связанных с атомом углерода, обычно концевым или sp^3 -атомом углерода, заменен арильным радикалом. Типичные арилалкильные группы включают бензил, 2-фенилэтан-1-ил, 2-фенилэтан-1-ил, нафтилметил, 2-нафтилэтан-1-ил, 2-нафтилэтан-1-ил, нафтобензил, 2-нафтофенилэтан-1-ил и тому подобное.

Термин «гетероарилалкил» относится к ациклическому алкильному радикалу, в котором один из атомов водорода, связанных с атомом углерода, обычно концевым или sp^3 -атомом углерода, заменен гетероарильным радикалом. Примерами гетероарилалкильных групп являются 2-бензимидазолилметил, 2-фурилэтил.

Примеры «гидроксилзащитной группы» включают метоксиметилловый простой эфир, 2-метоксиэтоксиметилловый простой эфир, тетрагидропираниловый простой эфир, бензиловый простой эфир, *p*-метоксибензиловый простой эфир, триметилсилиловый простой эфир, триэтилсилиловый простой эфир, триизопропилсилиловый простой эфир, *трет*-бутилдиметилсилиловый простой эфир, трифенилметилсилиловый простой эфир, ацетатный сложный эфир, замещенные ацетатные сложные эфиры, пивалоат, бензоат, метансульфонат и *n*-толуолсульфонат.

Термин «уходящая группа» относится к функциональной группе, которая может быть замещена другой функциональной группой. Такие уходящие группы хорошо известны в данной области техники, и примеры включают галогенид (например, хлорид, бромид и

йодид), метансульфонил (мезил), *n*-толуолсульфонил (тозил), трифторметилсульфонил (трифлат) и трифторметилсульфонат. Предпочтительная уходящая группа выбрана из нитрофенола; N-гидроксисукцинимид (NHS); фенола; динитрофенола; пентафторфенола; тетрафторфенола; дифторфенола; монофторфенола; пентахлорфенола; трифлата; имидазола; дихлорфенола; тетрахлорфенола; 1-гидроксibenзотриазола; тозилата; мезилата; 2-этил-5-фенилизоксазолий-3'-сульфоната, простых и смешанных ангидридов, например, ацетилангидрида, формилангидрида; или промежуточной молекулы, полученной с помощью конденсационного реагента для реакций пептидного сочетания или для реакций Мицунобу.

В данном документе могут быть использованы следующие аббревиатуры, имеющие указанные определения: Boc: трет-бутоксикарбонил; BroP: бромтриспирролидинофосфонийгексафторфосфат; CDI: 1,1'-карбонилдиимидазол; DCC: дициклогексилкарбодиимид; ДХЭ: дихлорэтан; ДХМ: дихлорметан; ДЭАД: диэтилазодикарбоксилат; ДИАД: диизопропилазодикарбоксилат; DIBAL-H, диизобутилалюминийгидрид; ДИПЭА или DEA: диизопропилэтиламин; DEPC: диэтилфосфороцианидат; ДМА: N, N-диметилацетамид; ДМАП: 4-(N,N-диметиламино)пиридин; ДМФА: N,N-диметилформамид; ДМСО: диметилсульфоксид; ДТРА: диэтилентриаминпентауксусная кислота; DTT: дитиотреитол; EDC: 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида гидрохлорид; МС-ИЭР: масс-спектрометрия с ионизацией электрораспылением; EtOAc: этилацетат; Fmoc: N-(9-фторенилметоксикарбонил); HATU: гексафторфосфат O-(7-азабензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурия; HOBt: 1-гидроксibenзотриазол; ВЭЖХ: жидкостная хроматография высокого давления; NHS: N-гидроксисукцинимид; MeCN: ацетонитрил; MeOH: метанол; ММР: 4-метилморфолин; PAB: п-аминобензил; ФБСР: фосфатно-буферный солевой раствор (рН 7,0~7,5); Ph: фенил; phe: L-фенилаланин; PyBrop: гексафторфосфат бром-трис-пирролидино-фосфония; ПЭГ: полиэтиленгликоль; SEC: эксклюзионная хроматография; TCEP: трис(2-карбоксиэтил)фосфин; ТФК: трифторуксусная кислота; ТГФ: тетрагидрофуран; Val: валин; ТСХ: тонкослойная хроматография; УФ: ультрафиолет.

Термин «аминокислота (ы)» может относиться к природным и/или неприродным аминокислотам, предпочтительно альфа-аминокислотам. Природные аминокислоты являются кислотами, которые кодируются генетическим кодом: аланин, аргинин, аспарагин, аспарагиновая кислота, цистеин, глутаминовая кислота, глутамин, глицин, гистидин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, фенилаланин, пролин, серин, треонин,

тирозин, триптофан и валин. Неприродные аминокислоты являются производными форм протеогенных аминокислот. Примеры включают гидроксипролин, лантионин, 2-аминоизомасляную кислоту, дегидроаланин, гамма-аминомасляную кислоту (нейротрансмиттер), орнитин, цитруллин, бета-аланин (3-аминопропановую кислоту), гамма-карбоксиглутамат, селеноцистеин (присутствует также во многих неэукариотах, а также во многих эукариотах, но не кодируется непосредственно ДНК), пирролизин (обнаружен только у некоторых архей и одной бактерии), N-формилметионин (который часто является начальной аминокислотой белков в бактериях, митохондриях и хлоропластах), 5-гидрокситриптофан, L-дигидроксифенилаланин, трийодтиронин, L-3,4-дигидроксифенилаланин (DOPA) и O-фосфосерин. Термин «аминокислота» также включает аналоги и миметики аминокислот. Аналоги представляют собой соединения, имеющие такую же общую структуру $H_2N(R)CHCO_2H$ природной аминокислоты, за исключением того, что группа R не обнаружена среди природных аминокислот. Примеры аналогов включают гомосерин, норлейцин, метионин-сульфоксид и метионинметилсульфоний. Предпочтительно, миметик аминокислоты представляет собой соединение, которое имеет структуру, отличную от общей химической структуры альфа-аминокислоты, но функционирует аналогично таковой. Термин «неприродная аминокислота» предназначен для обозначения стереохимической формы «D», причем природные аминокислоты имеют форму «L». В случае, если в настоящей патентной заявке используется 1~8 аминокислот, аминокислотная последовательность предпочтительно представляет собой последовательность распознавания для расщепления протеазой. В данной области техники известно много последовательностей распознавания для расщепления протеазой. См., например, Matayoshi et al. *Science* 247: 954 (1990); Dunn et al. *Meth. Enzymol.* 241: 254 (1994); Seidah et al. *Meth. Enzymol.* 244: 175 (1994); Thornberry, *Meth. Enzymol.* 244: 615 (1994); Weber et al. *Meth. Enzymol.* 244: 595 (1994); Smith et al. *Meth. Enzymol.* 244: 412 (1994); и Bouvier et al. *Meth. Enzymol.* 248: 614 (1995); описания которых полностью включены в настоящий документ путем ссылки. В частности, последовательность выбрана из группы, состоящей из Val-Cit, Ala-Val, Ala-Ala, Val-Val, Val-Ala-Val, Lys-Lys, Ala-Asn-Val, Val-Leu-Lys, Cit-Cit, Val-Lys, Ala-Ala-Asn, Asp-Lys, Asp-Glu, Glu-Lys, Lys, Cit, Ser и Glu.

Термин «гликозид» описывает молекулу, в которой сахарная группа через свой аномерный углерод связана с другой группой через гликозидную связь. Гликозиды могут быть связаны через атом O- (O-гликозид), N-(гликозиламин), S-(тиогликозид) или C-(C-гликозид) гликозидную связь. Они имеют структурную эмпирическую формулу $C_m(H_2O)_n$

(где m может отличаться от n , и при этом m и $n < 36$). Глюкозид в данном документе включает глюкозу (декстрозу), фруктозу (левулозу), аллозу, альтрозу, маннозу, гулозу, йодозу, галактозу, талозу, галактозамин, глюкозамин, сиаловую кислоту, N-ацетилглюкозамин, сульфохинозосу (6-дезоксиглюкопиранозу), рибозу, арабинозу, ксилозу, ликсозу, сорбит, маннит, сахарозу, лактозу, мальтозу, трегалозу, мальтодекстрины, рафинозу, глюкуроновую кислоту (глюкуронид) и стахиозу. Он может быть в форме D или форме L, 5-атомной циклической форме фуранозы, 6-атомной циклической форме пиранозы или ациклической форме, α -изомера (-ОН аномерный атом углерода находится ниже плоскости атомов углерода проекции Хауорта) или β -изомера (-ОН аномерный атом углерода находится над плоскостью атомов углерода проекции Хауорта). В настоящем изобретении он используется как моносахарид, дисахарид, полиол или олигосахарид, содержащий 3–6 звеньев сахара.

Термин «антитело» в контексте настоящего документа относится к полноразмерной молекуле иммуноглобулина или иммунологически активной части полноразмерной молекулы иммуноглобулина, т. е. к молекуле, которая содержит антигенсвязывающий участок, который иммуноспецифически связывает антиген интересующей мишени или его часть, причем такие мишени включают, без ограничений, раковую клетку или клетки, продуцирующие аутоиммунные антитела, связанные с аутоиммунным заболеванием. Описываемый в настоящем документе иммуноглобулин может быть любого типа (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA и IgY), класса (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или подкласса молекул иммуноглобулина. Иммуноглобулины могут быть получены из любых видов. Однако предпочтительно, чтобы иммуноглобулин имел происхождение от человека, мыши или кролика. Антитела, используемые в изобретении, предпочтительно являются моноклональными и включают, без ограничений, поликлональные, моноклональные, биспецифичные, человеческие, гуманизированные или химерные антитела, одноцепочечные антитела, Fv, Fab-фрагменты, F(ab')-фрагменты, F(ab')₂-фрагменты, фрагменты, полученные из библиотеки экспрессии Fab, антиидиотипические (анти-Id) антитела, CDR и эпитоп-связывающие фрагменты любого из вышеперечисленного, которые иммуноспецифически связываются с антигенами раковых клеток, вирусными антигенами или микробными антигенами.

«Энантиомер», также известный как «оптический изомер», представляет собой один из двух стереоизомеров, которые являются зеркальными отображениями друг друга, которые не накладываются друг на друга (не идентичны), одинаковые подобно тому, как одинаковы левая и правая рука, за исключением того, что они отражены вдоль одной оси

(руки не могут стать идентичными просто путем переориентации). Один хиральный атом или аналогичный структурный элемент в соединении приводит к тому, что соединение имеет две возможные структуры, которые не могут быть наложены друг на друга, и каждая из которых является зеркальным отражением другой. Наличие множества хиральных элементов в данном соединении увеличивает число возможных геометрических форм, хотя могут существовать некоторые пары с идеальным зеркальным отображением. Энантио-чистые соединения относятся к образцам, имеющим в пределах обнаружения молекулы только одной хиральности. Когда энантиомеры находятся в симметричной среде, они имеют идентичные химические и физические свойства, за исключением способности вращать плоскополяризованный свет (+/–) в равной степени, но в противоположных направлениях (хотя поляризованный свет можно считать асимметричной средой). По этой причине их иногда называют оптическими изомерами. Смесь *равных частей* оптически активного изомера и его энантиомера называется рацемической и имеет нулевое суммарное вращение плоскополяризованного света, поскольку положительное вращение каждой (+) формы точно противодействует отрицательному вращению (–). Представители энантиомеров часто вступают в различные химические реакции с другими энантиомерными веществами. Поскольку многие биологические молекулы являются энантиомерами, иногда существуют заметные различия в воздействии двух энантиомеров на биологические организмы. В лекарственных средствах, например, часто только один из энантиомеров лекарственного средства отвечает за желаемые физиологические эффекты, в то время как другой энантиомер является менее активным, неактивным или иногда даже может приводить к появлению побочных эффектов. Благодаря этому открытию могут быть разработаны лекарственные средства, состоящие только из одного энантиомера («энантиомерно чистые»), чтобы повысить фармакологическую эффективность, а иногда устранить некоторые побочные эффекты.

Изотопы — это варианты определенного химического элемента, который отличается количеством нейтронов. Все изотопы данного элемента имеют в каждом атоме одинаковое количество протонов. Каждый атомный номер обозначает определенный элемент, но не изотоп; атом данного элемента может иметь широкий диапазон количества нейтронов. Число нуклонов (как протонов, так и нейтронов) в ядре является массовым числом атома, и каждый изотоп данного элемента имеет отличное массовое число. Например, углерод-12, углерод-13 и углерод-14 являются тремя изотопами элемента углерода с массовыми числами 12, 13 и 14 соответственно. Атомный номер углерода равен 6, что означает, что каждый атом углерода имеет 6 протонов, так что число нейтронов этих изотопов составляет

6, 7, и 8, соответственно. Атом водорода имеет три изотопа; протий (^1H), дейтерий (^2H) и тритий (^3H), причем масса дейтерия в два раза больше массы протия, а масса трития в три раза больше массы протия. Для определения механизма химической реакции посредством кинетического изотопного эффекта может быть использовано изотопное замещение. Изотопное замещение может быть использовано для изучения того, как организм воздействует на определенное ксенобиотическое/ химическое соединение после его введения через механизмы всасывания и распределения, а также для изучения метаболических изменений вещества в организме (например, посредством метаболических ферментов, таких как цитохром P450 или ферменты глюкуронозилтрансферазы), а также эффектов и путей выведения метаболитов препарата. Такое исследование называется фармакокинетическим (ФК). Изотопное замещение может быть использовано для изучения биохимических и физиологических эффектов лекарств. Эффекты могут включать те, которые проявляются у животных (включая людей), микроорганизмов или комбинаций организмов (например, инфекция). Такое исследование называется фармакодинамическим (ФД). Эффекты могут включать те, которые проявляются у животных (включая людей), микроорганизмов или комбинаций организмов (например, инфекция). Оба вместе влияют на дозировку, пользу и побочные эффекты препарата. Изотопы могут содержать стабильный (нерадиоактивный) или нестабильный элемент. Терапевтическая эффективность лекарственного средства с изотопным замещением может отличаться от терапевтической эффективности исходного лекарственного средства.

Термин «фармацевтически» или «фармацевтически приемлемый» относится к молекулярным веществам и композициям, которые не вызывают побочную, аллергическую или другую неблагоприятную реакцию при введении животному или человеку, в зависимости от ситуации.

Термины «фармацевтически приемлемый сольват» или «сольват» относятся к ассоциации одной или более молекул растворителя и раскрытого соединения. Примеры растворителей, которые образуют фармацевтически приемлемые сольваты, включают, без ограничений, воду, изопропанол, этанол, метанол, ДМСО, этилацетат, уксусную кислоту и этаноламин.

Термин «фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество» включает любые носители, разбавители, адъюванты или носители, такие как консерванты или антиоксиданты, наполнители, дезинтегрирующие агенты, смачивающие агенты, эмульгирующие агенты, суспендирующие агенты, растворители, дисперсионные среды,

покрытия, антибактериальные и противогрибковые агенты, изотонические агенты и агенты, замедляющие абсорбцию, и тому подобное. Использование таких сред и агентов для фармацевтически активных веществ хорошо известно в данной области техники. За исключением случаев, когда какой-либо обычный носитель или агент несовместим с активным ингредиентом, предполагается его использование в терапевтических композициях. Дополнительные активные ингредиенты также могут быть включены в композиции в виде подходящих терапевтических комбинаций.

Как используется в данном документе, термин «фармацевтические соли» относится к производным раскрытых соединений, в которых исходное соединение модифицируется путем получения его кислотных или основных солей. Фармацевтически приемлемые соли включают в себя обычные нетоксичные соли или четвертичные аммониевые соли исходного соединения, образованные, например, из нетоксичных неорганических или органических кислот. Например, такие обычные нетоксичные соли включают соли, полученные из неорганических кислот, таких как хлористоводородная, бромистоводородная, серная, сульфаминовая, фосфорная, азотная кислота и тому подобное; и соли, полученные из органических кислот, таких как уксусная, пропионовая, янтарная, винная, лимонная, метансульфоная, бензолсульфоная, глюкуроновая, глутаминовая, бензойная, салициловая, толуолсульфоная, щавелевая, фумаровая, малеиновая, молочная кислота и тому подобное. Дополнительные соли присоединения включают соли аммония, такие как трометамин, меглюмин, эполамин и т. п., соли металлов, таких как натрий, калий, кальций, цинк или магний.

Фармацевтические соли по настоящему изобретению могут быть синтезированы из исходного соединения, которое содержит основной или кислотный фрагмент, обычными химическими способами. Как правило, такие соли могут быть получены реакцией свободных кислотных или основных форм данных соединений со стехиометрическим количеством подходящего основания или кислоты в воде или в органическом растворителе или в их смеси. Как правило, неводные среды, такие как простой эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил, являются предпочтительными. Списки подходящих солей можно найти в публикации Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1985, p. 1418, раскрытие которой включено в настоящий документ путем ссылки.

Термин «введение» относится к любому способу переноса, доставки, введения или транспортировки фармацевтического лекарственного средства или другого агента субъекту. Такие способы включают пероральное введение, местный контакт, внутривенное,

внутрибрюшинное, внутримышечное, интралезиальное, интраназальное, подкожное или интратекальное введение. Настоящее изобретение также предусматривает использование устройства или инструмента для введения агента. Такое устройство может использовать активную или пассивную транспортировку и может быть устройством доставки с медленным или быстрым высвобождением.

«Терапевтически эффективное количество» означает количество соединения/лекарственного средства в соответствии с данным изобретением, эффективное для предупреждения или лечения патологического состояния, указанного в данном документе.

Термин «пациент» или «пациент, нуждающийся в этом» предназначен для животного или человека, подверженного или имеющего вероятность патологического состояния, указанного в данном документе. Предпочтительно, пациентом является человек.

В контексте онкологического заболевания термин «лечение» включает любое или все из следующего: предотвращение роста опухолевых клеток или раковых клеток, предотвращение репликации опухолевых клеток или раковых клеток, уменьшение общей опухолевой нагрузки и ослабление одного или более симптомов, связанных с заболеванием.

В контексте аутоиммунного заболевания термин «лечение» включает любое или все из следующего: предотвращение репликации клеток, связанных с состоянием аутоиммунного заболевания, включая, без ограничений, клетки, способные продуцировать аутоиммунное антитело; уменьшение нагрузки аутоиммунных антител и ослабление одного или более симптомов аутоиммунного заболевания.

В контексте инфекционного заболевания термин «лечение» включает любое или все из следующего: предотвращение роста, размножения или репликации патогенного микроорганизма, вызывающего инфекционное заболевание, и ослабление одного или более симптомов инфекционного заболевания.

Примеры «млекопитающего» или «животного» включают, без ограничений, человека, крысу, мышь, морскую свинку, обезьяну, свинью, козу, корову, лошадь, собаку, кошку, домашнюю и дикую птицу.

Термины «соединение», «цитотоксический агент», «цитотоксическое соединение», «цитотоксический димер» и «цитотоксическое димерное соединение» используются взаимозаменяемо. Они предназначены для включения соединений, для которых структура или формула или любое их производное были описаны в данном изобретении, или структура или формула или любое их производное, которые включены посредством ссылки. Данный термин также включает стереоизомеры, геометрические изомеры, таутомеры,

сольваты, метаболиты, соли (например, фармацевтически приемлемые соли), пролекарства и соли пролекарств соединений всех формул, описанных в данном изобретении. Данный термин также включает любые сольваты, гидраты и полиморфные модификации любого из вышеперечисленного. Конкретное упоминание терминов «стереоизомеры», «геометрические изомеры», «таутомеры», «сольваты», «метаболиты», «соль», «пролекарство», «соль пролекарства», «конъюгаты», «соли конъюгатов», «сольват», «гидрат» или «полиморфная модификация» в определенных аспектах данного изобретения, описанные в данной заявке, не следует понимать как предполагаемое упущение данных форм в других аспектах данного изобретения, в котором термин «соединение» используется без упоминания данных других форм.

Термин «реакционноспособный реагент к имину» относится к реагенту, который способен реагировать с иминогруппой. Примеры реагента, реакционноспособного к имину включают, но не ограничиваясь ими, сульфиты (H_2SO_3 , H_2SO_2 или соль HSO_3^- , SO_3^{2-} или HSO_2^- , образованную с катионом), метабисульфит ($\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_5$ или соль $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$, образованную с катионом), моно, ди, три и тетра-тиофосфаты (PO_3SH_3 , $\text{PO}_2\text{S}_2\text{H}_3$, POS_3H_3 , PS_4H_3 или соль PO_3S^{3-} , $\text{PO}_2\text{S}_2^{3-}$, POS_3^{3-} или PS_4^{3-} , образованную с катионом), тиофосфатные эфиры ($(\text{R}_5\text{O})_2\text{PS}(\text{OR}_5)$, R_5SH , R_5SOH , $\text{R}_5\text{SO}_2\text{H}$, $\text{R}_5\text{SO}_3\text{H}$), различные амины (гидроксиламин (NH_2OH), гидразин (NH_2NH_2), NH_2OR_5 , R_5NHR_5 , NH_2R_5), $\text{NH}_2\text{-CO-NH}_2$, $\text{NH}_2\text{-C(=S)-NH}_2$), тиосульфат ($\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_3$ или соль $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, образованную с катионом), дитионит ($\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_4$ или соль $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$, образованную с катионом), фосфородитиоат ($\text{P(=S)(OR}_5\text{)(SH)(OH)}$ или его соль, образованную с катионом), гидроксамовую кислоту ($\text{R}_5\text{C(=O)NHOH}$ или соль, образованную с катионом), гидразид ($\text{R}_5\text{CONHNH}_2$), формальдегид сульфоксилат ($\text{HOCH}_2\text{SO}_2\text{H}$ или соль $\text{HOCH}_2\text{SO}_2^-$, образованную с катионом, такую как $\text{HOCH}_2\text{SO}_2^-\text{Na}^+$), гликозилированный нуклеотид (такой как ГДФ-манноза), флударабин или их смесь, где R_5 и R_5' каждый независимо представляет собой линейный или разветвленный алкил, имеющий от 1 до 8 атомов углерода, и замещен по меньшей мере одним заместителем, выбранным из $-\text{N(R}_5\text{)(R}_5')$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_3\text{H}$ и $-\text{PO}_3\text{H}$; R_5 и R_5' дополнительно могут являться необязательно замещенными алкильным заместителем, как описано в данном документе; предпочтительно, указанный катион представляет собой моновалентный катион, например Na^+ или K^+ . Предпочтительно, указанный реакционноспособный реагент к имину выбран из сульфитов, гидроксиламина, мочевины и гидразина. Более предпочтительно, указанный реакционноспособный реагент к имину представляет собой NaHSO_3 или KHSO_3 .

«агенты, связывающиеся с клетками» или «молекулы, связывающиеся с клетками» могут быть любого вида, известного в настоящее время, или которые стали известными, и

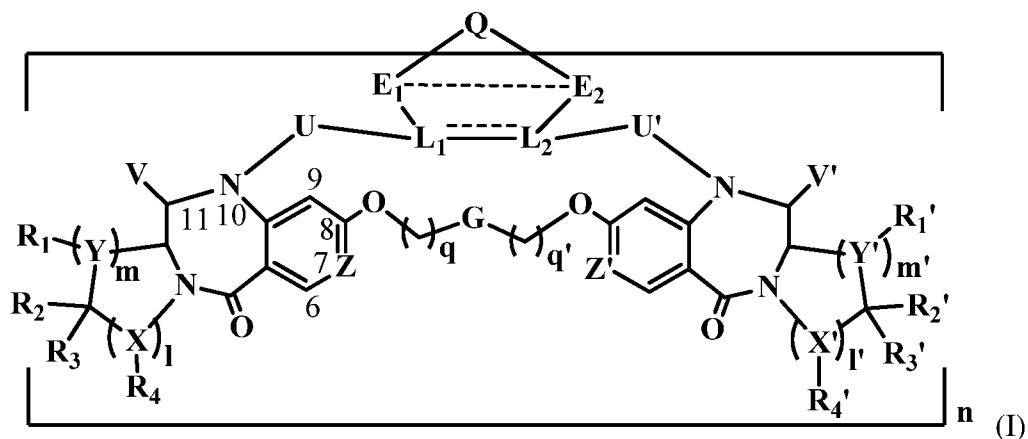
включают пептиды и непептиды. Как правило, они могут представлять собой антитела (особенно, моноклональные антитела) или фрагмент антитела, содержащий по меньшей мере один сайт связывания, лимфокины, гормоны, факторы роста, молекулы-переносчики питательных веществ (такие как трансферрин) или любые другие молекулы, связывающиеся с клетками (такие как витамины).

Более конкретные примеры агентов, связывающихся с клетками, которые могут быть использованы, включают: моноклональные антитела; одноцепочечные антитела; фрагменты антител, такие как Fab, Fab', F(ab')₂, F_v, {Parham, 131 J. Immunol. 2895-2902 (1983); Spring et al, 113 J. Immunol. 470-478 (1974); Nisonoff et al, 89 Arch. Biochem. Biophys. 230-244 (1960)}, фрагменты, полученные из библиотеки экспрессии Fab, антиидиотипические (анти-Id) антитела, CDR и фрагменты, связывающиеся с эпитопом любого из вышеуказанного, которые иммуноспецифически связываются с антигенами раковых клеток, вирусными антигенами или микробными антигенами; интерфероны; пептиды; лимфокины, такие как ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-6; гормоны, такие как инсулин, TRH (тиреотропин релизинг гормоны), МСГ (меланоцитостимулирующий гормон), стероидные гормоны, такие как андрогены и эстрогены; факторы роста и колониестимулирующие факторы, такие как EGF, TGF α , инсулиноподобный фактор роста (IGF-I, IGF-II) G-CSF, M-CSF и GM-CSF {Burgess, 5 Immunology Today 155-158 (1984)}; витамины, такие как фолат и; трансферрин {O'Keefe et al, 260 J. Biol. Chem. 932-937 (1985)}.

Технология моноклональных антител позволяет получение чрезвычайно селективных агентов, связывающихся с клетками, в виде конкретных моноклональных антител. Особенно известными в данной области техники являются методики создания моноклональных антител, получаемых иммунизацией мышей, крыс, хомяков или любых других млекопитающих антигеном, представляющим интерес, таким как неповрежденная целевая клетка, антигены, выделенные из целевой клетки, цельный вирус, ослабленный цельный вирус, и вирусные белки, такие как белки вирусного капсида. Выбор соответствующего агента, связывающегося с клетками, представляет собой вопрос выбора, который зависит от конкретной клеточной популяции, которая должна быть таргетирована, но в целом моноклональные антитела являются предпочтительными, если подходящее антитело является доступным.

СШИТЫЕ PBD И ИХ КОНЬЮГАТЫ.

Сшитые производные димера PBD, которые являются конъюгированными или могут быть конъюгированными с молекулой, связывающейся с клетками, для таргетированного лечения пролиферации клеток, имеют структуру Формулы (I), как показано ниже:



или их фармацевтически приемлемые соли, гидраты или гидратированные соли, или полиморфные кристаллические структуры данных соединений или их оптические изомеры, рацематы, диастереомеры или энантиомеры;

где:

----- представляет собой необязательную одинарную связь или может отсутствовать;

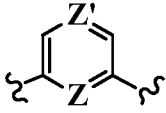
===== представляет собой необязательную одинарную связь или двойную связь;

V и V' являются одинаковыми или разными и независимо выбраны из группы, состоящей из H, OH, -NHOH; OR₅ (простой эфир); OCOR₅ (сложный эфир); OCOOR₅ (карбонат); NR₅R₅', NR₅COR₅' или NR₅NR₅'NR₅' (амин); OCONR₅R₅' (карбамат); NR₅(C=NH)NR₅'R₅' (гуанидин); NR₅CONR₅'R₅' (мочевина); OCSNHR₅ (тиокарбамат); -SH (тиол); -SR₅ (сульфид); SOR₅ (сульфоксид); SOOR₅ (сульфон); SO₃, HSO₃, HSO₂ или соли HSO₃³⁻, SO₃²⁻ или -HSO₂⁻ (сульфит); OSO₃ (бисульфит); NR₅SOOR₅' (сульфонамид); H₂S₂O₅ или соли S₂O₅²⁻ (метабисульфит); PO₃SH₃, PO₂S₂H₂, POS₃H₂, PS₄H₂ или соли PO₃S³⁻, PO₂S³⁻, POS₃³⁻, PS₄³⁻ (моно-, ди-, три-, и тетра-тиофосфат); (R₅O)₂POSR₅' (сложный эфир тиофосфата); HS₂O₃ или соли S₂O₃²⁻ (тиосульфат); HS₂O₄ или соли S₂O₄²⁻ (дитионит); P(=S)(OR₅)(S)(OH) (фосфородитиоат) или их соли, образованные катионом; -NR₅OR₅' (производное гидроксилamina); R₅C(=O)NOH (гидроксамовая кислота) или их соли, образованные катионом; HOCH₂SO₂⁻, или его соли (формальдегидсульфоксилат); NR₅COR₅' (амид); O-гликозид; N₃ (азидо); CN (циано); X (галоген); C(R₅)(R₅') (R₅'') (триалкил), OP(O)(OR₅)(NHR₅') или OP(O)(NHR₅)(NHR₅') (фосфорамидат (фосфорамидная кислота), или P(R₅)(R₅') (R₅'') триарилфосфоний; Ак (аминокислота) или NR₅CO(Ак)t (пептид), где Ак представляет собой аминокислоту или полипептид, содержащий t = 1~100 аминокислотных остатков; группу производного аминокислоты: α-, β-, γ- или ω-аминокислоту или неприродную аминокислоту; где R₅, R₅' и R₅'' описаны ниже;

l, m, q, l', m' и q' независимо равны 0, 1, 2, 3, 4 или 5; n равно 1~30;

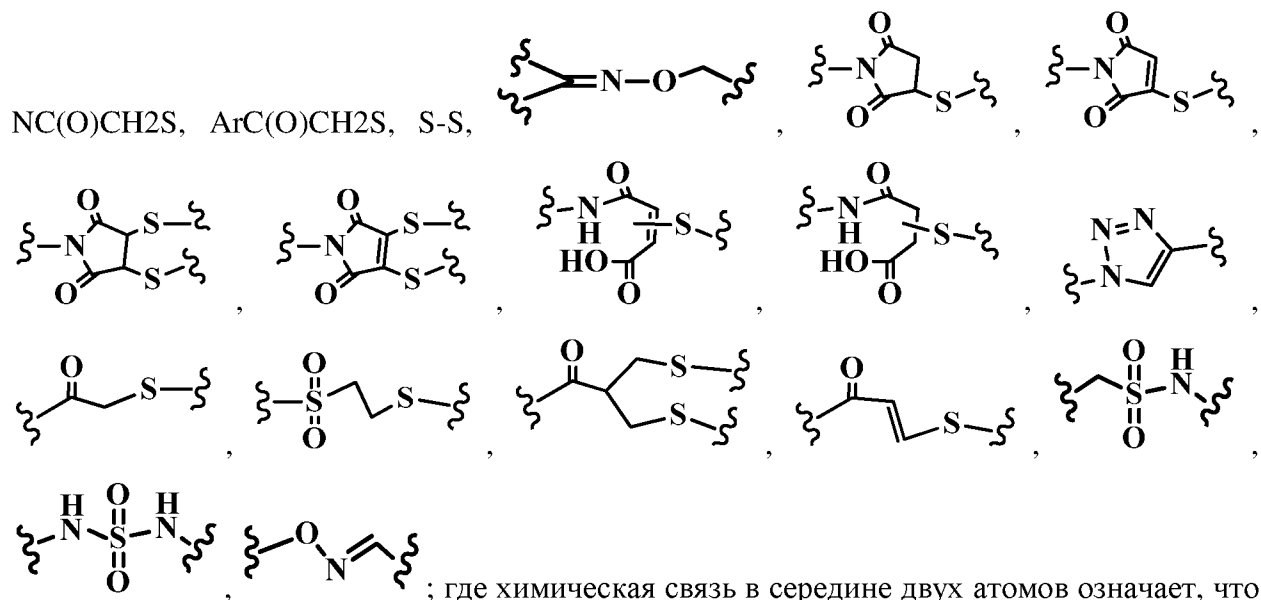
X, X', Y и Y', одинаковые или различные, независимо представляют собой N, O, S, алкил, такой как CH₂ или CHR₅, алкен, такой как =CH- или =CR₅-, простой эфир, такой как -C(OR₅)H-;

Z и Z' одинаковые или различные, независимо представляют собой N, CH, CR₅, COH, CNH₂, CNHR₅, или COR₅, или Z и Z' связаны вместе с -COR₅OC-; где R₅ независимо выбран из C₁-C₈ алкила и арила;

G представляет собой -CH₂-, O, -N(R₅)-, S, -P(O)(OR₅)-, -P(O)(N R₅R₅'-), , где Z и Z' определены выше;

U и U' независимо представляют собой C(O), C(O)O, C(O)NH, C(O)N(R₅), C(=NH), C(=NH)O, C(=NH)NH, C(=NH)N(R₅), -C=N-, C(=S), C(O)S, C(S)NH, C(S)N(R₅), S(O), S(O)O, S(O)NH, S(O)(OR₅), S(O)(N(R₅)), S(O₂), S(O₂)O, P(O)(OR₅), P(O)(OR₅)O, P(O)(NH₂), P(O)(NR₅R₅'), P(O)(OR₅)NH-, P(O)(OR₅)NR₅'-, P(O) (N(R₅R₅') (N(R₅), P(S)(OR₅), P(S)(OR₅)O, P(S)(NH₂), P(S)(NR₅R₅'), P(S)(OR₅)NH-, P(S)(OR₅)NR₅'-, P(S)(N(R₅R₅')N(R₅), R₅, R₅O;

E1 и E2 независимо представляют собой S, R₅S, C(O)S, C(O)NH, C(O)O, C(O)R₅S, C(=NH)NH, C(=NH)N(R₅), C(=NH)S, -C=N-, C(=S)S, C(O)S, C(=S)NH, C(=S)N(R₅), Ar-S,



L₁ и L₂ независимо представляют собой линкер или линкер, который имеет функциональную группу, которая позволяет реакцию с агентом, связывающимся с клетками (CBA), Q. L₁ и L₂ предпочтительно независимо представляют собой способный к отделению линкер, который имеет формулу: —Ww—(Ак)r—Tt—; или —Ww—(Ак)r—Tt—Q; или Q—Ww—(Ак)r—Tt—; где: -W- представляет собой единицу вставки; w равно 0 или

1; -Ак- независимо представляет собой аминокислотный остаток; r независимо представляет собой целое число от 0 до 100; -Т- представляет собой спейсерную единицу, которая может представлять собой линейный алкил, разветвленный алкил или полиэтиленгликоль; и t равно 0 или 1~100. Указанная единица вставки W может независимо содержать саморасщепляющийся спейсер, пептидные единицы, гидразоновую связь, дисульфидную, сложноэфирную или тиоэфирную связь; w равно 1, 2 или 3; Предпочтительно, L1 и L2 независимо выбраны из O, NH, N, S, P, NNH, NHHN, N(R₃), N(R₃)N(R₃'), CH, CO, C(O)NH, C(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)O, полиэтиленокси единицы формулы $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p\text{OR}_3$, $(\text{OCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3))_p\text{OR}_3$, $\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_p\text{R}_3$, $\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{O})_p\text{R}_3$, $\text{N}[(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_p\text{R}_3]-[(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{p'}\text{R}_3']$, $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p\text{COOR}_3$ или $\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p\text{COOR}_3$, где p и p' независимо представляют собой целые числа, выбранные из от 0 до около 1000, или их комбинации; C₁-C₈ алкила; C₂-C₈ гетероалкила, алкилциклоалкила, гетероциклоалкила; C₃-C₈ арила, Ar-алкила, гетероцикла, карбоцикла, циклоалкила, гетероалкилциклоалкила, алкилкарбонила, гетероарила; или (Ак)_r, r равно 1-12 (от одного до 12 аминокислотных остатков), который состоит из природных или неприродных аминокислот, или одинаковых или различных последовательностей единицы дипептида, трипептида, тетрапептида, пентапептида, гексапептида, гептапептида, октапептида, нонапептида, декапептида, ундекапептида или додекапептида;

R₁, R₂, R₃, R₄, R₁', R₂', R₃' и R₄' являются одинаковыми или различными и независимо выбраны из группы, включающей -H, необязательно замещенный линейный, разветвленный или циклический алкил, алкенил или алкинил, имеющий от 1 до 10 атомов углерода, $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t\text{R}_5$ (остаток полиэтиленгликоля), галоген, $\text{NH}(\text{C}=\text{NH})\text{NH}_2$ (гуанидиний), $-\text{OR}_5$, $-\text{NR}_5\text{R}_5'$, $-\text{NO}_2$, $-\text{NCO}$, $-\text{NR}_5\text{COR}_5'$, $-\text{SR}_5$, $-\text{SOR}_5$ (сульфоксид), $-\text{SO}_2\text{R}_5$ (сульфон), $-\text{SO}_3^-\text{M}^+$ или $-\text{SO}_3\text{H}$ (сульфонат), $-\text{OSO}_3^-\text{M}^+$ или OSO_3H (сульфат), $-\text{SO}_2\text{NR}_5\text{R}_5'$ (сульфонамид), CN (циано), N₃ (азидо), $-\text{COR}_5$, $-\text{OCOR}_5$, $-\text{CONR}_5\text{R}_5'$, CF₃, OR₅, арил, гетероцикл или P(O)R₅R₅'R₅'' и линкерную группу (L'') с реакционноспособной группой или агентом, связывающимся с клетками, связанными с ней, когда Q, Q' и T отсутствуют;

R₅, R₅' и R₅'' независимо выбраны из H, C₁-C₈ алкила, алкенила, алкинила, гетероалкила, арила, ариалалкила, карбонила или фармацевтических солей;

Кроме того, R₁ и R₂ соединены вместе, или R₁' и R₂' соединены вместе с образованием =O (кетона), =S, =NR, -C(=O)R или группы, содержащей двойную связь =CR₅R₅'; и R₁ и R₂ соединены вместе, или R₁' и R₂' соединены вместе, или R₃ и R₄ соединены вместе, или R₃' и R₄' соединены вместе с образованием C₃-C₁₂ ароматического, гетероциклического или гетероарильного кольца;

Q представляет собой молекулу, связывающуюся с клетками, или функциональную группу, которая позволяет реакцию с агентом, связывающимся с клетками, или функциональную группу, способную реагировать с линкером, присоединенным к агенту, связывающемуся с клетками. Указанная функциональная группа выбрана из тиола, амина, гидразина, алкоксиламино, дисульфидного заместителя, малеимида, галогенацетильной группы, N-гидроксисукцинимидного эфира, кетона, сложного эфира, альдегида, алкинила, алкенила, защищенного тиола или дисульфидной группы, такой как SAc, SSR₁ или SSAg. Ag представляет собой ароматическую группу или гетероароматическую группу. Q предпочтительно представляет собой связывающийся с клеткой агент/молекулу, выбранные из группы, состоящей из антитела, одноцепочечного антитела, фрагмента антитела, который связывается с клеткой-мишенью, моноклонального антитела, одноцепочечного моноклонального антитела, фрагмента моноклонального антитела, который связывается с клеткой-мишенью, химерного антитела, фрагмента химерного антитела, который связывается с клеткой-мишенью, доменного антитела, фрагмента доменного антитела, который связывается с клеткой-мишенью, аднектина, который имитирует антитело, белков DARP, лимфокина, гормона, витамина, фактора роста, колониестимулирующего фактора или переносимых питательных веществ молекулы (трансферрина), связывающего пептида, белка или малой молекулы, прикрепленной к альбумину, полимеру, дендримеру, липосоме, наночастице, везикуле или (вирусному) капсиду;

Термин «высвобождаемый линкер» относится к линкеру, который включает по меньшей мере одну связь, которая может быть разорвана в физиологических условиях, таких как pH-лабильная, кислотно-лабильная, щелочно-лабильная, окислительно-лабильная, метаболически лабильная, биохимически лабильная или фермент-лабильная связь. Понятно, что такие физиологические условия, приводящие к разрыву связи, необязательно включают биологический или метаболический процесс и вместо этого могут включать стандартную химическую реакцию, такую как реакция гидролиза или замещения, например, эндосома, имеющая более низкий pH, чем цитозольный pH и/или реакцию обмена дисульфидной связи с внутриклеточным тиолом, таким как миллимолярный диапазон избытка глутатиона внутри злокачественных клеток;

Указанная единица вставки (--W--), при наличии, может являться присоединенной к таргетированному молекулярному остатку для связывания (CBA) к аминокислотному остатку (--Ак--), или присоединенной к T, когда Ак отсутствует. Указанная единица вставки W может независимо содержать саморасщепляющийся спейсер, пептидные единицы,

гидразоновую связь, дисульфидные или тиоэфирные связи. В связи с этим молекула, связывающаяся с клетками (СВА) имеет функциональную группу, которая может образовывать связь с функциональной группой вставки. Пригодные функциональные группы, которые могут присутствовать на связывающей молекуле, либо естественным образом, либо вследствие химических манипуляций, включают, но не ограничиваются ими, сульфгидрил ($--SH$), amino, гидроксил, оксиамино, алкинил, гетероароматическую группу, карбонил, аномерную гидроксильную группу углевода и карбоксил. Предпочтительные функциональные группы представляют собой сульфгидрил, карбокси и amino. Сульфгидрильные группы могут быть получены путем восстановления внутримолекулярной дисульфидной связи лиганда (такого как белок или антитело). В альтернативном варианте, сульфгидрильные группы могут быть получены путем реакции аминогруппы лизинового фрагмента молекулы, связывающейся с клетками, с использованием 2-иминотиолана (реагент Траута), тиолактона или другого реагента для генерирования сульфгидрильной группы, например, модификацией молекулы, связывающейся с клетками, дисульфидным линкером или тиоловым эфиром с последующим восстановлением или гидролизом, соответственно.

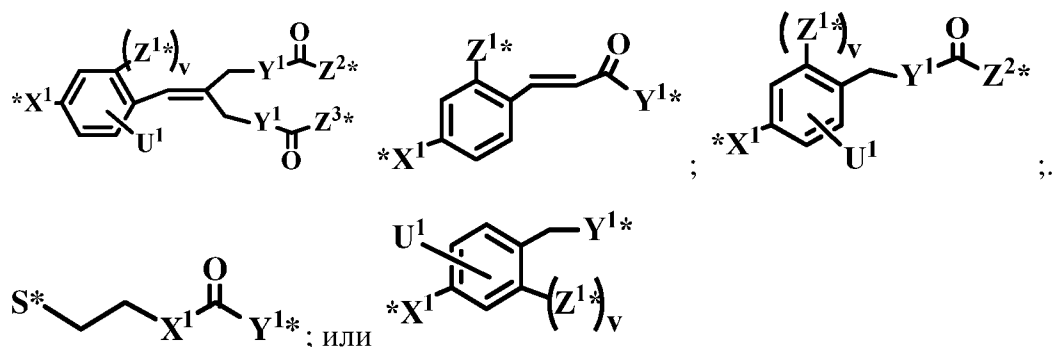
Предпочтительно, L_1 и L_2 независимо представляют собой цепь атомов, выбранных из C, N, O, S, Si и P, имеющую 0~500 атомов. Атомы, используемые для образования L_1 и L_2 могут быть объединены всеми химически разрешенными способами, предпочтительно, представляют собой $C_1 - C_{20}$ алкилен, алкенилен и алкинилен, простые эфиры, полиоксиалкилен, сложные эфиры, амины, имины, полиамины, гидразины, гидразоны, амиды, мочевины, семикарбазиды, карбазиды, алкоксиамины, алкоксиламины, уретаны, аминокислоты, пептиды, ацилоксиламины, гидроксамовые кислоты или комбинацию вышеперечисленного. Более предпочтительно, L_1 и L_2 , одинаковые или различные, независимо выбраны из группы, включающей O, NH, S, NHHN, $N(R_3)$, $N(R_3)N(R_3')$, $C_1 - C_8$ алкил, амид, амины, имины, гидразины, гидразоны; $C_2 - C_8$ гетероалкил, алкилциклоалкил, простые эфиры, сложные эфиры, гидразоны, мочевины, семикарбазиды, карбазиды, алкоксиамины, уретаны, аминокислоты, пептиды, ацилоксиламины, гидроксамовые кислоты или гетероциклоалкил; $C_3 - C_8$ арил, Ar-алкил, гетероцикл, карбоцикл, циклоалкил, гетероалкилциклоалкил, алкилкарбонил или гетероарил; полиэтиленокси единицу формулы $(OCH_2CH_2)_pOR_3$, $(OCH_2CH(CH_3))_pOR_3$, $NH(CH_2CH_2O)_pR_3$, $NH(CH_2CH(CH_3)O)_pR_3$, $N[(CH_2CH_2O)_pR_3] - [(CH_2CH_2O)_pR_3']$, $(OCH_2CH_2)_pCOOR_3$ или $CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_pCOOR_3$, где p и p' независимо представляют собой целое число в диапазоне от 0 до около 5000, или их комбинацию; где R_3 и R_3' независимо представляют собой H; $C_1 - C_8$ алкил; $C_2 - C_8$

гетероалкил, алкилциклоалкил или гетероциклоалкил; C_3 - C_8 арил, Ar-алкил, гетероцикл, карбоцикл, циклоалкил, гетероалкилциклоалкил, алкилкарбонил или гетероарил; или C_2 - C_8 сложные эфиры, простой эфир или амид; или 1~8 аминокислоты; или полиэтиленокси единицу формулы $OCH_2CH_2)_p$ или $(OCH_2CH(CH_3))_p$, где p представляет собой целое число от 0 до около 5000, или их комбинацию;

Необязательно L_1 и L_2 могут независимо состоять из одного или более линкерных компонентов из группы, включающей 6-малеимидокапроил («MC»), малеимидопропаноил («MP»), валин-цитруллин («val-cit» или «vc»), аланин-фенилаланин («ala-phe» или «af»), пара-аминобензилоксикарбонил («PAB»), 4-тиопентаноат («SPP»), 4-(N-малеимидометил)циклогексан-1 карбоксилат («MCC»), (4-ацетил)амино-бензоат («SIAB»), 4-тио-бутират (SPDB), 4-тио-2-гидроксисульфонил-бутират (2-сульфо-SPDB), или природные или неприродные пептиды, содержащие 1~8 остатков природных или неприродных аминокислот. Природная аминокислота предпочтительно выбрана из аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, аргинина, гистидина, лизина, серина, треонина, аспарагина, глутамина, цистеина, селеноцистеина, тирозина, фенилаланина, глицина, пролина, триптофана, аланина;

L_1 и L_2 могут также независимо содержать саморасщепляющийся или несаморасщепляющийся компонент, пептидные единицы, гидразоновую связь, дисульфид, сложный эфир, оксим, амид или тиоэфирную связь. Саморасщепляющийся фрагмент включает, без ограничений, ароматические соединения, которые в сходны по электронной конфигурации с пара-аминобензилкарбамоильными (PAB) группами, такими как производные 2-аминоимидазол-5-метанола, гетероциклические аналоги PAB, бета-глюкуронид и орто- или пара-аминобензилацетали;

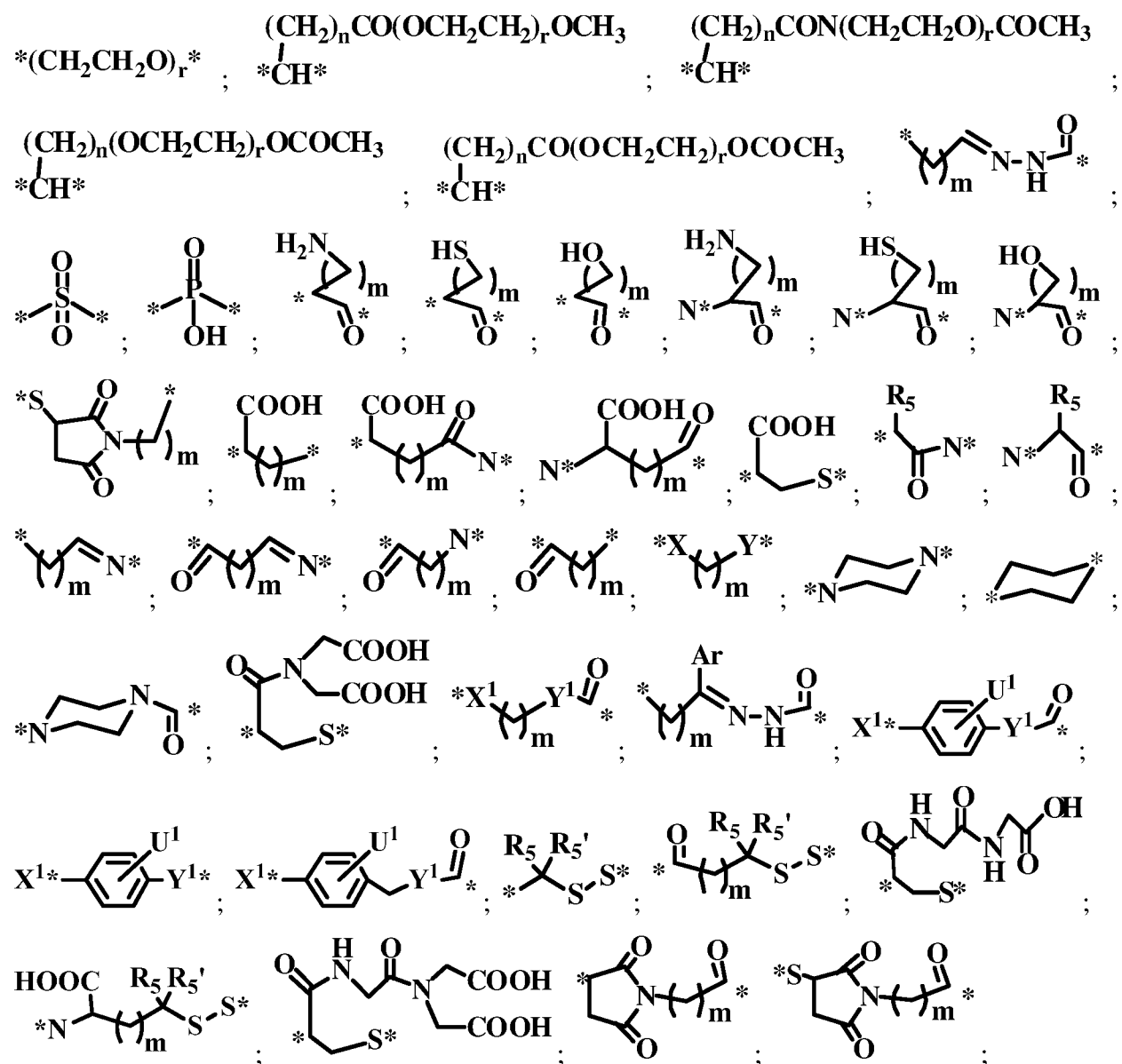
Предпочтительно, саморасщепляющийся линкерный компонент имеет одну из следующих структур:

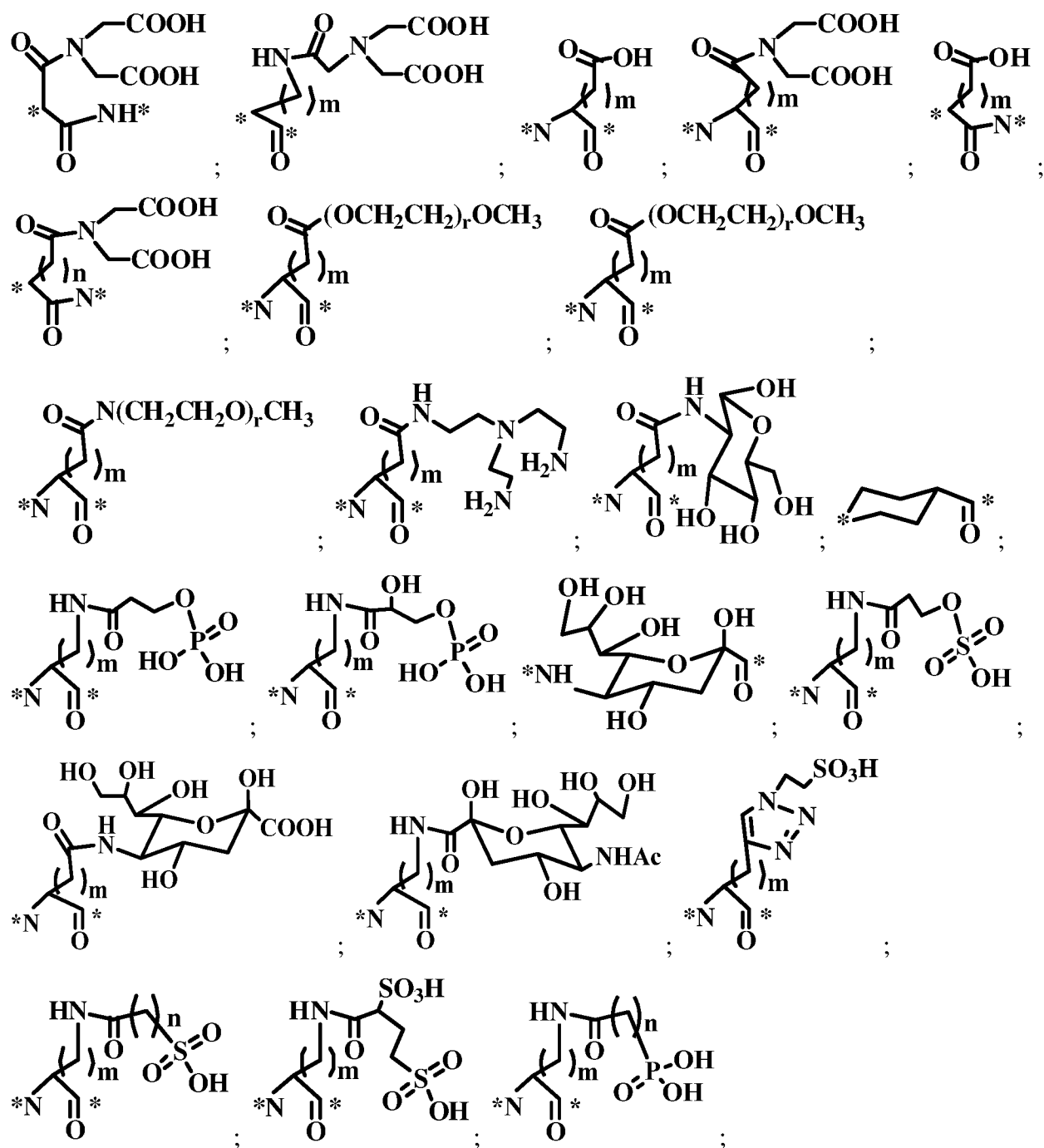


где (*) атом представляет собой точку присоединения дополнительных спейсерных или высвобождаемых линкерных фрагментов или цитотоксического агента и/или

связывающейся молекулы (СВА); X^1 , Y^1 , Z^2 и Z^3 независимо представляют собой НН, О или S; Z^1 представляет собой Н, ОН, NHR_1 , OR_1 , SR_1 , COX_1R_1 где X_1 и R_1 являются такими, как определено выше; v равен 0 или 1; U^1 независимо представляет собой Н, ОН, $C_1\sim C_6$ алкил, $(OCH_2CH_2)_n$, F, Cl, Br, I, OR_5 , SR_5 , NR_5R_5' , $N=NR_5$, $N=R_5$, NR_5R_5' , NO_2 , SOR_5R_5' , SO_2R_5 , SO_3R_5 , OSO_3R_5 , PR_5R_5' , POR_5R_5' , $PO_2R_5R_5'$, $OPO(OR_5)(OR_5')$ или $OCH_2PO(OR_5)(OR_5')$, где R_5 и R_5' независимо выбраны из Н, $C_1\sim C_8$ алкила; $C_2\sim C_8$ алкенила, алкинила, гетероалкила, или аминокислоты; $C_3\sim C_8$ арила, гетероциклила, карбоциклила, циклоалкила, гетероциклоалкила, гетероаралкила, алкилкарбонила или гликозида; или фармацевтических катионных солей;

Указанный несаморасщепляющийся линкерный компонент представляет собой одну из следующих структур:





где (*) атом представляет собой точку присоединения дополнительных спейсерных или высвобождаемых линкеров, цитотоксических агентов и/или связывающихся молекул; X^1 , Y^1 , U^1 , R_5 , R_5' являются такими, как определено выше; r равен 0~100; m и n независимо равны 0~6;

Дополнительно, предпочтительно, L_1 и L_2 могут независимо представлять собой способный к отделению линкер. Термин «высвобождаемый» относится к линкеру, который включает по меньшей мере одну связь, которая может быть разорвана в физиологических условиях, таких как pH-лабильная, кислотнo-лабильная, щелочно-лабильная,

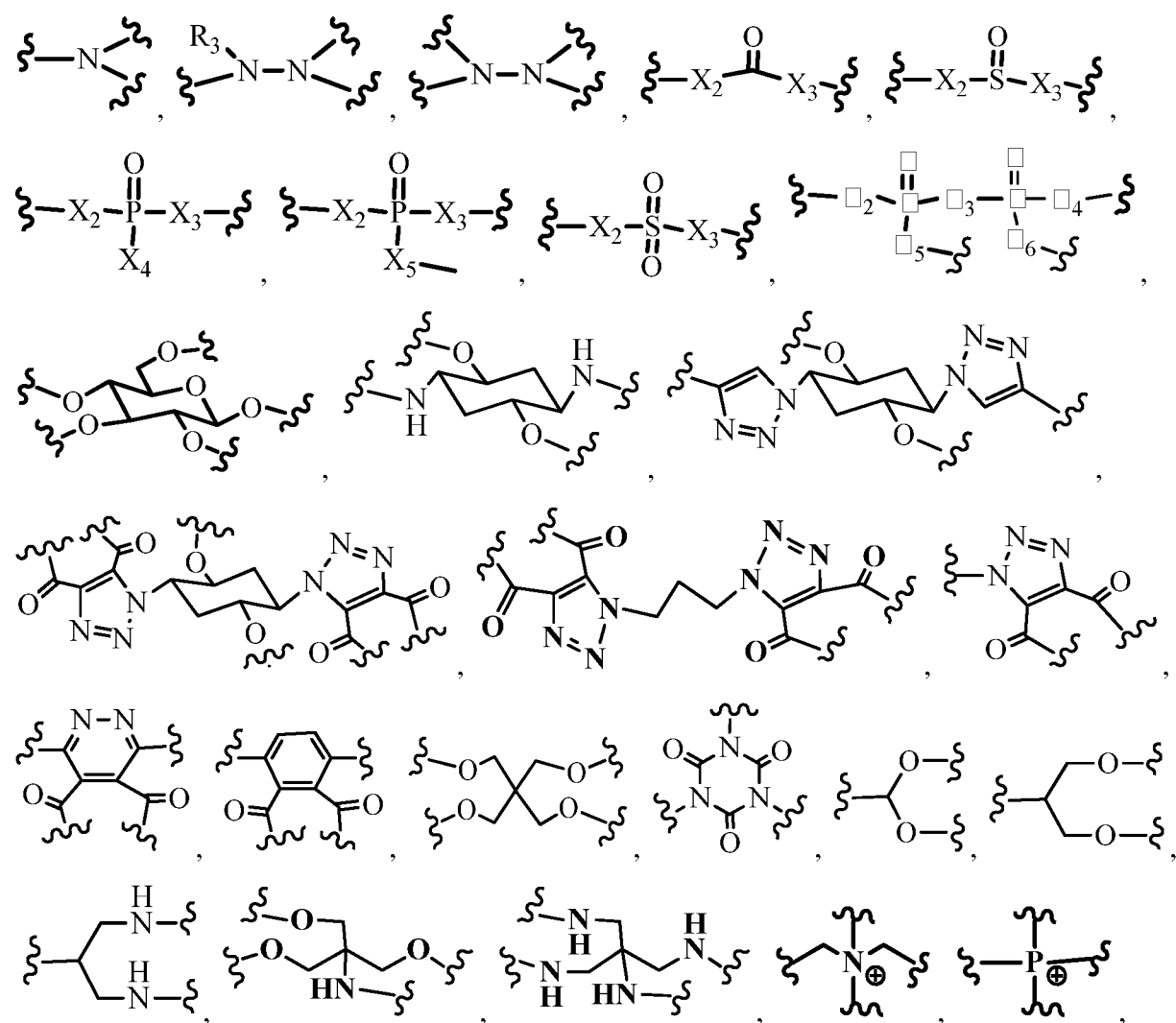
окислительно-лабильная, метаболически лабильная, биохимически лабильная или фермент-лабильная связь. Понятно, что такие физиологические условия, приводящие к разрыву связи, необязательно включают биологический или метаболический процесс и вместо этого могут включать стандартную химическую реакцию, такую как реакция гидролиза или замещения, например, эндосома, имеющая более низкий pH, чем цитозольный pH и/или реакцию обмена дисульфидной связи с внутриклеточным тиолом, таким как миллимолярный диапазон избытка глутатиона внутри злокачественных клеток;

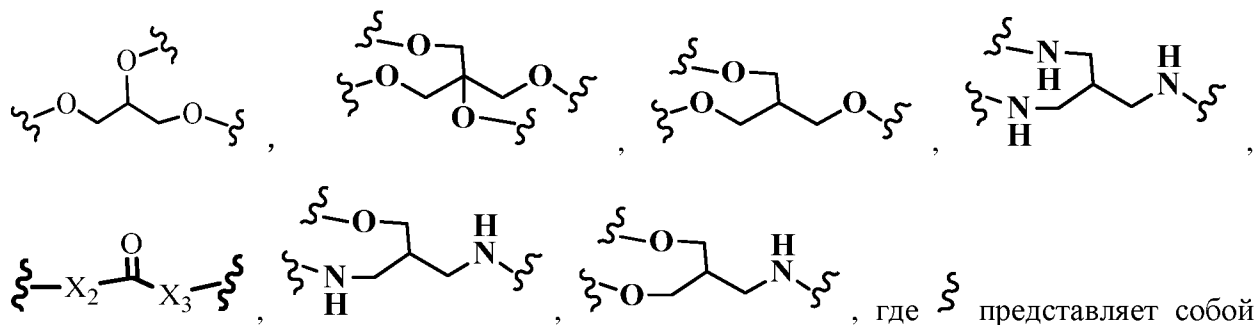
Примеры способных к отделению линкеров L₁ или L₂ включают, но не ограничиваясь ими:

$-(CR_5R_6)_m(AK)_r(CR_7R_8)_n(OCH_2CH_2)_t-$, $-(CR_5R_6)_m(CR_7R_8)_n(AK)_r(OCH_2CH_2)_t-$, $-(AK)_r-$
 $(CR_5R_6)_m(CR_7R_8)_n(OCH_2CH_2)_t-$, $-(CR_5R_6)_m(CR_7R_8)_n(OCH_2CH_2)_t(AK)_t-$, $-(CR_5R_6)_m-$
 $(CR_7=CR_8)(CR_9R_{10})_n(AK)_t(OCH_2CH_2)_r-$, $-(CR_5R_6)_m(NR_{11}CO)(AK)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r-$, $-$
 $(CR_5R_6)_m(AK)_t(NR_{11}CO)(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r-$, $-(CR_5R_6)_m(OCO)(AK)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r-$,
 $-(CR_5R_6)_m(OCNR_7)(AK)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r-$, $-(CR_5R_6)_m(CO)(AK)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r-$, $-$
 $(CR_5R_6)_m(NR_{11}CO)(AK)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r-$, $-(CR_5R_6)_m(OCO)(AK)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r-$,
 $-(CR_5R_6)_m(OCNR_7)(AK)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r-$, $-(CR_5R_6)_m(CO)(AK)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r-$, $-$
 $(CR_5R_6)_m$ -фенил-CO(AK)_t(CR₇R₈)_n⁻, $-(CR_5R_6)_m$ -фурил-CO(AK)_t(CR₇R₈)_n⁻, $-(CR_5R_6)_m$ -
оксазолил-CO(AK)_t(CR₇R₈)_n⁻, $-(CR_5R_6)_m$ -тиазолил-CO(AK)_t(CCR₇R₈)_n⁻, $-(CR_5R_6)_t$ -
тиенил-CO(CR₇R₈)_n⁻, $-(CR_5R_6)_t$ -имидазолил-CO-(CR₇R₈)_n⁻, $-(CR_5R_6)_t$ -морфолино-CO(AK)_t-
(CR₇R₈)_n⁻, $-(CR_5R_6)$ пиперазино-CO(AK)_t-(CR₇R₈)_n⁻, $-(CR_5R_6)_t$ -N-метилпиперазин-CO(AK)_t-
(CR₇R₈)_n⁻, $-(CR_5R_6)_m$ -(AK)фенил-, $-(CR_5R_6)_m$ -(AK)фурил-, $-(CR_5R_6)_m$ -оксазолил(AK)_t-, $-$
 $(CR_5R_6)_m$ -тиазолил(AK)_t-, $-(CR_5R_6)_m$ -тиенил-(AK)_t-, $-(CR_5R_6)_m$ -имидазолил(AK)_t-, $-(CR_5R_6)_m$ -
морфолино-(AK)_t-, $-(CR_5R_6)_m$ -пиперазино-(AK)_t-, $-(CR_5R_6)_m$ -N-метилпиперазино-(AK)_t-,
 $-K(CR_5R_6)_m(AK)_r(CR_7R_8)_n(OCH_2CH_2)_t-$, $-K(CR_5R_6)_m(CR_7R_8)_n(AK)_r(OCH_2CH_2)_t-$, $-K(AK)_r-$
 $(CR_5R_6)_m(CR_7R_8)_n(OCH_2CH_2)_t-$, $-K(CR_5R_6)_m(CR_7R_8)_n(OCH_2CH_2)_t(AK)_t-$, $-K(CR_5R_6)_m-$
 $(CR_7=CR_8)(CR_9R_{10})_n(AK)_t(OCH_2CH_2)_r-$, $-K(CR_5R_6)_m(NR_{11}CO)(AK)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r-$
, $-K(CR_5R_6)_m(AK)_t(NR_{11}CO)(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r-$, $-K(CR_5R_6)_m(OCO)(AK)_t(CR_9R_{10})_n-$
 $(OCH_2CH_2)_r-$, $-K(CR_5R_6)_m(OCNR_7)(AK)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r-$, $-K(CR_5R_6)_m(CO)(AK)_t-$
 $(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r-$, $-K(CR_5R_6)_m(NR_{11}CO)(AK)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r-$, $-K(CR_5R_6)_m-$
 $(OCO)(AK)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r-$, $-K(CR_5R_6)_m(OCNR_7)(AK)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r-$, $-K-$
 $(CR_5R_6)_m(CO)(AK)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r-$, $-K(CR_5R_6)_m$ -фенил-CO(AK)_t(CR₇R₈)_n⁻, $-K-$
 $(CR_5R_6)_m$ -фурил-CO(AK)_t(CR₇R₈)_n⁻, $-K(CR_5R_6)_m$ -оксазолил-CO(AK)_t(CR₇R₈)_n⁻, $-K(CR_5R_6)_m$ -
тиазолил-CO(AK)_t(CR₇R₈)_n⁻, $-K(CR_5R_6)_t$ -тиенил-CO(CR₇R₈)_n⁻, $-K(CR_5R_6)_t$ -имидазолил-CO-
(CR₇R₈)_n⁻, $-K(CR_5R_6)_t$ -морфолино-CO(AK)_t(CR₇R₈)_n⁻, $-K(CR_5R_6)_t$ -пиперазино-CO(AK)_t-

$(\text{CR}_7\text{R}_8)_n$ -, $-\text{K}(\text{CR}_5\text{R}_6)_t\text{-N-метилпиперазинCO}(\text{Ак})_t(\text{CR}_7\text{R}_8)_n$ -, $-\text{K}(\text{CR}_5\text{R}_6)_m(\text{Ак})_t$ фенил, $-\text{K}(\text{CR}_5\text{R}_6)_m(\text{Ак})_t$ фурил-, $-\text{K}(\text{CR}_5\text{R}_6)_m$ -оксазолил $(\text{Ак})_t$ -, $-\text{K}(\text{CR}_5\text{R}_6)_m$ -тиазолил $(\text{Ак})_t$ -, $-\text{K}(\text{CR}_5\text{R}_6)_m$ -тиенил- $(\text{Ак})_t$ -, $-\text{K}(\text{CR}_5\text{R}_6)_m$ -имидазолил $(\text{Ак})_t$ -, $-\text{K}(\text{CR}_5\text{R}_6)_m$ -морфолино $(\text{Ак})_t$ -, $-\text{K}(\text{CR}_5\text{R}_6)_m$ -пиперазино- $(\text{Ак})_t$ G, $-\text{K}(\text{CR}_5\text{R}_6)_m$ N-метилпиперазино $(\text{Ак})_t$ -, где m, Ак, n и p описаны выше; t и r независимо представляют собой от 0 до 100; R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , R_7 и R_8 независимо выбраны из H; галогенида; $\text{C}_1\sim\text{C}_8$ алкила; $\text{C}_2\sim\text{C}_8$ арила, алкенила, алкинила, простого эфира, сложного эфира, амина или амида, которые необязательно замещены одним или более галогенидом, CN, NR_1R_2 , CF_3 , OR_1 , арилом, гетероциклом, $\text{S}(\text{O})\text{R}_1$, SO_2R_1 , $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{OR}_1$, $-\text{CO}_2\text{R}_1$, $-\text{CONR}_1$, $-\text{PO}_2\text{R}_1\text{R}_2$, $-\text{PO}_3\text{H}$ или $\text{P}(\text{O})\text{R}_1\text{R}_2\text{R}_3$; K представляет собой NR_1 , $-\text{SS}-$, $-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{C}=\text{NH}-\text{O}-$, $-\text{C}=\text{N}-\text{NH}-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-\text{NH}-$, O, S, Se, B, Het (гетероциклическое или гетероароматическое кольцо, имеющее $\text{C}_3\text{-C}_8$), или пептиды, содержащие 1–20 одинаковых или различных аминокислот;

Дополнительно, U, U', E, E', L₁ и L₂ могут независимо содержать одну или более остатков следующих гидрофильных структур:

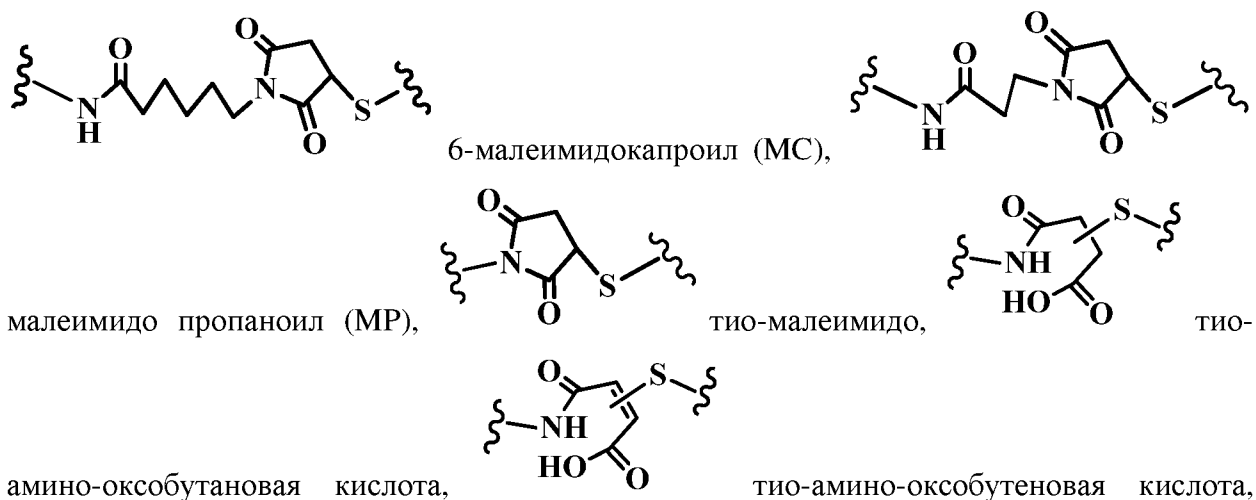


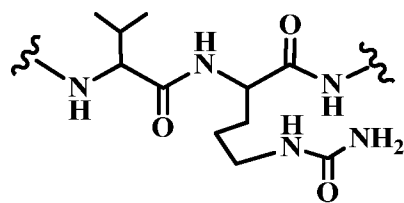


участок связывания; X_2 , X_3 , X_4 , X_5 или X_6 , независимо выбраны из NH; NHNH; $N(R_3)$; $N(R_3)N(R_3')$; O; S; C_1 - C_6 алкила; C_2 - C_6 гетероалкила, алкилциклоалкила или гетероциклоалкила; C_3 - C_8 арила, Ag-алкила, гетероцикла, карбоцикла, циклоалкила, гетероалкилциклоалкила, алкилкарбонила или гетероарила; или 1~8 аминокислот; где R_3 и R_3' независимо представляют собой H; C_1 - C_8 алкил; C_2 - C_8 гетероалкил, алкилциклоалкил или гетероциклоалкил; C_3 - C_8 арил, Ag-алкил, гетероцикл, карбоцикл, циклоалкил, гетероалкилциклоалкил, алкилкарбонил или гетероарил; или C_2 - C_8 сложные эфиры, простой эфир или амид; или полиэтиленокси единицу, имеющую формулу $(OCH_2CH_2)_p$ или $(OCH_2CH(CH_3))_p$, где p представляет собой целое число от 0 до около 5000, или комбинации вышеперечисленного;

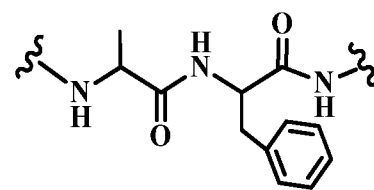
Более предпочтительно, L_1 или L_2 независимо представляют собой линейный алкил, имеющий от 1-6 атомов углерода, или полиэтиленокси единицу, имеющую формулу $(OCH_2CH_2)_p$, p равно 1~5000, или пептид, содержащий 1~4 аминокислотных остатков (L или D формы), или комбинацию вышеперечисленного.

Кроме того, U , U' , L_1 , L_2 , L' , E_1 или E_2 может независимо состоять из одного или более следующих компонентов, как показано ниже:

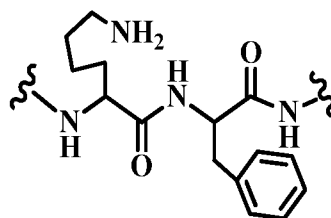




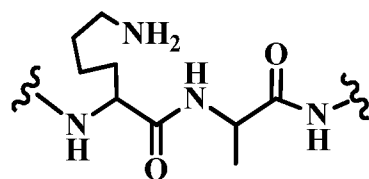
валин-цитруллин (val-cit),



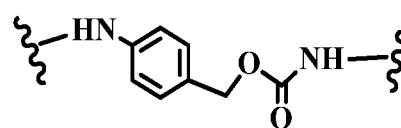
лизин-фенилаланин (lys-phe),



аланин-фенилаланин (ala-phe),

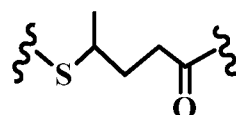


лизин-аланин (lys-ala),

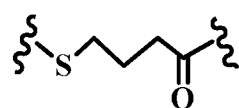


пара-

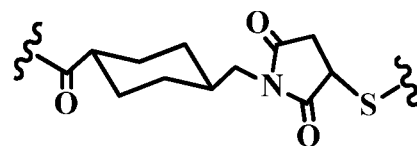
аминобензилоксикарбонил (PAB),



4-тио-пентаноат (SPP),

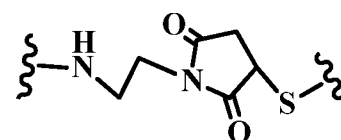


4-тио-бутират (SPDB),

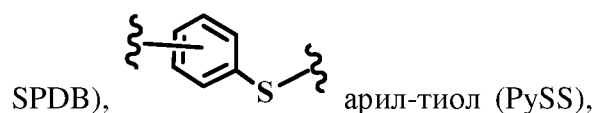
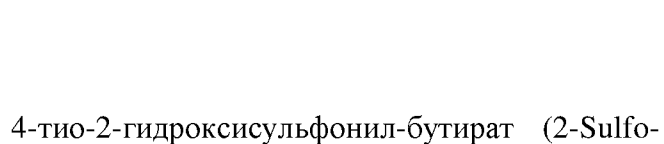


4-(N-

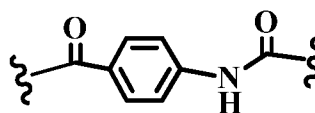
малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилат (MCC),



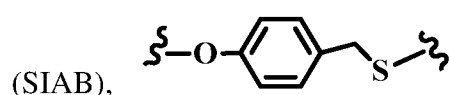
малеимидоэтил (ME),



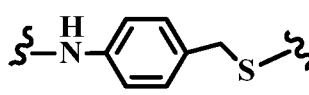
арил-тиол (PySS),



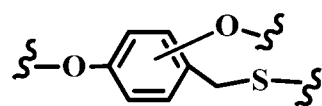
(4-ацетил)аминобензоат



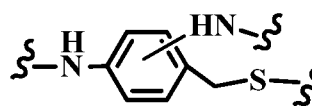
(SIAB),



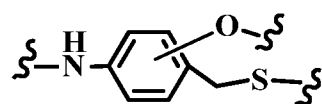
аминобензилтио,



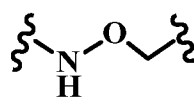
диоксилбензилтио,



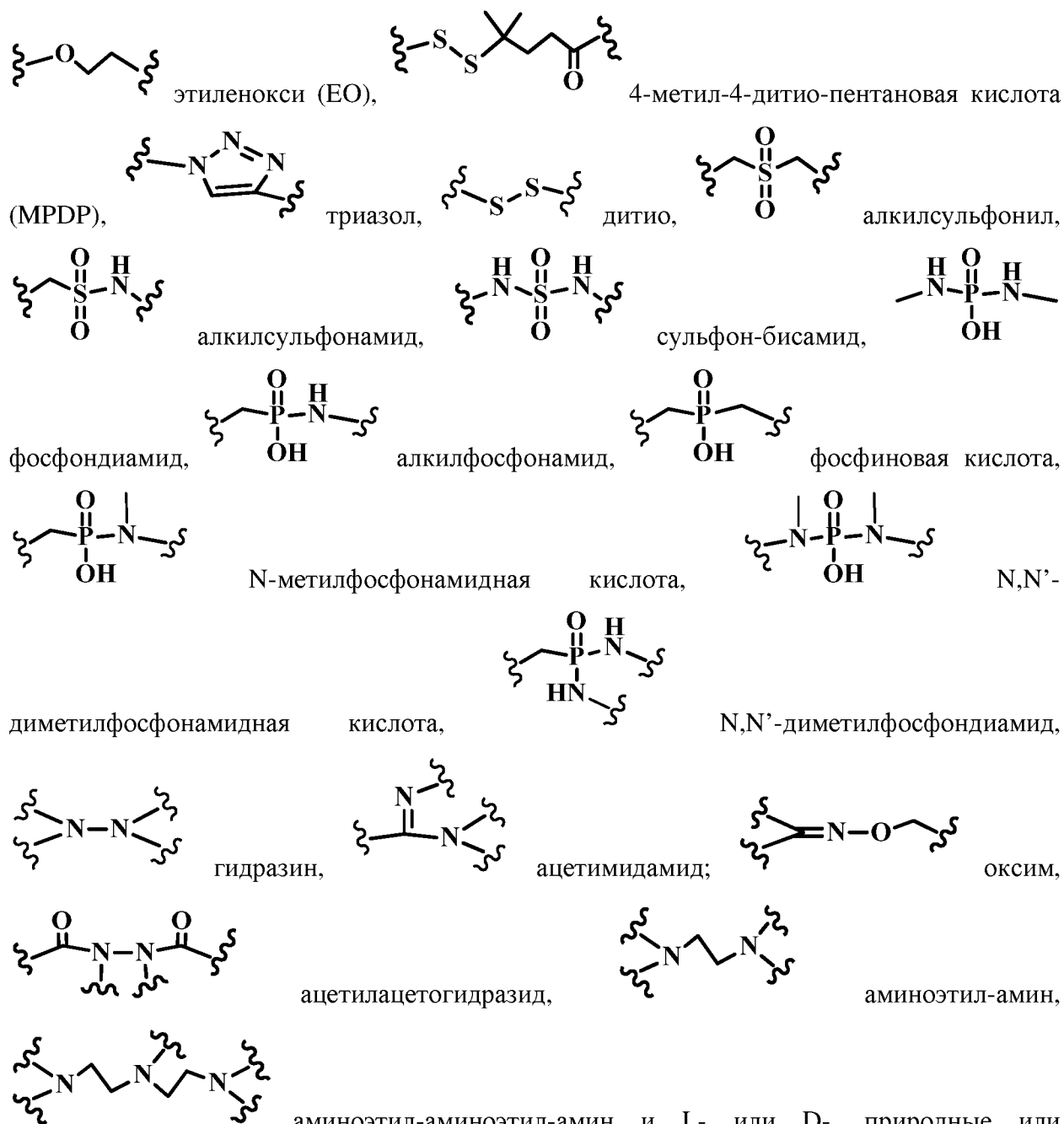
диаминобензилтио,



амино-оксилбензилтио,



алкокси амино (AOA),

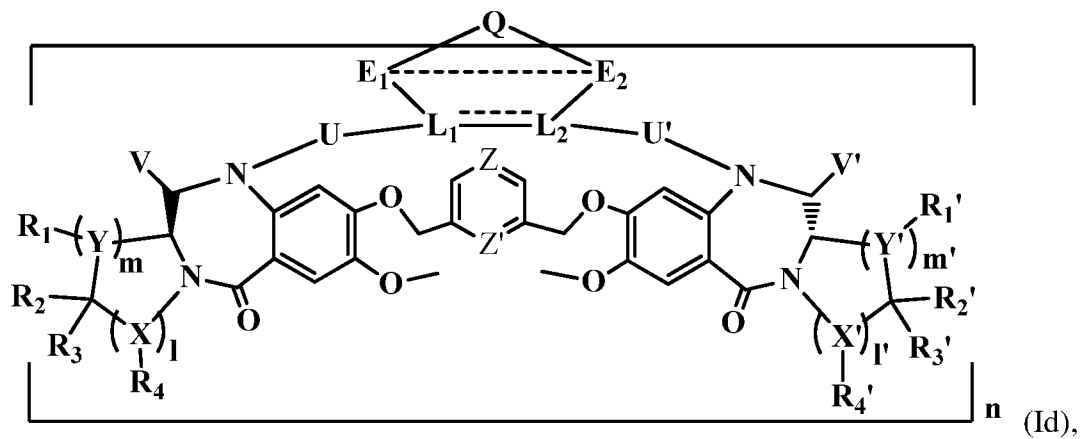
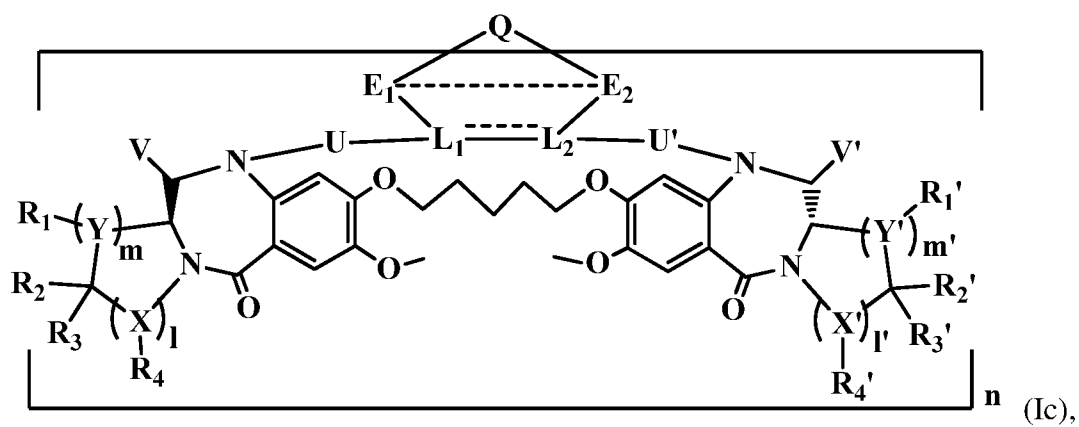
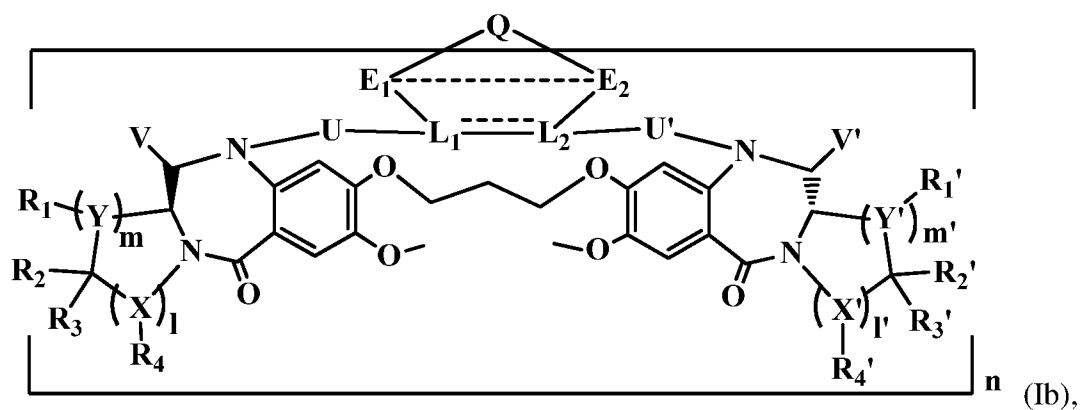
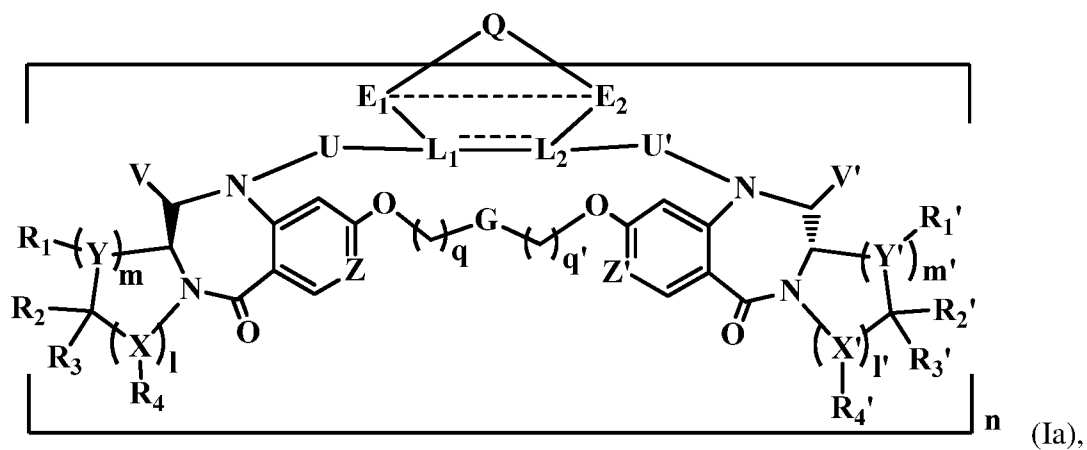


неприродные пептиды, содержащие 1-20 аминокислот; где химическая связь посередине между двумя атомами означает, что она может связываться с любым из примыкающих двух атомов; волнистая линия представляет собой положение, к которому может присоединяться другая связь;

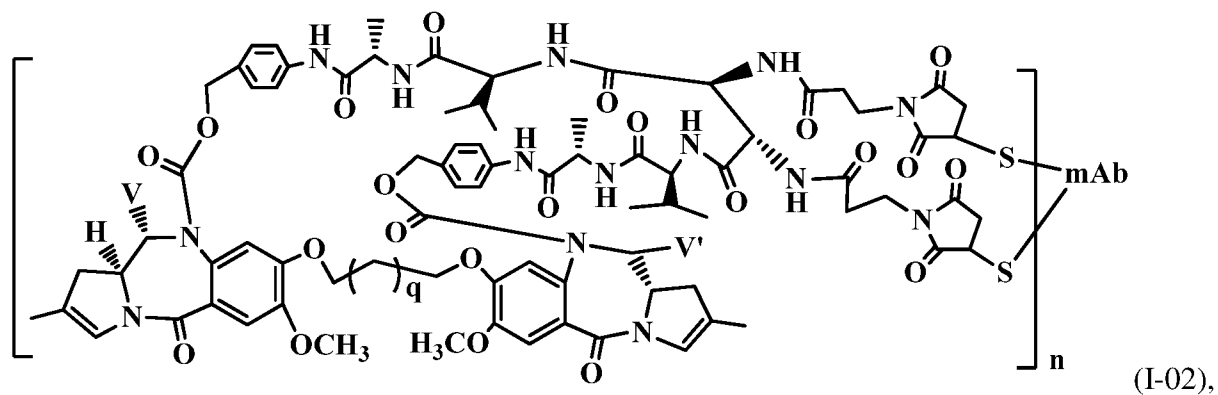
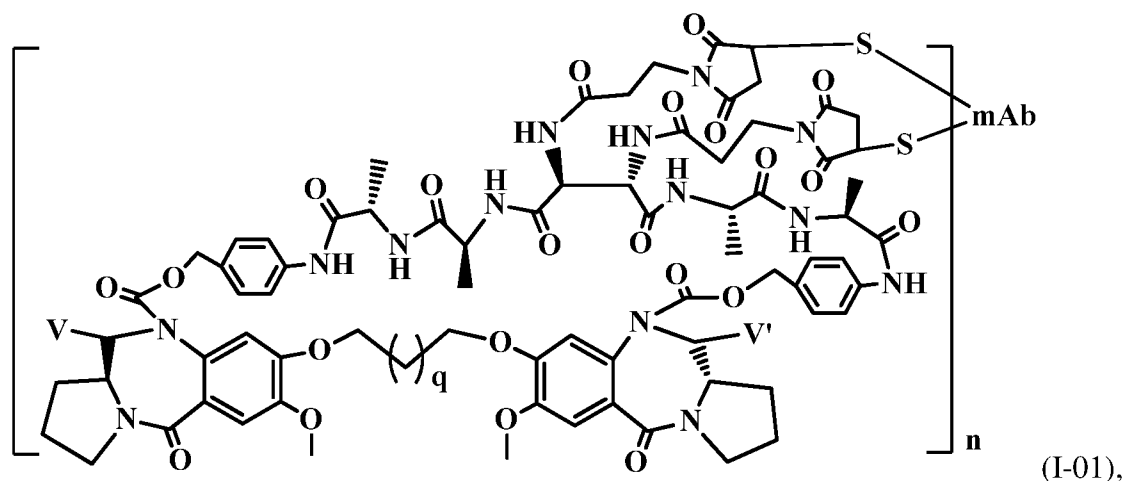
В альтернативном варианте, U, U', E₁ или E₂ независимо могут отсутствовать.

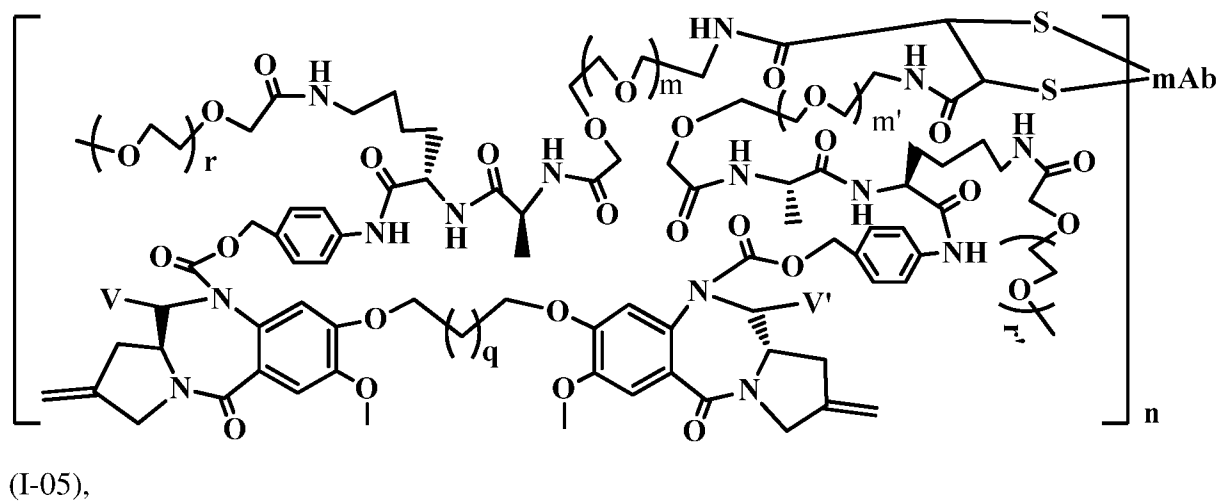
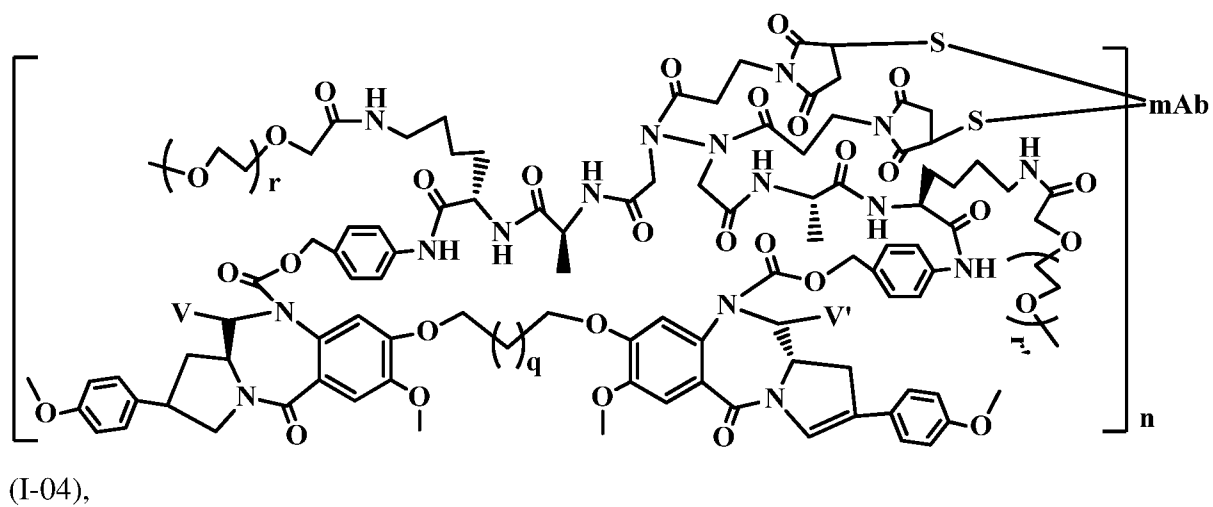
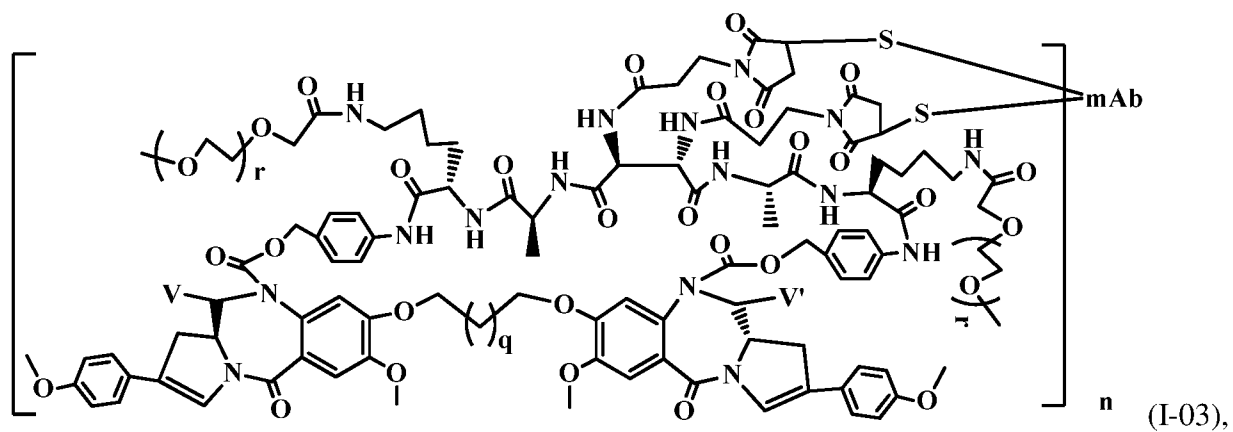
Соединения общей Формулы (I), имеющие геометрические изомеры и стереоизомеры, также являются частью данного изобретения.

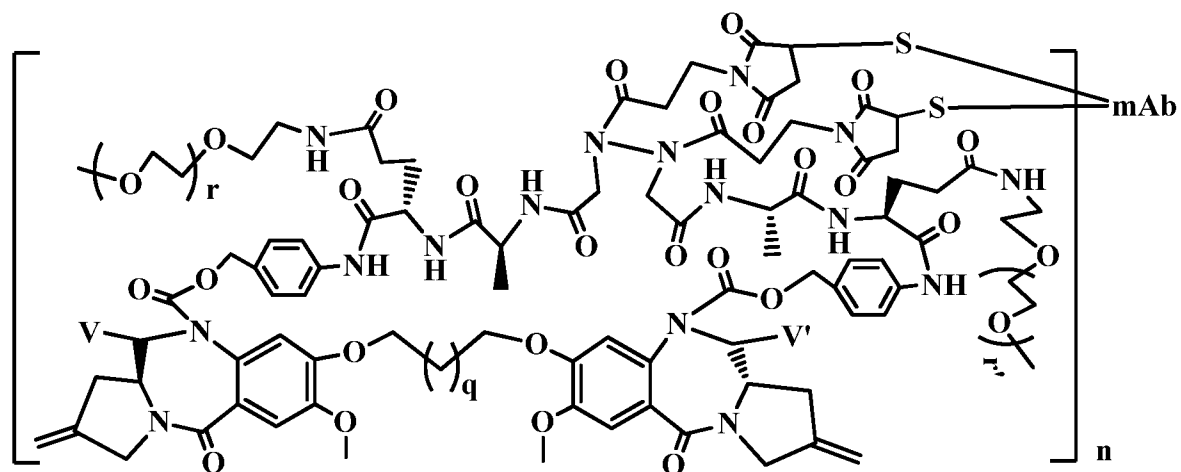
Предпочтительный стереоизомер Формулы (I) представлен следующей Формулой (Ia), (Ib), (Ic), (Ie):



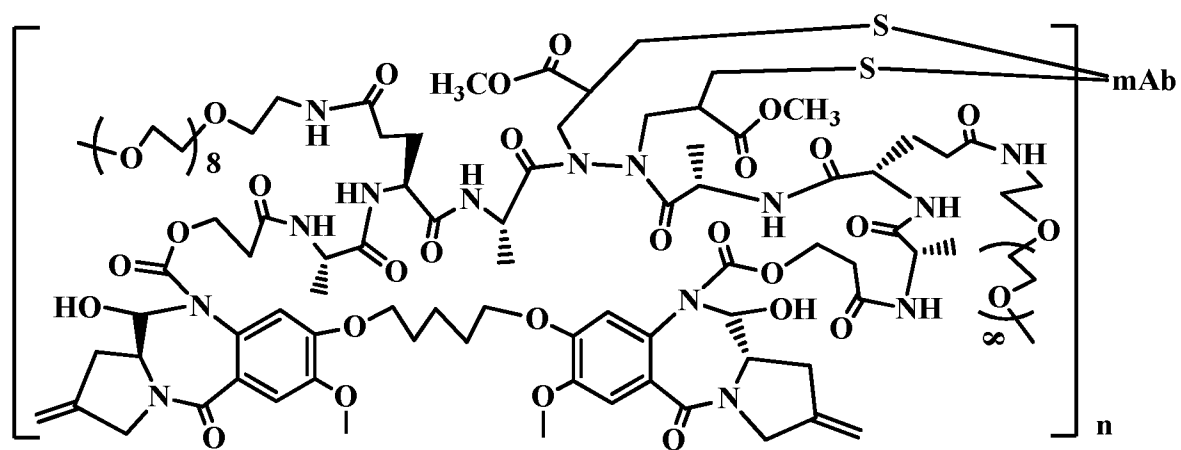
В более предпочтительном варианте реализации изобретения в соответствии с Формулой (I) указанный конъюгат сшитых производных димера PBD по данному изобретению имеет Формулу (I-01) ~ (I-18) ниже:



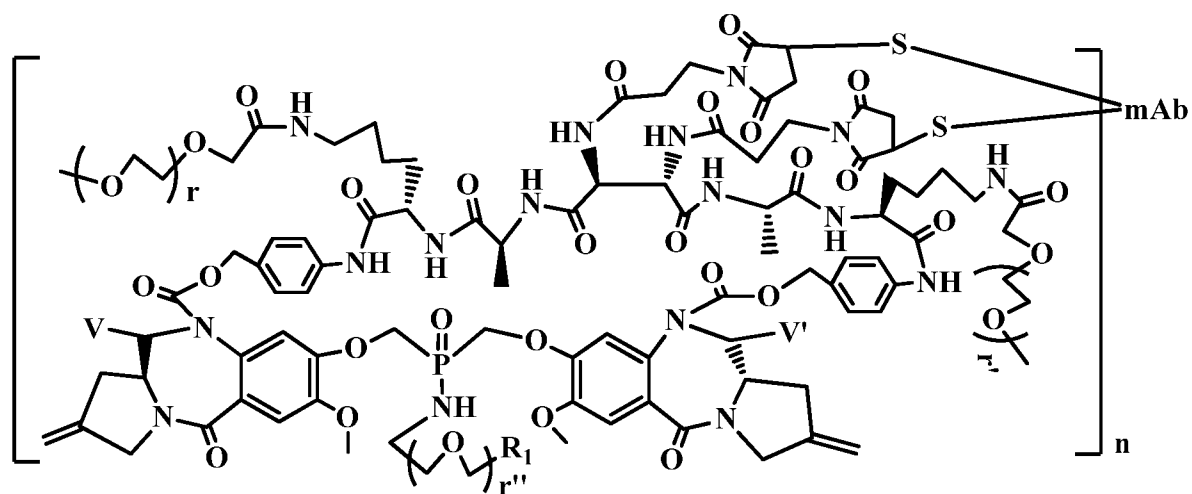




(I-06),



(I-07),

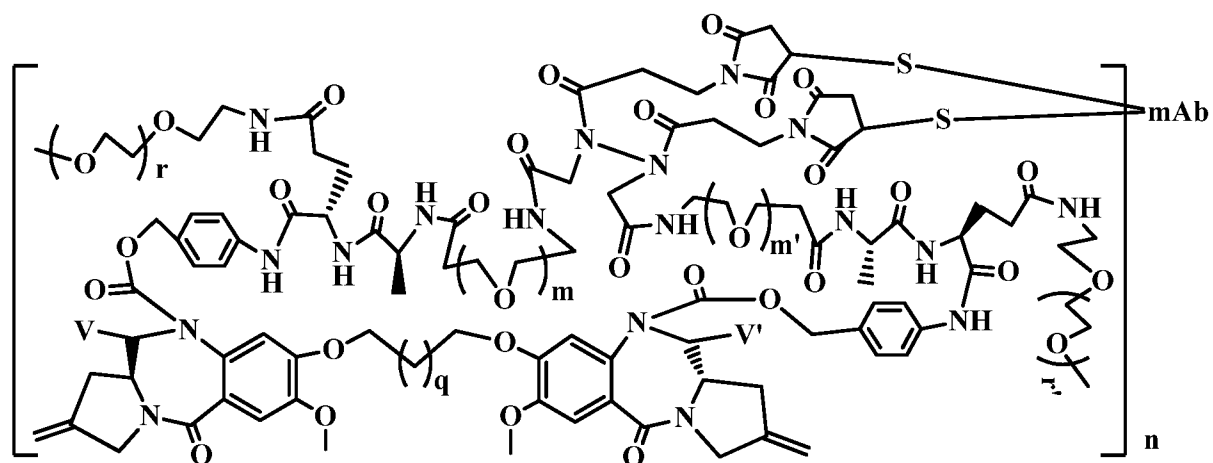


(I-08),

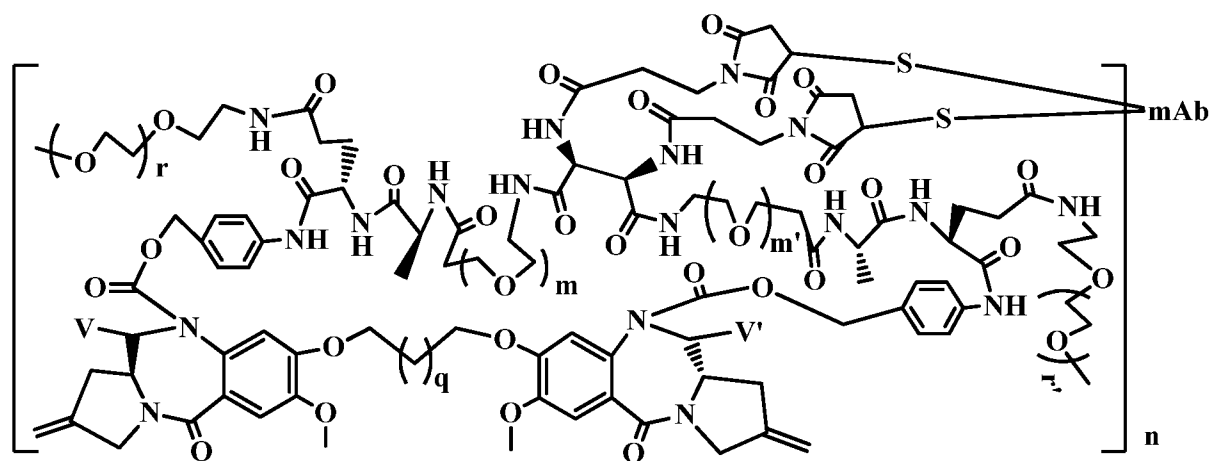
(I-11),

[illegible][illegible]

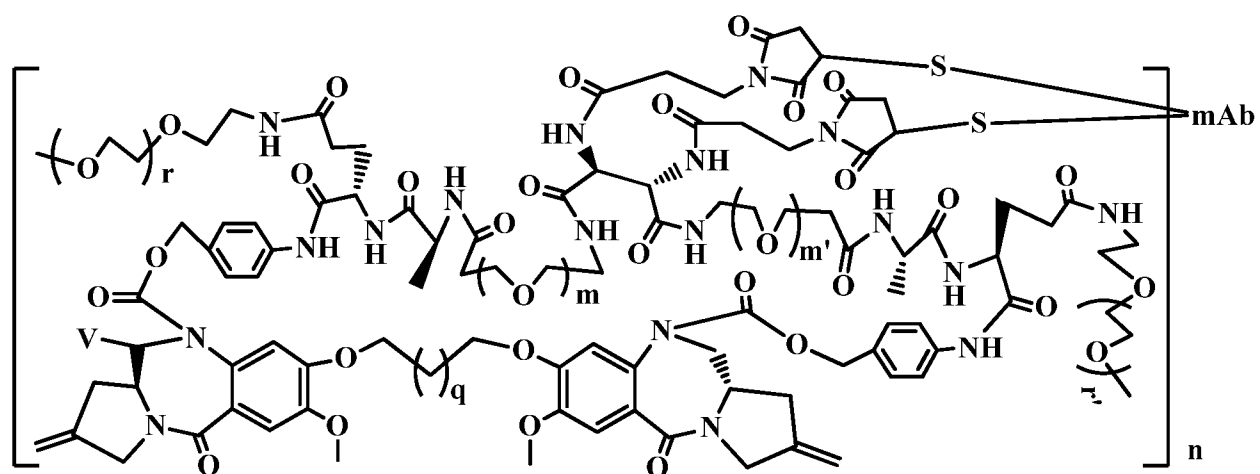
(I-14),



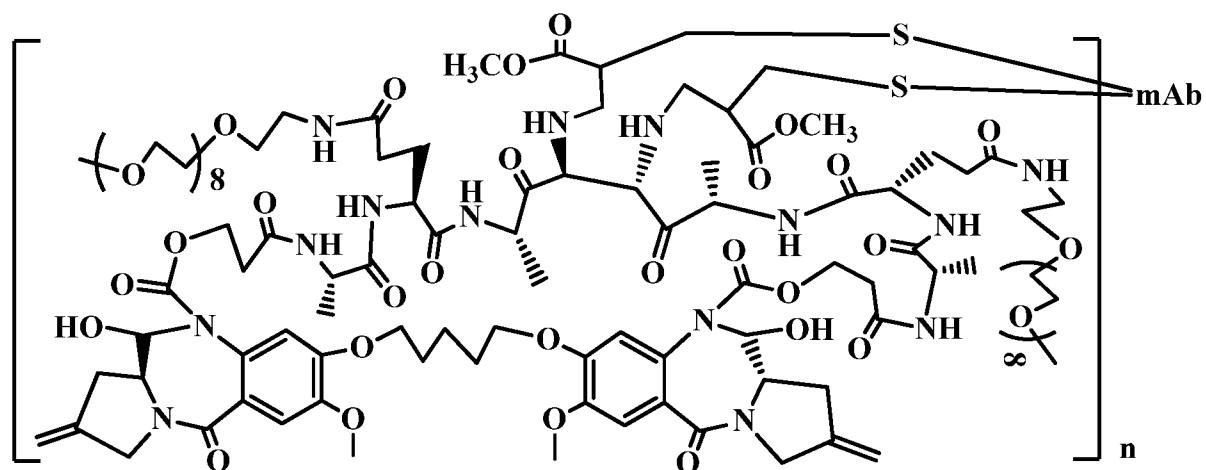
(I-15),



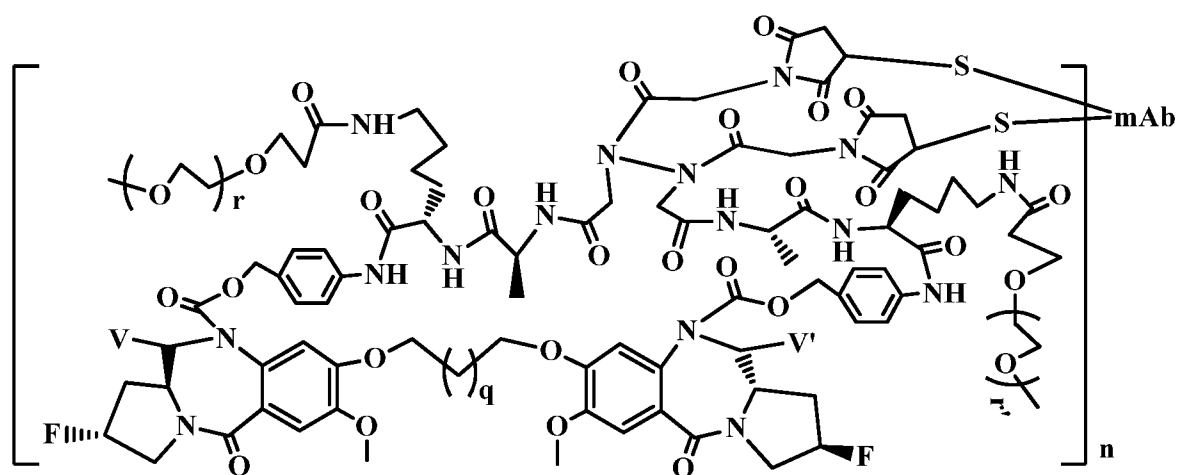
(I-16),



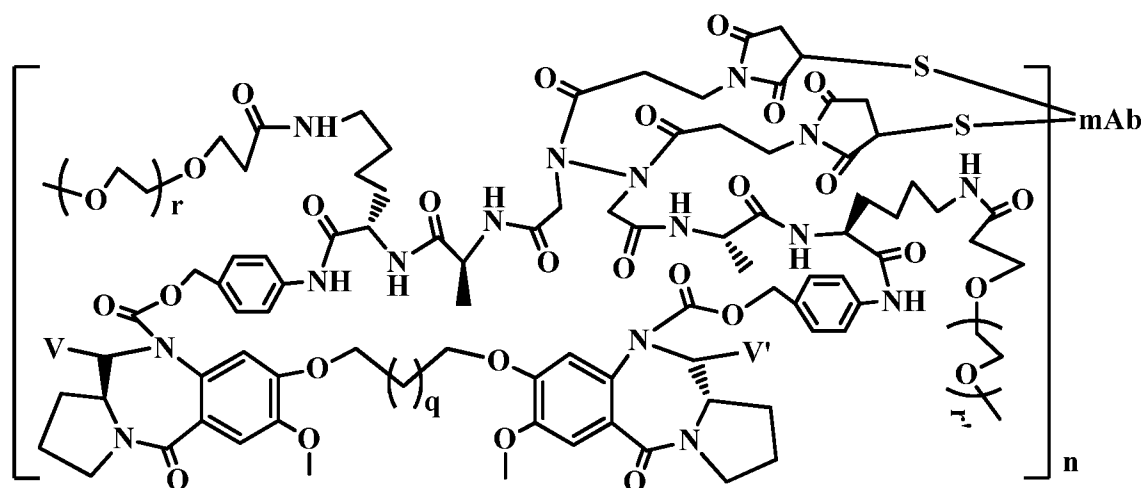
(I-17),



(I-18),



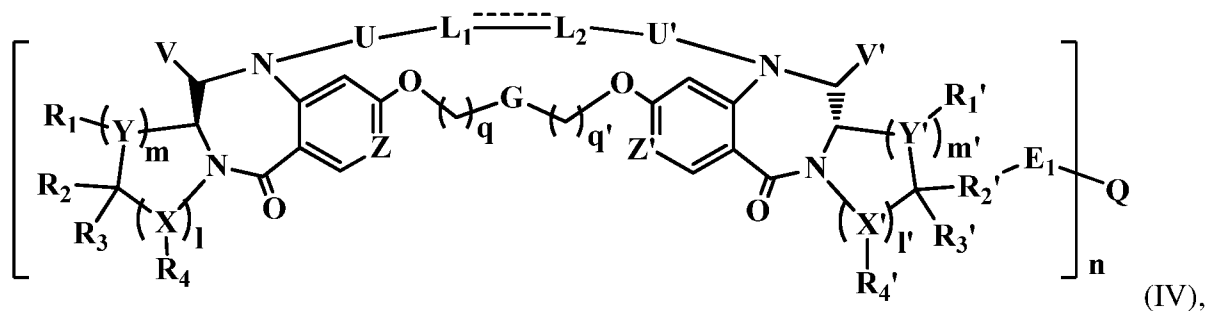
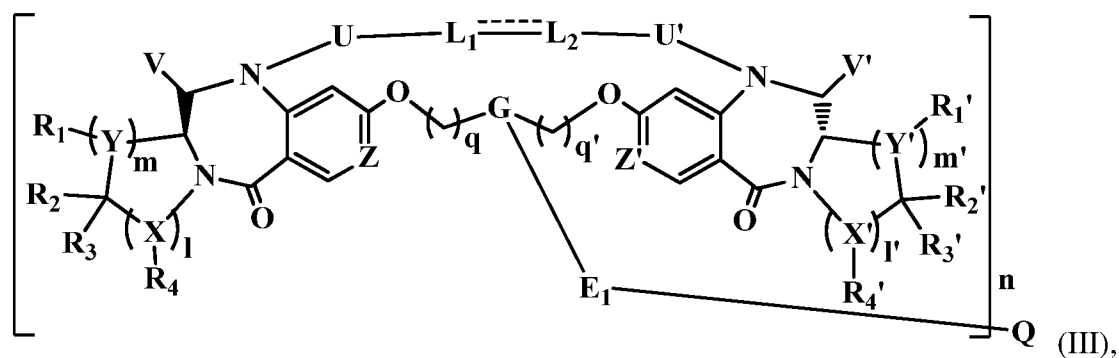
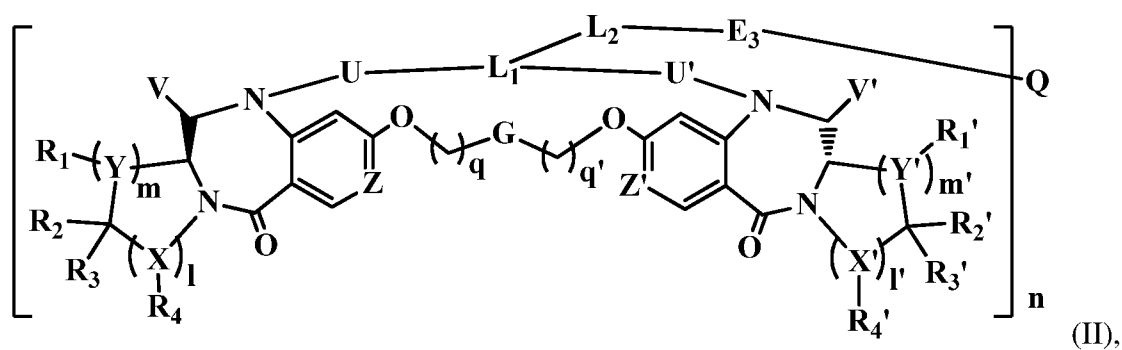
(I-19),



(I-20),

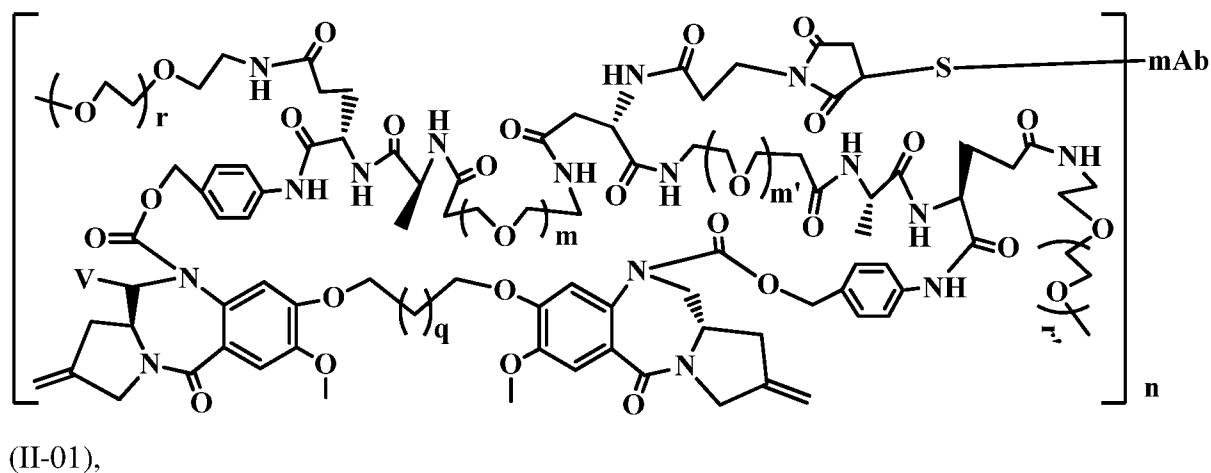
где V, V', n и q определены так же, как выше; mAb представляет собой молекулу, связывающуюся с клетками, предпочтительно, антитело; r, r' и r'' независимо равны 0 - 200.

В другом варианте реализации изобретения описано одинарное связывание конъюгацией производных PBD к молекуле, связывающейся с клетками, как показано в Формуле (II), (III) и (IV), для таргетированного лечения пролиферации клеток:



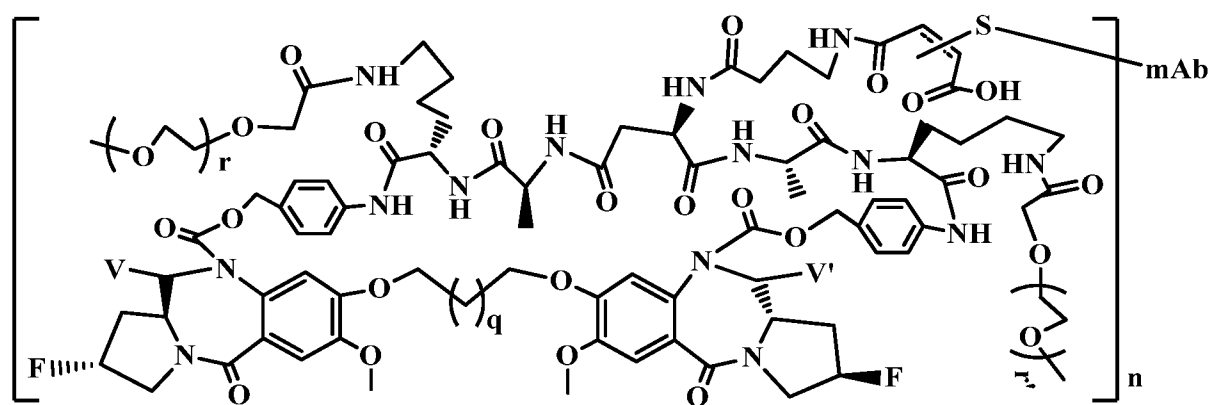
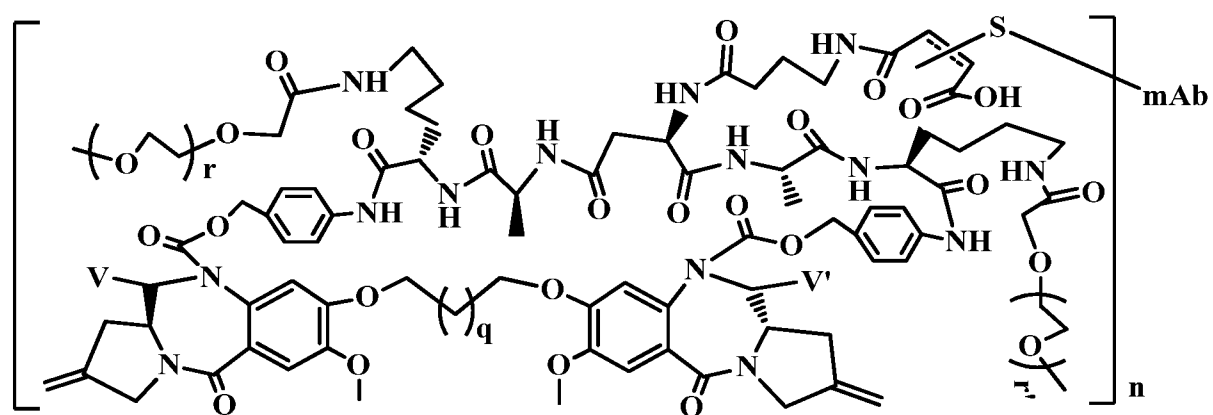
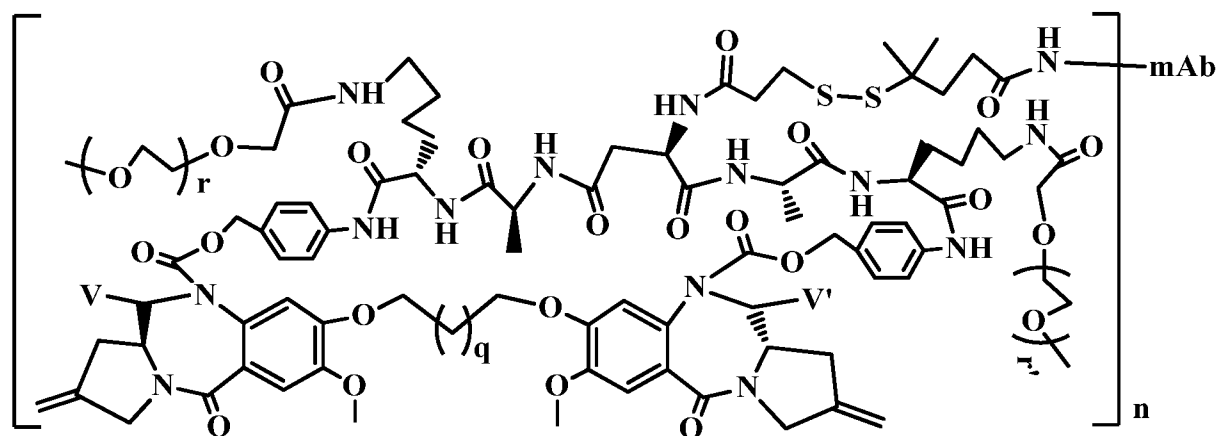
где $\overline{\text{---}}$, --- , $X, X', Y, Y', Z, Z', l, l', m, m', n, q, q', R_1, R_1', R_2, R_2', R_3, R_3', R_4, R_4', V, V', U, U', L_1, L_2, G, Q, E_1$, и E_2 определены такими же, как в Формуле (I).

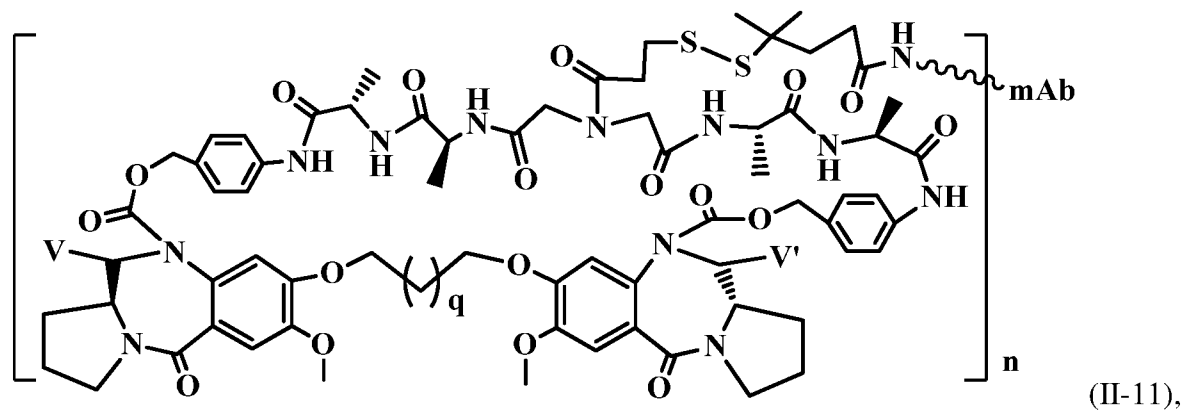
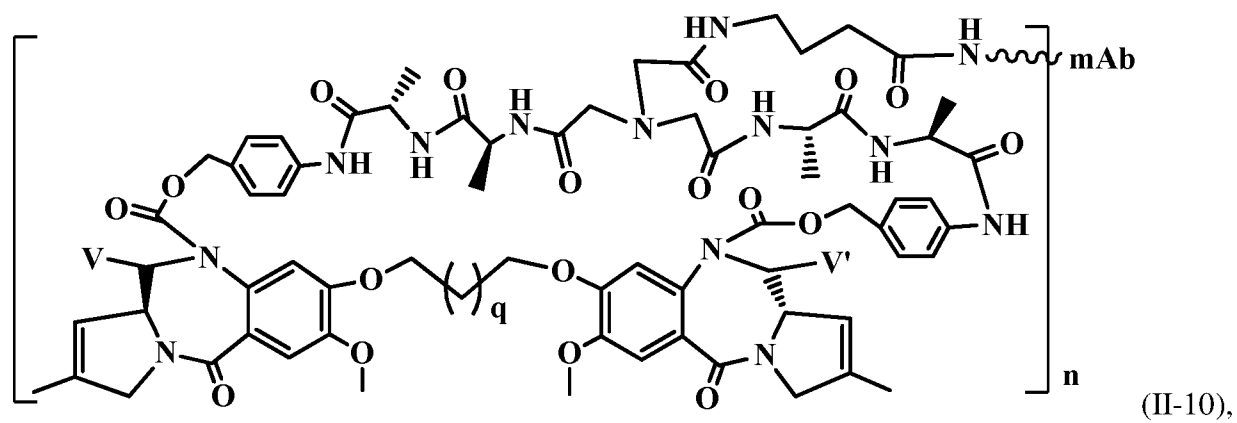
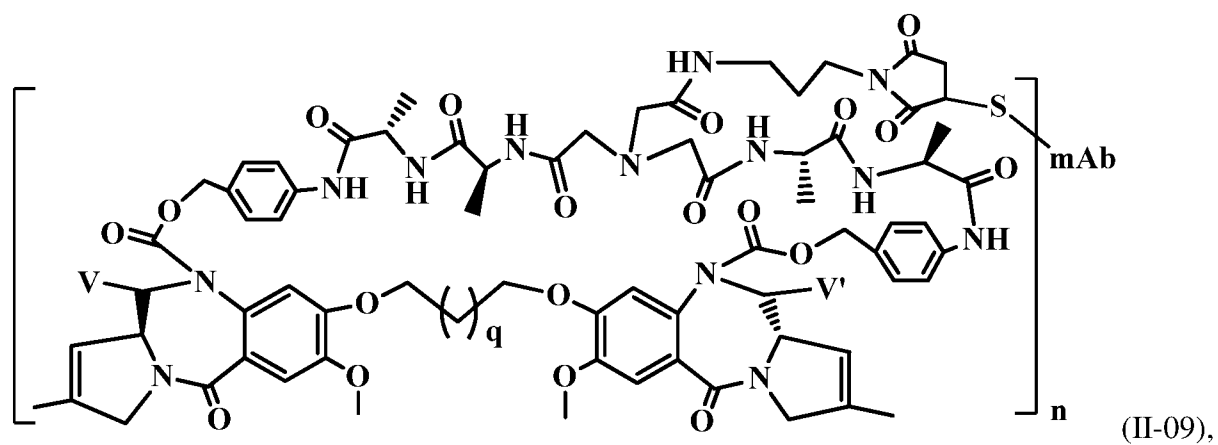
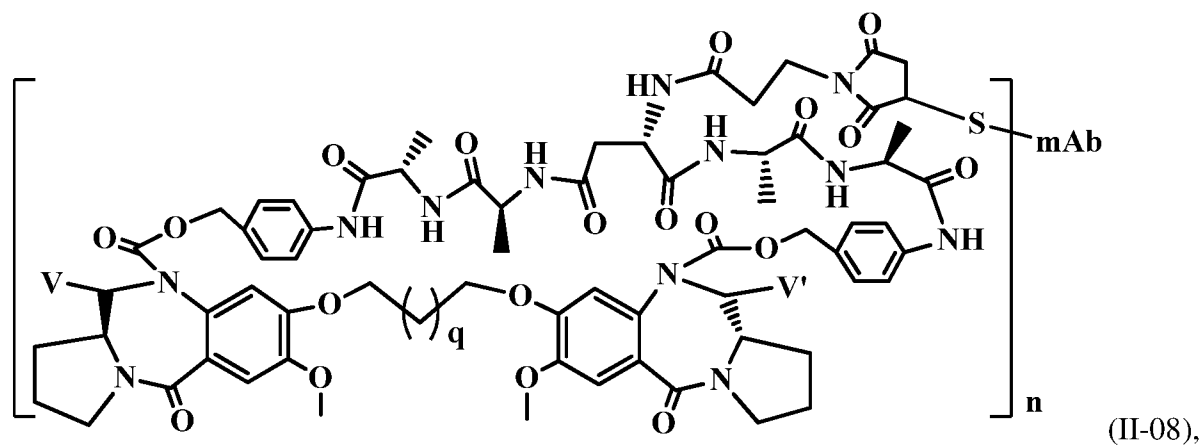
В предпочтительном варианте реализации изобретения в соответствии с Формулой (II), (III) и (IV) указанные конъюгаты производных димера PBD по данному изобретению имеют Формулу (II-01) ~ (II-11), (III-01)~(III-06) и (IV-01)~(IV-11) ниже:

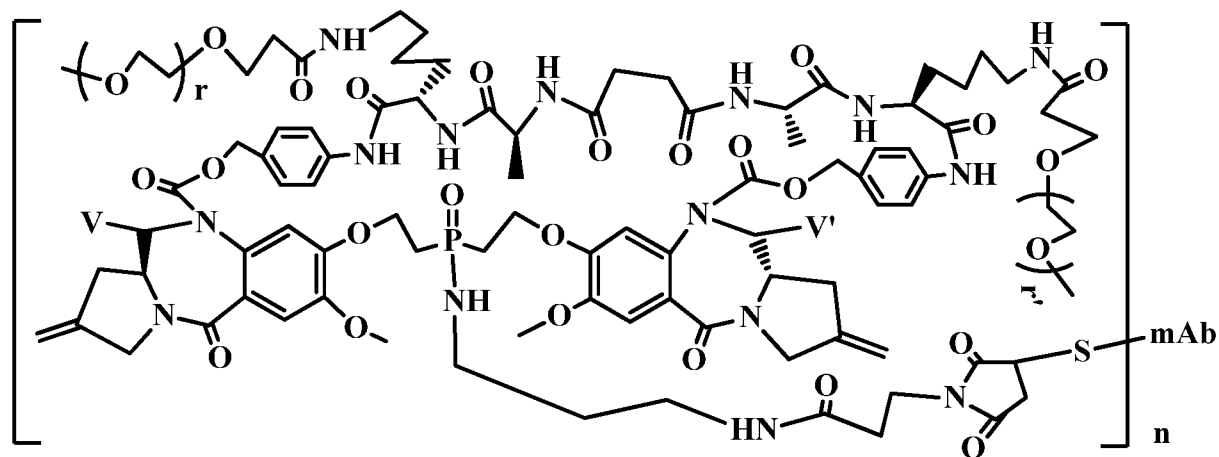


[illegible]

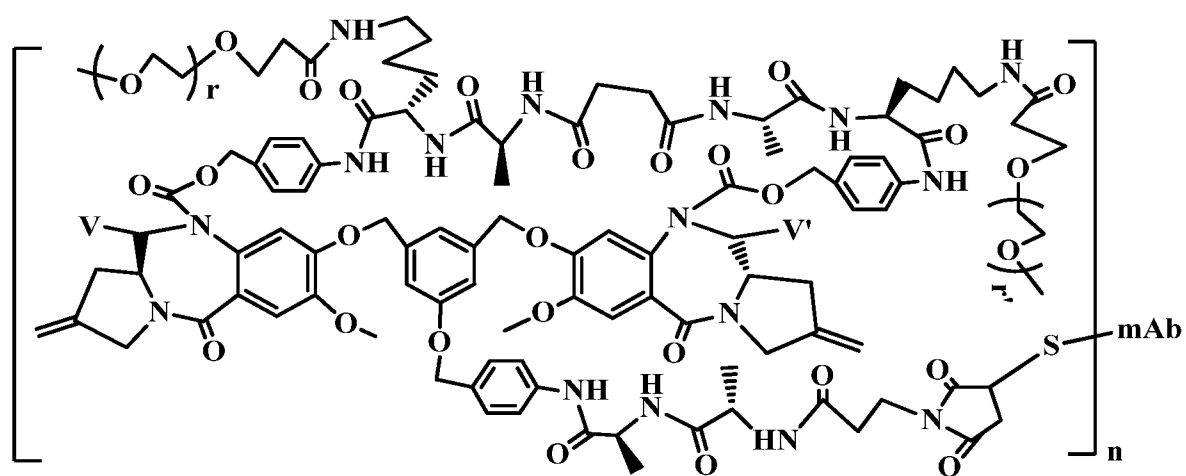
(II-04),





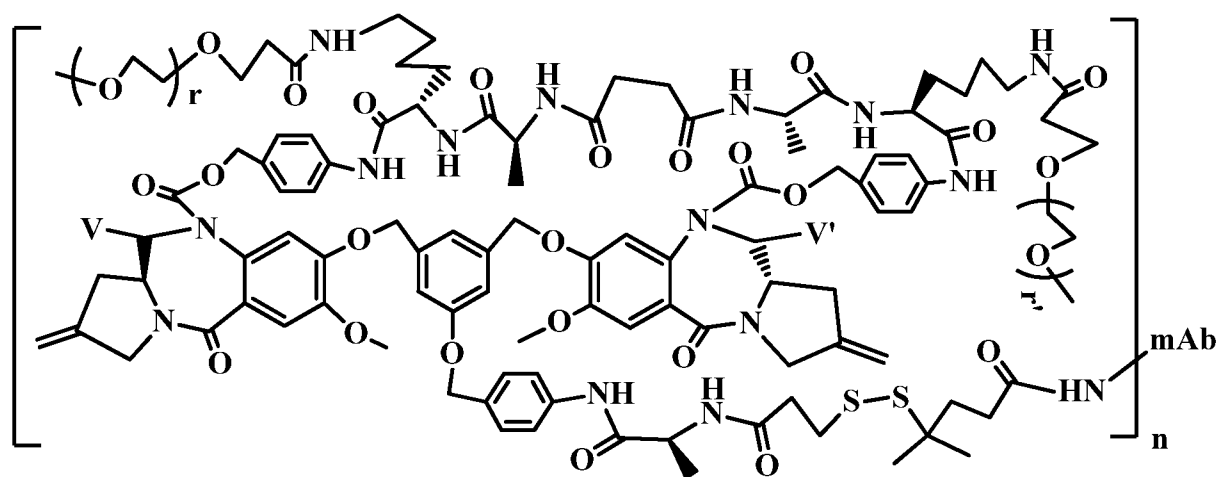


(III-01),

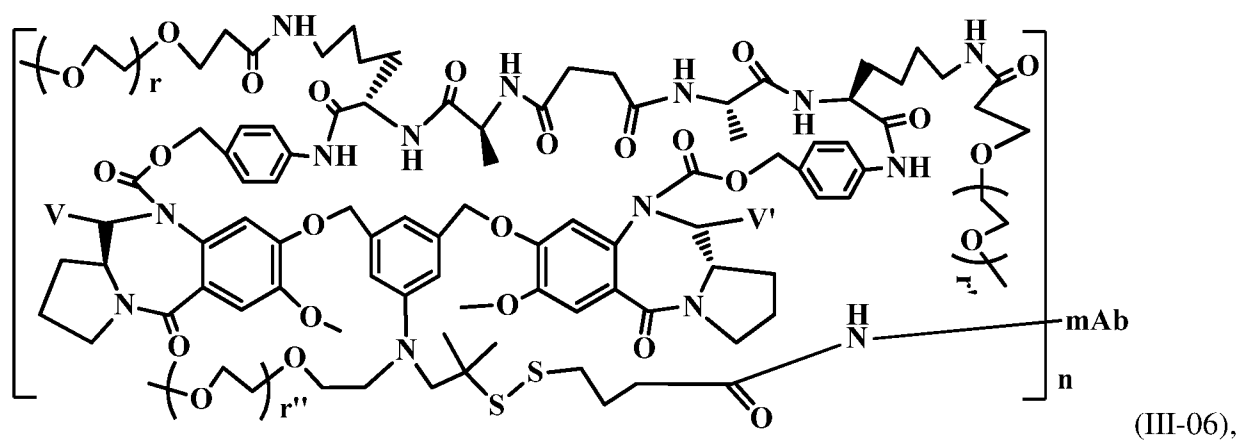
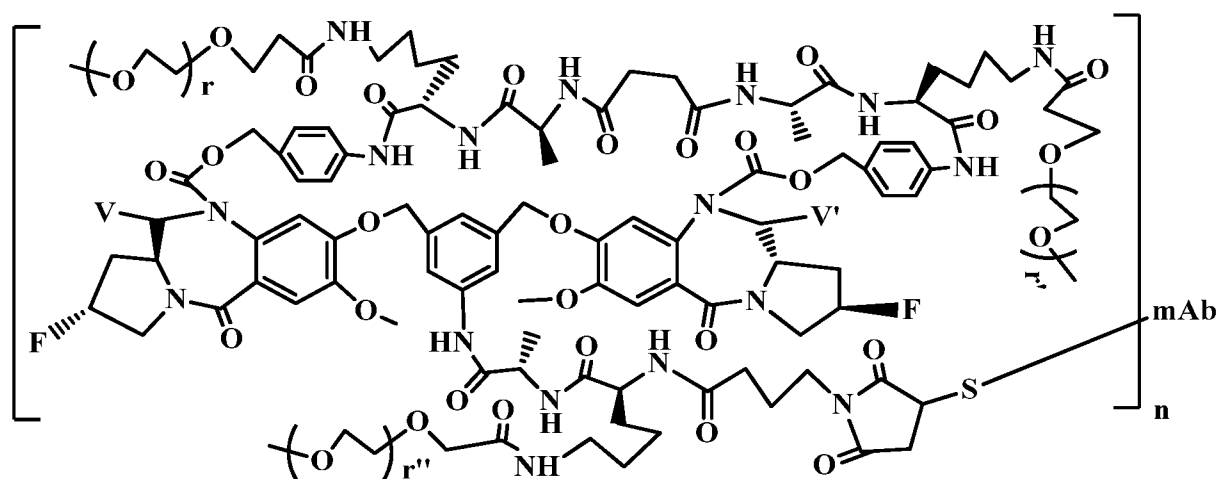
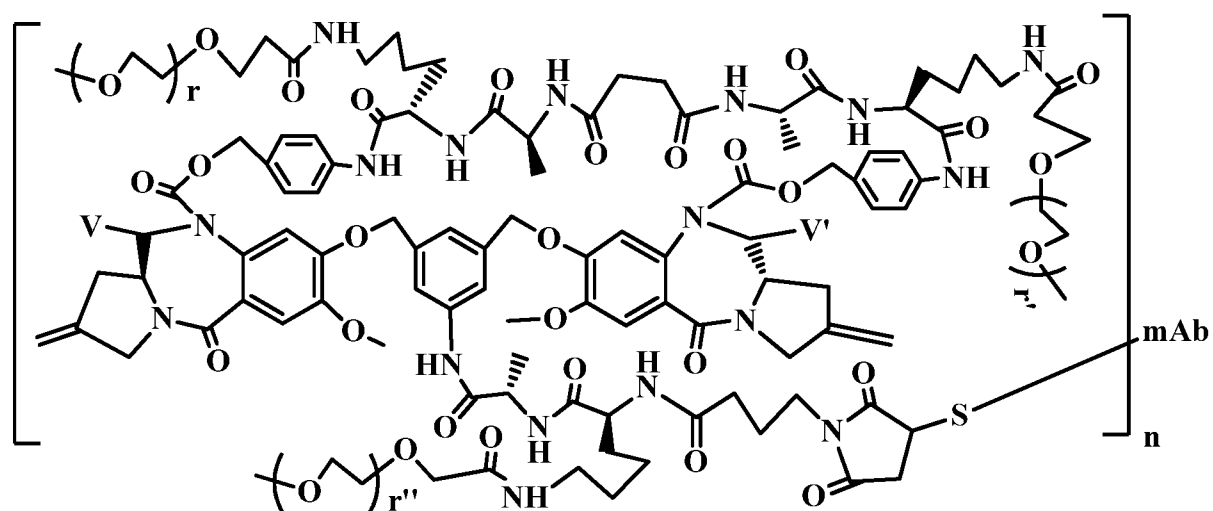


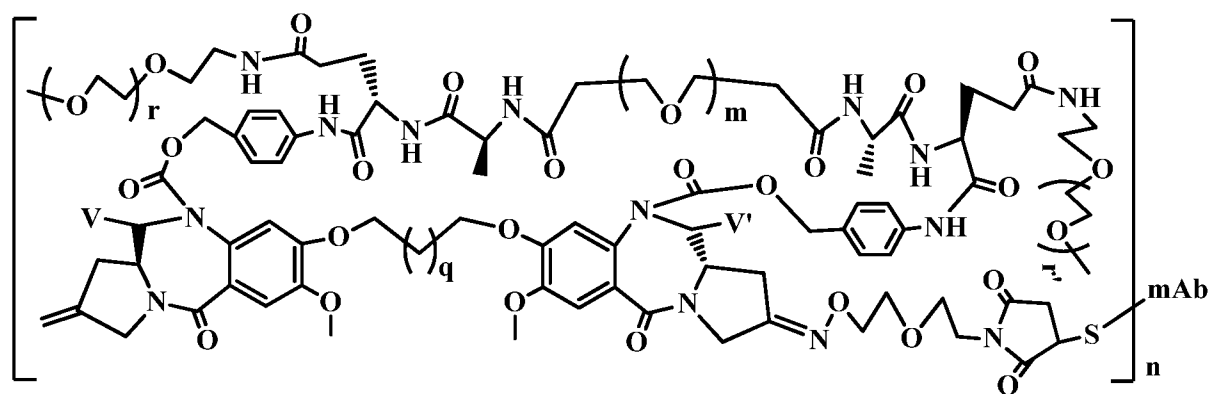
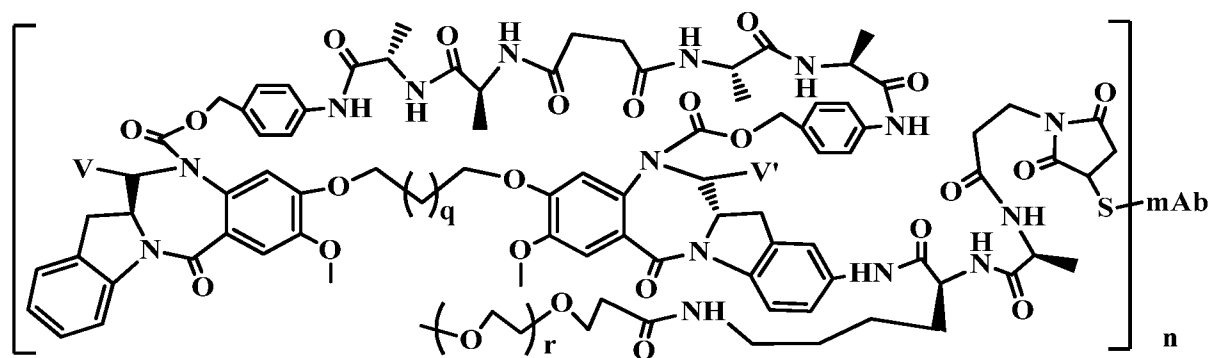
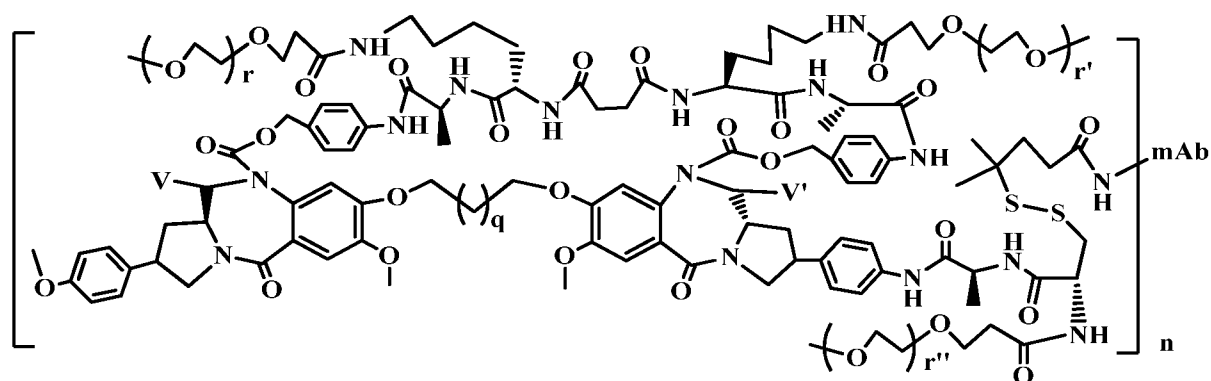
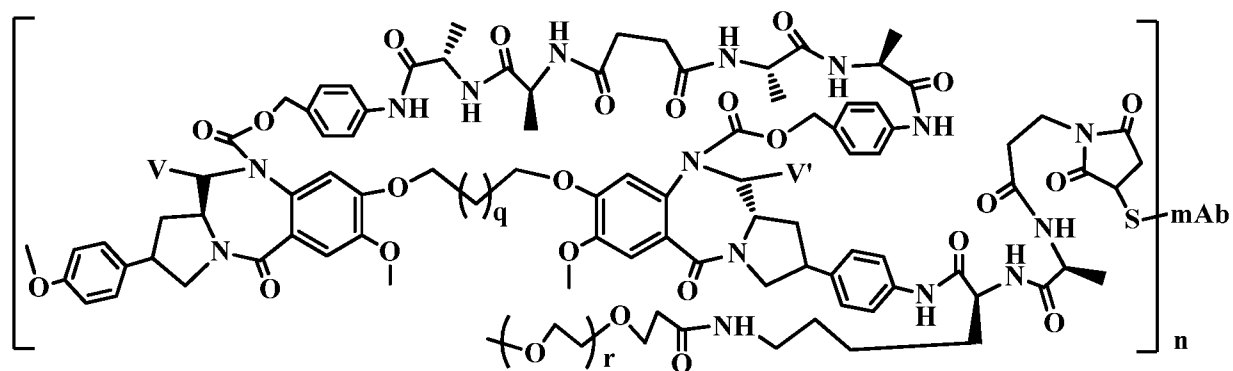
(III-

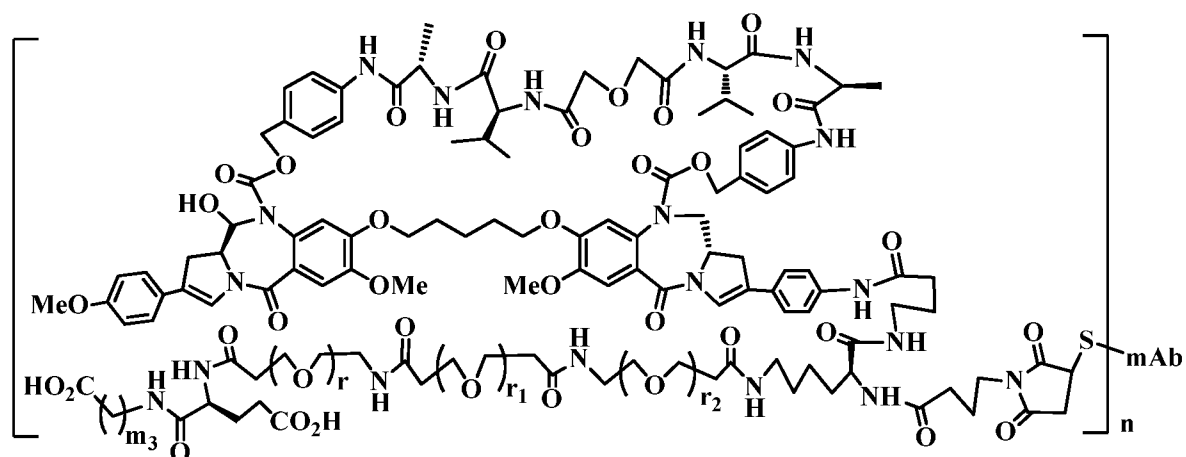
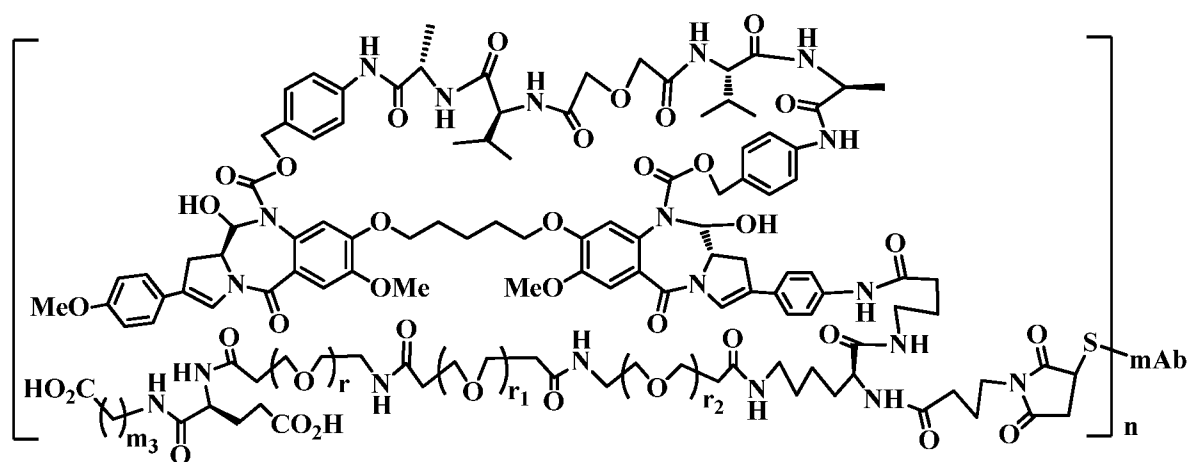
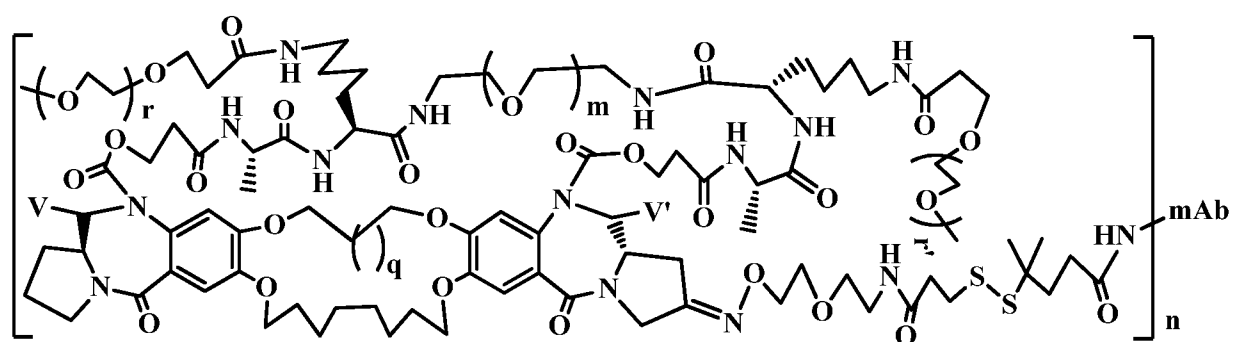
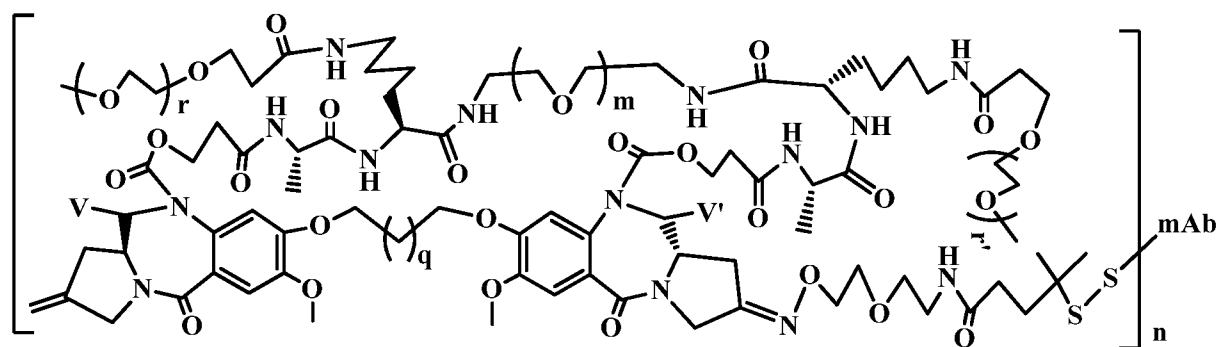
02),



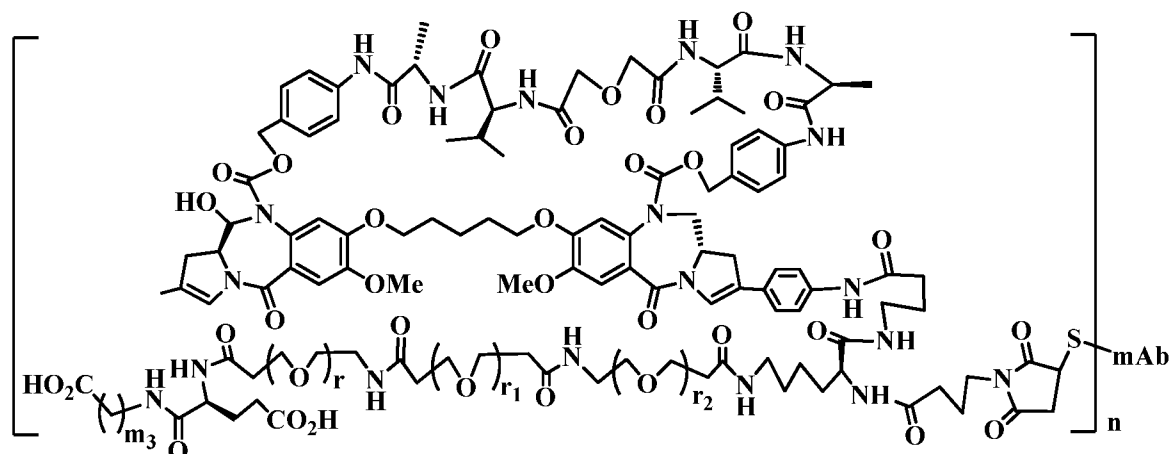
(III-03),



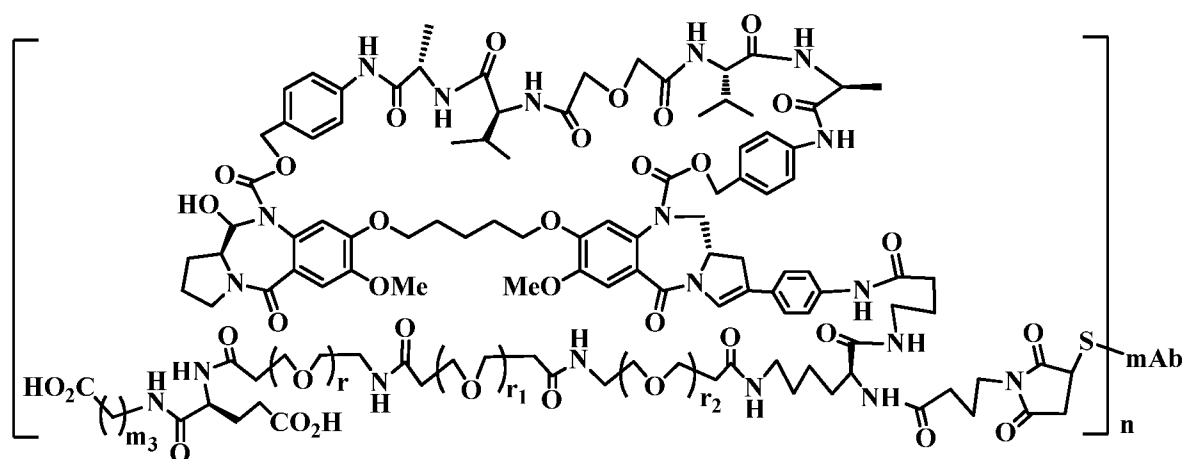




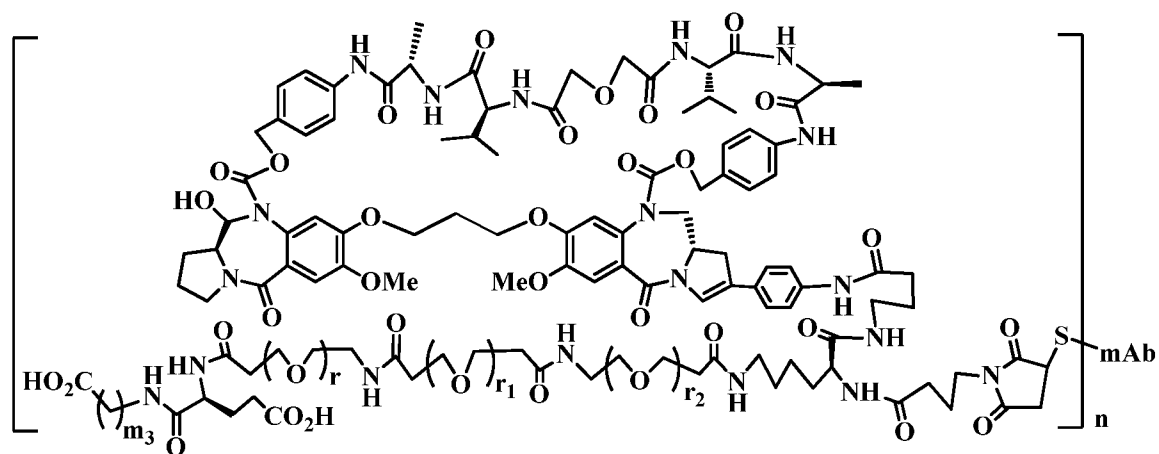
(IV-08),



(IV-09),



(IV-10),

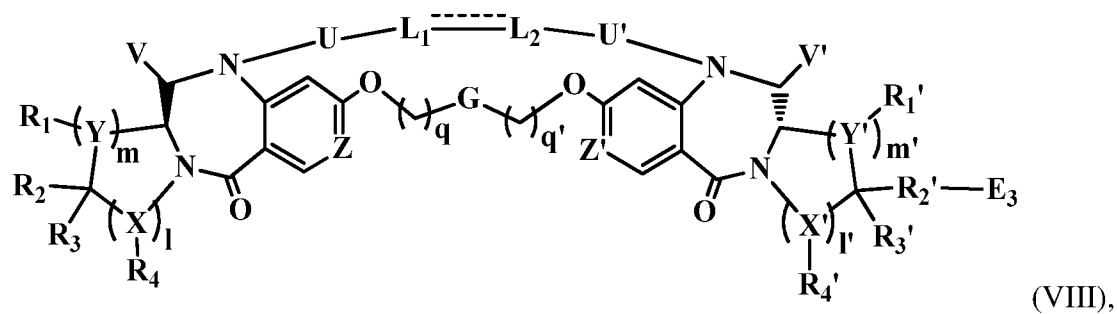
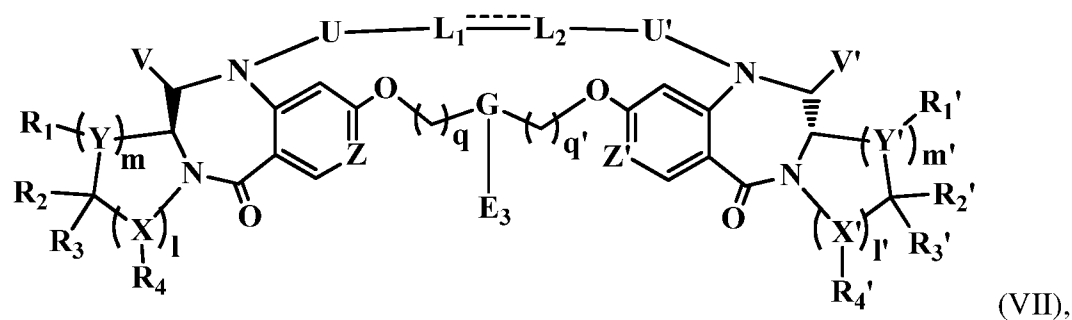
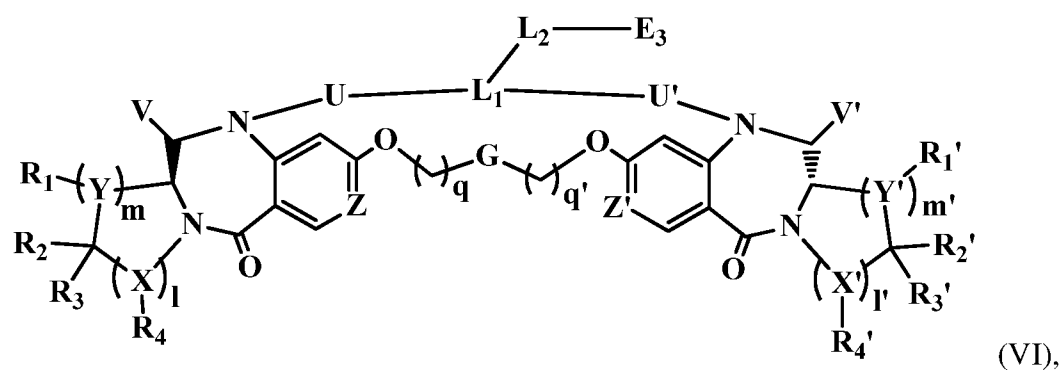
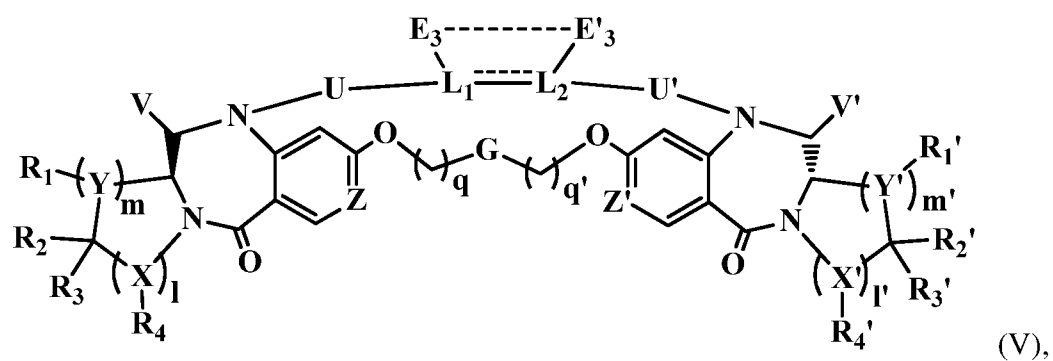


(IV-11),

где --- , --- , m , m' , n , q и q' определены такими же, как в Формуле (I); r , r' и r'' независимо равны 0 – 200, m_3 равно 0 - 30.

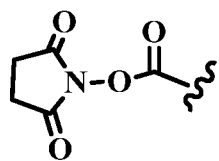
В другом предпочтительном варианте реализации изобретения указанные конъюгаты Формулы (I), (II) (III), (IV) и (V) получают кросс-сочетанием молекулы, связывающейся с

клетками, с производным димера PBD, имеющим Формулу (V) (VI), (VII) и (VIII), соответственно, как показано ниже:

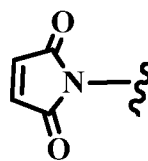


где --- , --- , X , X' , Y , Y' , Z , Z' , l , l' , m , m' , n , q , q' , R_1 , R_1' , R_2 , R_2' , R_3 , R_3' , R_4 , R_4' , V , V' , U , U' , L_1 , L_2 , E_1 и E_2 определены такими же, как в Формуле (I);

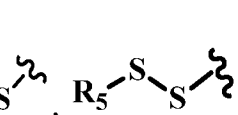
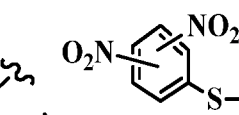
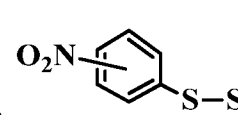
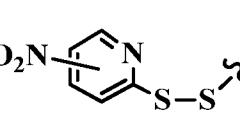
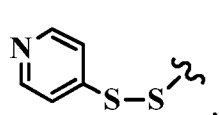
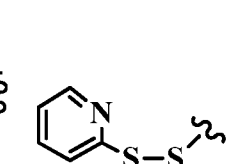
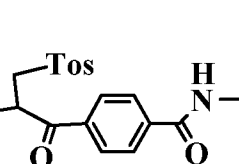
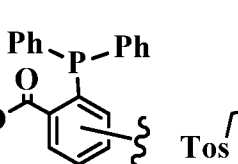
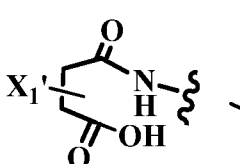
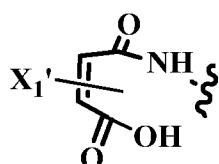
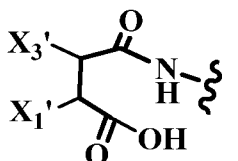
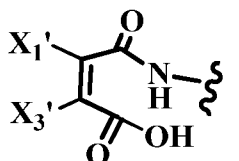
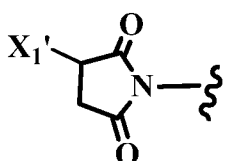
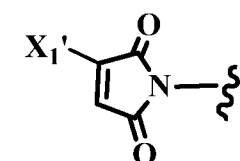
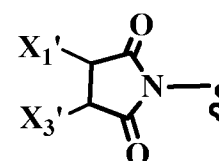
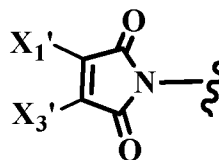
где E_3 и E'_3 независимо выбраны из:



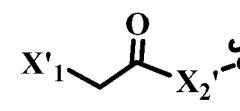
сложного эфира N-гидроксисукцинимида;



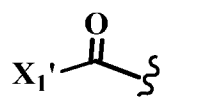
малеимида;



, дисульфида;



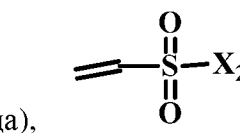
галогенацетила;



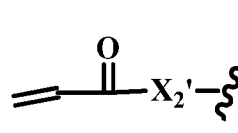
ацилгалогенида



(галогенангидрида),



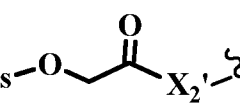
этенсульфонила;



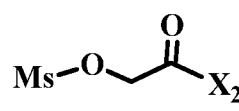
акрила



(акрилоила);



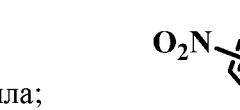
2-(тозилокси)ацетила;



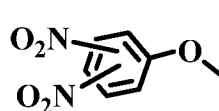
2-



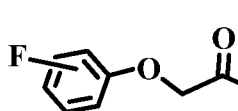
(мезилокси)ацетила;



2-(нитрофенокси)ацетила;



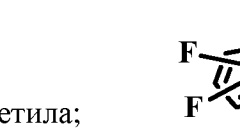
2-(динитрофенокси)ацетила;



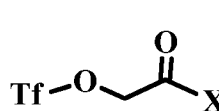
2-



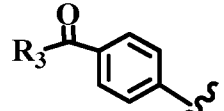
(фторфенокси)ацетила;



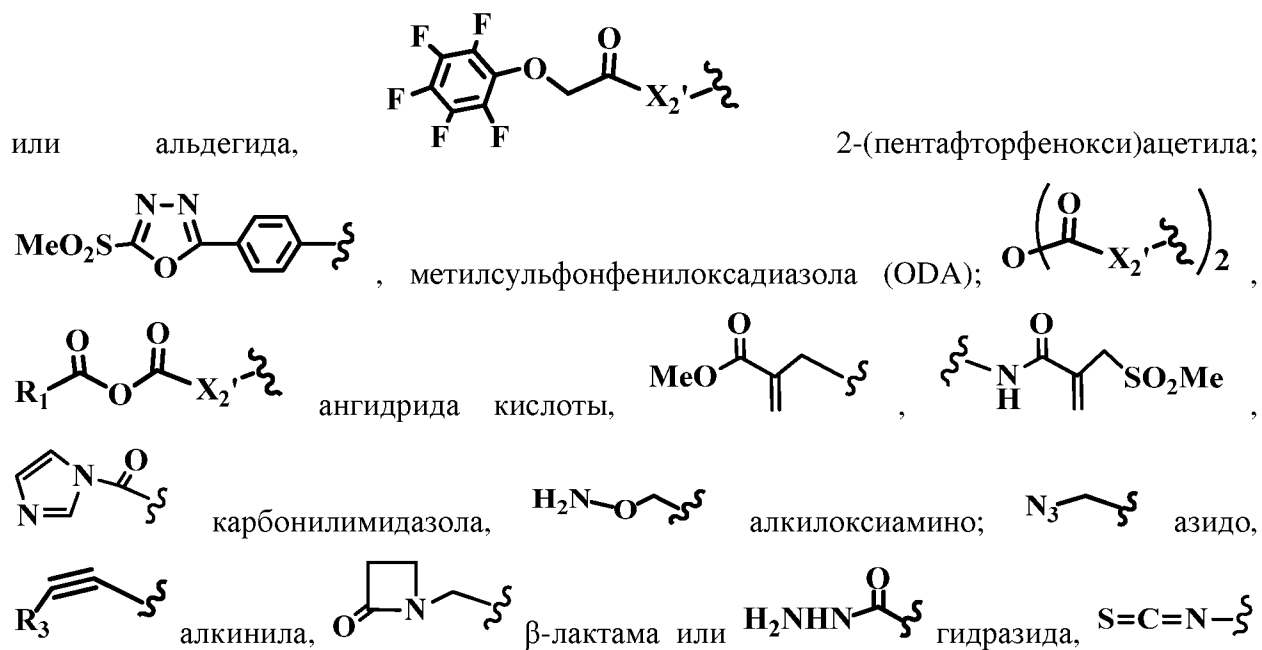
2-(дифторфенокси)ацетила;



2-(((трифторметил)сульфонил)окси)ацетила;

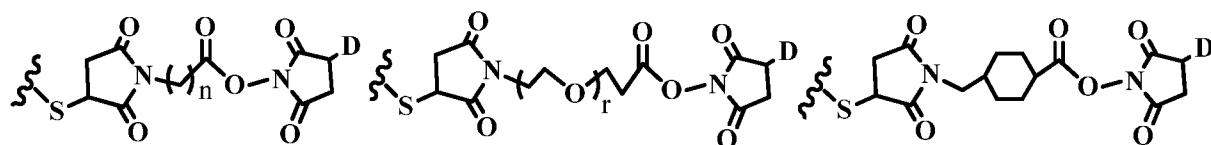


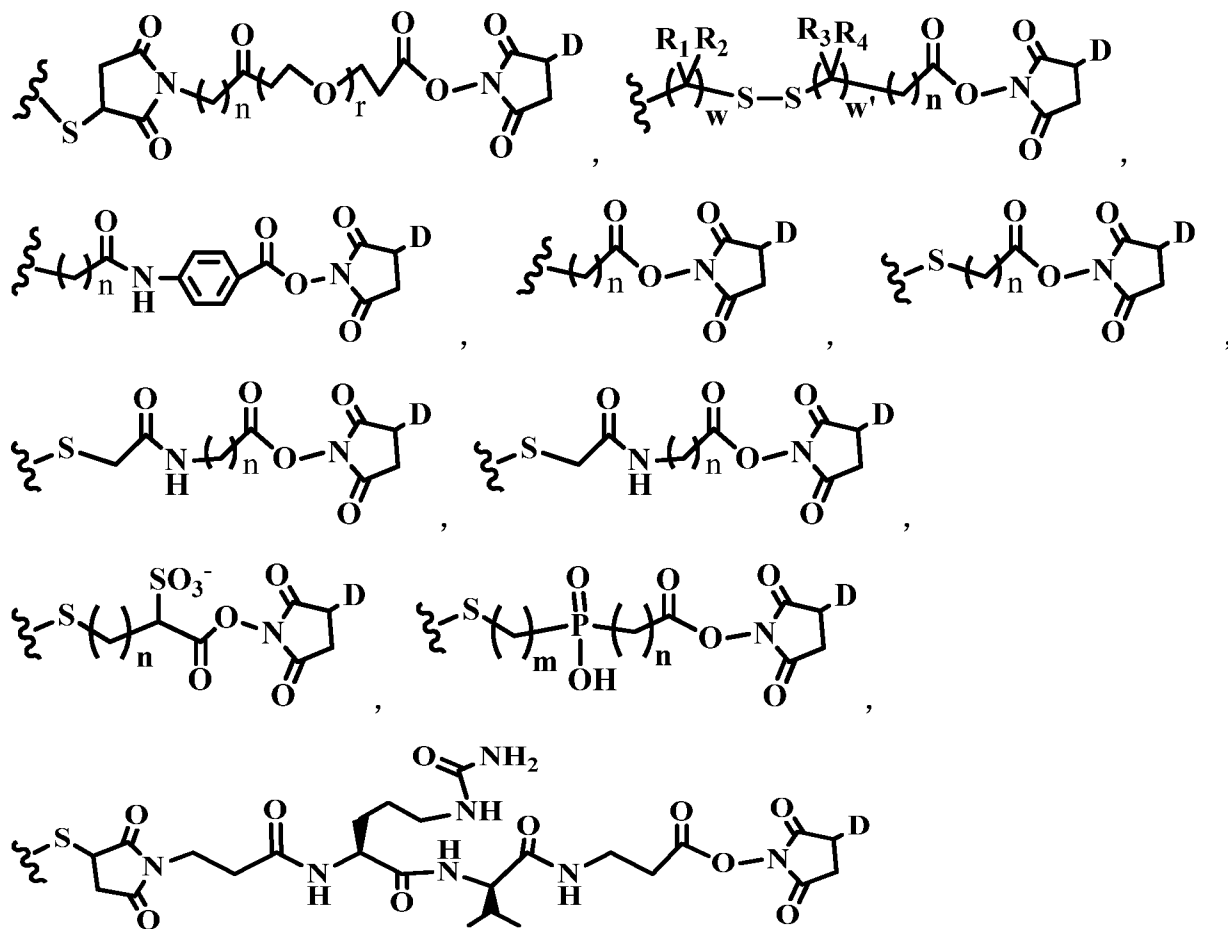
кетона



изотиоцианата; где X_1' и X_3' независимо представляют собой F, Cl, Br, I или LV_3 ; X_2' представляет собой O, NH, $N(R_1)$ или CH_2 ; R_3 и R_5 независимо представляют собой H, R_1 , ароматическую, гетероароматическую или ароматическую группу, где один или более атомов H независимо заменены на $-R_1$, -галоген, $-OR_1$, $-SR_1$, $-NR_1R_2$, $-NO_2$, $-S(O)R_1$, $-S(O)_2R_1$ или $-COOR_1$; LV_3 представляет собой уходящую группу, выбранную из метансульфонила (мезила), толуолсульфонила (тозила), трифторметилсульфонила (трифлата), трифторметилсульфоната, нитрофеноксила; N-гидроксисукцинимидила (NHS); феноксила; динитрофеноксила; пентафторфеноксила, тетрафторфеноксила, трифторфеноксила, дифторфеноксила, монофторфеноксила, пентахлорфеноксила, 1H-имидазол-1-ила, хлорфеноксила, дихлорфеноксила, тетрахлорфеноксила, N-(бензотриазолил)оксила, 2-этил-5-фенилизоксазолий-ила, фенилоксиадиолила (ODA), оксадиолила или интермедиата, полученного с помощью реагента конденсации для реакций Мицунобу, где R_1 и R_2 являются такими, как определено выше.

Более предпочтительно, E_3 и E'_3 независимо выбраны из $-SH$, $-S-SCH_3$, $-S-SAc$, $-S-S$ -пиридина, $-S-S-Ar(-NO_2)$, $-S$ -агента, связывающегося с клетками, или любой из следующих формул:

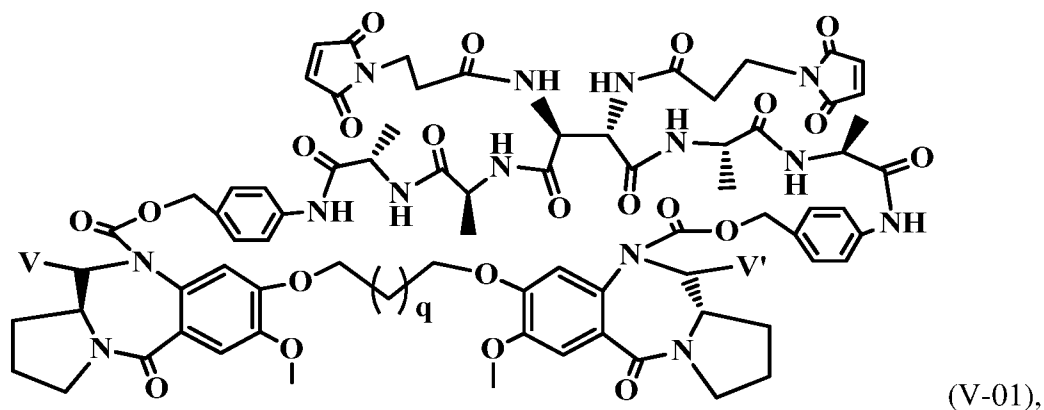


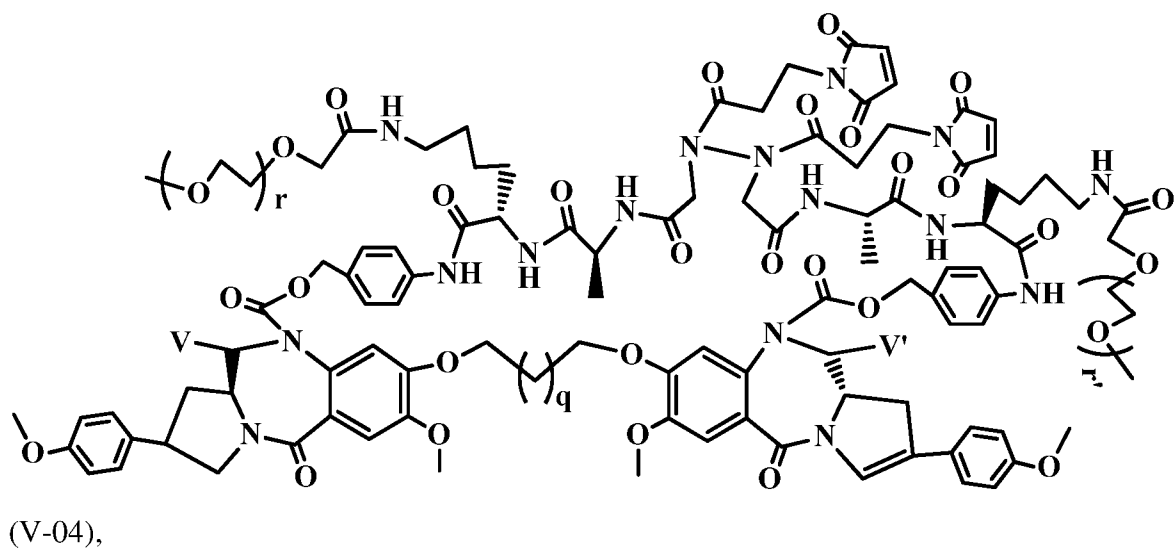
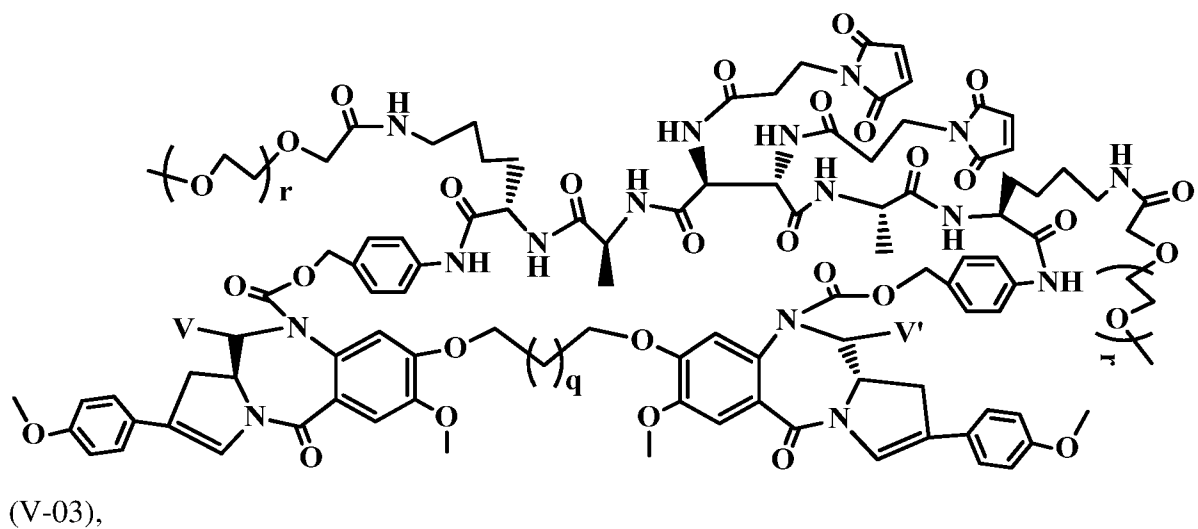
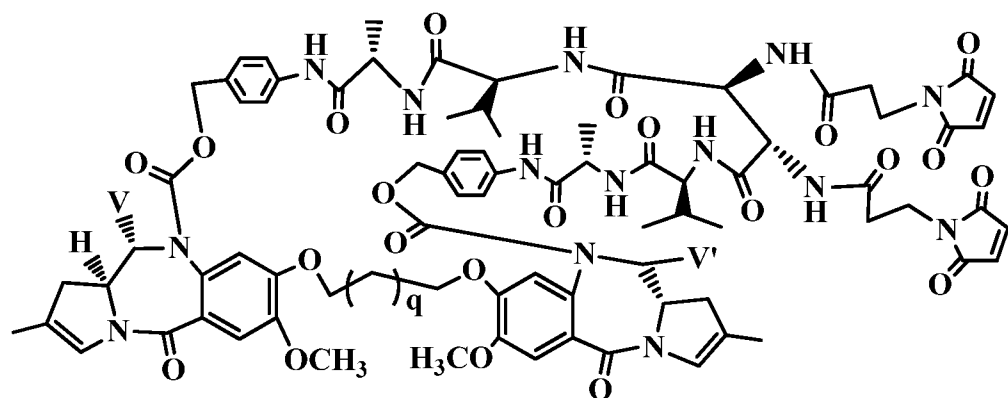


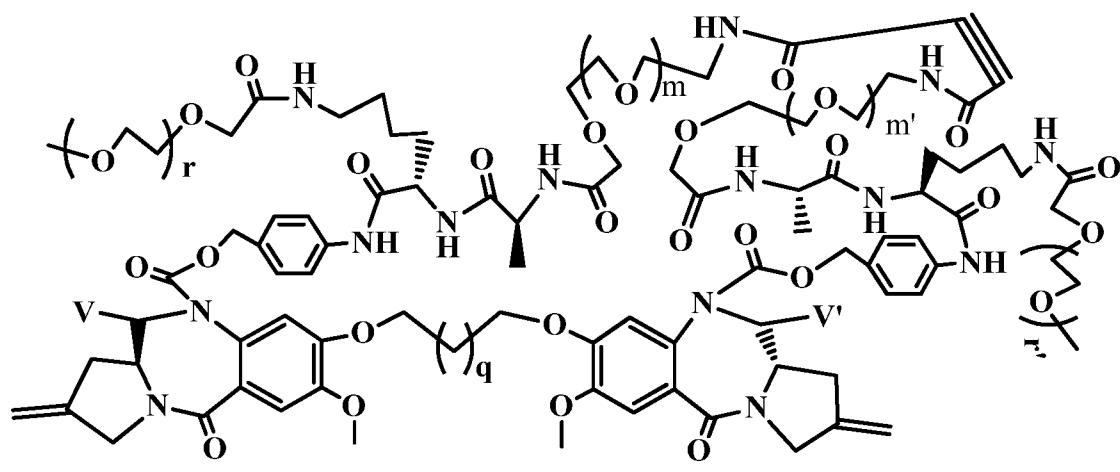
где D представляет собой H, $-\text{NO}_2$, SO_3H или F; где R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , r , m и n определены выше; w и w' независимо равны 0, 1 или 2;

где R_5 и R_5' независимо выбраны из $\text{C}_1\text{--C}_6$ алкила, арила, цикла, гетероцикла, H или M (где M представляет собой Na, K, Ca, аммоний или другую фармацевтически приемлемую соль);

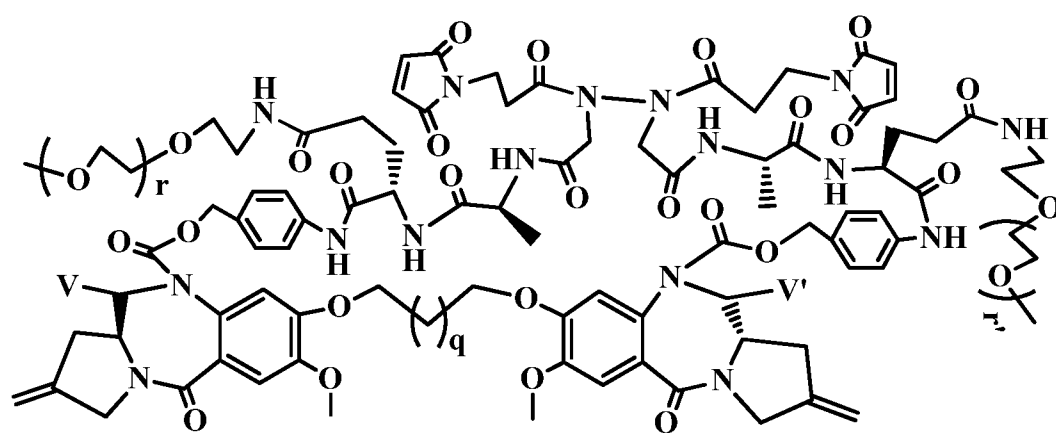
В определенных вариантах реализации изобретения указанные производные PBD Формулы (V), (VI), (VII) и (VIII) представлены следующими Формулами (V-01) ~ (V-20), (VI-01) ~ (VI-05), (VII-01) ~ (VII-06), (VIII-01) ~ (VIII-06), соответственно, ниже:



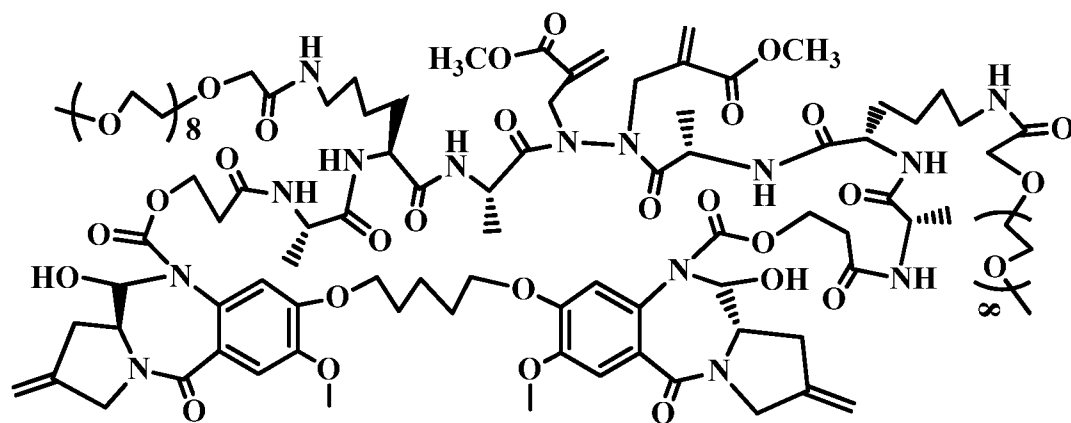




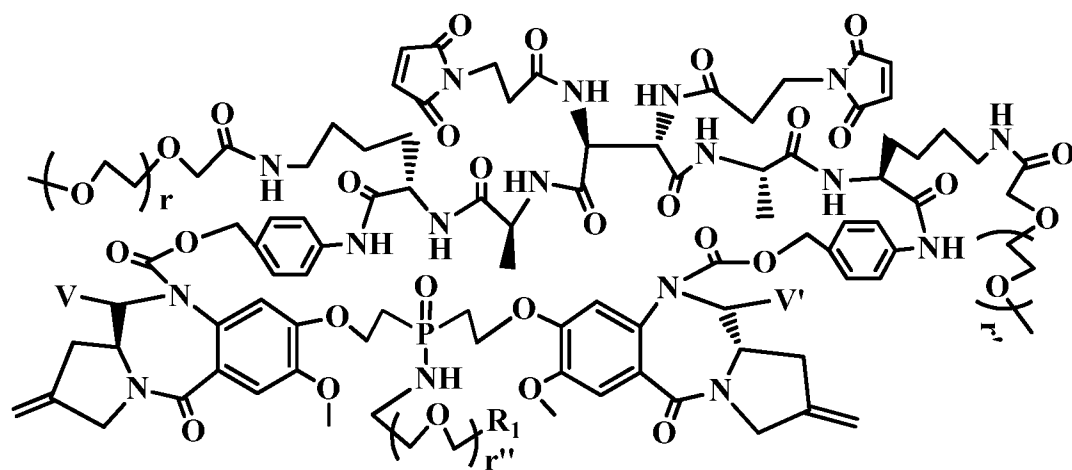
(V-05),



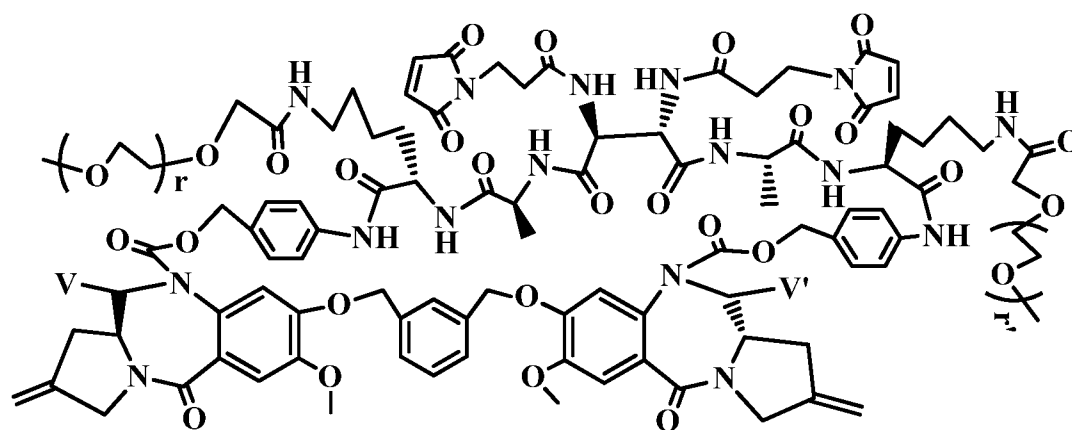
(V-06),



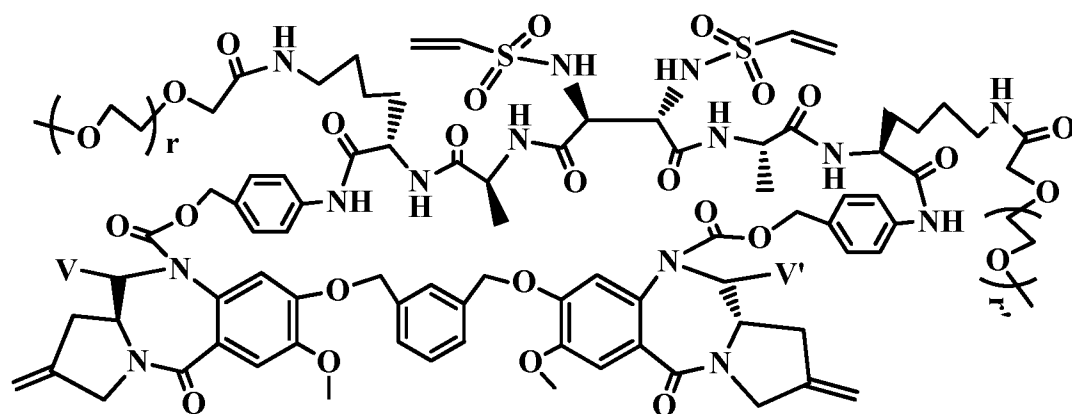
(V-07),



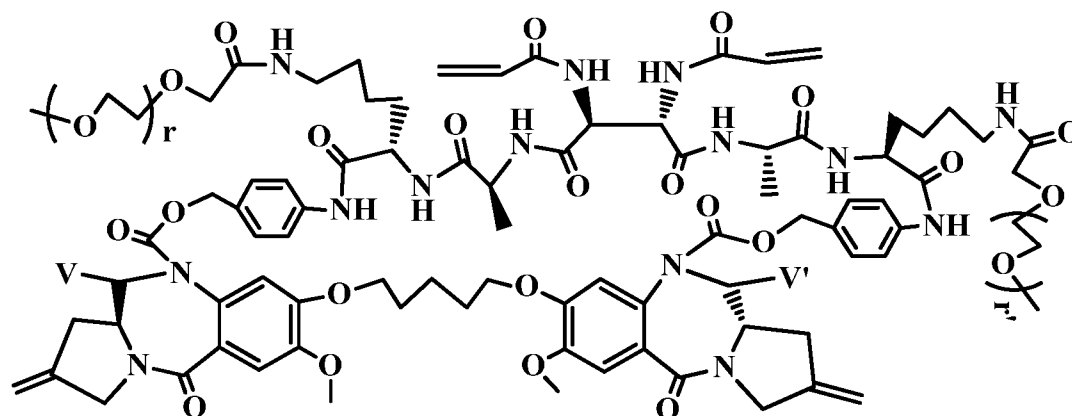
(V-08),



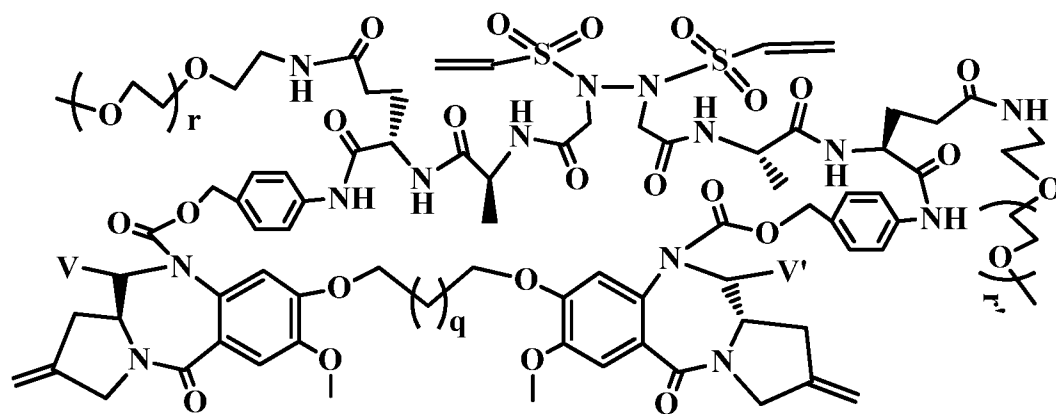
(V-09),



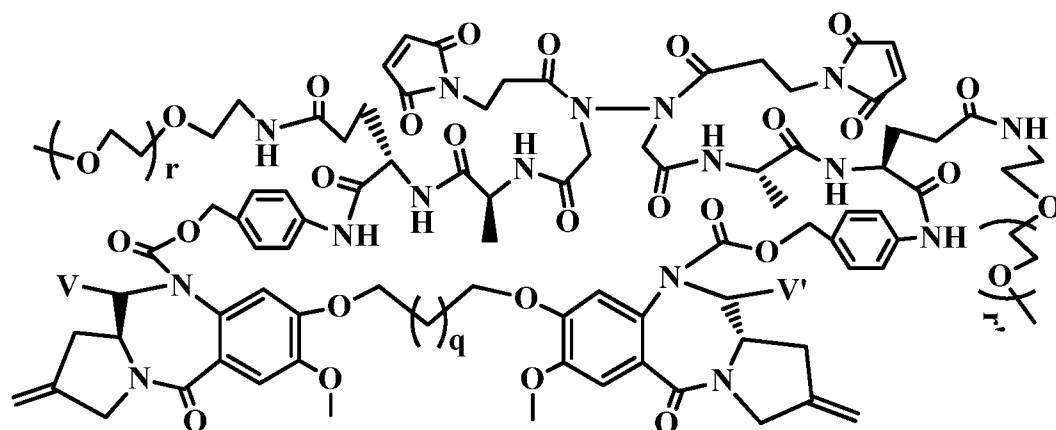
(V-10),



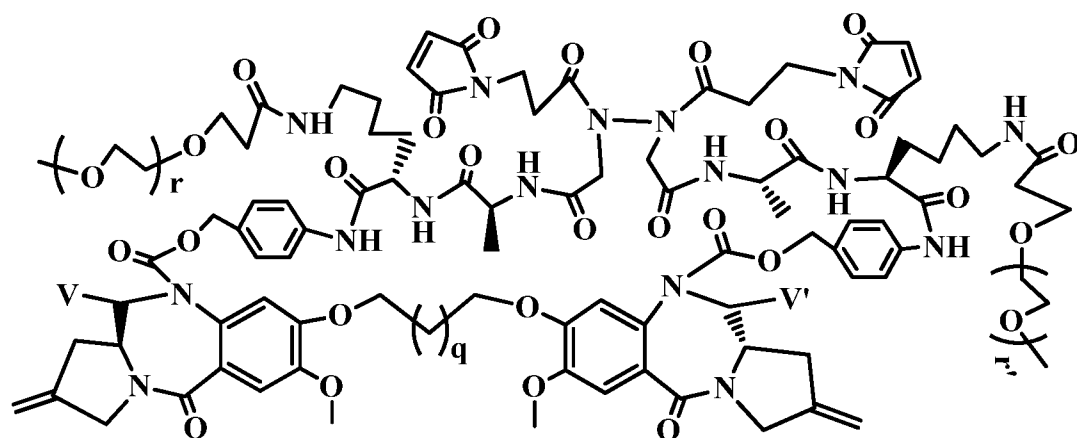
(V-11),



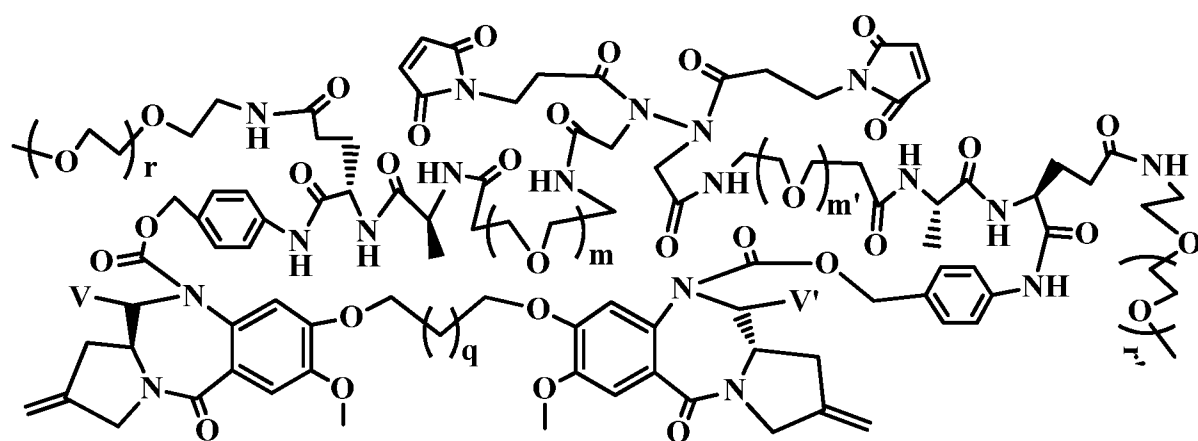
(V-12),



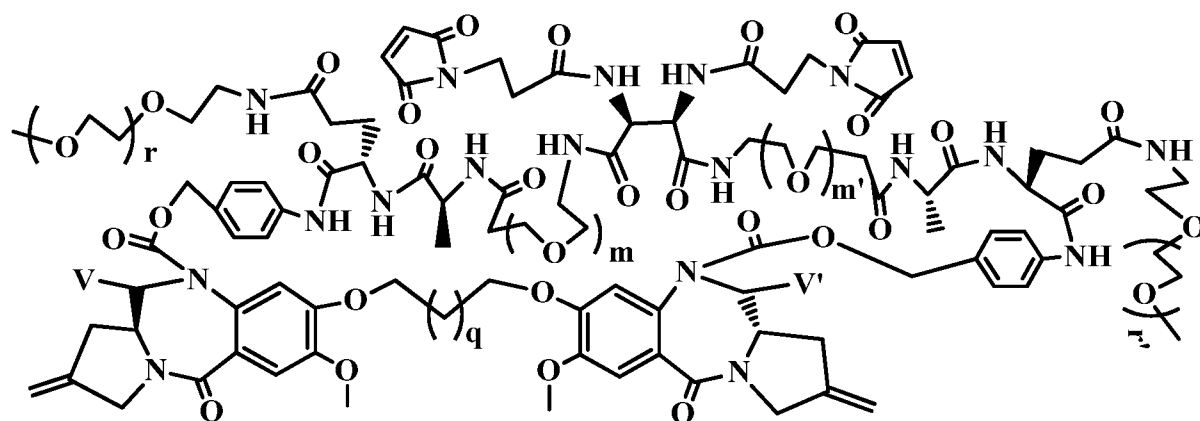
(V-13),



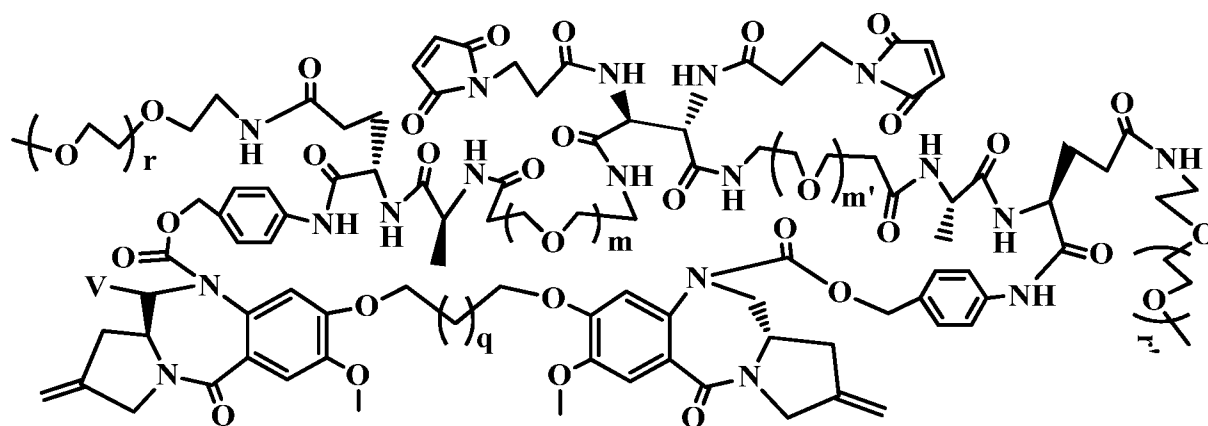
(V-14),



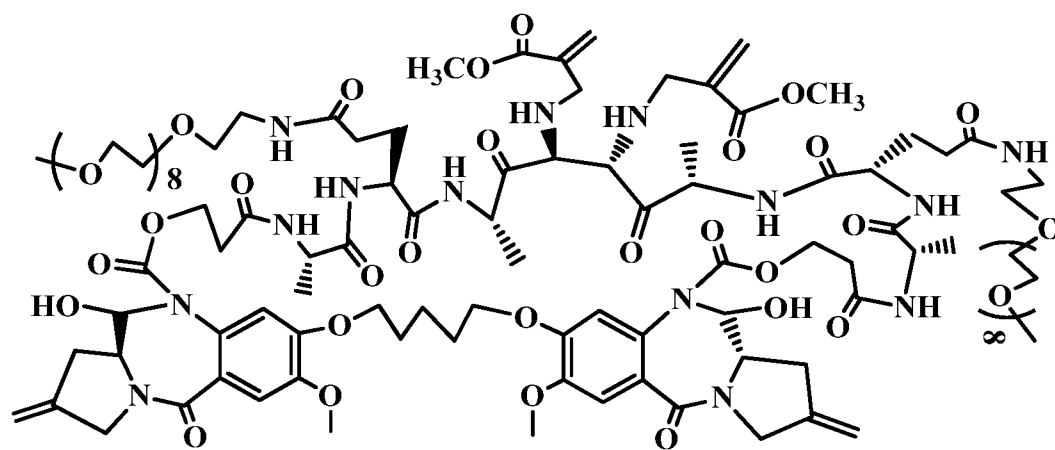
(V-15),



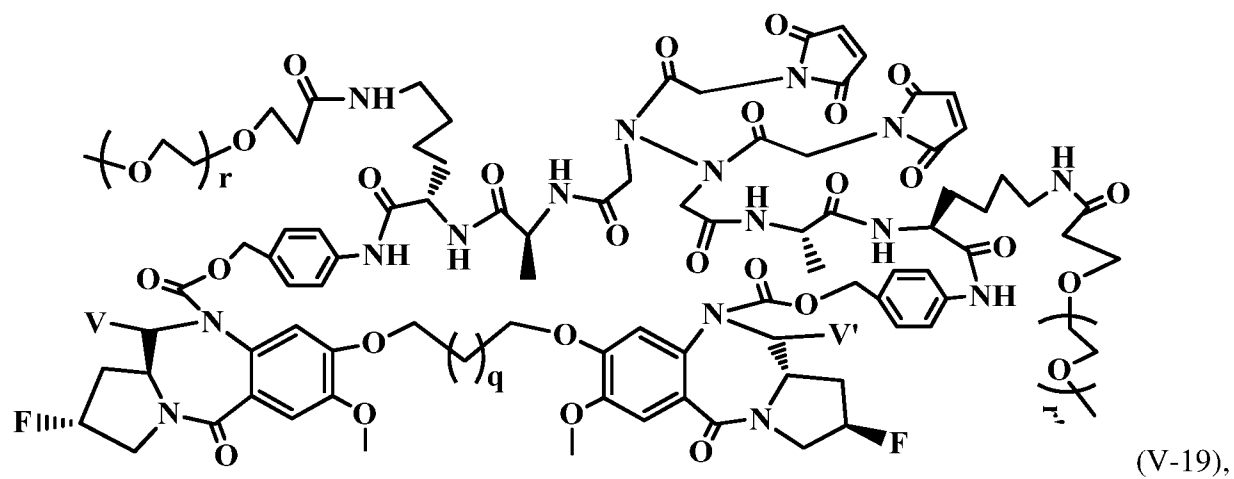
(V-16),



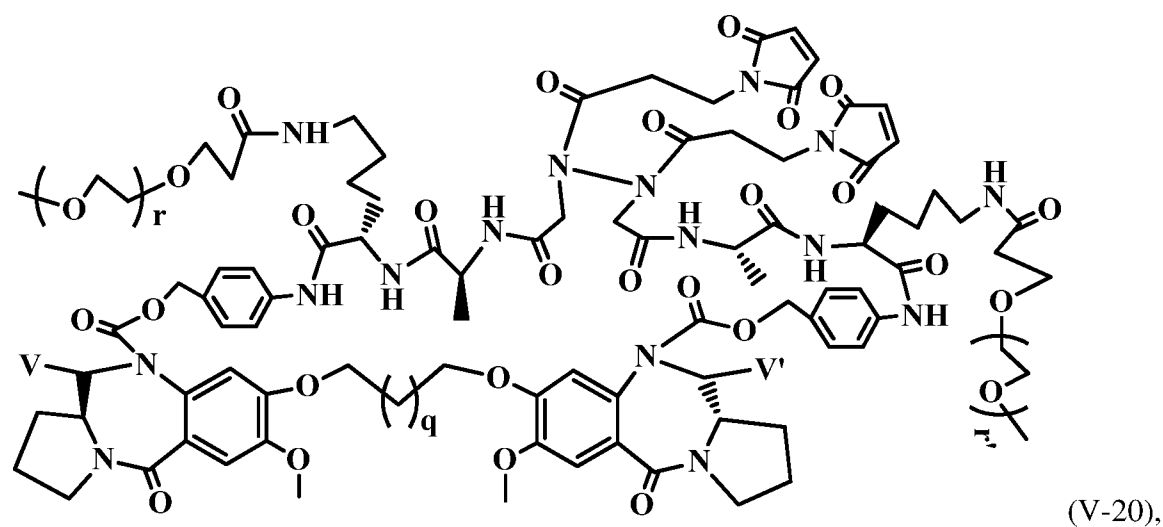
(V-17),



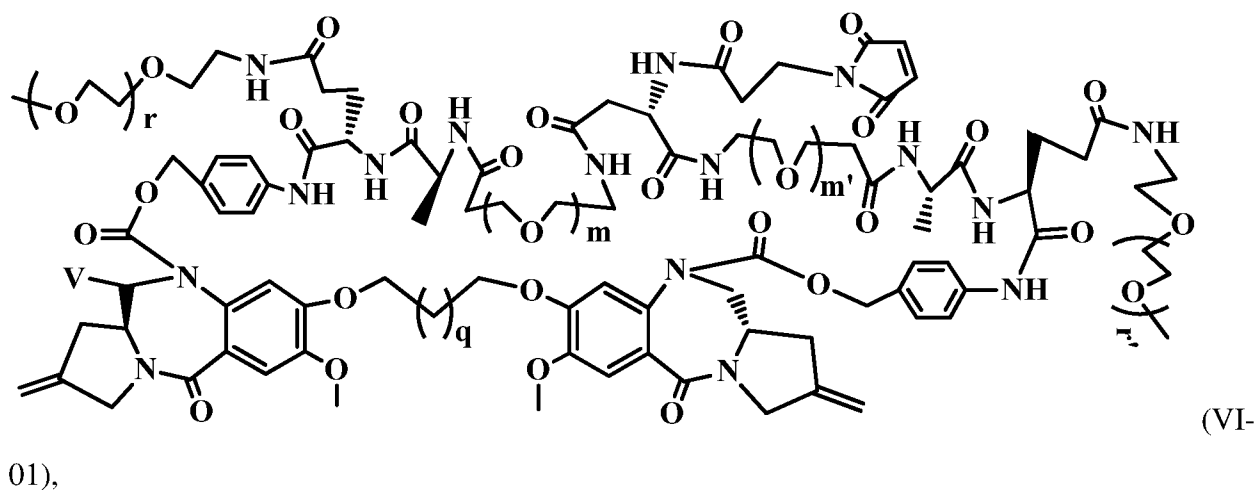
(V-18),



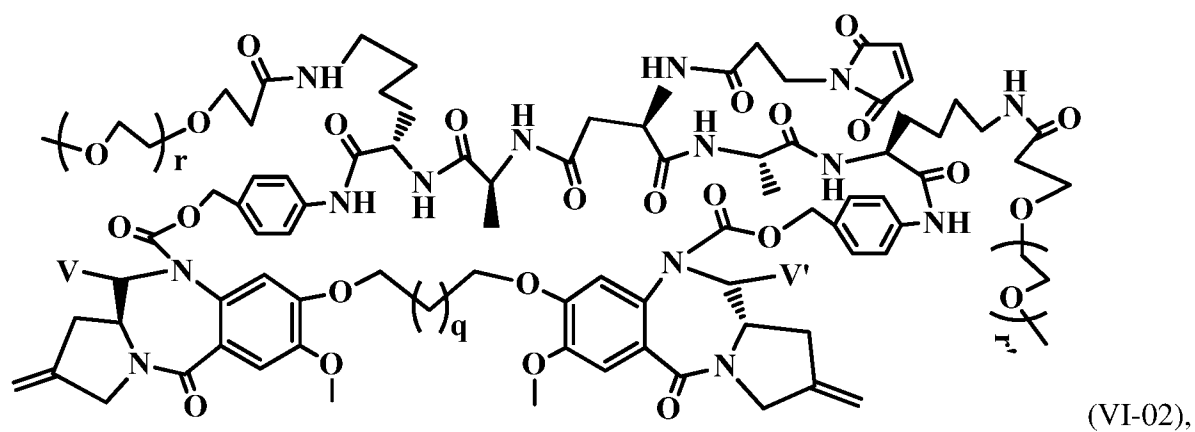
(V-19),



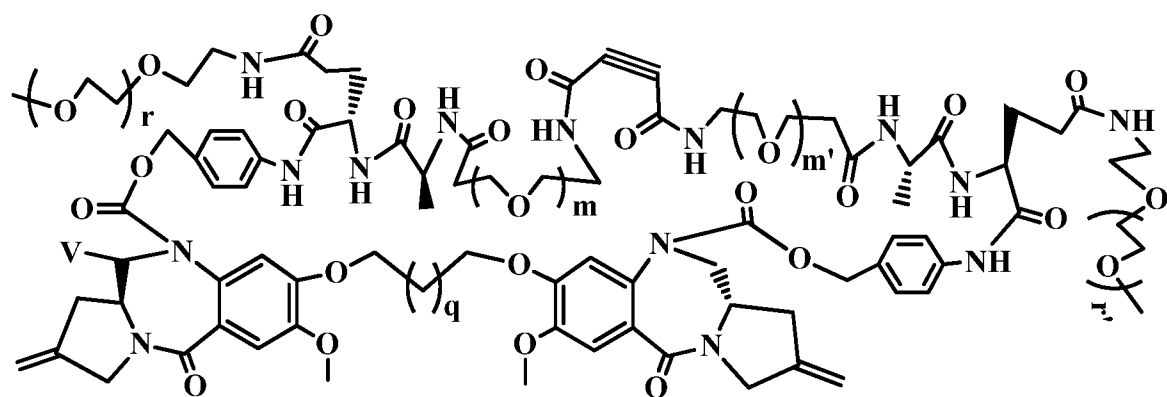
(V-20),



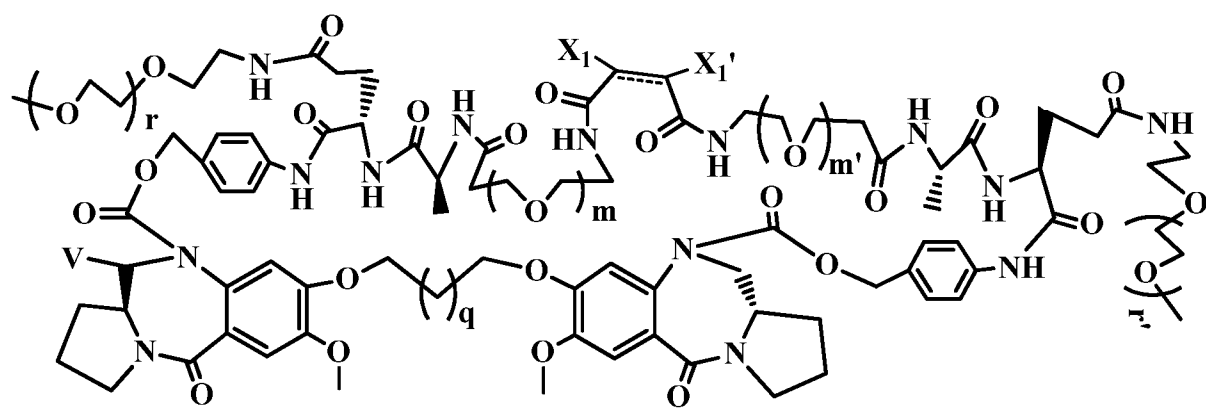
(VI-



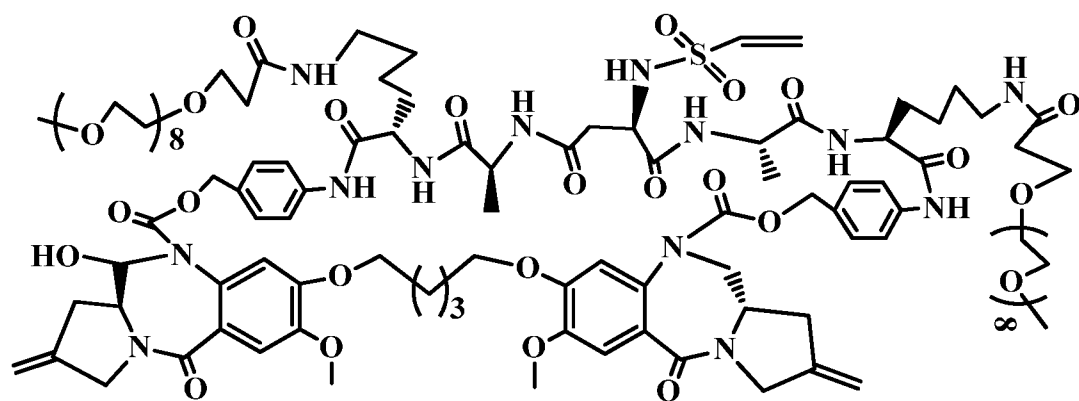
(VI-02),



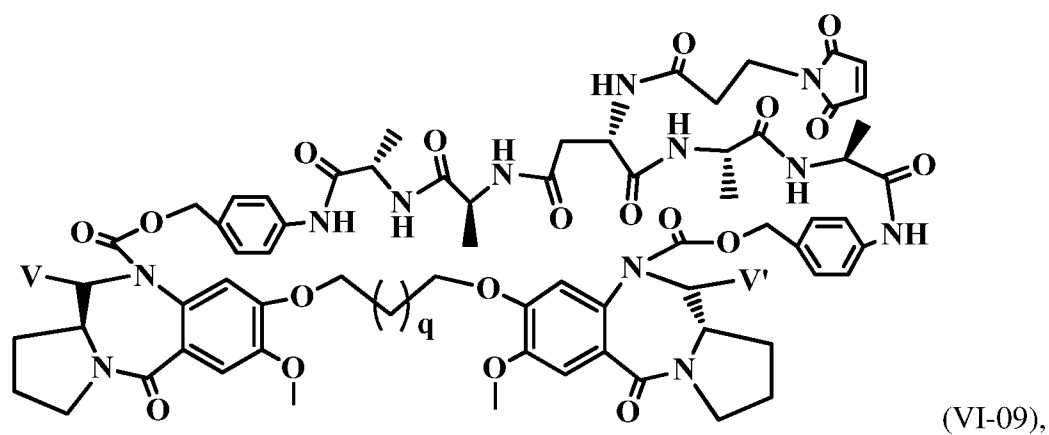
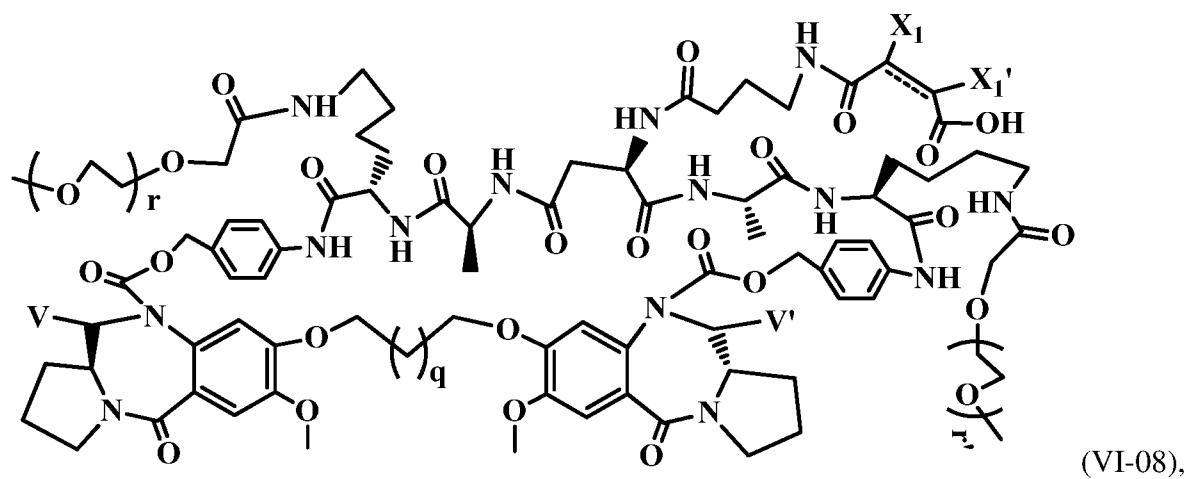
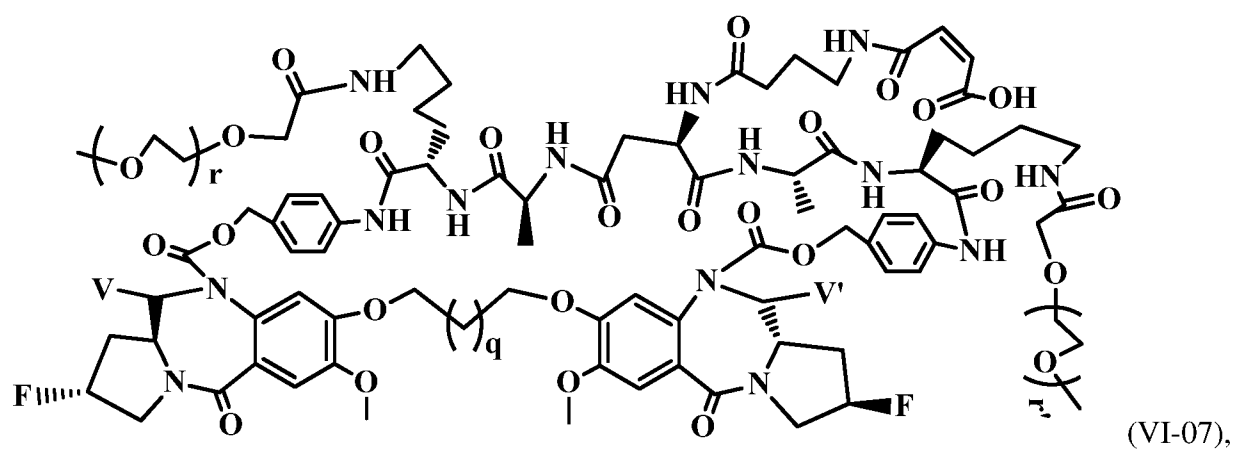
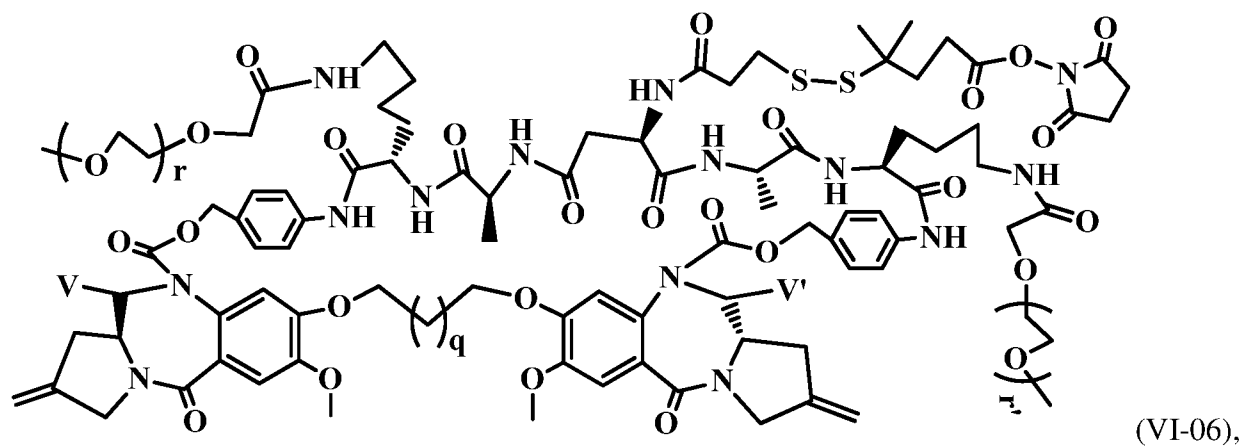
(VI-03),

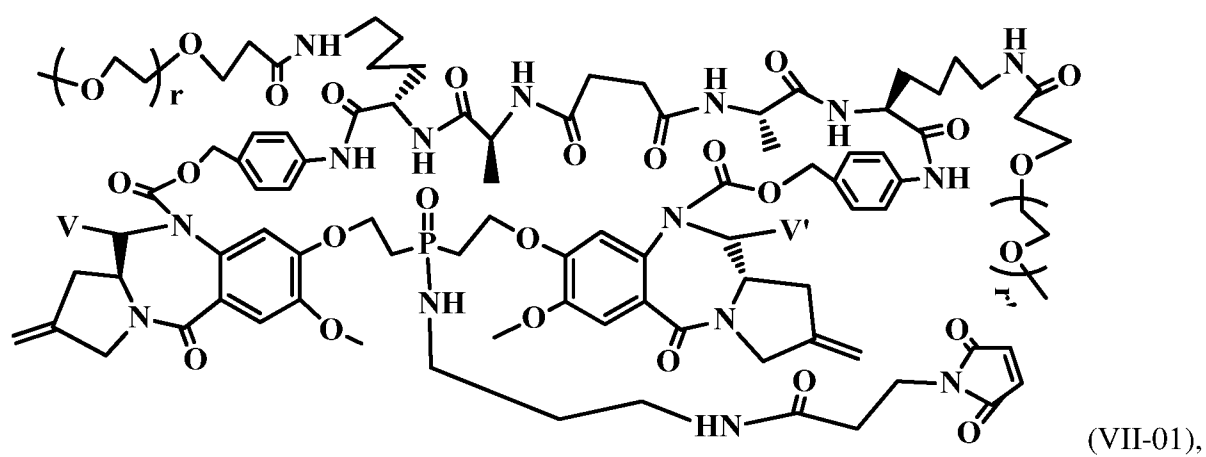
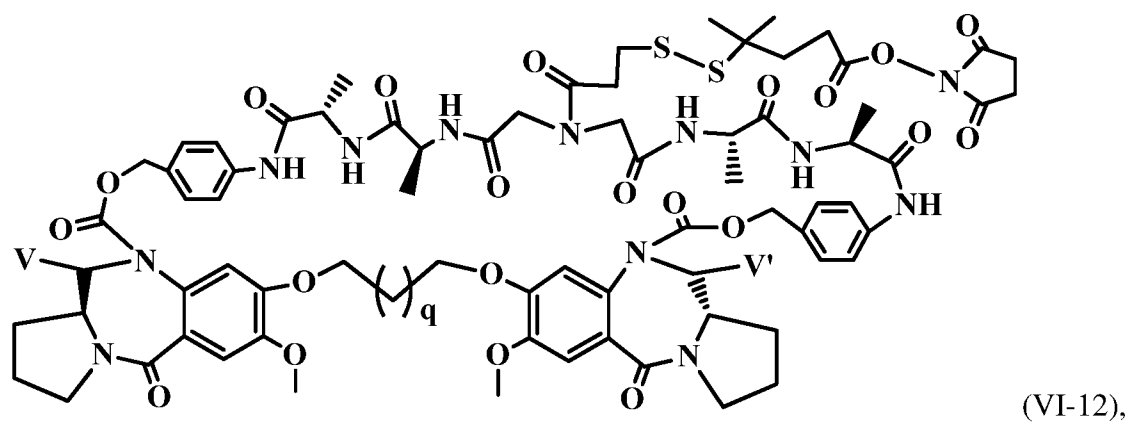
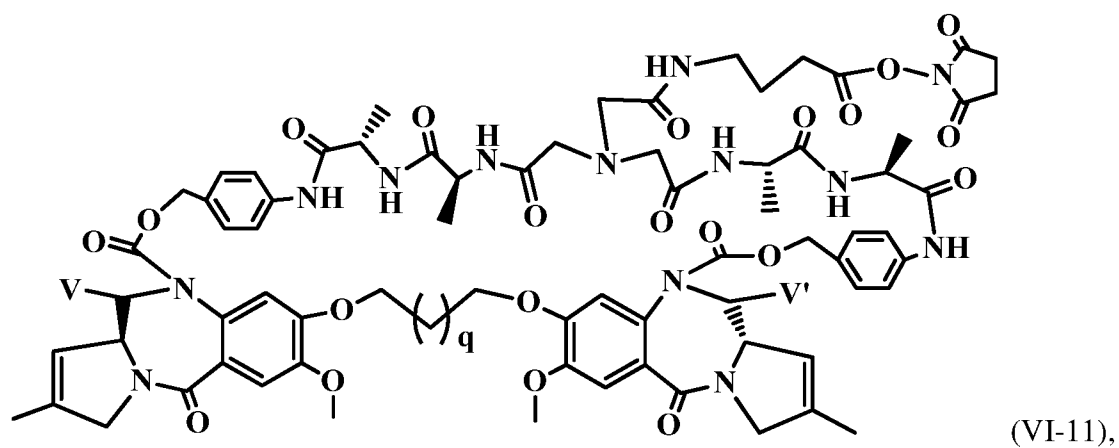
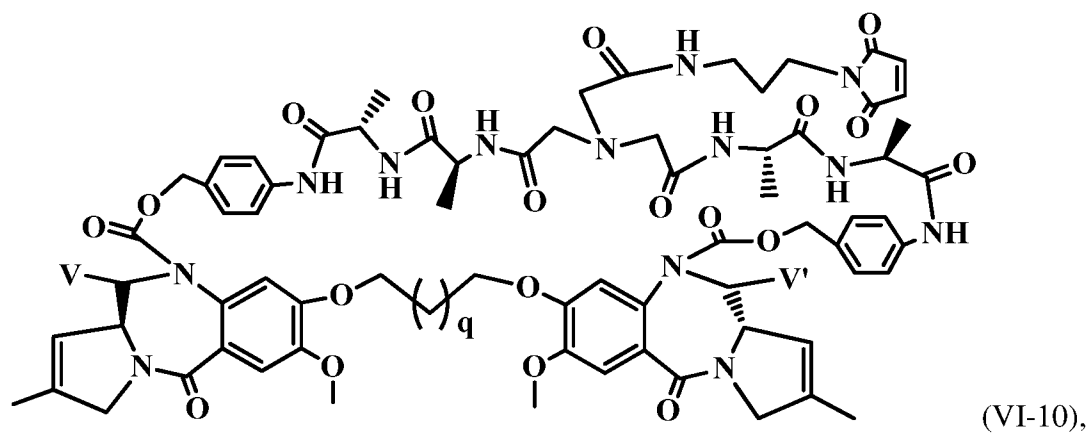


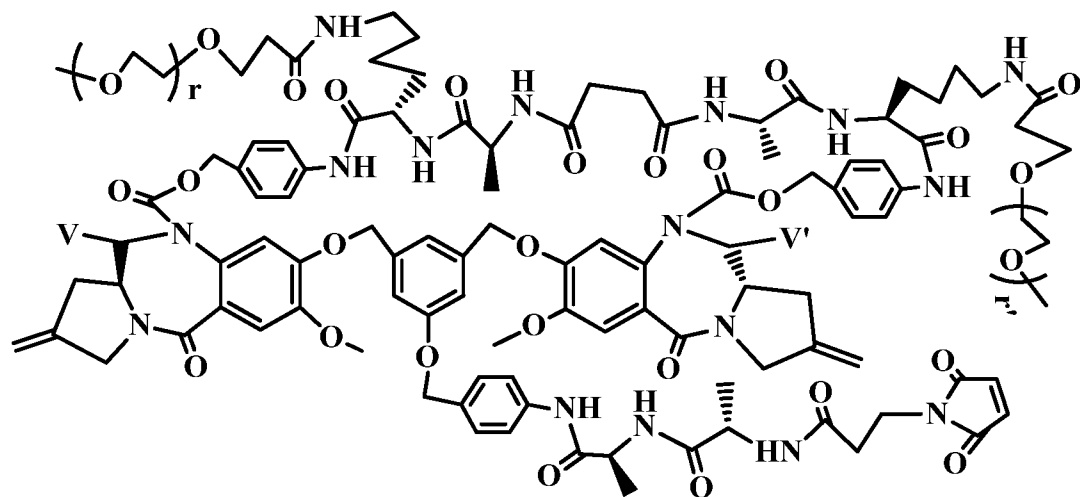
(VI-04),



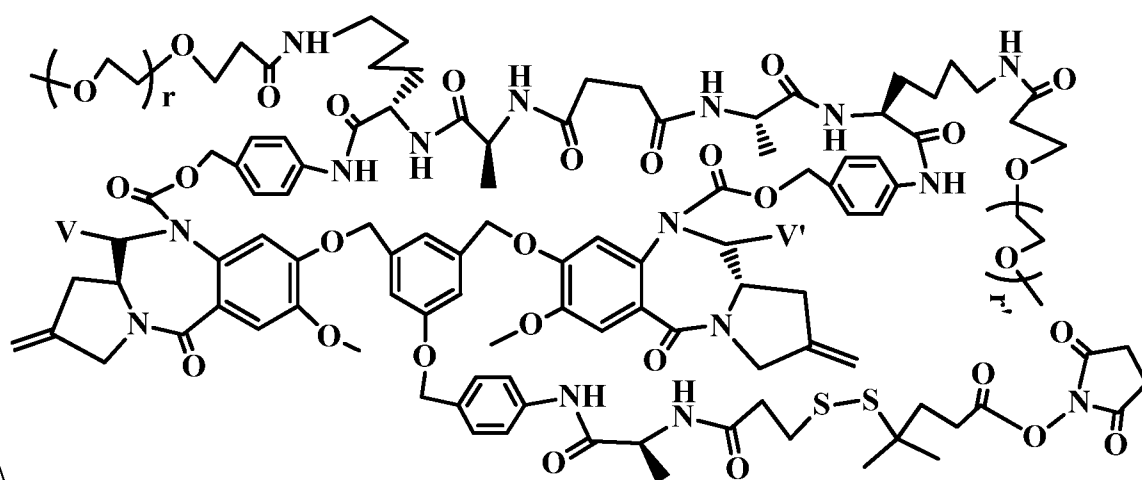
(VI-05),



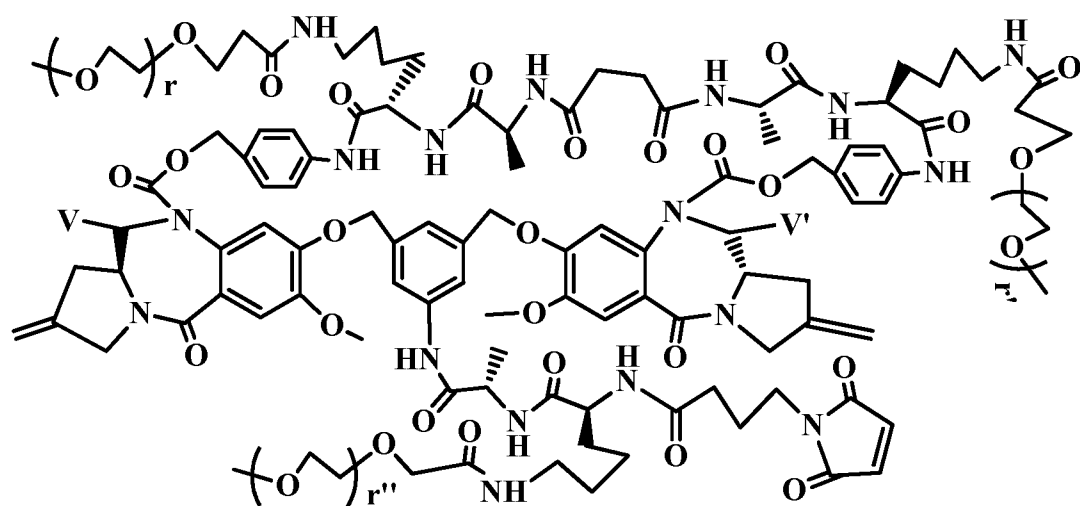




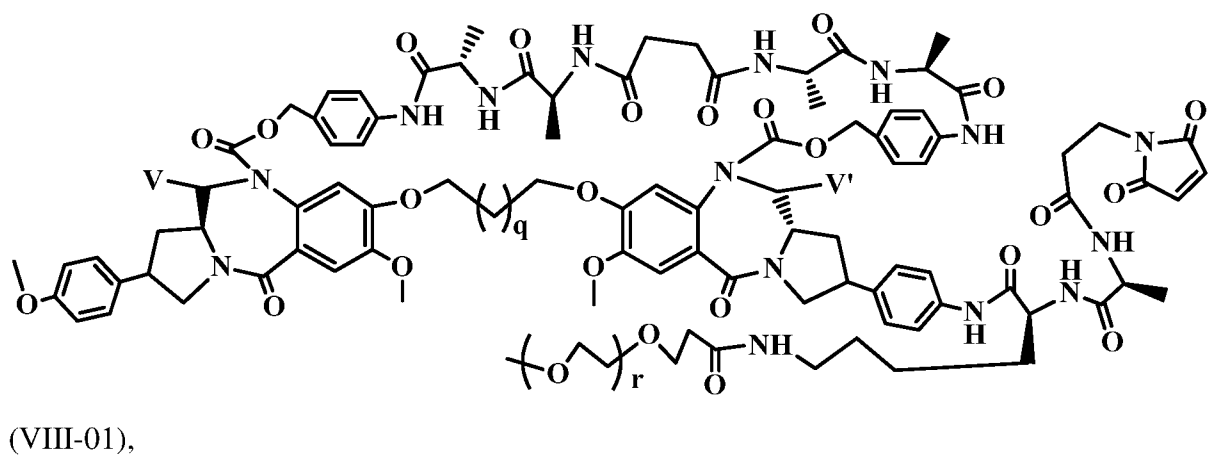
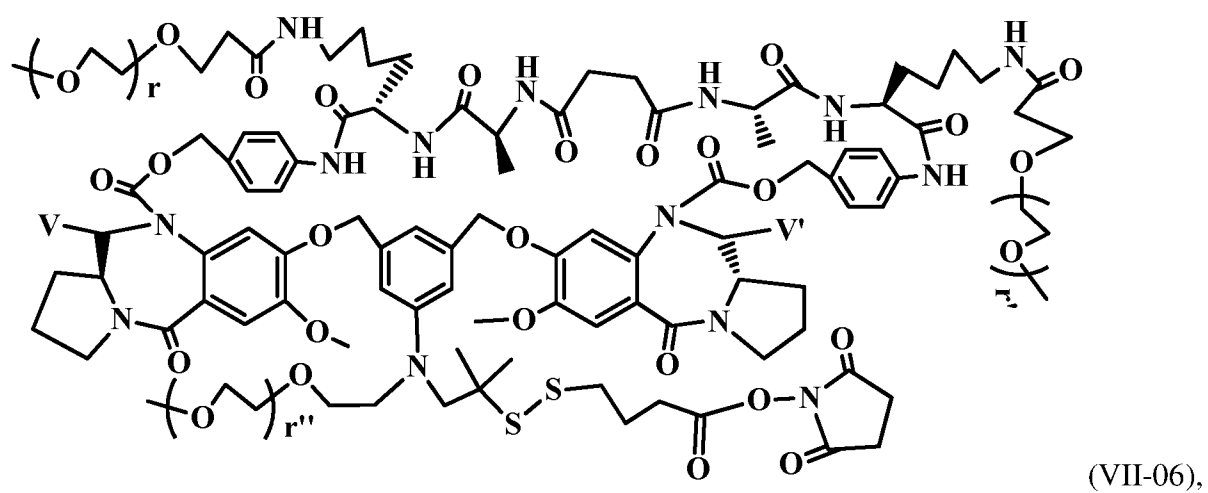
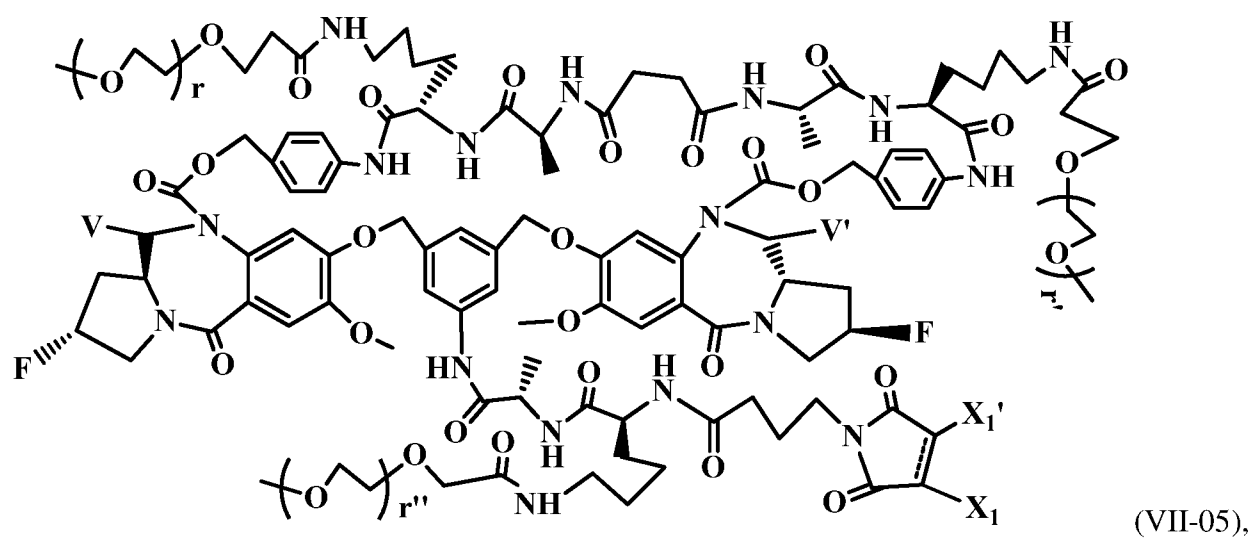
(VII-02),

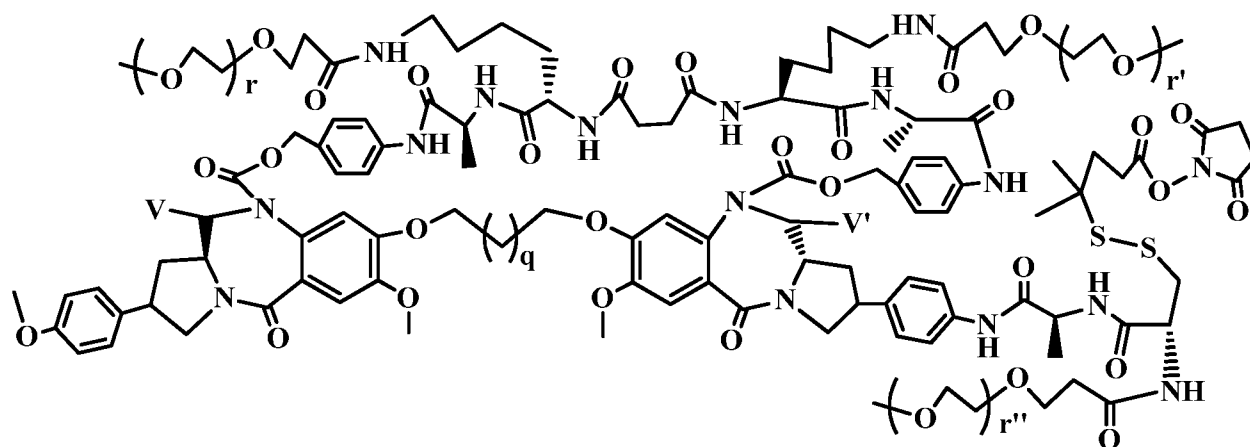


(VII-03),

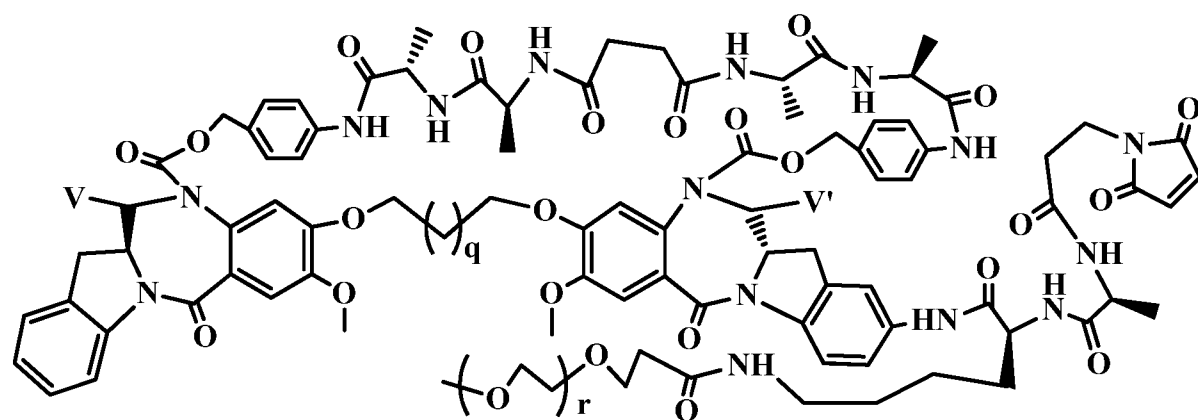


(VII-04),

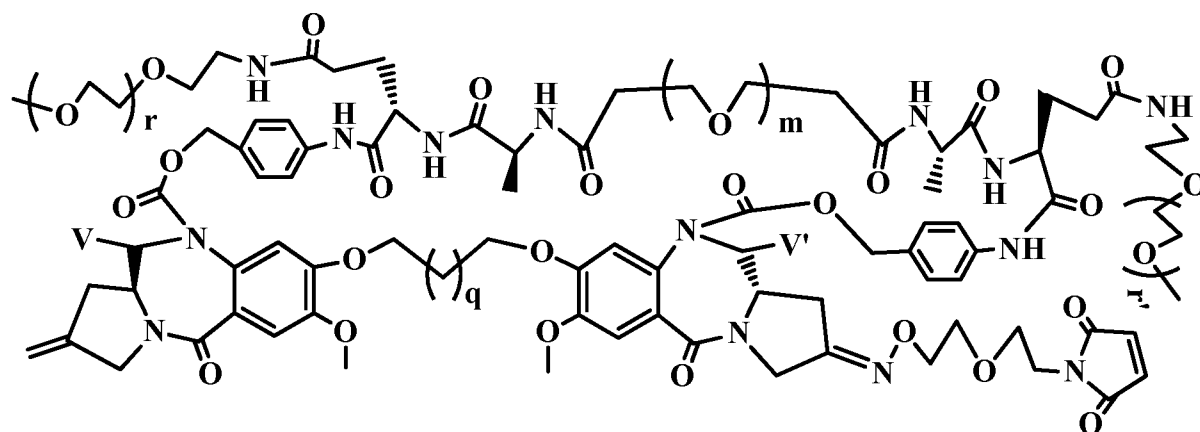




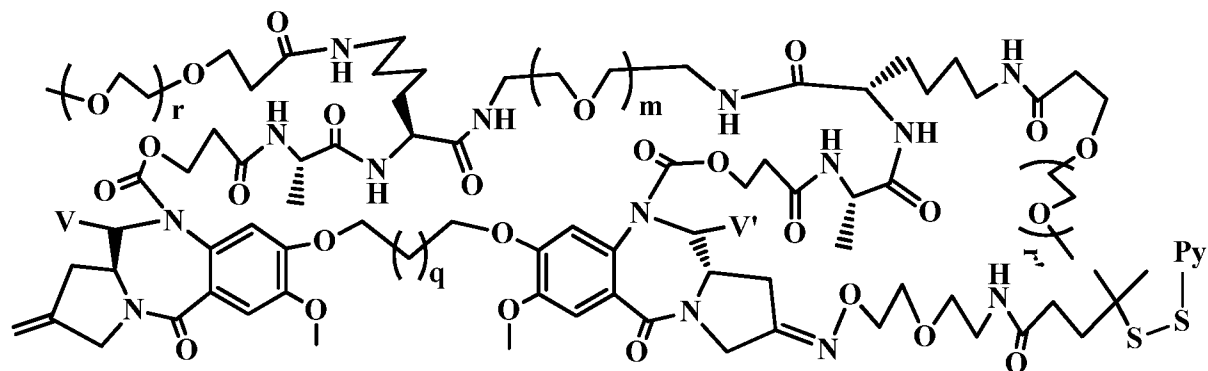
(VIII-02),



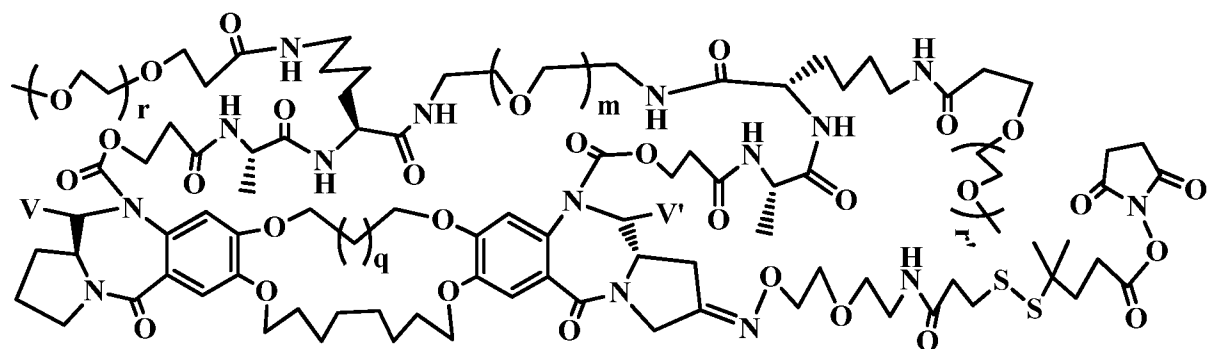
(VIII-03),



(VIII-04),



(VIII-05),



(VIII-06),

где U, U', V, V', n, n' и L определены такими же, как в Формуле R₆ и R₆' независимо выбраны из C1~C6 алкила, арила, цикла, гетероцикла, галогена, галогеналкила, алкокси, галогеналкокси, алкиламино, -NO₂, -CN или H; X₁ и X₁' независимо представляют собой H, F, Cl, Br, I, OTs (тозилат), OMs (мезилат), нитрофенол OAr(NO₂), OAr(NO₂)₂ динитрофенол, OAr(F) монофторфенол, OAr(F)₅ пентафторфенол, OAr(F)₂ дифторфенол, N-гидроксисукцинимид (NHS), фенол, тетрафторфенол, пентахлорфенол, трифлат, имидазол, дихлорфенол, тетрахлорфенол, 1-гидроксибензотриазол или 2-этил-5-фенилизоксазолий-3'-сульфонат.

СИНТЕЗ СШИТЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ДИМЕРА РВД ФОРМУЛЫ (V), (VI), (VII) И (VIII) В КАЧЕСТВЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ АГЕНТОВ.

Соединения и способы по данному изобретению могут быть получены рядом способов, хорошо известных специалистам в данной области техники. Указанные соединения могут быть синтезированы, например, путем применения или адаптации способов, описанных в примерах или их вариациях, как известно специалисту в данной области техники. Соответствующие модификации и замещения будут легко очевидными и известными или легко доступными из научной литературы специалистам в данной области техники. В частности, такие способы можно найти в Richard C. Larock, Comprehensive

Organic Transformations, A Guide to Functional Group Preparations, Two Volume Set, 2nd Edition, Wiley Publishers, 2010.

Поскольку цитотоксические агенты по данному изобретению могут содержать один или более асимметрично замещенных атомов углерода и могут быть выделены в оптически активных или рацемических формах, подразумеваются все хиральные, диастереомерные, рацемические формы и все геометрические изомерные формы указанной структуры, если конкретно не указана определенная стереохимическая или изомерная форма. В данной области техники хорошо известно, как получать и выделять такие оптически активные формы. Например, смеси стереоизомеров могут быть разделены стандартными методами, включающими, но не ограничиваясь ими, разделение рацемических форм, обычную, обращенно-фазовую и хиральную хроматографию, образование преимущественной соли, перекристаллизацию и тому подобное, или получены путем хирального синтеза либо из хиральных исходных материалов, либо путем асимметрического синтеза целевых хиральных центров.

Цитотоксические агенты по данному изобретению могут быть получены различными синтетическими путями. Указанные реагенты и исходные материалы являются коммерчески доступными или легко синтезируются методами, известными специалистам в данной области техники. Все заместители, если не указано иное, представляют собой такие, как определено ранее.

В синтетических реакциях цитотоксических агентов по данному изобретению может потребоваться защита реакционноспособных функциональных групп, например гидрокси, амино, имино, тию или карбоксигруппы, где они желательны в конечном продукте, чтобы избежать их нежелательного участия в реакциях. Стандартные защитные группы можно применять в соответствии со стандартной практикой, для примеров см. Peter G. M. Wuts, Theodora W. Greene в *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Edition, John Wiley and Sons, 2006; Ian T. Harrison, Shuyen Harrison в *Compendium of Organic Synthetic Methods*, Vol 1,2 Vols. 1& 2 By Ian T. Harrison & Shuyen Harrison, Vols 3~5 Louis S. Hegedus, Leroy Wade Vols 6~Vol 12 Michael B. Smith, John Wiley and Sons, 2006~2012.

Как правило, синтетические реакции проводятся в пригодных растворителях, температурах и времени. В синтетической реакции цитотоксического агента может быть использовано множество растворителей, которые не оказывают неблагоприятного воздействия на реакцию или на вовлеченные реагенты. Примеры пригодных растворителей включают: углеводороды, которые могут представлять собой ароматические, алифатические или циклоалифатические углеводороды, такие как гексан, циклогексан,

бензол, толуол и ксилол; углеводороды, содержащие галоген, такие как хлороформ, дихлорметан, дихлорэтан; амиды, такие как диметиллактамид или диметилформамид; спирты, такие как этанол и метанол, и простые эфиры, такие как диэтиловый эфир и тетрагидрофуран. Указанные реакции могут проходить в широком диапазоне температур, от $-100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ~ 300°C . Более предпочтительно от $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $150\text{ }^{\circ}\text{C}$. Время, необходимое для синтетической реакции, также может широко варьироваться в зависимости от многих факторов, особенно, температуры реакции и природы реагентов, и может составлять от 5 секунд до 4 недель, более предпочтительно, от 10 минут до 24 часов. Кроме того, полученные цитотоксические агенты могут быть выделены или очищены из реакционной смеси стандартными методами, такими как упаривание или отгонка растворителя из реакционной смеси, или выливание остатка в воду после отгонки растворителя из реакционной смеси с последующим экстрагированием органическим растворителем, не смешивающимся с водой, а затем отгонка растворителя из экстракта. Это также может включать различные известные методы, такие как перекристаллизация, переосаждение или различные методики хроматографии, особенно колоночная хроматография, препаративная тонкослойная хроматография или высокоэффективная жидкостная хроматография.

Некоторые из синтетических реакций указанных цитотоксических агентов и их конъюгатов с агентом, связывающимся с клетками, дополнительно приведены, но не ограничены, на Фиг. 1 ~ 32 и в примерах следующего описания.

КОНЬЮГАТЫ СШИТЫХ ДИМЕРОВ PBD С МОЛЕКУЛОЙ, СВЯЗЫВАЮЩЕЙСЯ С КЛЕТКАМИ.

В данном изобретении предложена молекула конъюгата, содержащая по меньшей мере одно производное PBD, ковалентно связанное с агентом, связывающимся с клетками (Q), через линкерную группу линкера конъюгата. Предпочтительно, указанный конъюгат состоит из от одной до двадцати молекул сшитых производных димера PBD в соответствии с данным изобретением, ковалентно связанных с агентом, связывающимся с клетками, через линкерную группу линкера на сшитом производном димера PBD.

Как указано выше, указанные конъюгаты молекулы, связывающейся с клеточной поверхностью - сшитых производных димера PBD проиллюстрированы в Формуле (I), (II), (III) и (IV) выше.

Содержание лекарственного средства может варьироваться от 1 до 30 фрагментов лекарственного средства (D) на антитело и, предпочтительно, представляет собой в среднем 2 ~ 8 фрагментов лекарственного средства на антитело в молекуле Формулы (I) ~ (IV).

Среднее количество фрагментов лекарственного средства на антитело в препаратах ADC из реакций конъюгации может быть определено стандартными методами, такими как масс-спектрометрия, анализ ИФА и ВЭЖХ. Количественное распределение конъюгатов с точки зрения содержания лекарственного средства также может быть определено. В некоторых случаях разделение, очистка и характеристика гомогенных конъюгатов, где содержание лекарственного средства представляет собой определенное значение, от конъюгатов с иным содержанием лекарственного средства могут быть достигнуты с помощью таких методов, как обращенно-фазовая ВЭЖХ или электрофорез.

Указанные агенты, связывающиеся с клетками (СВА) могут быть любого вида и включают пептиды и непептиды. Как правило, указанные агенты, связывающиеся с клетками включают, но не ограничиваясь ими, белки с высокой молекулярной массой, такие как, например, полноцепочечные антитела (поликлональные и моноклональные антитела); одноцепочечные антитела; фрагменты антител, такие как Fab, Fab', F(ab')₂, F_v, [Parham, J. Immunol. 131, 2895-2902 (1983)], фрагменты, полученные из библиотеки экспрессии Fab, антиидиотипические (анти-Id) антитела, CDR и фрагменты, связывающиеся с эпитопом любого из вышеуказанного, которые иммуноспецифически связываются с антигенами раковых клеток, вирусными антигенами или микробными антигенами; миметик антитела, такой как аффитело; доменные антитела (dAb); нанотела; унитела; дарпины; антикалины; версатела; дуокалины; липокалины; вимеры; интерфероны (такие как типа I, II, III); пептиды; лимфокины, такие как ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-13, GM-CSF, интерферон-гамма (IFN-γ); гормоны, такие как инсулин, TRH (тиреотропин релизинг гормоны), MCH (меланоцитостимулирующий гормон), стероидные гормоны, такие как андрогены и эстрогены, меланоцитостимулирующий гормон (MCH); факторы роста и колониестимулирующие факторы, такие как эпидермальные факторы роста (ЭФР), гранулоцитарно-моноцитарный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), трансформирующие факторы роста (TGF), такие как TGFα, TGFβ, инсулин и инсулиноподобные факторы роста (IGF-I, IGF-II) G-CSF, M-CSF и GM-CSF [Burgess, Immunology Today, 5, 155-158 (1984)]; факторы роста осповакцины (VGF); факторы роста фибробластов (FGF); белки с низкой молекулярной массой, полипептид, пептиды и пептидные гормоны, такие как бомбезин, гастрин, гастрин-высвобождающий пептид; факторы роста тромбоцитов; интерлейкины и цитокины, такие как интерлейкин-2 (ИЛ-2), интерлейкин-6 (ИЛ-6), лейкоз-ингибирующие факторы, гранулоцитарно-моноцитарный колониестимулирующий фактор (GM-CSF); витамины, такие как фолат; апопротеины и гликопротеины, такие как трансферрин [O'Keefe et al, 260

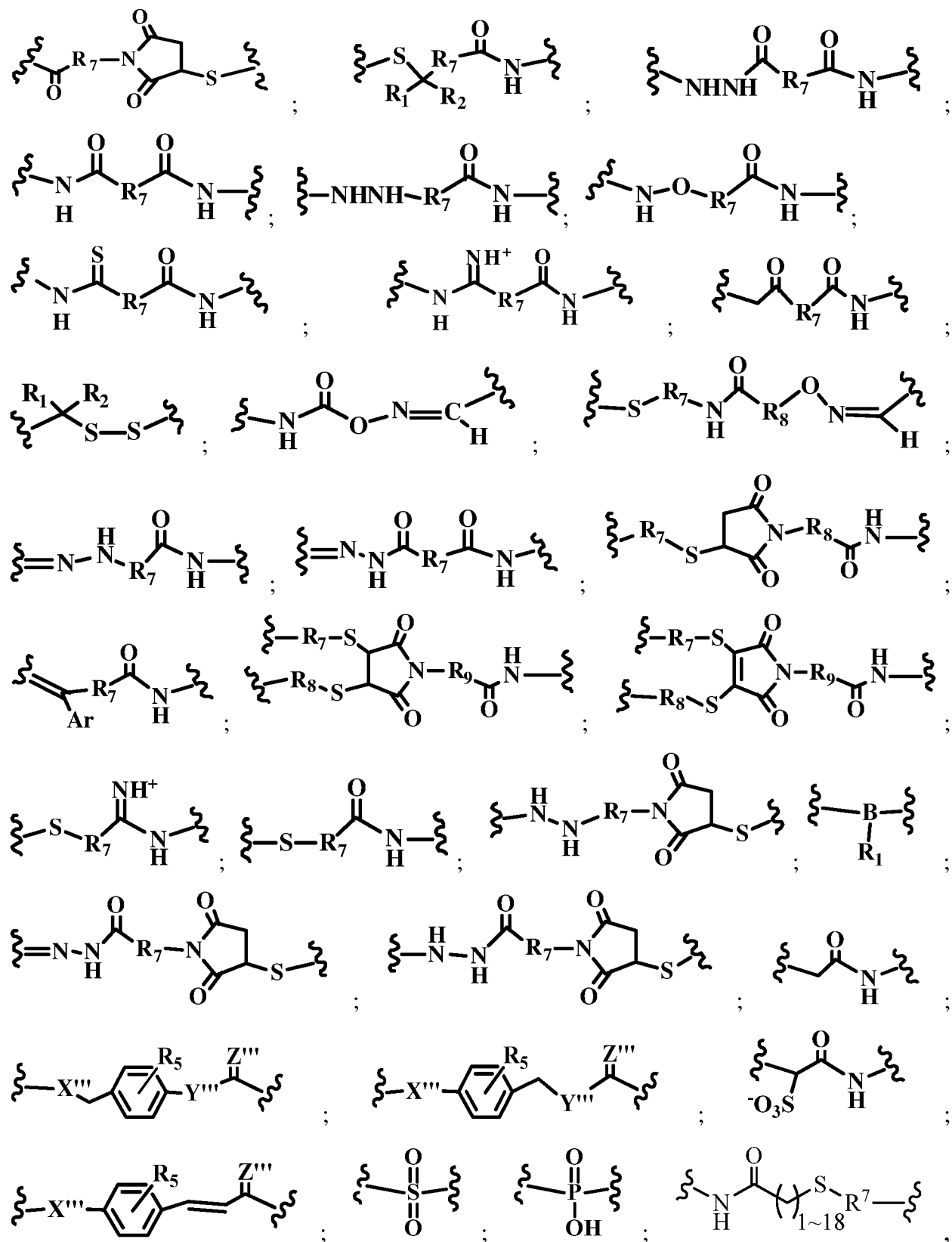
J. Biol. Chem. 932-937 (1985)); связывающие сахар белки или липопротеины, такие как лектины; молекулы, переносящие питательные вещества в клетку; и низкомолекулярные ингибиторы, такие как ингибиторы простат-специфического мембранного антигена (PSMA) и низкомолекулярные ингибиторы тирозинкиназы (TKI), непептиды или любые другие молекулы, связывающиеся с клеткой, или вещества, такие как биоактивные полимеры (Dhar, et al, Proc. Natl. Acad. Sci. 2008, 105, 17356-61); дендримеры (Lee, et al, Nat. Biotechnol. 2005, 23, 1517-26; Almutairi, et al; Proc. Natl. Acad. Sci. 2009, 106, 685-90); наночастицы (Liong, et al, ACS Nano, 2008, 19, 1309-12; Medarova, et al, Nat. Med. 2007, 13, 372-7; Javier, et al, Bioconjugate Chem. 2008, 19, 1309-12); липосомы (Medinai, et al., Curr. Phar. Des. 2004, 10, 2981-9); вирусные капсиды (Flenniken, et al., Viruses Nanotechnol. 2009, 327, 71-93). В целом, моноклональные антитела являются предпочтительными в качестве агента, связывающегося с клеточной поверхностью, если подходящее антитело является доступным.

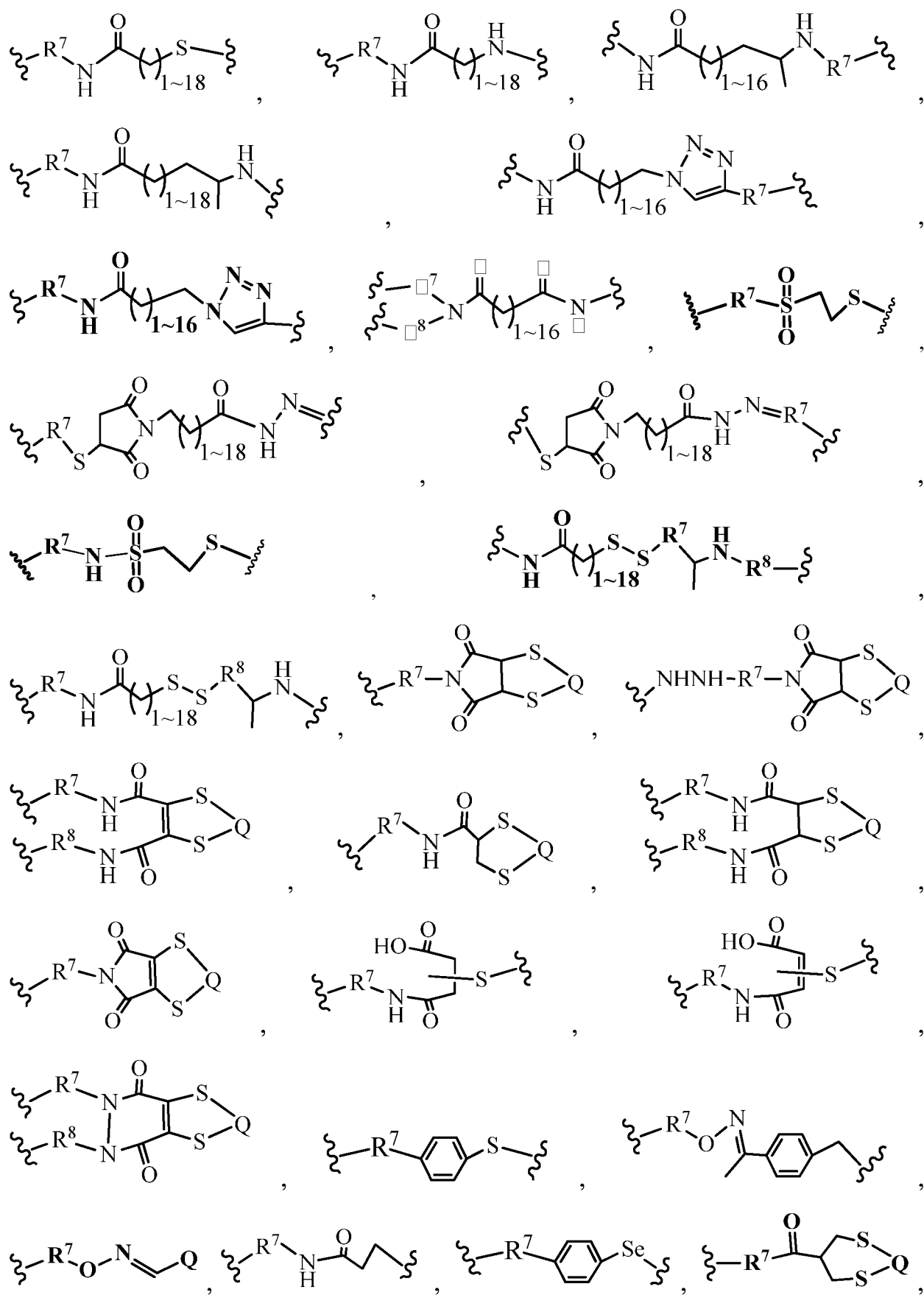
Указанный линкер, используемый для конъюгации по данному изобретению, включает, но не ограничиваясь ими, дисульфидный линкер, тиозфирный линкер, линкер, присоединенный к амиду, пептидаза-лабильный линкер, фотолабильный линкер, кислотно-лабильные линкеры (такие как гидразоновый фрагмент), эстераза-лабильный линкер, окислительно-лабильный линкер, метаболически лабильный линкер, биохимически лабильный линкер.

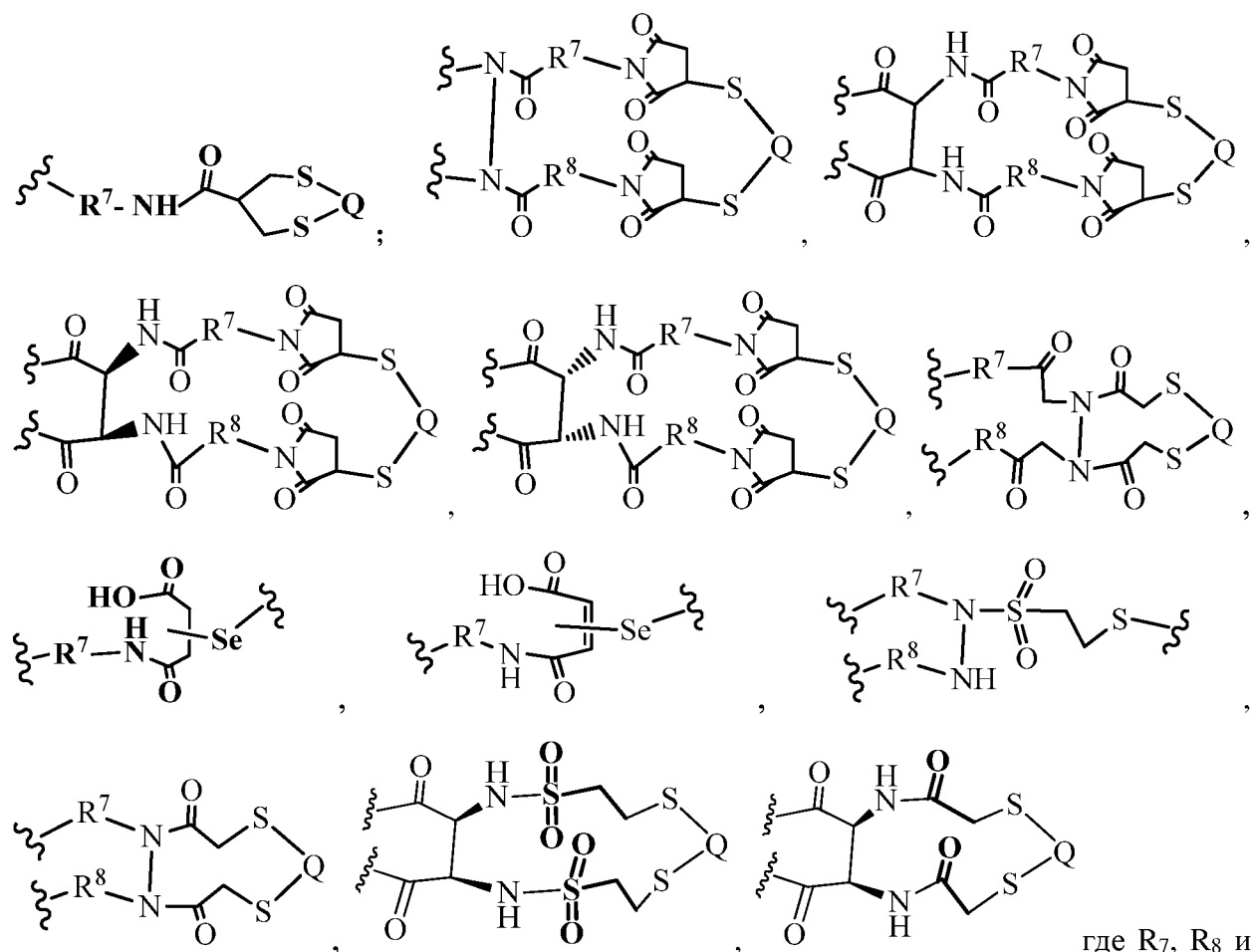
Предпочтительно, указанный линкер связан с агентом, связывающимся с клетками, через функциональную группу, реакционноспособную к, например, тиоловым и аминокислотным функциональным группам агента, связывающегося с клетками, производным из восстановленных дисульфидных связей и остатков лизина, соответственно. Более конкретно, указанное производное связано через --CO-- группу к аминокислотной группе остатка лизина указанного агента, связывающегося с клетками, с образованием амидной связи.

Кроме того, указанный линкер может состоять из одного или более компонентов линкера. Примеры линкерных компонентов включают 6-малеимидокапроил («MC»), малеимидопропаноил («MP»), валин-цитруллин («val-cit» или «vc»), аланин-фенилаланин («ala-phe» или «af»), глицин-глицин, пара-аминобензилоксикарбонил («PAB»), N-сукцинимидил 4-(2-пиридилтио)пентаноат («SPP»), N-сукцинимидил 4-(N-малеимидометил)циклогексан-1 карбоксилат («SMCC»), N-сукцинимидил (4-йодацетил)аминобензоат («SIAB»), этиленокси (--CH₂CH₂O--) в качестве одной или более повторяющихся единиц («ОЭ» или «ПОЭ»). Указанный линкер может представлять собой

«расщепляемый линкер», облегчающий высвобождение препарата в клетке. Дополнительные компоненты линкера известны в данной области техники, и некоторые показаны ниже:







В предпочтительном варианте реализации изобретения, конъюгаты по данному изобретению представляют собой антитело/цитотоксический агент, фрагмент антитела/цитотоксический агент, диатело/цитотоксический агент, триатело/цитотоксический агент, эпидермальный фактор роста (ЭФР)/цитотоксический агент, ингибитор простата-специфического мембранного антигена (PSMA)/цитотоксический агент, меланоцитостимулирующий гормон (МСГ)/цитотоксический агент, тиреостимулирующий гормон (ТТГ)/цитотоксический агент, поликлональное антитело/цитотоксический агент, соматостатин/цитотоксический агент, фолат/цитотоксический агент, ингибитор матриптазы/цитотоксический агент, эстроген/цитотоксический агент, аналог эстрогена/цитотоксический агент,

сконструированные белки с анкириновым повтором (дарпины)/цитотоксический агент, андроген/цитотоксический агент и аналог андрогена/цитотоксический агент.

В более предпочтительном варианте реализации изобретения молекула, связывающаяся с клетками, по данному изобретению представляет собой моноклональное антитело. Примеры антител, используемых для конъюгирования лекарственных средств через линкеры данного изобретения для лечения рака, аутоиммунного заболевания и/или инфекционного заболевания, включают, без ограничений, 3F8 (антитело к GD2), абаговомаб (антитело к CA-125), абциксимаб (антитело к CD41 (интегрин альфа-IIb), адалимумаб (анти-TNF- α), адекатумумаб (антитело к EpcAM, CD326), афелимомаб (антитело к TNF- α); афутузумаб (антитело к CD20), алацизумаб пегол (антитело к VEGFR2), ALD518 (антитело к IL-6), алемтузумаб (капмат, мабкампат, антитело к CD52), алтумомаб (антитело к CEA), анатумомаб (антитело к TAG-72), анрукинзумаб (IMA-638, антитело к IL-13), аполизумаб (антитело к HLA-DR), арцитумомаб (антитело к CEA), азелизумаб (антитело к L-селектину (CD62L), атлизумаб (тоцилизумаб, актемра, роактемра, антитело к IL-6 рецептору), аторолимумаб (антитело к резус-фактору), бапинеузумаб (антитело к бета-амилоиду), базиликсимаб (симулект, антитело к CD25 (α -цепь рецептора IL-2)), бавитуксимаб (антитело к фосфатидилсерину), бектумомаб (лимфоскан, антитело к CD22), белимунаб (бенлиста, лимфостат-B, антитело к BAFF), бенрализумаб (антитело к CD125), бертилимунаб (антитело к CCL11 (эотаксин-1)), безилесомаб (сцинтимун, антитело к CEA-связанному антигену), бевацизумаб (авастин, антитело к VEGF-A), бициромаб (фибрисцинт, антитело к фибрин II бета-цепи), биватузумаб (антитело к CD44 v6), блинатумомаб (BiTe, антитело к CD19), брентуксимаб (сAC10, антитело к CD30 TNFRSF8), брякинумаб (антитело к IL-12, IL-23) канакинумаб (иларис, антитело к IL-1), кантузумаб (C242, антитело к CanAg), капромаб, катумаксомаб (ремоваб, антитело к EpcAM, антитело к CD3), CC49 (антитело к TAG-72), цеделизумаб (антитело к CD4), цертолизумаб пегол (цимзиа, антитело к TNF- α), цетуксимаб (эрбитукс, IMC-C225, антитело к EGFR), цитатузумаб богатокс (антитело к EpcAM), циксутузумаб (антитело к IGF-1), кленоликсимаб (антитело к CD4), кливатузумаб (антитело к MUC1), конатумумаб (антитело к TRAIL-R2), CR6261 (антитело к гемагглютининому гриппа А), дацетузумаб (антитело к CD40), даклизумаб (зенапакс, антитело к CD25 (α -цепь рецептора IL-2)), даратумумаб (антитело к CD38 (циклическая АДФ-рибоза гидролаза), денозумаб (пролиа, антитело к RANKL), детумомаб (антитело к клеткам В-лимфомы), дорлимомаб, дорликсизумаб, экромексимаб (антитело к GD3 ганглиозиду), экулизумаб (солирис, антитело к C5), эдобакомаб (антитело к эндотоксину), эдреколомаб (ранорекс, MAb17-1A,

антитело к ЕpCAM), эфализумаб (раптива, антитело к LFA-1 (CD11a)), эфунгумаб (микограб, антитело к Hsp90), элотузимаб (антитело к SLAMF7), элсилимомаб (антитело к IL-6), энлимомаб пегол (антитело к ICAM-1 (CD54)), эпитумомаб (антитело к эписиалину), эпратузимаб (антитело к CD22), эрлизумаб (антитело к ITGB2 (CD18)), эртумаксамаб (рексомун, антитело к HER2/неу, CD3), этарацизумаб (абегрин, антитело к интегрину $\alpha\text{v}\beta 3$), эксбивирумаб (антитело к поверхностному антигену гепатита В), фанолесомаб (нейтроспек, антитело к CD15), фаралимомаб (антитело к интерфероновому рецептору), фарлетузимаб (антитело к фолатному рецептору 1), фелвизумаб (антитело к респираторному синцитиальному вирусу), фезакинумаб (антитело к IL-22), фигитумумаб (антитело к IGF-1 рецептору), фонолизумаб (антитело к IFN- γ), форавирумаб (антитело к гликопротеину вируса бешенства), фрезолимумаб (антитело к TGF- β), галиксимаб (антитело к CD80), гантенерумаб (антитело к бета-амилоиду), гавилимомаб (антитело к CD147 (базигин)), гемтузимаб (антитело к CD33), гирентуксимаб (антитело к карбоангидразе 9), глембатумумаб (CR 011, антитело к GPNMB), голимумаб (симпони, антитело к TNF- α), гомиликсимаб (антитело к CD23 (IgE-рецептор)), ибализумаб (антитело к CD4), ибритумумаб (антитело к CD20), иговомаб (индимацис-125, антитело к CA-125), имциромаб (миосцинг, антитело к сердечному миозину), инфликсимаб (ремикад, антитело к TNF- α), интетумумаб (антитело к CD51), инолимомаб (антитело к CD25 (α -цепь рецептора IL-2)), инотузимаб (антитело к CD22), ипилимумаб (антитело к CD152), иратумумаб (антитело к CD30 (TNFRSF8)), келиксимаб (антитело к CD4), лабетузимаб (CEA-сид, антитело к CEA), лебрикизумаб (антитело к IL-13), лемалесомаб (антитело к NCA-90 (гранулоцитарный антиген)), лерделимумаб (антитело к TGF бета 2), лексатумумаб (антитело к TRAIL-R2), либивирумаб (антитело к поверхностному антигену гепатита В), линтузимаб (антитело к CD33), лукатумумаб (антитело к CD40), люмиксимаб (антитело к CD23 (IgE-рецептор)), мапатумумаб (антитело к TRAIL-R1), маслимомаб (антитело к Т-клеточному рецептору), матузимаб (антитело к EGFR), меполизумаб (босатрия, антитело к IL-5), метелимумаб (антитело к TGF бета 1), милатузимаб (антитело к CD74), минретумумаб (антитело к TAG-72), митумумаб (BEC-2, антитело к GD3 ганглиозиду), моролимумаб (антитело к резус-фактору), мотавизумаб (нумакс, антитело к респираторному синцитиальному вирусу), муромонаб-CD3 (ортоклон ОКТ3, антитело к CD3), наколомаб (антитело к C242), наптумумаб (антитело к 5T4), натализумаб (тисабри, антитело к интегрину $\alpha 4$), небакумаб (антитело к эндотоксину), нецитумумаб (антитело к EGFR), нерелимомаб (антитело к TNF- α), нимотузимаб (терацим, тералок, антитело к EGFR), нофетумумаб, окрелизумаб (антитело к CD20), одулимомаб (афолимомаб, антитело

к LFA-1 (CD11a)), офатумумаб (арзерра, антитело к CD20), оларатумаб (антитело к PDGF-R α), омализумаб (ксолаир, антитело к Fc области IgE), опортузумаб (антитело к EpCAM), ореговомаб (оварекс, антитело к CA-125), отеликсизумаб (антитело к CD3), пагибаксимаб (анти-липотейхоевая кислота), паливизумаб (синаджис, аббосинаджис, антитело к респираторному синцитиальному вирусу), панитумумаб (вектибикс, ABX-EGF, антитело к EGFR), панобакумаб (антитело к *Pseudomonas aeruginosa*), пасколизумаб (антитело к IL-4), пемтумумаб (терагин, антитело к MUC1), пертузумаб (омнитарг, 2C4, антитело к HER2/neu), пекселизумаб (антитело к C5), пинтумумаб (антитело к антигену аденокарциномы), приликсимаб (антитело к CD4), притумумаб (антитело к виментину), PRO 140 (антитело к CCR5), ракотумумаб (1E10, анти-(N-гликолилнейраминаовая кислота (NeuGc, NGNA)-ганглиозиды GM3)), рафивирумаб (антитело к гликопротеину вируса бешенства), рамукирумаб (антитело к VEGFR2), ранибизумаб (люцентис, антитело к VEGF-A), раксibaкумаб (антитело к токсину сибирской язвы, защитный антиген), регавирумаб (антитело к цитомегаловирусному гликопротеину B), реслизумаб (антитело к IL-5), рилотумумаб (антитело к HGF), ритуксимаб (мабтера, ритуксанмаб, антитело к CD20), робатумумаб (антитело к рецептору IGF-1), ронтализумаб (антитело к IFN- α), ровелизумаб (леукарест, антитело к CD11, CD18), руплизумаб (антова, антитело к CD154 (CD40L)), сатумумаб (антитело к TAG-72), севирумаб (антитело к цитомегаловирусу), сибротузумаб (антитело к FAP), сифалимумаб (антитело к IFN- α), силтуксимаб (антитело к IL-6), сиплизумаб (антитело к CD2)), (смайт) MI95 (антитело к CD33), соланезумаб (антитело к бета-амилоиду), сонепцизумаб (антитело к сфингозин-1-фосфату), сонтузумаб (антитело к эпизиаину), стамулумаб (антитело к миостатину), сулесомаб (лейкоскан, антитело к NCA-90 (гранулоцитарный антиген), такатузумаб (антитело к альфа-фетопротеину), тадоцизумаб (антитело к интегину α IIb β 3), тализумаб (антитело к IgE), танезумаб (антитело к NGF), таплитумумаб (антитело к CD19), тефибазумаб (аурексис, антитело к агглютинирующему фактору A), телимомаб, тенатумумаб (антитело к тенасцину C), тенеликсимаб (антитело к CD40), теплизумаб (антитело к CD3), TGN1412 (антитело к CD28), тицилимумаб (тремелимумаб, (антитело к CTLA-4)), тигатузумаб (антитело к TRAIL-R2), TNX-650 (антитело к IL-13), тоцилизумаб (атлизумаб, актемра, роактемра, (антитело к IL-6 рецептору)), торализумаб (антитело к CD154 (CD40L)), тозитумумаб (антитело к CD20), трастузумаб (герцептин, (антитело к HER2/neu), тремелимумаб (антитело к CTLA-4), тукотузумаб целмолейкин (антитело к EpCAM), тувирумаб (антитело к вирусу гепатита B), уртоксазумаб (антитело к *Escherichia coli*), устекинумаб (стелара, антитело к IL-12, IL-23), вапаликсимаб (антитело к AOC3 (VAP-1)),

ведолизумаб ((антитело к интегринам $\alpha 4\beta 7$), велтузумаб (антитело к CD20), вепалимомаб (антитело к AOC3 (VAP-1)), визилизумаб (нувион, антитело к CD3), витаксин (антитело к сосудистому интегринам $\alpha v\beta 3$), волоциксимаб (антитело к интегринам $\alpha 5\beta 1$), вотумумаб (хюмаспект, противоопухолевый антиген CTAА16.88), залутумумаб (хюмакс-EGFr, антитело к EGFR), занолимуаb (хюмакс-CD4, антитело к CD4), зиралимуаb (антитело к CD147 (базигин)), золимоаb (антитело к CD5), этанерсепт (Enbrel®), алефасепт (Amevive®), абатасепт (Orencia®), рилонасепт (аркалист), 14F7 [антитело к IRP-2 (железо-регулирующий белок 2)], 14G2a (антитело к GD2 ганглиозиду, от Нац. Инст онкологии для меланомы и солидных опухолей), J591 (антитело к PSMA для лечения рака простаты, Вейл Корнеллская медицинская школа), 225.28S [антитело к HMW-MAA (высокомолекулярный меланома-ассоциированный антиген), Sorin Radiofarmaci S.R.L. (Милан, Италия) для меланомы], COL-1 (антитело к CEACAM3, CGM1, от Нац. инст. онкологии США для колоректального рака и рака желудка), CYT-356 (Oncolad®, для рака простаты), HNK20 (OraVax Inc. для респираторно-синцитиального вируса), ImmuRAIT (от Immunomedics для НХЛ), Lym-1 (анти-HLA-DR10, Peregrine Pharm. для Рака), MAK-195F [анти-TNF (фактор некроза опухолей; TNFA, TNF-альфа; TNFSF2), от Abbott / Knoll для токсического шока при сепсисе], MEDI-500 [T10B9, анти-CD3, TR $\alpha\beta$ (Т-клеточный рецептор альфа/бета), комплекс, от MedImmune Inc для болезни «трансплантат против хозяина»], RING SCAN [анти-TAG 72 (гликопротеин, ассоциированный с опухолью 72), от Neoprobe Corp. для рака груди, толстой кишки и ректального рака], Авицидин (анти-EPCAM (адгезивная молекула эпителиальных клеток), анти-TACSTD1 (трансдуктор кальциевого сигнала, ассоциированный с опухолью 1), анти-GA733-2 (желудочно-кишечный белок, ассоциированный с опухолью 2), анти-EGP-2 (эпителиальный гликопротеин 2); анти-KSA; антиген KS1/4; M4S; опухолевый антиген 17-1A; CD326, от NeoRx Corp. для рака толстого кишечника, яичника, простаты и НХЛ]; LymphoCide, Smart ID10, Oncolym, Allomune, анти-VEGF, CEAcide, IMC-1C11 и цетуксимаб.

Другие антитела в качестве связывающих лигандов включают, но не ограничиваются ими, антитела к следующим антигенам: Аминопептидаза N (CD13), Аннексин A1, B7-H3 (CD276, различные злокачественные новообразования), CA125 (яичника), CA15-3 (карциномы), CA19-9 (карциномы), L6 (карциномы), Lewis Y (карциномы), Lewis X (карциномы), альфа фетопро-теин (карциномы), CA242 (колоректальный), плацентарная щелочная фосфатаза (карциномы), специфический антиген простаты (простаты), кислая фосфатаза простаты (простаты), эпидермальный фактор роста (карциномы), CD2 (ходжкинская лимфома, НХЛ лимфома, множественная миелома), CD3 эпсилон (Т

клеточная лимфома, рак легкого, молочной железы, желудка, яичника, аутоиммунные заболевания, злокачественный асцит), CD19 (В клеточные злокачественные новообразования), CD20 (неходжкинская лимфома), CD22 (лейкоз, лимфома, множественная миелома, СКВ), CD30 (лимфома Ходжкина), CD33 (лейкоз, аутоиммунные заболевания), CD38 (множественная миелома), CD40 (лимфома, множественная миелома, лейкоз (ХЛЛ)), CD51 (метастатическая меланома, саркома), CD52 (лейкоз), CD56 (мелкоклеточный рак легкого, рак яичника, карцинома из клеток Меркеля, и опухоль жидких тканей, множественная миелома), CD66e (злокачественные новообразования), CD70 (метастатическая почечно-клеточная карцинома и неходжкинская лимфома), CD74 (множественная миелома), CD80 (лимфома), CD98 (злокачественные новообразования), муцин (карциномы), CD221 (солидные опухоли), CD227 (рак яичника, молочной железы), CD262 (HMPЛ и другие злокачественные новообразования), CD309 (рак яичника), CD326 (солидные опухоли), CEACAM3 (колоректальный рак, рак желудочно-кишечного тракта), CEACAM5 (карциноэмбриональный антиген; CEA, CD66e) (рак молочной железы, колоректальный рак и рак легких), DLL4 (дельта-подобный белок-4), EGFR (Рецептор Эпидермального Фактора Роста, различные злокачественные новообразования), CTLA4 (меланома), CXCR4 (CD184, онкология крови, солидные опухоли), Эндоглин (CD105, солидные опухоли), EPCAM (адгезивная молекула эпителиальных клеток, рак мочевого пузыря, головы, шеи, толстого кишечника, НХЛ, рак простаты и рак яичника), ERBB2 (Рецептор Эпидермального Фактора Роста 2; рак легкого, молочной железы, простаты), FCGR1 (аутоиммунные заболевания), FOLR (фолатный рецептор, рак яичника), GD2 ганглиозид (злокачественные новообразования), G-28 (гликолипидный антиген клеточной поверхности, меланома), идиотип GD3 (злокачественные новообразования), белок теплового шока (злокачественные новообразования), HER1 (рак легкого, желудка), HER2 (рак молочной железы, легкого и яичника), HLA-DR10 (НХЛ), HLA-DRB (НХЛ, В клеточный лейкоз), хорионический гонадотропин человека (карцинома), IGF1R (рецептор инсулиноподобного фактора роста 1, солидные опухоли, злокачественные новообразования крови), рецептор ИЛ-2 (рецептор интерлейкина 2, Т клеточный лейкоз и лимфома), ИЛ-6R (рецептор интерлейкина 6, множественная миелома, РА, болезнь Кастлемана, ИЛ6 зависимые опухоли), Интегрины ($\alpha\beta3$, $\alpha5\beta1$, $\alpha6\beta4$, $\alpha11\beta3$, $\alpha5\beta5$, $\alpha\nu\beta5$, для различных злокачественных новообразований), MAGE-1 (карциномы), MAGE-2 (карциномы), MAGE-3 (карциномы), MAGE 4 (карциномы), трансферриновый рецептор (карциномы), p97 (меланома), MS4A1 (трансмембранный 4-доменный член 1 подсемейства А, неходжкинская В клеточная лимфома, лейкоз), MUC1 или MUC1-KLH (рак молочной железы, яичника,

шейки матки, бронхов и желудочно-кишечного тракта), MUC16 (CA125) (Рак яичника), СЕА (колоректальный), gp100 (меланома), MART1 (меланома), MPG (меланома), MS4A1 (подсемейство А трансмембранных 4-доменных белков, мелкоклеточный рак легкого, НХЛ), Нуклеолин, продукт онкогена Neu (карциномы), P21 (карциномы), паратоп of анти-(N-гликолилнейраминовой кислоты, рак молочной железы, Меланома), PLAP-подобная щелочная фосфатаза яичек (рак яичника, яичка), PSMA (опухоли простаты), PSA (простаты), ROBO4, TAG 72 (гликопротеин, ассоциированный с опухолью 72, ОМЛ, рак желудка, колоректальный рак, рак яичника), Т клеточный трансмембранный белок (злокачественные новообразования), Tie (CD202b), TNFRSF10B (рецептор 10B надсемейства факторов некроза опухолей, злокачественные новообразования), TNFRSF13B (рецептор 13B надсемейства факторов некроза опухолей, множественная миелома, НХЛ, другие злокачественные новообразования, RA и СКВ), TPBG (гликопротеин трофобластов, Почечно-клеточная карцинома), TRAIL-R1 (рецептор 1 лиганда, индуцирующего апоптоз некроза опухоли, лимфома, НХЛ, колоректальный рак, рак легких), VCAM-1 (CD106, Меланома), VEGF, VEGF-A, VEGF-2 (CD309) (различные злокачественные новообразования). Были рассмотрены некоторые другие опухоль-ассоциированные антигены, распознаваемые антителами (Gerber, et al, mAbs 1:3, 247-253 (2009); Novellino et al, Cancer Immunol Immunother. 54(3),187-207 (2005). Franke, et al, Cancer Biother Radiopharm. 2000, 15, 459-76). Примеры данных антигенов, против которых нацелены данные антитела представляют собой: Множество других Кластеров Дифференцировки (CD2, CD2R, CD3, CD3gd, CD3e, CD4, CD5, CD6, CD7, CD8, CD8a, CD8b, CD9, CD10, CD11a, CD11b, CD11c, CD12, CD12w, CD13, CD14, CD15, CD15s, CD15u, CD16, CD16a, CD16b, CD17, CDw17, CD18, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD25, CD26, CD27, CD28, CD29, CD30, CD31, CD32, CD33, CD34, CD35, CD36, CD37, CD38, CD39, CD40, CD41, CD42, CD42a, CD42b, CD42c, CD42d, CD43, CD44, CD44R, CD45, CD45RA, CD45RB, CD45RO, CD46, CD47, CD47R, CD48, CD49a, CD49b, CD49c, CD49e, CD49f, CD50, CD51, CD52, CD53, CD54, CD55, CD56, CD57, CD58, CD59, CD60, CD60a, CD60b, CD60c, CD61, CD62E, CD62L, CD62P, CD63, CD64, CD65, CD65s, CD66, CD66a, CD66b, CD66c, CD66d, CD66e, CD66f, CD67, CD68, CD69, CD70, CD71, CD72, CD73, CD74, CD74, CD75, CD75s, CD76, CD77, CD78, CD79, CD79a, CD79b, CD80, CD81, CD82, CD83, CD84, CDw84, CD85, CD86, CD87, CD88, CD89, CD90, CD91, CD92, CDw92, CD93, CD94, CD95, CD96, CD97, CD98, CD99, CD99R, CD100, CD101, CD102, CD103, CD104, CD105, CD106, CD107, CD107a, CD107b, CD108, CD109, CD110, CD111, CD112, CD113, CDw113, CD114, CD115, CD116, CD117, CD118, CD119, CDw119, CD120a, CD120b, CD121a, CD121b,

CDw121b, CD122, CD123, CDw123, CD124, CD125, CDw125, CD126, CD127, CD128, CDw128, CD129, CD130, CD131, CDw131, CD132, CD133, CD134, CD135, CD136, CDw136, CD137, CDw137, CD138, CD139, CD140a, CD140b, CD141, CD142, CD143, CD144, CD145, CDw145, CD146, CD147, CD148, CD149, CD150, CD151, CD152, CD153, CD154, CD155, CD156a, CD156b, CDw156c, CD157, CD158a, CD158b, CD159a, CD159b, CD159c, CD160, CD161, CD162, CD162R, CD163, CD164, CD165, CD166, CD167, CD167a, CD168, CD169, CD170, CD171, CD172a, CD172b, CD172g, CD173, CD174, CD175, CD175s, CD176, CD177, CD178, CD179, CD180, CD181, CD182, CD183, CD184, CD185, CD186, CDw186, CD187, CD188, CD189, CD190, CD191, CD192, CD193, CD194, CD195, CD196, CD197, CD198, CDw198, CD199, CDw199, CD200, CD200a, CD200b, CD201, CD202, CD202b, CD203, CD203c, CD204, CD205, CD206, CD207, CD208, CD209, CD210, CDw210, CD212, CD213a1, CD213a2, CDw217, CDw218a, CDw218b, CD220, CD221, CD222, CD223, CD224, CD225, CD226, CD227, CD228, CD229, CD230, CD231, CD232, CD233, CD234, CD235a, CD235ab, CD235b, CD236, CD236R, CD238, CD239, CD240, CD240CE, CD240D, CD241, CD242, CD243, CD244, CD245, CD246, CD247, CD248, CD249, CD252, CD253, CD254, CD256, CD257, CD258, CD261, CD262, CD263, CD265, CD266, CD267, CD268, CD269, CD271, CD273, CD274, CD275, CD276 (B7-H3), CD277, CD278, CD279, CD280, CD281, CD282, CD283, CD284, CD289, CD292, CDw293, CD294, CD295, CD296, CD297, CD298, CD299, CD300a, CD300c, CD300e, CD301, CD302, CD303, CD304, CD305, CD306, CD309, CD312, CD314, CD315, CD316, CD317, CD318, CD319, CD320, CD321, CD322, CD324, CDw325, CD326, CDw327, CDw328, CDw329, CD331, CD332, CD333, CD334, CD335, CD336, CD337, CDw338, CD339), Аннексин A1, Нуклеолин, Эндоглин (CD105), ROBO4, Аминопептидаза N, Δ-подобный-3 (DLL3), Δ-подобный-4 (DLL4), VEGFR-2 (CD309), CXCR4 9CD184), Tie2, B7-H3, WT1, MUC1, LMP2, HPV E6 E7, EGFRvIII, HER-2/neu, Идиотип, MAGE A3, немутантный p53, NY-ESO-1, GD2, CEA, MelanA/MART1, мутантный Ras, gp100, мутантный p53, Протеиназа3 (PR1), bcr-abl, Тирозиназа, Сурвивин, hTERT, транслокационные разрывы Саркомы, EphA2, PAP, ML-IAP, AFP, EpCAM, ERG (TMPRSS2 ETS слитый ген), NA17, PAX3, ALK, Рецептор андрогена, Циклин B1, Полисиаловая кислота, MYCN, RhoC, TRP-2, GD3, Фукозил GM1, Мезотелин, PSCA, MAGE A1, sLe(a), CYP1B1, PLAC1, GM3, BORIS, Tn, GloboH, ETV6-AML, NY-BR-1, RGS5, SART3, STn, Карбоновая ангидраза IX, PAX5, OY-TES1, Белок спермы 17, LCK, HMWMAA, AKAP-4, SSX2, XAGE 1, B7H3, Легумаин, Tie 2, Page4, VEGFR2, MAD-CT-1, FAP, PDGFR-β, MAD-CT-2, Fos-родственный антиген 1.

Получение антител, применяемых в данном изобретении, включает методики *in vivo* или *in vitro*, или их комбинации. Способы получения поликлональных антирецепторных пептидных антител хорошо известны в данной области техники, например, в патенте США № 4,493,795 (Nestor et al). Моноклональное антитело обычно получают путем слияния клеток миеломы с клетками селезенки мыши, которая была иммунизирована желаемым антигеном (Köhler, G.; Milstein, C. (1975). *Nature* 256: 495-497). Подробные процедуры описаны в публикации *Antibodies--A Laboratory Manual*, Harlow and Lane, eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (1988), которая включена в настоящий документ путем ссылки. В частности, моноклональные антитела получают иммунизацией мышей, крыс, хомяков или любого другого млекопитающего антигеном, представляющим интерес, таким как интактная клетка-мишень, антигены, выделенные из клетки-мишени, цельный вирус, аттенуированный цельный вирус и вирусные белки. Спленоциты обычно сливают с клетками миеломы с использованием полиэтиленгликоля (ПЭГ) 6000. Слитые гибриды отбираются по их чувствительности к НАТ (гипоксантин-аминоптерин-тимин). Гибридомы, продуцирующие моноклональное антитело, пригодное для применения в практике данного изобретения, идентифицируются по их способности иммунореактивно реагировать с указанными рецепторами или ингибировать активность рецептора на клетках-мишенях.

Моноклональное антитело, используемое в настоящем изобретении, может быть получено путем инициирования культуры моноклональной гибридомы, содержащей питательную среду, содержащую гибридому, которая секретирует молекулы антител соответствующей антигенной специфичности. Культуру поддерживают в условиях и в течение периода времени, достаточного для гибридомы, чтобы секретировать молекулы антитела в среду. Среду, содержащую антитело, затем собирают. Молекулы антител могут быть затем выделены хорошо известными методами, такими как аффинная хроматография с белком-А; анионная, катионная, гидрофобная или размерная эксклюзионная хроматография (в частности, по сродству к специфическому антигену после белка А и хроматографии на размерной колонке); центрифугирование, дифференциальная растворимость или любая другая стандартная методика очистки белков.

Среды, пригодные для приготовления данных композиций, хорошо известны в данной области техники и коммерчески доступны, и включают синтетические питательные среды. Типичной синтетической средой является минимальная необходимая среда Дульбекко (DMEM; Dulbecco et al., *Virology* 8:396 (1959)) с добавлением 4,5 г/л глюкозы, 20 мМ

глутамин, 20% фетальной телячьей сыворотки и пеногасителя, такого как полиоксиэтилен-полиоксипропиленовый блок-сополимер.

Кроме того, продуцирующие антитела клеточные линии также могут быть созданы с помощью методов, отличных от слияния, таких как прямая трансформация В-лимфоцитов онкогенной ДНК или трансфекция онковирусом, таким как вирус Эпштейна — Барр (EBV, также называемый герпесвирусом человека 4 (HHV-4)) или герпесвирус, связанный с саркомой Капоши (KSHV). См., патенты США № 4,341,761; 4,399,121; 4,427,783; 4,444,887; 4,451,570; 4,466,917; 4,472,500; 4,491,632; 4,493,890. Моноклональное антитело также может быть получено через антирецепторный пептид или пептиды, содержащие карбоксильный конец, что хорошо известно в данной области техники. См. публикацию Niman et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80: 4949-4953 (1983); Geysen et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82: 178-182 (1985); Lei et al. *Biochemistry* 34(20): 6675-6688, (1995). Как правило, антирецепторный пептид или пептидный аналог используют либо отдельно, либо в виде конъюгата с иммуногенным носителем, в качестве иммуногена для получения антирецепторных пептидных моноклональных антител.

Существует также ряд других хорошо известных способов получения моноклональных антител в качестве связывающих молекул в данном изобретении. Особенно полезными являются методы получения полностью человеческих антител. Одним из методов является технология фагового дисплея, которая может быть использована для выбора ряда антител человека, специфически связывающихся с антигеном, с использованием методов аффинного обогащения. Фаговый дисплей был подробно описан в литературе, и создание и скрининг библиотек фагового дисплея хорошо известны в данной области техники, см., например, Dente et al, *Gene*. 148(1):7-13 (1994); Little et al, *Biotechnol Adv.* 12(3):539-55 (1994); Clackson et al., *Nature* 352:264-628 (1991); Huse et al., *Science* 246:1275-1281 (1989), Hoogenboom et al. *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (2001) (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, N.J.), и в определенных вариантах осуществления, в Lee et al. *J. Mol. Biol.* 340:1073-1093 (2004).

Моноклональные антитела, полученные методом гибридомы от другого вида, кроме человека, такого как мышь, могут быть гуманизированы, чтобы избежать выработки человеческих антител к антигенам мыши при введении в организм человека. Среди наиболее распространенных методов гуманизации антител — трансплантация областей, определяющих комплементарность и повторная перекладка. Данные способы были подробно описаны, см., например, патент США № Nos. 5,859,205 и 6,797,492; Liu et al, *Immunol Rev.* 222:9-27 (2008); Almagro et al, *Front Biosci.* 1;13:1619-33 (2008); Lazar et al,

Mol Immunol. 44(8):1986-98 (2007); Li et al, Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 103(10):3557-62 (2006), каждый из которых включен в данный документ путем ссылки. Полностью человеческие антитела также могут быть получены путем иммунизации иммуногена трансгенных мышей, кроликов, обезьян или других млекопитающих, несущих большие части тяжелых и легких цепей человеческого иммуноглобулина. Примерами таких мышей являются: Xenomouse. (Abgenix, Inc.), the HuMAb-Mouse (Medarex/BMS), VelociMouse (Regeneron), см. также патенты США № 6,596,541, 6,207,418, No. 6,150,584, No. 6,111,166, No. 6,075,181, No. 5,922,545, Nos. 5,661,016, 5,545,806, 5,436,149 и 5,569,825. В терапии человека вариабельные области мыши и константные области человека также можно объединить для создания так называемых «химерных антител», которые являются значительно менее иммуногенными для человека, чем мышиные mAb (Kipriyanov et al, Mol Biotechnol. 26:39-60 (2004); Houdebine, Curr Opin Biotechnol. 13:625-9 (2002), каждая из которых включена в данный документ путем ссылки). Кроме того, сайт-направленный мутагенез в вариабельной области антитела может приводить к антителу с более высокой аффинностью и специфичностью к его антигену (Brannigan et al, Nat Rev Mol Cell Biol. 3:964-70, (2002)); Adams et al, J Immunol Methods. 231:249-60 (1999)) и обмен константными областями mAb может улучшить его способность опосредовать эффекторные функции связывания и цитотоксичность.

Антитела, иммуноспецифичные относительно антигена злокачественной клетки, также могут быть получены коммерческим путем или получены любым способом, известным специалисту в данной области техники, таким как, например, методы химического синтеза или рекомбинантной экспрессии. Нуклеотидная последовательность, кодирующая антитела, иммуноспецифичные к антигену злокачественных клеток, может быть получена коммерчески, например, из базы данных GenBank или подобной базы данных, литературных публикаций или путем обычного клонирования и секвенирования.

Моноклональные антитела, полученные из гибридомы, кодирующей ДНК, или клоны антитела фагового дисплея Fv могут быть легко выделены и секвенированы с использованием обычных методик (например, с использованием олигонуклеотидных праймеров, предназначенных для специфической амплификации областей, кодирующих тяжелую и легкую цепь, представляющие интерес из матрицы гибридомной или фаговой ДНК). После выделения ДНК можно поместить в векторы экспрессии, которые затем трансфицируют в клетки хозяина, такие как клетки E. coli, клетки COS обезьяны, клетки яичника китайского хомяка (CHO) или клетки миеломы, которые иным способом не продуцируют белки иммуноглобулины, для проведения синтеза желаемых

моноклональных антител в рекомбинантных клетках хозяев (Skerra et al., *Curr. Opinion in Immunol.*, 5: 256 (1993) and Pluckthun, *Immunol. Revs.*, 130: 151 (1992)). Антитела также могут быть получены с использованием системы экспрессии, в которой количественное соотношение экспрессированных полипептидных компонентов может быть модулировано для максимизации выхода секретируемых и правильно собранных антител. Такая модуляция достигается, по меньшей мере, частично, одновременным модулированием трансляционной активности для полипептидных компонентов. После ферментации, которая известна в данной области техники, полученный белок антитела дополнительно очищают для получения препаратов, которые являются по существу однородными, для дальнейших анализов и применения. Могут быть использованы стандартные методы очистки белков, известные в данной области техники. Примеры методик очистки: фракционирование на иммуноаффинности (такое как колонки с Белком А) или ионообменные колонки, осаждение в этаноле, обращенно-фазовая ВЭЖХ, хроматография на силикагеле или на катионообменной смоле, такой как DEAE, хроматофокусирование, SDS-PAGE, осаждение с сульфатом аммония и гель фильтрация с использованием, например, Сефадекса G-75.

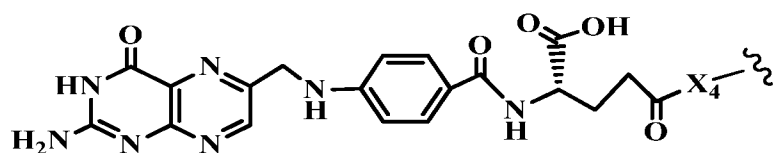
Помимо антитела, пептид или белок, которые связывают/блокируют/нацелены или каким-либо другим образом взаимодействуют с эпитопами или соответствующими рецепторами на клетке-мишени, могут быть использованы в качестве связывающейся молекулы. Данные пептиды или белки могут представлять собой любой случайный пептид или белки, которые имеют сродство к эпитопам или соответствующим рецепторам, и они не обязательно должны принадлежать к семейству иммуноглобулинов. Данные пептиды могут быть выделены с помощью тех же методов, что используются для антител фагового дисплея (Szardenings, *J Recept Signal Transduct Res.* 2003; 23(4):307-49). Использование пептидов из таких случайных пептидных библиотек может быть аналогичным антителам и фрагментам антител. Связывающие молекулы пептидов или белков могут быть конъюгированы или связаны с большими молекулами или материалами, такими как, без ограничений, альбумин, полимер, липосома, наночастица, при условии, что такое присоединение позволяет пептиду или белку сохранить его антигенсвязывающую специфичность.

Лиганды/молекулы, связывающиеся с клеткой или агонисты клеточных рецепторов могут представлять собой белковые каркасные молекулы на основе Ig и не на основе Ig. Каркасы на основе Ig могут быть выбраны, но не ограничены, из нанотела (производного VHH (Ig верблюдовых)) (Muyldermans S., 2013 *Annu Rev Biochem.* 82, 775–97); доменных

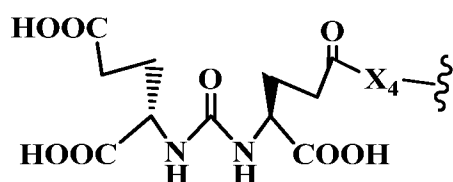
антител (dAb, производное домена VH или VL) (Holt, L. J, et al, 2003, Trends Biotechnol. 21, 484–90); биспецифического рекрутера Т-клеток (BiTE, биспецифическое диатело) (Baeuerle, P. A, et al, 2009, Curr. Opin. Mol. Ther. 11, 22–30); переориентирующегося антитела с двойной аффинностью (DART, биспецифическое диатело) (Moore P. A. P, et al. 2011, Blood 117(17), 4542–51); четырехвалентных тандемных антителах (TandAb, димеризованное биспецифичное диатело) (Cochlovius, B, et al. 2000, Cancer Res. 60(16):4336–4341). Каркасы не на основе Ig могут быть выбраны, без ограничений, из антикалина (производного липокалинов) (Skerra A. 2008, FEBS J., 275 (11): 2677–83; Beste G, et al, 1999 Proc. Nat. Acad. USA. 96(5):1898–903; Skerra, A. 2000 Biochim Biophys Acta, 1482(1-2): 337–50; Skerra, A. 2007, Curr Opin Biotechnol. 18(4): 295–304; Skerra, A. 2008, FEBS J. 275(11):2677–83); аднектинов (10й FN3 (фибронектин)) (Koide, A, et al, 1998 J. Mol. Biol., 284(4):1141–51; Batori V, 2002, Protein Eng. 15(12): 1015–20; Tolcher, A. W, 2011, Clin. Cancer Res. 17(2): 363–71; Hackel, B. J, 2010, Protein Eng. Des. Sel. 23(4): 211–19); разработанных белков с анкириновым повтором (DARPin) (производные белков с анкириновым повтором (AR)) (Boersma, Y.L, et al, 2011 Curr Opin Biotechnol. 22(6): 849–57), например, DARPin C9, DARPin Ec4 и DARPin E69_LZ3_E01 (Winkler J, et al, 2009 Mol Cancer Ther. 8(9), 2674–83; Patricia M-K. M., et al, Clin Cancer Res. 2011; 17(1):100–10; Boersma Y. L, et al, 2011 J. Biol. Chem. 286 (48), 41273–85); авимеров (домен А/рецептор липопротеинов низкой плотности (LDL)) (Boersma Y. L, 2011 J. Biol. Chem. 286(48): 41273–41285; Silverman J, et al, 2005 Nat. Biotechnol., 23(12):1556–61).

Примерами низкомолекулярных структур связывающихся с клетками молекул/лигандов или агонистов клеточных рецепторов в данной патентной заявке являются: LB01 (фолат), LB02 (лиганд PMSA), LB03 (лиганд PMSA), LB04 (лиганд PMSA), LB05 (соматостатин), LB06 (соматостатин), LB07 (октреотид, аналог соматостатина), LB08 (ланреотид, аналог соматостатина), LB09 (вапреотид (санвар), аналог соматостатина), LB10 (лиганд CAIX), LB11 (лиганд CAIX), LB12 (рецептор высвобождающего гастрин пептида (GRPr), MBA) LB13 (лиганд релизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) и GnRH), LB14 (лиганд релизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) и GnRH-лиганд), LB15 (антагонист GnRH, абареликс), LB16 (кобаламин, аналог витамина B12), LB17 (кобаламин, аналог витамина B12), LB18 (пентапептидный циклический RGD для рецептора интегрин $\alpha_v\beta_3$), LB19 (гетеро-двухвалентный пептидный лиганд рецептора VEGF), LB20 (нейромедина B), LB21 (бомбезин для рецептора, сопряженного с G-белком), LB22 (TLR₂ для Toll-подобного рецептора), LB23 (для рецептора андрогена), LB24 (циленгитид/цикло(-RGDfV-) для рецептора интегрин α_v), LB23 (флудрокортизон), LB25

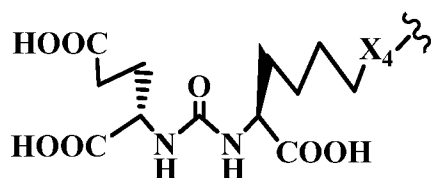
(аналог рифабутина), LB26 (аналог рифабутина), LB27 (аналог рифабутина), LB28 (флудрокортисон), LB29 (дексаметазон), LB30 (флутиказона пропионат), LB31 (беклометазона дипропионат), LB32 (триамцинолона ацетонид), LB33 (преднизон), LB34 (преднизолон), LB35 (метилпреднизолон), LB36 (бетаметазон), LB37 (аналог иринотекана), LB38 (аналог кризотиниба), LB39 (аналог бортезомиба), LB40 (аналог карфилзомиба), LB41 (аналог карфилзомиба), LB42 (аналог лейпролида), LB43 (аналог трипторелина), LB44 (клиндамицин), LB45 (аналог лираглутида), LB46 (аналог семаглутида), LB47 (аналог ретапамулина), LB48 (аналог инбулина), LB49 (аналог винбластина), LB50 (аналог ликсисенатида), LB51 (аналог осимертиниба), LB52 (аналог неуклеозида), LB53 (аналог эрлотиниба) и LB54 (аналог лапатиниба), которые представлены следующими структурами:



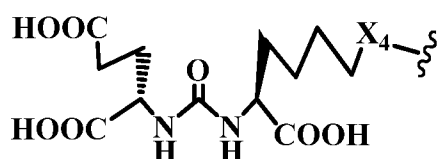
LB01 (конъюгат с фолатом),



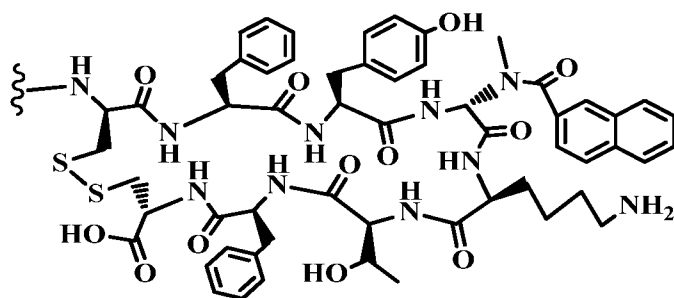
LB02 (конъюгат с лигандом PMSA),



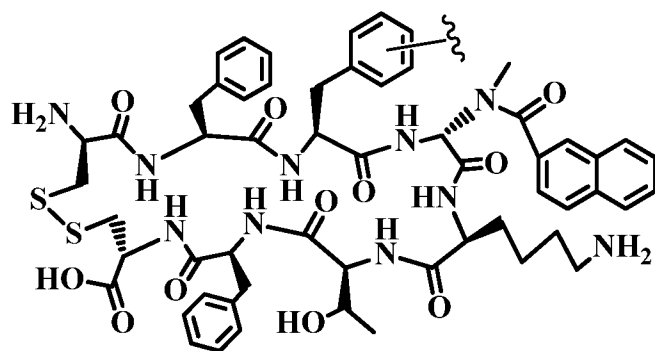
LB03 (конъюгат с лигандом PMSA),



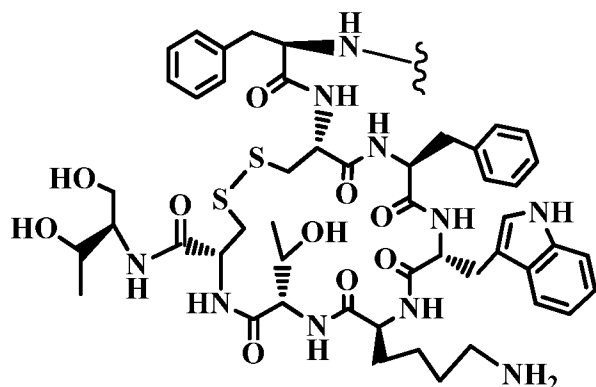
LB04 (лиганд PMSA),



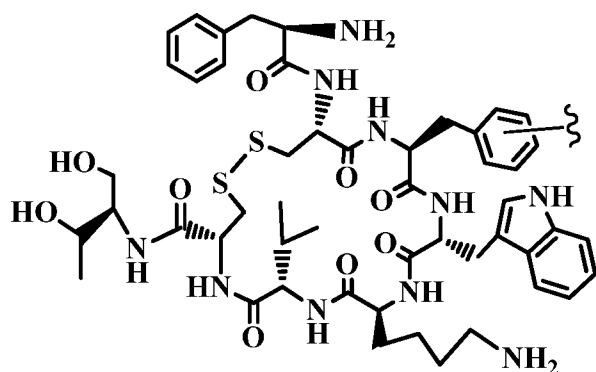
LB05 (соматостатин),



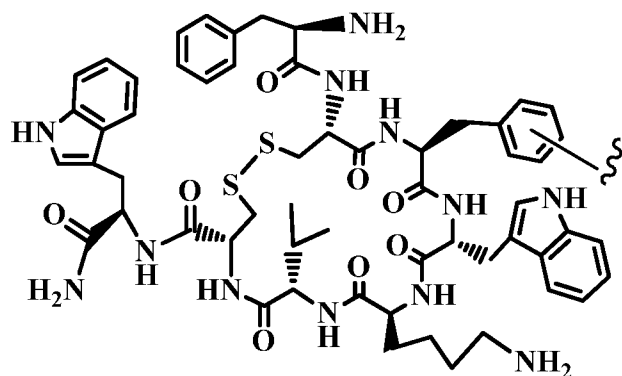
LB06 (соматостатин),



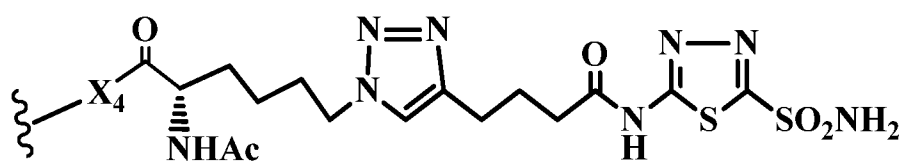
LB07 (октреотид, аналог соматостатина),



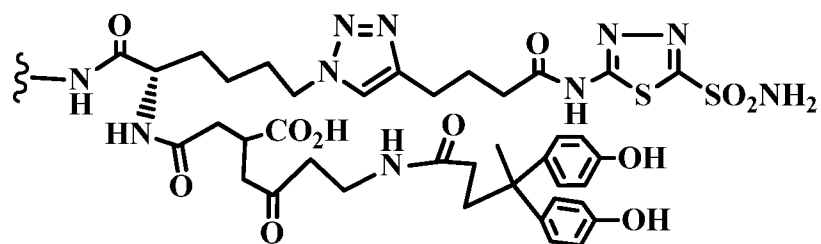
LB08 (ланреотид, аналог соматостатина),



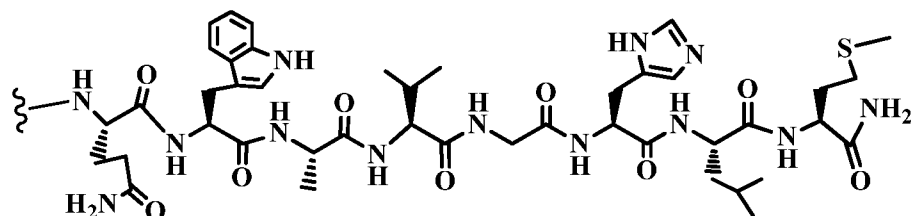
LB09 (вапреотид (санвар), аналог соматостатина),



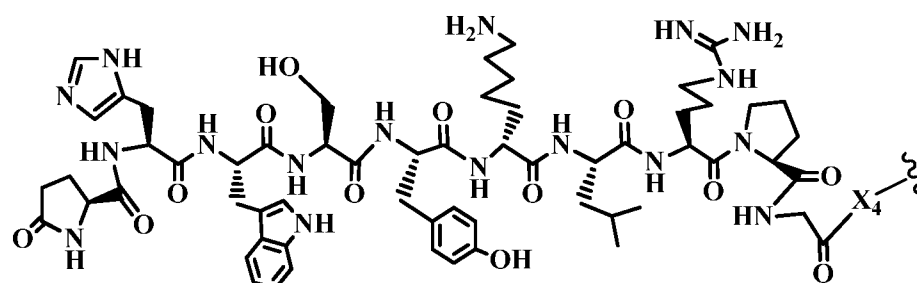
LB10 (лиганд CAIX),



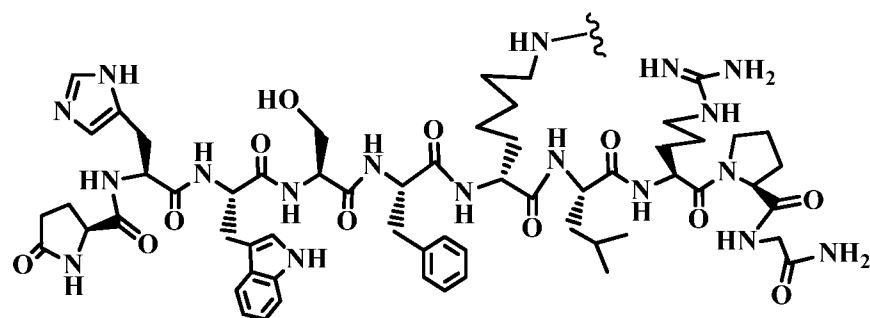
LB11 (лиганд CAIX),



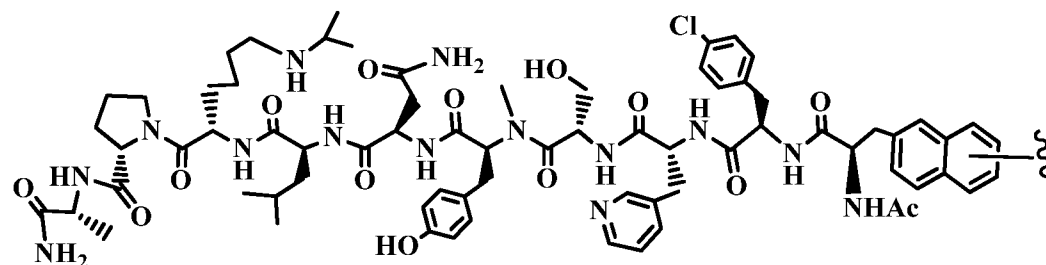
LB12 (рецептор высвобождающего гастрин пептида (GRPr), MBA),



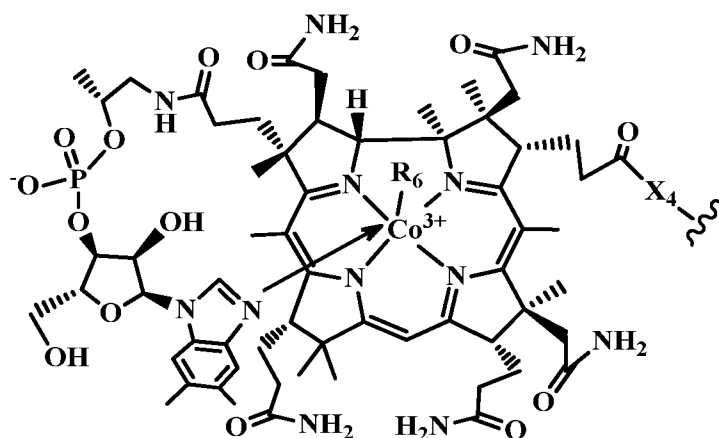
LB13 (лиганд релизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) и GnRH),



LB14 (лиганд релизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) и GnRH),

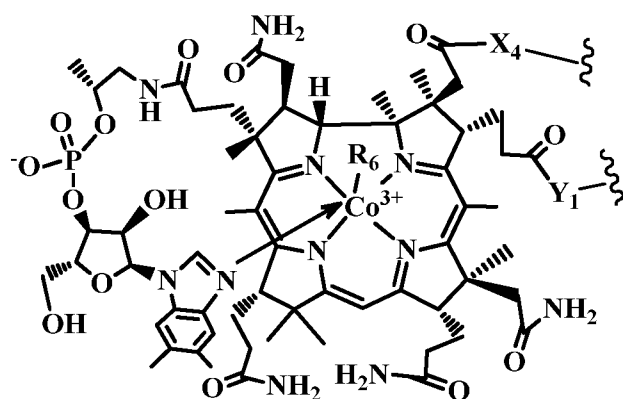


LB15 (GnRH антагонист, абареликс),

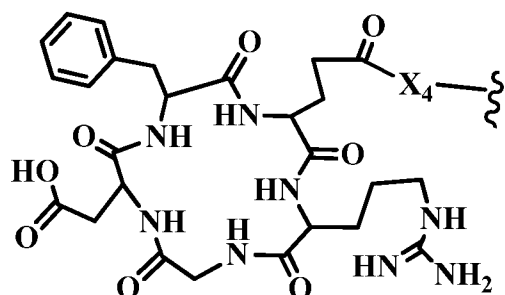
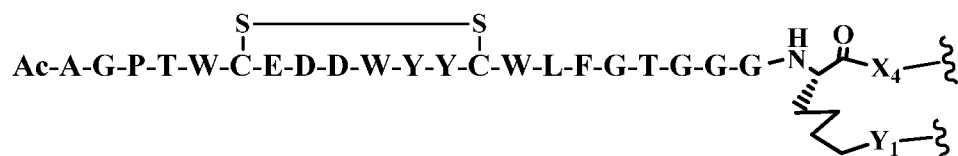


LB16 (кобаламин, аналога витамина

B12),



LB17 (кобаламин, аналога витамина B12),

LB18 (рецептор интегрин $\alpha_v\beta_3$, пентапептидный циклический RGD),

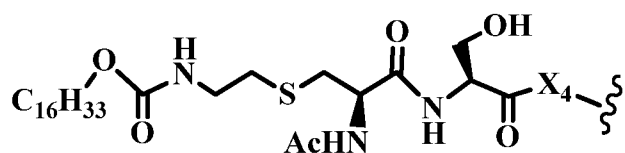
LB19 (конъюгат гетеро-двухвалентного пептидного лиганда рецептора VEGF),



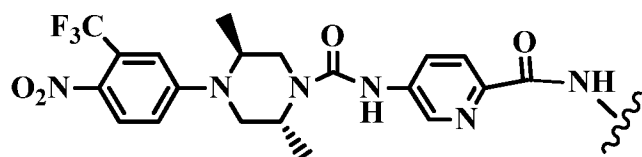
LB20 (нейромедин B),



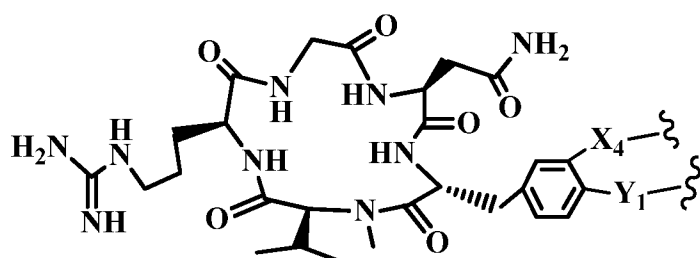
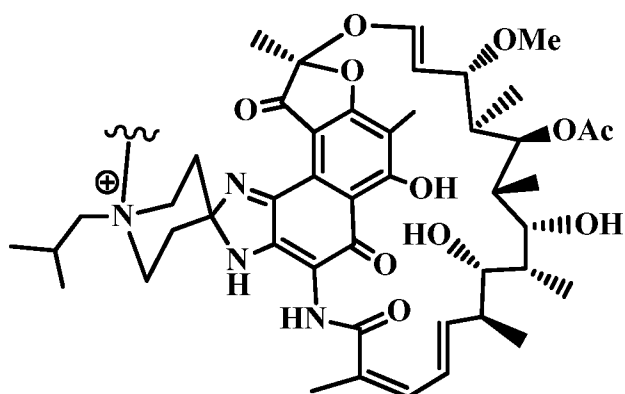
LB21 (конъюгат бомбезина для рецептора, сопряженного с G-белком),

LB22 (конъюгат TLR₂ для Toll-подобного

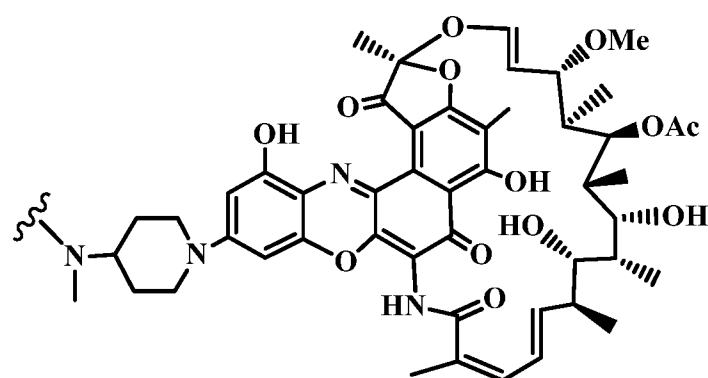
рецептора),



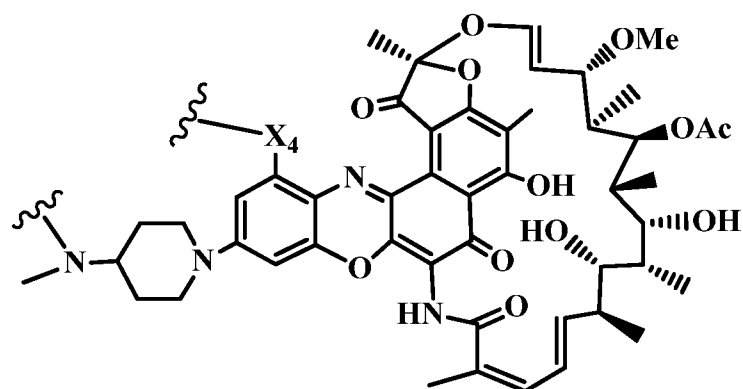
LB23 (рецептор андрогена),

LB24 (циленгитид/цикло(-RGDfV-) конъюгат для рецептора интергрина α_v)

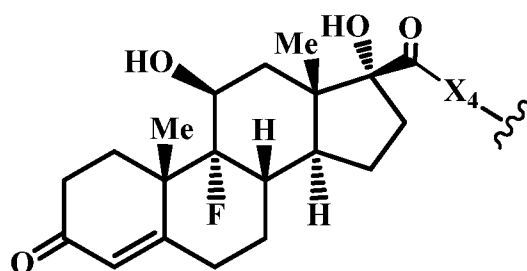
LB25 (аналог рифабутина),



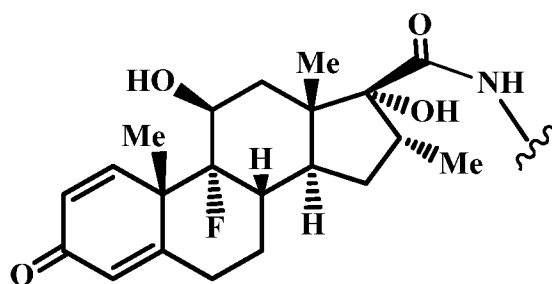
LB26 (аналог рифабутина),



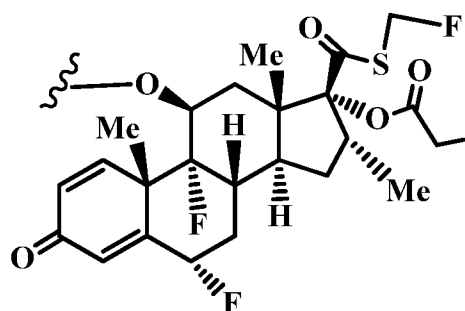
LB27 (аналог рифабутина),



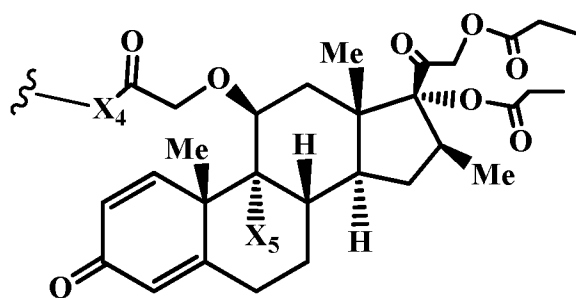
LB28 (флудрокортизон),



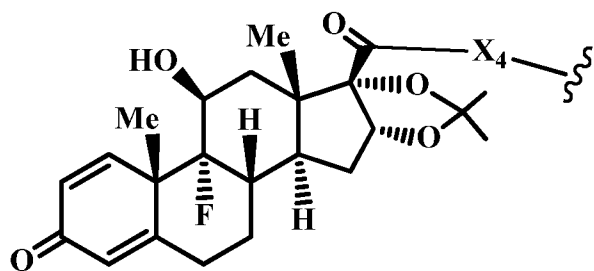
LB29 (дексаметазон),



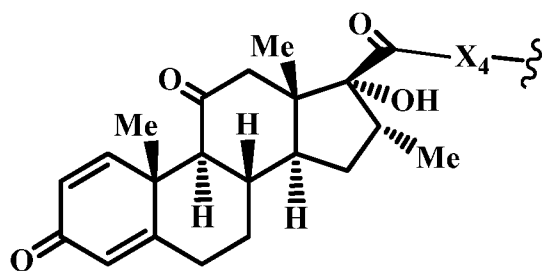
LB30 (флутиказона пропионат),



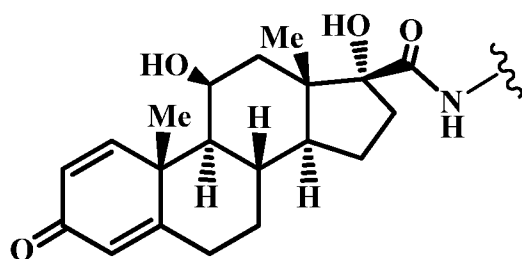
LB31 (беклометазона дипропионат),



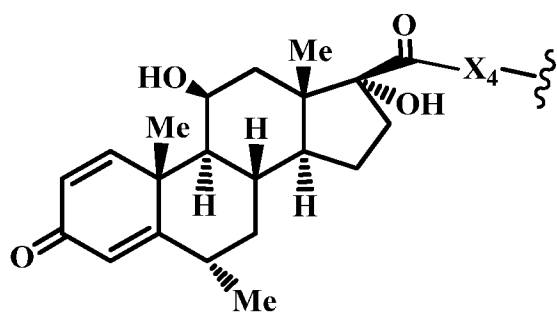
LB32 (триамцинолона ацетонид),



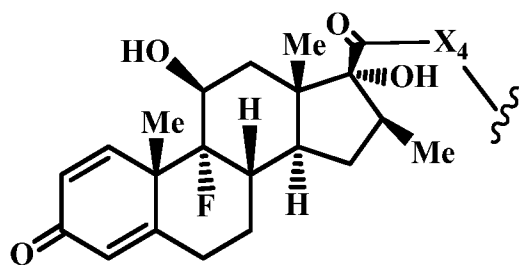
LB33 (преднизон),



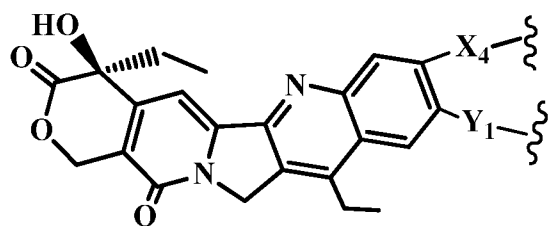
LB34 (преднизолон),



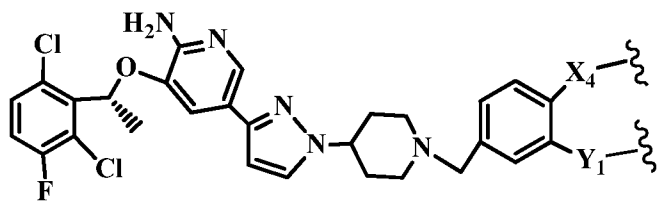
LB35 (метилпреднизолон),



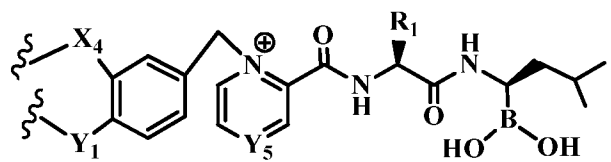
LB36 (бетаметазон),



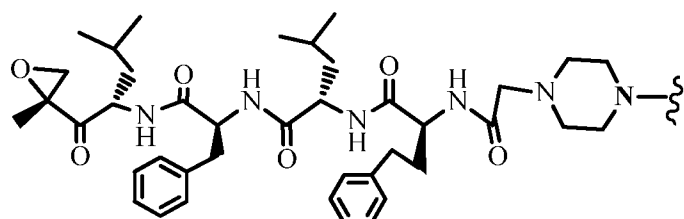
LB37 (аналог иринотекана),



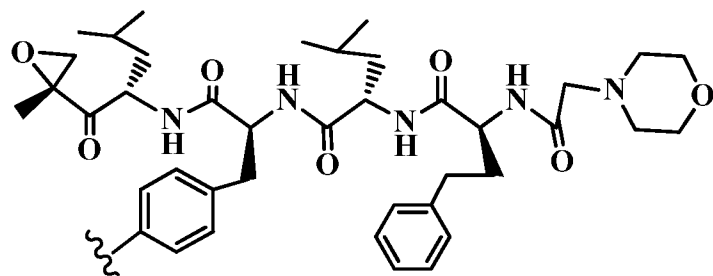
LB38 (аналог кризотиниба),

LB39 (аналог бортезомиба), где Y₅

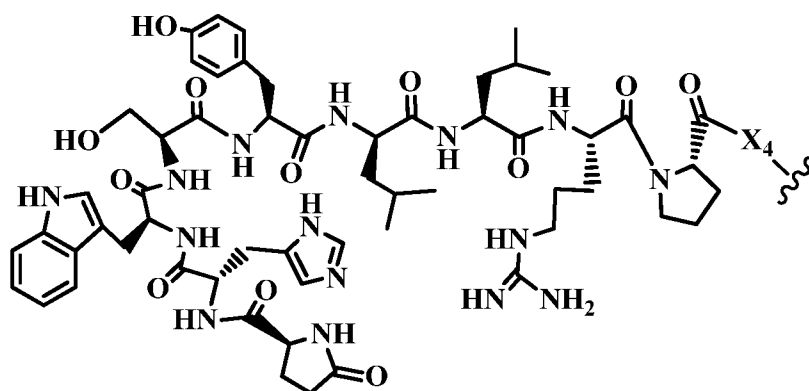
представляет собой N, CH, C(Cl), C(CH₃) или C(COOR₁); R₁ представляет собой H, C₁-C₆ алкил, C₃-C₈ Ar;



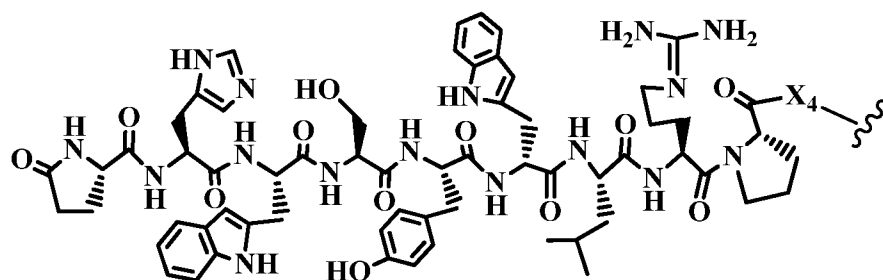
LB40 (аналог карфилзомиба),



LB41 (аналог карфилзомиба),

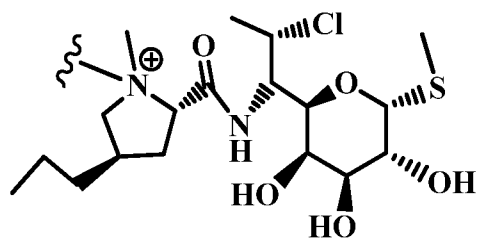


LB42 (аналог лейпролида),

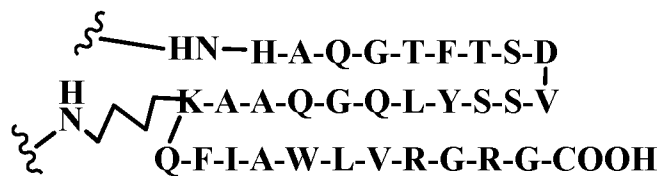


LB43 (аналог

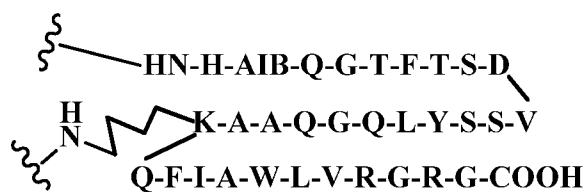
трипторелина),



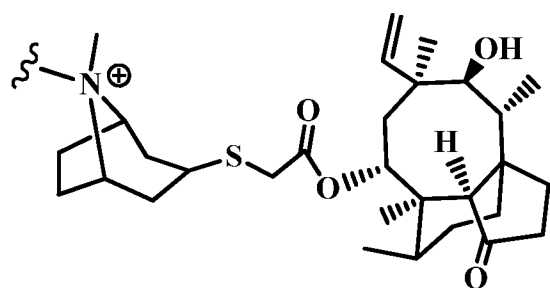
LB44 (клиндамицин),



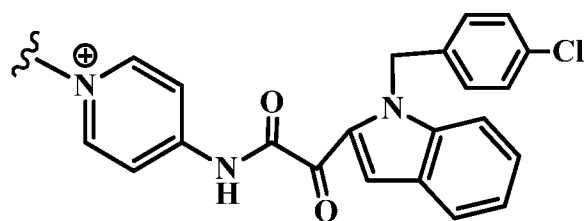
LB45 (аналог лираглутида),



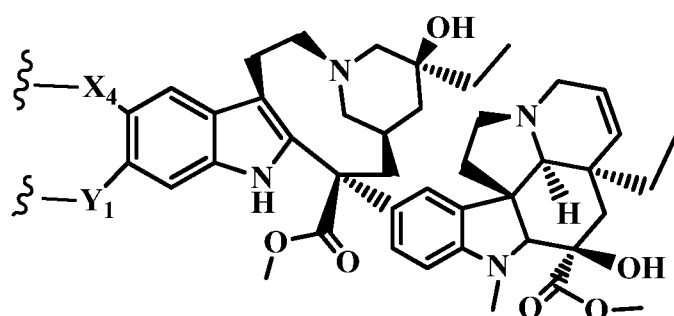
LB46 (аналог семаглутида),



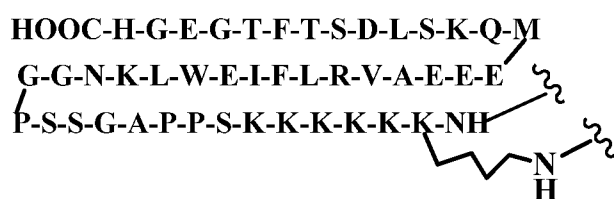
LB47 (аналог ретапамулина),



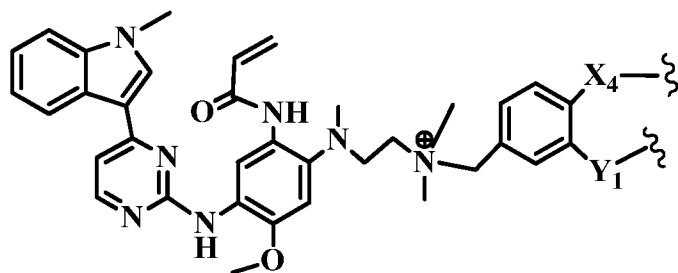
LB48 (аналог инбулина),



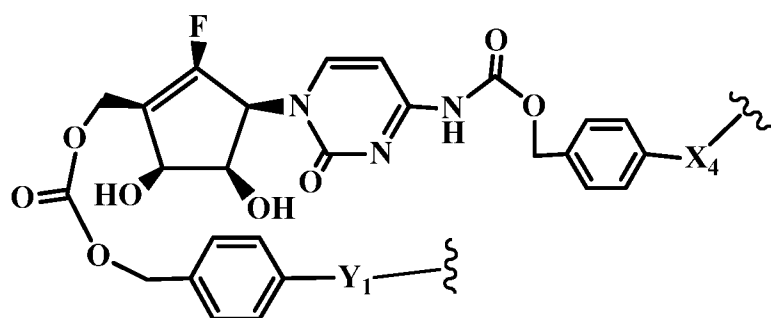
LB49 (аналог винбластина),



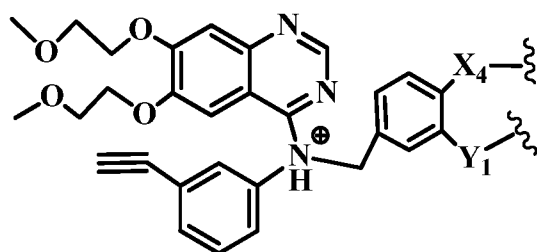
LB50 (аналог ликсисенатида),



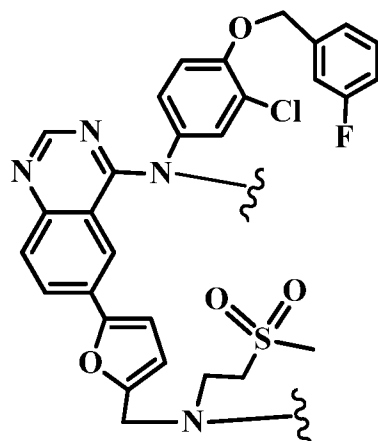
LB51 (аналог осимертиниба),



LB52 (аналог неуклеозида),



LB53 (аналог эрлотиниба),



LB54 (аналог эрлотиниба),

где «» представляет собой участок для присоединения линкера боковой цепи по настоящему патенту; X_4 и Y_1 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_1 , S, $C(O)O$, $C(O)NH$, $OC(O)NH$, $OC(O)O$, $NHC(O)NH$, $NHC(O)S$, $OC(O)N(R_1)$, $N(R_1)C(O)N(R_1)$, CH_2 , $C(O)NHNHC(O)$ и $C(O)NR_1$; X_1 представляет собой H, CH_2 , OH, O, $C(O)$, $C(O)NH$, $C(O)N(R_1)$, R_1 , NHR_1 , NR_1 , $C(O)R_1$ или $C(O)O$; X_5 представляет собой H, CH_3 , F или Cl; M_1 и M_2 независимо представляют собой H, Na, K, Ca, Mg, NH_4 , $N(R_1R_2R_3R_4)$; R_1 , R_2 , R_3 и R_4 определены в формуле (I);

Любая из нескольких различных реакционноспособных групп на агенте, связывающемся с клетками, предпочтительно, на антителе, может представлять собой сайт

конъюгации, такой как ϵ -аминогруппы в остатках лизина, боковые фрагменты углеводов, группы карбоновых кислот, дисульфидные группы и тиольные группы. Для обзоров реакционноспособных групп антител, пригодных для конъюгации, см., например, Hermanson, G.T. (2008). *Bioconjugate Techniques*, Academic Press; Garnett, *Adv. Drug Delivery Rev.* 53 (2001), 171-216 и Dubowchik and Walker, *Pharmacology & Therapeutics* 83 (1999), 67-123, описания которых включены в данный документ посредством ссылки.

Указанные цитотоксические агенты, сшитые димеры PBD по данному изобретению могут быть напрямую конъюгированы (связаны) с агентом, связывающимся с клетками, или через бифункциональный линкер или сшивающий агент с агентом, связывающимся с клетками. Указанный бифункциональный линкер имеет две реакционноспособные группы; одна из которых способна реагировать с агентом, связывающимся с клетками, в то время как другая реагирует с одним или более молекулами цитотоксического агента по данному изобретению. Указанные бифункциональные сшиватели хорошо известны в данной области техники (см., например, патент США. № 5208020; Isalm and Dent, *Bioconjugation* chapter 5, p 218-363, Groves Dictionaries Inc. New York, 1999). Примеры бифункционального линкера представляют собой: N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио)пропионат (SPDP), N-сукцинимидил-4-(2-пиридилдитио)бутират (SPDB), N-сукцинимидил-4-(2-пиридилдитио)пентаноат (SPP), N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио)бутират (SDPB), 2-иминотиолан, N-сукцинимидил-4-(5-нитро-2-пиридилдитио)бутират (SNPB), N-сукцинимидил 4-(5-нитро-2-пиридилдитио)пентаноат (SNPP), N-сульфосукцинимидил 4-(5-нитро-2-пиридилдитио)бутират (SSNPB), N-сукцинимидил-4-метил-4-(5-нитро-2-пиридилдитио)пентаноат (SMNP), N-сульфосукцинимидил 4-(5-нитро-2-пиридилдитио)пентаноат (SSNPP), 4-сукцинимидил-оксикарбонил- α -метил- α -(2-пиридилдитио)-толуол (SMPT), N-сульфосукцинимидил 4-метил-4-(5-нитро-2-пиридилдитио)пентаноат (SSMNP); N-сукцинимидил 4-метил-4-(2-пиридилдитио)пентаноат (SMPDP), N-сукцинимидил-4-(5-N,N-диметилкарбоксамидо-2-пиридилдитио)бутират (SCPB), N-сульфосукцинимидил-4-(5-N,N-диметилкарбоксамидо-2-пиридилдитио)бутират (SSCPB), N-сукцинимидил-4,4-диметил-4-(2-пиридилдитио)пентаноат (SDMPDP), сукцинимидил 4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилат (SMCC), N-сукцинимидил-4-(йодацетил)аминобензоат (SIAB), бис-малеимидополиэтиленгликоль (BMPEG), BM(PEG)1~20, N-(β -малеимидопропилокси)сукцинимидный сложный эфир (BMPS), иминотиолан (IT), диметил адипимидат HCl или производные имидоэфиров, активные сложные эфиры (такие как дисукцинимидил суберат), альдегиды (такие как глутаровый альдегид), бис-азидо

соединения (такие как бис(пара-азидобензоил)гександиамин), производные бис-дiazония (такие как бис-(пара-дiazоний-бензоил)этилендиамин), диизоцианаты (такие как толуол 2,6-диизоцианат) и бис-активные фторзамещенные соединения (такие как 1,5-дифтор-2,4-динитробензол), N-сукцинимидный сложный эфир гамма-малеимидомасляной кислоты (GMBS), N-гидроксисукцинимидный сложный эфир E-малеимидокапроновой кислоты (EMCS), NHS 5-малеимидовалериановая кислота, HBVS, N-сукцинимидил-4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбокси-(6-амидокапроат) («длинноцепочечный» аналог SMCC (LC-SMCC)), m-малеимидо-бензоил-N-гидроксисукцинимидный сложный эфир (MBS), гидразид или соль HCl 4-(4-N-малеимидо)-масляной кислоты (MPBH), N-сукцинимидил 3-(бромацетамидо)пропионат (SBAP), N-сукцинимидил иодоацетат (SIA), N-сукцинимидиловый сложный эфир каппа-малеимидоундекановой кислоты (KMUA), N-сукцинимидил 4-(пара-малеимидофенил)бутират (SMPB), сукцинимидил 6-(бета-малеимидопропионамидо)гексаноат (SMPH), сукцинимидил (4-винилсульфонил)бензоат (SVSB), дитиобис-малеимидозтан (DTME), 1,4-бис-малеимидобутан (BMB), 1,4-бисмалеимидил-2,3-дигидроксидобутан (BMDDB), бис-малеимидогексан (BMH), бис-малеимидозтан (BMOE), сульфосукцинимидил 4-(N-малеимидо-метил)циклогексан-1-карбоксилат (сульфо-SMCC), сульфосукцинимидил (4-йодацетил)аминобензоат (сульфо-SIAB), m-малеимидобензоил-N-гидроксисульфосукцинимидный сложный эфир (сульфо-MBS), N-(гамма-малеимидобутирилокси)сульфосукцинимидный сложный эфир (сульфо-GMBS), N-(эпсилон-малеимидокапроилокси)сульфосукцинимидный сложный эфир (сульфо-EMCS), N-(каппа-малеимидоундеканилокси)сульфосукцинимидный сложный эфир (сульфо-KMUS) и сульфосукцинимидил 4-(пара-малеимидофенил)бутират (сульфо-SMPB); или коммерчески доступные линкеры (такие как от Thermo Scientific Pierce: Imidoester Crosslinkers: DMA (диметил адипимидат•2 HCl), DMP (диметил пимелимидат•2 HCl), DMS (диметил суберимидат•2 HCl), DTBP (диметил 3,3'-дитиобиспропионимидат•2 HCl); Сшиватели NHS-сложный эфир-реакционноспособная группа к амину: BS(PEG)₅ (Бис(сукцинимидил) пента(этиленгликоль), BS(PEG)₉(Бис(сукцинимидил) нона(этиленгликоль), BS³ (Бис[сульфосукцинимидил]суберат), BSOCOES (Бис[2-(сукцинимидоксикарбониллокси)этил]сульфон), DSG (Дисукцинимидил глутарат), DSP (Дитиобис[сукцинимидил пропионат]), DSS (Дисукцинимидил суберат), DST (Дисукцинимидил тартрат), DTSSP (3,3'-Дитиобис[сульфосукцинимидил пропионат]), EGS (Этиленгликоль бис[сукцинимидил сукцинат]), Сульфо-EGS (Этиленгликоль бис[сульфосукцинимидил сукцинат]), TSAT (Трис-сукцинимидил аминотриацетат), DFDNB (1,5-Дифторо-2,4-динитробензол); Сшиватели Аминогруппы-к-Сульфгидрилу:

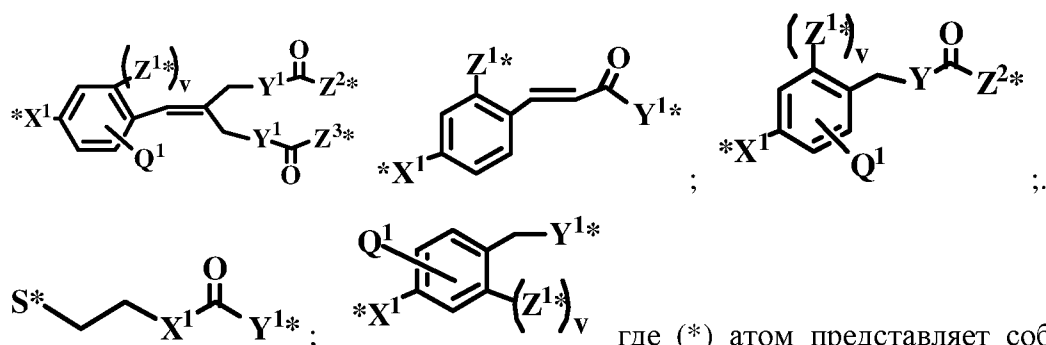
Сульфо-SIAB (Сульфосукцинимидил (4-йодацетил)аминобензоат), SIAB (Сукцинимидил (4-йодацетил)аминобензоат), SBAP (Сукцинимидил 3-(бромацетамидо)пропионат), SIA (Сукцинимидил иодоацетат), Сульфо-SMCC (Сульфосукцинимидил 4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилат), SM(PEG)*n* (Сшиватели NHS-ПЭГ-Малеимид: Сложный эфир Сукцинимидил-([N-малеимидопропионамидо])#этиленгликоля), # = 1 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24), LC-SMCC (Сукцинимидил 4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбокси-(6-амидокапроат)), Сульфо-EMCS (N-эпсилон-малеимидокапроил-оксисульфосукцинимидный сложный эфир), EMCS (N-эпсилон-малеимидокапроил-оксисукцинимидный сложный эфир), Сульфо-GMBS (N-гамма-малеимидобутирил-оксисульфосукцинимидный сложный эфир), GMBS (N-гамма-малеимидобутирил-оксисукцинимидный сложный эфир), Сульфо-KMUS (N-каппа-малеимидоундеканоил-оксисульфосукцинимидный сложный эфир), Сульфо-MBS (m-малеимидобензоил-N-гидроксисульфосукцинимидный сложный эфир), MBS (m-малеимидобензоил-N-гидроксисукцинимидный сложный эфир), Сульфо-SMPB ((Сульфосукцинимидил 4-(p-малеимидофенил)бутират), SMPB(Сукцинимидил 4-(p-малеимидофенил)бутират), AMAS N-(α-малеимидоацетокси)сукцинимидный сложный эфир), BMPS (N-бета-малеимидопропилоксисукцинимидный сложный эфир), SMPH (Сукцинимидил 6-[(бета-малеимидопропионамидо)гексаноат]), PEG12-SPDP (2-Пиридилдитиол-тетраоксаоктатриаконтан-N-гидроксисукцинимид), PEG4-SPDP (2-Пиридилдитиол-тетраоксатетрадекан-N-гидроксисукцинимид), Сульфо-LC-SPDP (Сульфосукцинимидил 6-[3'-(2-пиридилдитио)пропионамидо]гексаноат), LC-SPDP (Сукцинимидил 6-[3-(2-пиридилдитио)пропионамидо]гексаноат), SMPT (4-Сукцинимидил-оксикарбонил-альфа-метил-альфа(2-пиридилдитио)толуол); Сшиватели Карбоксила-к-Аминогруппе: DCC (дициклогексилкарбодиимид), EDC (1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид); Фотореакционноспособные Сшиватели: ANB-NOS (N-5-азидо-2-нитробензоилоксисукцинимид), Сшиватели NHS-Диазирин (SDA): SDA (NHS-Диазирин)(Сукцинимидил 4,4'-азипентаноат), LC-SDA (NHS-LC-Диазирин) (Сукцинимидил 6-(4,4'-азипентанамидо)гексаноат), SDAD (NHS-SS-Диазирин) (Сукцинимидил 2-([4,4'-азипентанамидо]этил)-1,3'-дитиопропионат), Сульфо-SDA (Сульфо-NHS-Диазирин) (Сульфосукцинимидил 4,4'-азипентаноат), Сульфо-LC-SDA (Сульфо-NHS-LC-Диазирин) (Сульфосукцинимидил 6-(4,4'-азипентанамидо)гексаноат), Сульфо-SDAD (Сульфо-NHS-SS-Диазирин)(Сульфосукцинимидил 2-([4,4'-азипентанамидо]этил)-1,3'-дитиопропионат), Сульфо-SANPAH (Сульфосукцинимидил 6-(4'-азидо-2'-нитрофениламино)гексаноат), SPB (Сукцинимидил-[4-(псорален-8-

илокси)]бутират); Сшиватели Сульфгидрил-к-Углеводу: ВМРН (гидразид N-бета-малеимидопропионовой кислоты-ТФА), ЕМСН (N-эпсилон-гидразид малеимидокапроновой кислоты-ТФА), КМУН (гидразид N-каппа-малеимидоундекановой кислоты-ТФА), МРВН (гидразид 4-(4-N-Малеимидофенил)масляной кислоты-НСl), РДРН (3-(2-Пиридилдитио)пропионил гидразид); Сшиватели Сульфгидрил-к-Гидроксилу: РМРl (p-Малеимидофенил изоцианат); Сшиватели Сульфгидрил-к-Сульфгидрилу: ВМ(PEG)2 (1,8-Бисмалеимидодиэтиленгликоль), ВМ(PEG)3 (1,11-Бисмалеимидотриэтиленгликоль), ВМВ (1,4-Бисмалеимидобутан), ВМДВ (1,4-Бисмалеимидил-2,3-дигидроксидобутан), ВМН (Бисмалеимидогексан), ВМОЕ (Бисмалеимидоэтан), DTME (Дитиобисмалеимидоэтан), ТМЕА (Трис(2-малеимидоэтил)амин) и SVSB (сукцинимидил-(4-винилсульфон)бензоат).

Указанные бис-малеимидные или бис-2-пиридилдитиольные реагенты позволяют присоединение тиольной группы тиолсодержащего агента, связывающегося с клетками (такого как антитело) к тиолсодержащему лекарственному фрагменту, метке или промежуточному соединению линкера, последовательно или одновременно. Другие функциональные группы, кроме малеимида и пиридилдитиола, которые являются реакционноспособными к тиольной группе агента, связывающегося с клетками, лекарственного фрагмента, метки или промежуточного соединения линкера, включают йодацетамид, бромацетамид, винилпиридин, дисульфид, пиридилдисульфид, изоцианат и изотиоцианат.

В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный линкер может состоять из одного или более компонентов линкера. Примеры компонентов линкера представляют собой:

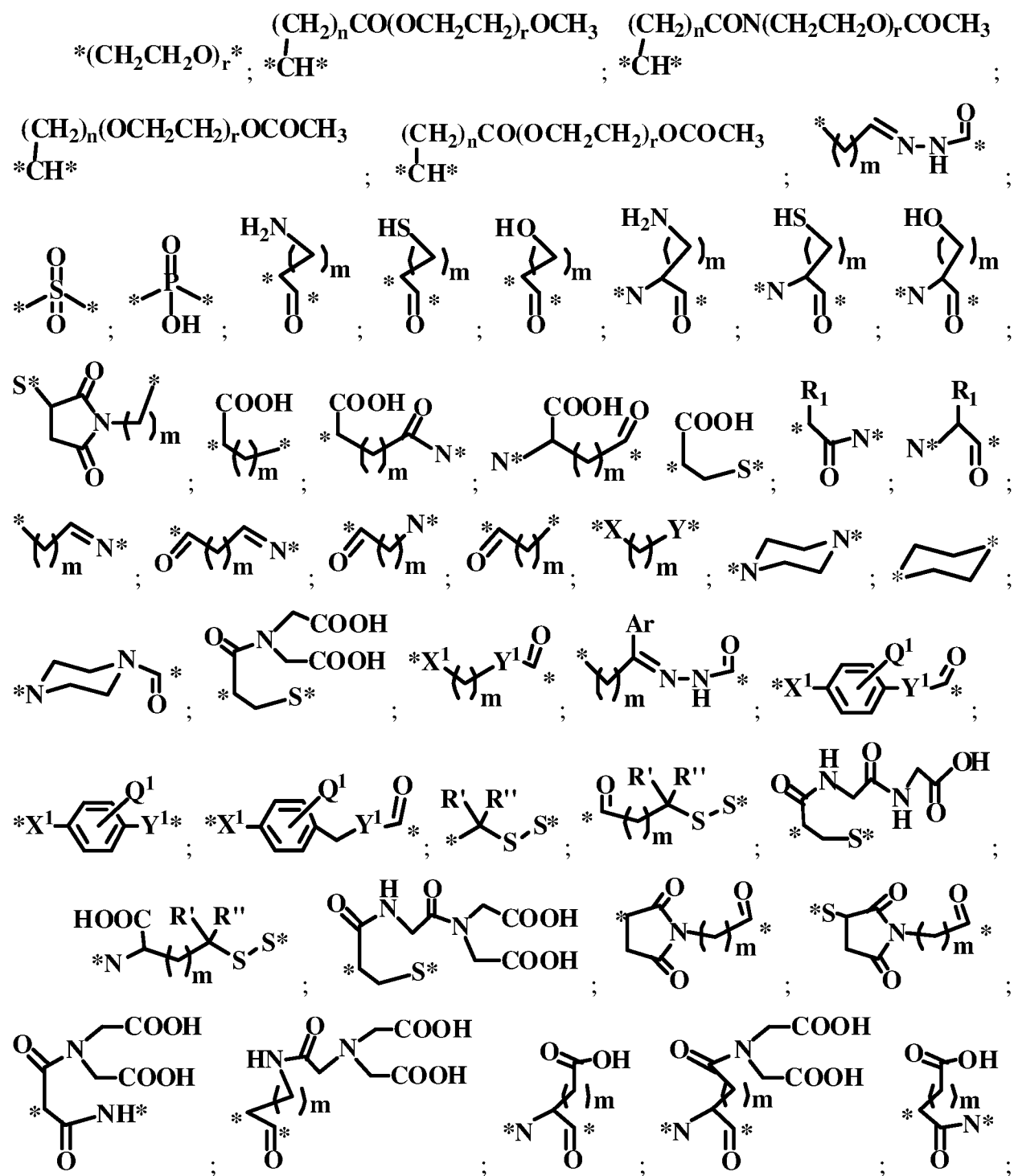
1. Указанные саморасщепляющиеся линкерные компоненты:

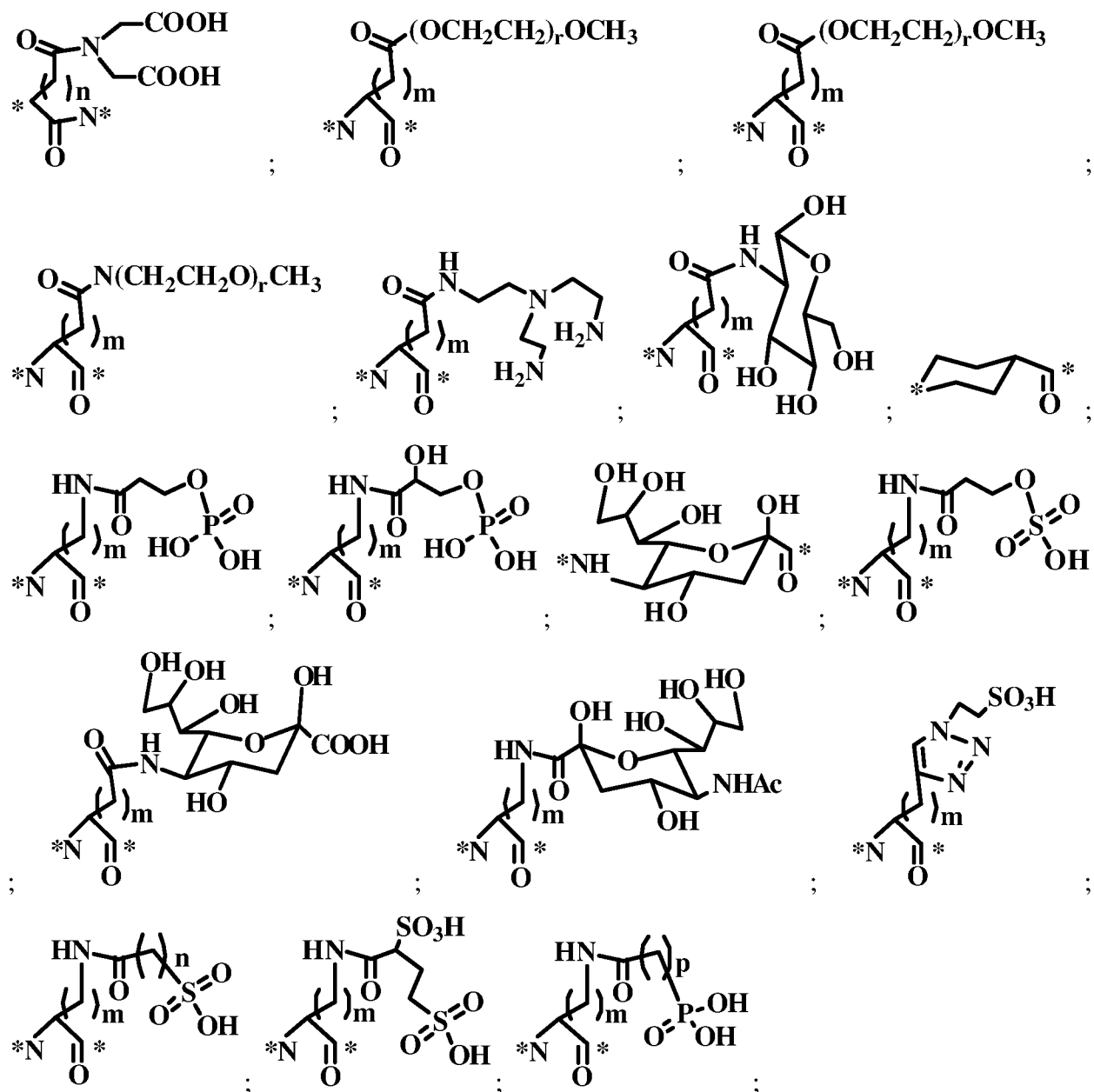


присоединения дополнительных спейсерных или высвобождаемых линкерных фрагментов или цитотоксического агента и/или связывающейся молекулы (СВА); X^1 , Y^1 , Z^2 и Z^3 независимо представляют собой NH, O или S; Z^1 независимо представляет собой H, NH, O или S. v равен 0 или 1; Q^1 независимо представляет собой H, OH, C_1 - C_6 алкил, $(OCH_2CH_2)_n$

F, Cl, Br, I, OR₁ или SR₁, NR₁R₂, N=NR₁, N=R₁, NR₁R₂, NO₂, SOR₁R₂, SO₂R₁, SO₃R₁, OSO₃R₁, PR₁R₂, POR₁R₂, PO₂R₁R₂, OPO(OR₁)(OR₂) или OCH₂PO(OR₁(OR₂), где R₁ и R₂ описаны выше, предпочтительно независимо выбраны из H, C₁~C₈ алкила; C₂~C₈ алкенила, алкинила, гетероалкила; C₃~C₈ арила, гетероцикла, карбоцикла, циклоалкила, гетероциклоалкила, гетероаралкила, алкилкарбонила; или фармацевтических катионных солей.

2. Указанные примеры саморасщепляющихся линкерных компонентов:





где указанный (*) атом представляет собой точку присоединения дополнительного спейсера или способных к отделению линкеров, цитотоксических агентов и/или связывающихся молекул; X1, Y1, Q1, R1, R', R'' определены выше; r равно 1~20, m и n равны 1~6.

3. Примеры линкерных компонентов могут включать 6-малеимидокапроил («МС»), малеимидопропаноил («МР»), валин-цитруллин («val-cit» или «vc»), аланин-фенилаланин («ala-phe» или «af»), пара-аминобензилоксикарбонил («РАВ»), N-сукцинимидил 4-(2-пиридилтио)пентаноат («SPP»), N-сукцинимидил 4-(N-малеимидометил)циклогексан-1 карбоксилат («SMCC»), N-сукцинимидил (4-йодацетил)аминобензоат («SIAB»), этиленокси (--CH₂CH₂O--) в качестве одной или более

повторяющихся единиц («ОЭ» или «ПОЭ»). Дополнительные компоненты линкера известны в данной области техники, и некоторые описаны в данной патентной заявке.

В дополнительных вариантах реализации изобретения указанный линкер может содержать аминокислотные остатки. Примеры аминокислотных компонентов линкера включают дипептид, трипептид, тетрапептид или пентапептид. Примеры дипептидов включают: валин-цитруллин (VC или val-cit), аланин-фенилаланин (af или ala-phe). Примеры трипептидов включают: глицин-валин-цитруллин (gly-val-cit) и глицин-глицин-глицин (gly-gly-gly). Аминокислотные остатки, содержащиеся в аминокислотный компонент линкера, включают те, которые встречаются в природе, а также минорные аминокислоты и неприродные аналоги аминокислот, такие как цитруллин. Аминокислотные компоненты линкера могут быть спроектированы и оптимизированы в плане селективности ферментативного расщепления конкретными ферментами, например, протеазой, ассоциированной с опухолью, Катепсином В, С и D или протеазой плазмينا.

В конъюгатах агента, связывающегося с клетками - лекарственного средства по данному изобретению, агент, связывающийся с клетками (Q), конъюгирован с одним или более фрагментами лекарственного средства (Лекарство или производные PBD), например, от около 1 до около 20 фрагментов лекарственного средства на агент, связывающийся с клетками, посредством бифункционального линкера (L). Указанный конъюгат Формулы (I), (II), (III) и (IV) можно получать несколькими путями, с использованием реакций органической химии, условий и реагентов, известных специалистам в данной области техники, включающих следующие: (1) приведение в контакт нуклеофильной группы агента, связывающегося с клетками, с двухвалентным линкерным реагентом с образованием Q-L посредством ковалентной связи с последующим приведением в контакт с фрагментом лекарственного средства Лекарство; и (2) приведение в контакт нуклеофильной группы фрагмента лекарственного средства с двухвалентным линкерным реагентом с образованием Лекарство-L посредством ковалентной связи с последующим приведением в контакт с нуклеофильной группой агента, связывающегося с клетками.

Для синтеза конъюгатов Формулы (I), (II), (III) или/и (IV), в целом, функциональная группа E₃ или/и E₃' в Формуле (V), (VI), (VII) и (VIII) реагирует с одним, двумя или более остатками молекулы, связывающейся с клетками при 0-60°C в водной среде с pH 5~9,5 с или без добавления 0~30% органических растворителей, смешивающихся с водой (водорастворимых), таких как ДМАА, ДМФА, этанол, метанол, ацетон, ацетонитрил, ТГФ, изопропанол, диоксан, пропиленгликоль или этиленгликоль, с последующим диализом или хроматографической очисткой с образованием конъюгированного соединения Формулы (I),

(II), (III) или/и (IV). Часть остатка (реакционноспособная группа для конъюгации) связывающейся с клеткой молекулы может быть получена с помощью белковой инженерии.

Тиольные или аминные группы на агентах, связывающихся с клетками, таких как антитело, являются нуклеофильными и способны реагировать с образованием ковалентных связей с электрофильными группами на линкерных реагентах и промежуточных соединениях лекарственного средства-линкера, включающих: (i) активные сложные эфиры, такие как сложные эфиры NHS, сложные эфиры HOBt, галогенформиаты и галогенангидриды кислот; (ii) алкил и бензил галогениды, такие как галогенацетамиды; (iii) альдегиды, кетоны, карбоксильные и малеимидные группы; и (iv) дисульфиды, включающие пиридил дисульфиды, через сульфидный обмен. Нуклеофильные группы на фрагменте лекарственного средства включают, но не ограничиваясь ими: амин, тиол, гидроксил, гидразид, оксим, гидразин, тиосемикарбазон, гидразин карбоксилат и арилгидразид, способные реагировать с электрофильными группами на линкерных фрагментах и линкерных реагентах с образованием ковалентных связей.

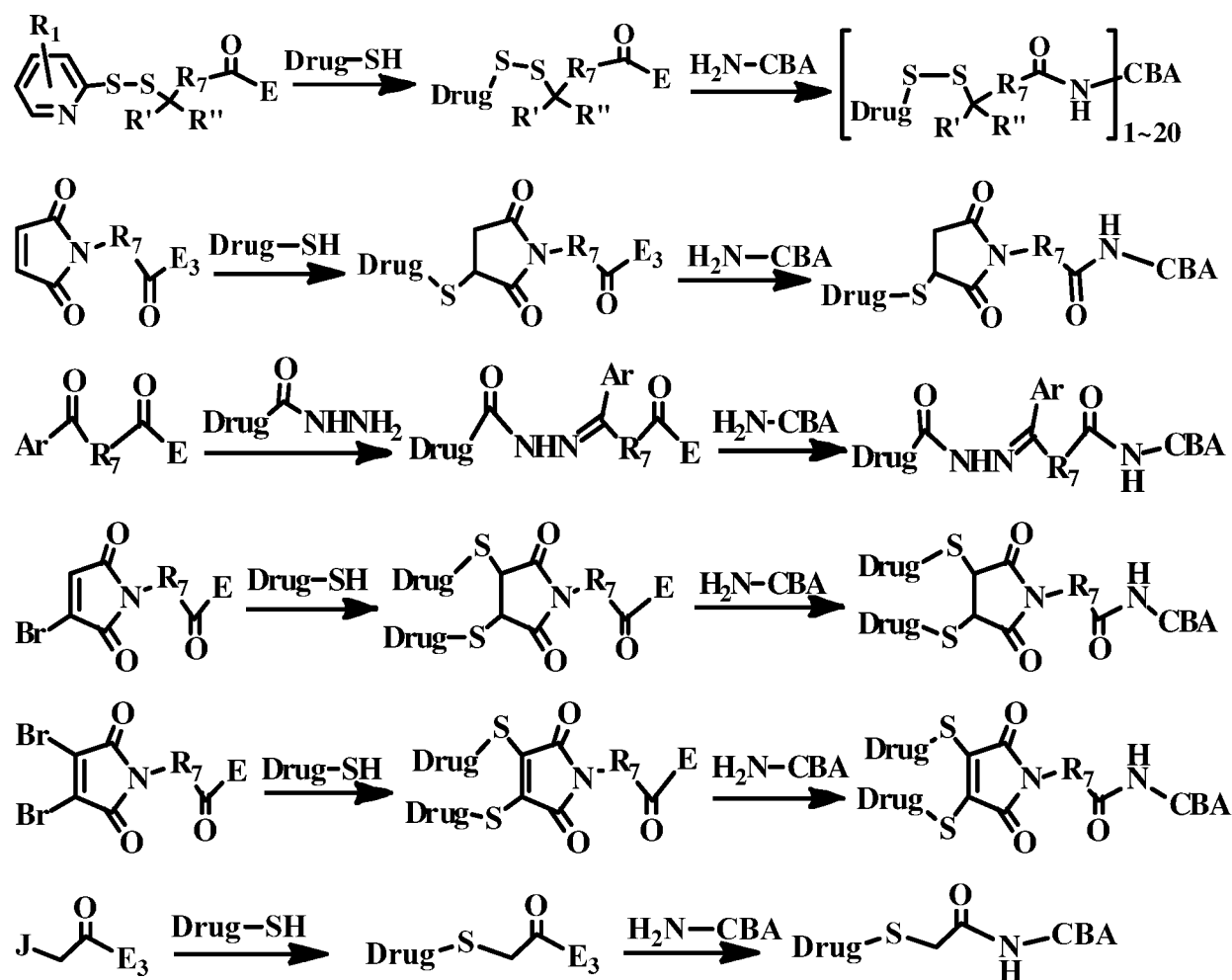
Нуклеофильные группы на антителах или белках могут реагировать с электрофильными группами на функциональном линкере с последующим приведением в контакт с цитотоксическим агентом, или непосредственно реагировать с фрагментом линкера-цитотоксического агента с образованием конъюгата ковалентной связью агента, связывающегося с клетками-цитотоксического агента. Нуклеофильные группы на антителах или белках включают, но не ограничиваясь ими: (i) N-концевые аминокислоты, (ii) аминокислоты боковой цепи, например лизин, (iii) тиольные группы боковой цепи, например, цистеин, и (iv) гидроксил или аминокислоты сахара, когда указанное антитело является гликозилированным. Амино, тиольные и гидроксильные группы являются нуклеофильными и способны реагировать с образованием ковалентных связей с электрофильными группами на линкерных фрагментах и фрагментах линкера-цитотоксического агента, включающих: (i) активные сложные эфиры, такие как сложные эфиры NHS, сложные эфиры HOBt, галогенформиаты и галогенангидриды кислот; (ii) алкил и бензил галогениды, такие как галогенацетамиды; (iii) альдегиды, кетоны, карбоксильные и малеимидные группы. Некоторые антитела имеют способные к восстановлению межцепочечные дисульфиды, т. е. цистеиновые мостики, которые могут становиться реакционноспособными путем обработки восстанавливающим агентом, таким как DTT (дителиотреитол) или трикарбонилэтилфосфин (TCEP) (Getz et al (1999) Anal. Biochem. Vol 273:73-80; Soltec Ventures, Beverly, Mass), дитиозэритрит (DTE), L-глутатион (GSH), 2-меркаптоэтиламин (β -MEA), или/и бета меркаптоэтанол (β -ME, 2-ME). Каждый

цистеиновый мостик, таким образом, образует, теоретически, два реакционноспособных тиоловых нуклеофила. В альтернативном варианте, сульфгидрильные группы могут быть введены в антитела посредством модификации остатков лизина, например, путем приведения в контакт остатков лизина с 2-иминотиолоном (реагент Траута), приводящего к превращению амина в тиол. Реакционноспособные тиольные группы могут быть введены в антитело путем введения одного, двух, трех, четырех или более остатков цистеина (например, путем получения модифицированных антител, содержащих один или более ненативных аминокислотных остатков цистеина). Таким образом, свободный тиол на агентах, связывающихся с клетками, может быть конъюгирован с группами, реакционноспособными к тиолу, такими как малеимид, йодацетамид, пиридил дисульфид или другие группы, реакционноспособные к тиолу, на цитотоксических агентах или промежуточных соединениях линкера-цитотоксического агента по данному изобретению. Некоторые неконъюгированные свободные тиолы на антителах можно повторно окислять для повторного образования межцепочечных и внутрицепочечных дисульфидных связей.

Конъюгаты антитела-лекарственного средства по данному изобретению также могут быть получены реакцией между электрофильной группой на антителе, такой как карбонильная группа альдегида или кетона, с нуклеофильной группой на линкерном реагенте или лекарственном средстве. Пригодные нуклеофильные группы на линкерном реагенте включают, но не ограничиваясь ими, гидразид, оксим, amino, гидразин, тиосемикарбазон, гидразин карбоксилат и арилгидразид. В одном варианте реализации изобретения антитело модифицируют для внедрения электрофильных фрагментов, которые способны реагировать с нуклеофильными заместителями на линкерном реагенте или лекарственном средстве. В другом варианте реализации изобретения указанные сахара или гликозилированные антитела могут быть окислены, например, окисляющими реагентами на основе периодата с образованием альдегидных или кетоновых групп, которые могут реагировать с аминогруппой линкерных реагентов или лекарственных средств. Полученные иминогруппы основания Шиффа могут образовывать стабильную связь или могут быть восстановлены, например, боргидридными реагентами с образованием стабильных аминных связей. В одном варианте реализации изобретения реакция углеводной части гликозилированного антитела с галактозооксидазой или мета-периодатом натрия может приводить к карбонильным (альдегидным и кетоновым) группам в антителе, которые могут реагировать с соответствующими группами на лекарственном средстве (Hermanson, Bioconjugate Techniques). В другом варианте реализации изобретения антитела,

содержащие N-концевые остатки серина или треонина, могут реагировать с мета-периодатом натрия, что приводит к получению альдегида вместо первой аминокислоты (Geoghegan & Stroh, (1992) Bioconjugate Chem. 3:138-146; U.S. Pat. № 5,362,852). Такой альдегид может реагировать с фрагментом лекарственного средства или нуклеофилом линкера.

Примеры данных видов двухстадийного конъюгирования приведены ниже:



где E включает, но не ограничиваясь ими, такие как гидроксисукцинимидильные сложные эфиры (NHS, Сульфо-NHS и т. д.), 4-нитрофениловые сложные эфиры, пентафторфениловые сложные эфиры, тетрафторфениловые (включая сульфо-тетрафторфенил) сложные эфиры, ангидриды, хлорангидриды кислот, сульфонил хлориды, изоцианаты и изотиоцианаты. R' и R'' независимо представляют собой H, CH₃ или C₂H₅; J представляет собой F, Cl, Br, I, тозилат (TsO), мезилат (MsO), нитрофенол, динитрофенол или пентафторфенол.

Следует понимать, что когда более чем одна нуклеофильная группа на агенте, связывающемся с клетками, таком как антитело, реагирует с промежуточным соединением

лекарственного средства-линкера или линкерным реагентом, с последующей реакцией с реагентом фрагмента лекарственного средства, то полученный продукт представляет собой смесь конъюгатов агента, связывающегося с клетками-цитотоксического агента с распределением одного или более фрагментов лекарственного средства, прикрепленных к антителу. Среднее количество лекарственных средств на антитело может быть рассчитано из смеси двойным анализом ИФА антител, который специфичен для антитела и специфичен для препарата. Индивидуальные молекулы конъюгатов могут быть идентифицированы в смеси с помощью масс-спектрометрии и разделены с помощью ВЭЖХ, например, хроматографией гидрофобного взаимодействия. В определенных вариантах реализации изобретения гомогенный конъюгат с одним значением нагрузки может быть выделен из смеси конъюгатов с помощью электрофореза или хроматографии.

При указанном конъюгировании нагрузку (отношение лекарственного средства/антитела) ADC можно контролировать по-разному, например, следующими путями: (i) ограничение молярного избытка промежуточного соединения лекарственного средства-линкера или линкерного реагента относительно антитела, (ii) ограничение времени реакции или температуры реакции конъюгации, (iii) частичные или ограничивающие восстановительные условия для модификации тиола цистеина, (iv) конструирование рекомбинантными методами аминокислотной последовательности антитела таким образом, что количество и положение остатков лизина или цистеина является модифицированным для контроля количества и/или положения сайтов присоединения фрагментов линкера-лекарственного средства (например, thioMab или thioFab).

Синтетический конъюгат может быть очищен стандартными биохимическими способами, такими как гель-фильтрация на колонке с сефадексом G25 или сефакрилом S300, адсорбционная хроматография и ионный обмен или диализ. В некоторых случаях малая молекула в качестве агента, связывающегося с клеткой (например, фолиевая кислота, меланоцитостимулирующий гормон, EGF и т. д.), конъюгированная с низкомолекулярными лекарственными средствами, может быть очищена с помощью хроматографии, такой как ВЭЖХ, колоночная хроматография среднего давления или ионообменная хроматография.

Водные растворы для модификации агентов, связывающихся с клеткой, забуферены между pH 4 и 9, предпочтительно между 6,0 и 7,5, и могут содержать любые ненуклеофильные буферные соли, пригодные для этих диапазонов pH. Типичные буферы включают фосфатный, ацетатный, триэтанолламин HCl, HEPES и MOPS буферы, которые могут содержать дополнительные компоненты, такие как циклодекстрины,

гидроксипропил- β -циклодекстрин, полиэтиленгликоли, сахарозу и соли, например, NaCl и KCl. После добавления линкера лекарственного средства формулы (V), (VI), (VII) или формулы (VIII) в раствор, содержащий восстановленные молекулы, связывающиеся с клеткой реакцию смесь инкубируют при температуре от 4 °C до 55 °C, предпочтительно при температуре от 15°C до температуры окружающей среды. За ходом реакции можно следить, измеряя уменьшение поглощения на определенной длине волны УФ-излучения, например, при 252 нм, или увеличение поглощения на определенной длине волны УФ-излучения, например, 280 нм, или другой подходящей длине волны. После завершения реакции выделение модифицированного агента, связывающегося с клеткой, можно проводить обычным способом, используя, например, гель-фильтрационную хроматографию, ионообменную хроматографию, адсорбционную хроматографию или колоночную хроматографию на силикагеле или алюминийоксиде, кристаллизацию, препаративную тонкослойную хроматографию, ионообменную хроматографию или ВЭЖХ.

Степень модификации может быть оценена путем измерения поглощения высвобождаемых нитропиридинтионовой, динитропиридиндитионовой, пиридинтионовой, карбоксиламидопиридиндитионовой и дикарбоксиламидопиридиндитионовой групп с помощью УФ-спектров. Для конъюгирования без хромофорной группы реакцию модификации или конъюгирования можно отслеживать с помощью ЖХМС, предпочтительно с помощью ВЭЖХ-ТМС, СВЭЖХ с времяпролетной квадрупольной (QTOF) масс-спектрометрией или капиллярного электрофореза–масс-спектрометрии (КЭ-МС). Сшивающие линкеры боковой цепи, описанные в данном документе, имеют разнообразные функциональные группы, которые могут реагировать с любыми связывающимися с клеткой молекулами, в частности с модифицированной связывающейся с клеткой молекулой, которая владеет подходящим заместителем. Например, модифицированные связывающиеся с клеткой молекулы, содержащие amino- или гидроксильный заместитель, могут вступать в реакцию с лекарственными средствами, содержащими сложный эфир N-гидроксисукцинимид (NHS), модифицированные связывающиеся с клеткой молекулы, содержащие тиольный заместитель, могут вступать в реакцию с лекарственными средствами, содержащими малеимидную или галогенацетильную группу. Кроме того, модифицированные связывающиеся с клеткой молекулы, содержащие карбонильный (кетонный или альдегидный) заместитель, введенный посредством белковой инженерии, ферментативной реакции или химической модификации, могут вступать в реакцию с лекарственными средствами, содержащими гидразид или алкоксиамин. Специалист в данной области техники может легко определить,

какой модифицированный линкер лекарственного средства использовать, основываясь на известной реакционной способности доступной функциональной группы на модифицированных связывающихся с клеткой молекулах.

Другие дополнительные примеры способов получения ADC приведены на Фиг. 1-32 и в примерах в описании данного патента.

ПРИМЕНЕНИЕ КОНЬЮГАТОВ АГЕНТА, СВЯЗЫВАЮЩЕГОСЯ С КЛЕТКАМИ, СО СШИТЫМИ ДИМЕРАМИ PBD.

Указанный конъюгат агент, связывающийся с клетками – сшитый димер PBD, предпочтительно, конъюгаты антитело - сшитый димер PBD (димер PBD ADC) по данному изобретению можно применять для лечения различных заболеваний или расстройств, например, характеризующихся сверхэкспрессией опухолевого антигена. Примеры состояний или гиперпролиферативных расстройств включают доброкачественные или злокачественные опухоли; лейкоз и лимфоидные злокачественные новообразования. Другие включают нейрональные, глиальные, астроцитарные, гипоталамические, железные, макрофагальные, эпителиальные, стромальные, бластоцелльные, воспалительные, ангиогенные и иммунологические, включая аутоиммунные, расстройства.

В конкретном варианте реализации изобретения конъюгаты по данному изобретению применяют в соответствии с композициями и способами по данному изобретению для лечения злокачественных новообразований. Онкологические заболевания включают, без ограничений, аденокарциномы, рак ануса, рак мочевого пузыря, опухоль головного мозга (у взрослых глиому ствола головного мозга, у детей мозжечковую астроцитому, церебральную астроцитому, эпендимому, медуллобластому, супратенториальную примитивную нейроэктодермальную и шишковидную опухоли, зрительную и гипоталамную глиому), рак молочной железы, карциноидную опухоль, рак желудочно-кишечного тракта, карциному неизвестного происхождения, рак шейки матки, рак толстой кишки, рак эндометрия, рак пищевода, рак внепеченочных желчных протоков, опухоли семейства Юинга (PNET), экстра-черепную эмбрионально-клеточную опухоль, рак глаз, внутриглазную меланому, рак желчного пузыря, рак желудка, эмбрионально-клеточную опухоль, экстрагонадальную, гестационную трофобластическую опухоль, рак головы и шеи, карциному гипоталамической области, карциному островковых клеток, рак почек (рак почечных клеток), рак гортани, лейкоз (острый лимфобластный, острый миелоидный, хронический лимфоцитарный, хронический миелогенный, волосатоклеточный), рак губ и полости рта, рак печени, рак легких (немелкоклеточный,

мелкоклеточный, лимфому (СПИД ассоциированная, центральной нервной система, Т-клеточная лимфома кожи, болезнь Ходжкина, неходжкинская болезнь, злокачественную мезотелиому, меланому, карциному клеток Меркеля, метастатический плоскоклеточный рак шеи с occultной первичной, множественной миеломой и другими плазматическими новообразованиями, грибовидный микоз, миелодиспластический синдром, миелопролиферативные нарушения, рак носоглотки, нейробластома, рак полости рта, рак ротоглотки, остеосаркома, рак яичника (эпителиальный, эмбрионально-клеточная опухоль, пограничная опухоль яичника), рак поджелудочной железы (экзокринный, карцинома островковых клеток), рак околоносовых пазух и полости носа, рак паращитовидной железы, рак полового члена, феохромоцитомный рак, рак гипофиза, новообразование клеток плазмы, рак предстательной железы, рабдомиосаркома, рак прямой кишки, рак почечных клеток (рак почек), рак почечной лоханки и мочеточника (переходноклеточный), рак слюнных желез, синдром Сезари, рак кожи, рак кожи (кожная Т-клеточная лимфома, саркома Капоши, меланома), рак тонкой кишки, саркому мягких тканей, рак желудка, рак яичка, тимому (злокачественную), рак щитовидной железы, рак уретры, рак матки (саркома), необычный детский рак, рак влагалища, рак вульвы, опухоль Вильмса.

В другом конкретном варианте реализации изобретения соединения и конъюгаты по данному изобретению применяют в соответствии с композициями и способами по данному изобретению для лечения или предупреждения аутоиммунного заболевания. Аутоиммунные заболевания включают в себя, без ограничений, ахлоргидрию при аутоиммунном активном хроническом гепатите, острый рассеянный энцефаломиелит, острый геморрагический лейкоэнцефалит, болезнь Аддисона, агаммаглобулинемию, гнездную алопецию, боковой амиотрофический склероз, анкилозирующий спондилит, анти-GBM/TBM нефрит, антифосфолипидный синдром, антисинтетазный синдром, артрит, atopическую аллергию, atopический дерматит, аутоиммунную апластическую анемию, аутоиммунную кардиомиопатию, аутоиммунную гемолитическую анемию, аутоиммунный гепатит, аутоиммунное заболевание внутреннего уха, аутоиммунный лимфопролиферативный синдром, аутоиммунную периферическую невропатию, аутоиммунные панкреатиты, аутоиммунные полиэндокринные синдромы типов I, II и III, аутоиммунный прогестероновый дерматит, аутоиммунную тромбоцитопеническую пурпуру, аутоиммунный увеит, болезнь Бало/концентрический склероз Бало, синдром Бечетса, болезнь Бергера, энцефалит Бикерстаффа, синдром Блау, буллезный пемфигоид, болезнь Каслмана, болезнь Чага, синдром хронической усталости и иммунной дисфункции, хроническую воспалительную демиелинизирующую полиневропатию, хронический

рецидивирующий мультифокальный остеомиелит, хроническую болезнь Лайма, хроническую обструктивную болезнь легких, синдром Шурга — Штрауса, рубцовую пемфигоидную болезнь, глютенную болезнь, синдром Когана, холодную агглютининовую болезнь, дефицит компонента комплемента 2, височный артериит, CREST-синдром, болезнь Крона (тип идиопатических воспалительных заболеваний кишечника), синдром Кушинга, кожный лейкоцитокластический ангиит, болезнь Дего, болезнь Деркума, герпетиформный дерматит, дерматомиозит, сахарный диабет 1-го типа, диффузный кожный системный склероз, синдром Дрессера, дискоидную красную волчанку, экзему, эндометриоз, артрит, связанный с энтезитом, эозинофильный фасцит, приобретённый буллезный эпидермолиз, узловатую эритему, эссенциальную смешанную криоглобулинемию, синдром Эвана, прогрессирующую оссифицирующую фибродисплазию, фибромиалгию, фибромиозит, фиброзирующий альвеолит, гастрит, гастроинтестинальный пемфигоид, гигантоклеточный артериит, гломерулонефрит, синдром Гудпасчера, болезнь Грейвса, синдром Гийена — Барре, энцефалит Хашимото, тиреоидит Хашимото, гемолитическую анемию, пурпуру Шенлейна — Геноха, гестационный герпес, гнойный гидраденит, синдром Хьюза (см. антифосфолипидный синдром), гипогаммаглобулинемию, идиопатические воспалительные демиелинизирующие болезни, идиопатический легочный фиброз, идиопатическую тромбоцитопеническую пурпура (см. аутоиммунная тромбоцитопеническая пурпура), IgA нефропатию (также болезнь Бергера), миозит включающего тела, воспалительную демиелинизирующую полинеопатию, интерстициальный цистит, синдром раздраженного кишечника, ювенильный идиопатический артрит, ювенильный ревматоидный артрит, болезнь Кавасаки, миастенический синдром Ламберта — Итона, лейкоцитокластический васкулит, красный плоский лишай, склеротический лишай, болезнь линейного IgA (LAD), болезнь Лу Герига (также боковой амиотрофический склероз), люпоидный гепатит, красную волчанку, синдром Мажида, болезнь Менъэ, микроскопический полиангиит, синдром Миллера — Фишера, смешанную болезнь соединительной ткани, морфею, болезнь Муха — Хабермана, синдром Макла — Уэллса, множественную миелому, рассеянный склероз, миастения гравис, миозит, нарколепсию, невромиелит зрительный (болезнь Девика), нейромиотонию, глазной рубцующийся пемфигоид, опсомиоклональный синдром, атрофическую форму аутоиммунного тиреоидита, палиндромный ревматизм, PANDAS (педиатрические аутоиммунные психоневрологические расстройства, связанные со стрептококком), паранеопластическую мозжечковую дегенерацию, пароксизмальную ночную гемоглобинурию, синдром Парри

Ромберга, синдром Парсоннажа — Тернера, парспланит, пемфигус, обычный пемфигус, злокачественную анемию, околовенозный энцефаломиелит, синдром POEMS, узелковый полиартериит, ревматическая полимиалгия, полимиозит, первичный билиарный цирроз печени, первичный склерозирующий холангит, прогрессирующую воспалительную невропатию, псориаз, псориатический артрит, гангренозную пиодермию, истинную эритроцитарную аплазию, энцефалит Расмунсена, феномен Рэйнада, рецидивирующий полихондрит, синдром Рейтера, синдром беспокойных ног, фиброзный периуретерит, ревматоидный артрит, ревматоидную лихорадка, саркоидоз, шизофрению, синдром Шмидта, синдром Шницлера, склерит, склеродермию, синдром Шегрена, спондилоартропатию, синдром липкой крови, синдром Стилла, синдром скованного человека, подострый бактериальный инфекционный эндокардит, синдром Сусака, синдром Свита, болезнь Сиденгама, симпатическую офтальмию, артериит Такаясу, височный артериит (гигантоклеточный артериит), синдром Толоза — Ханта, поперечный миелит, язвенный колит (тип идиопатических воспалительных заболеваний кишечника), недифференцированную болезнь соединительной ткани, недифференцированную спондилоартропатию, васкулит, витилиго, гранулематоз Вегенера, синдром Вильсона, синдром Вискотта — Олдрича.

В другом конкретном варианте осуществления связывающая молекула, используемая для конъюгата по настоящему изобретению для лечения или профилактики аутоиммунного заболевания, содержит, без ограничений, антиэластиновое антитело; антитело против антител к эпителиальным клеткам; белковое антитело к базальному мембранному коллагену типа IV; антиядерное антитело; антитело к двуспиральной нативной ДНК; антитело к односпиральной нативной ДНК, анти-кардиолипиновое антитело IgM, IgG; анти-целиаковое антитело; анти-фосфолипидное антитело IgK, IgG; анти-SM антитело; анти-митохондриальное антитело; анти-тироидное антитело; микросомальное антитело, антитело Т-клеток; анти-тиреоглобулиновое антитело; анти-SCL-70; анти-Jo; анти-U.sub.1RNP; анти-La/SSB; анти-SSA; анти-SSB; антитело к перитальным клеткам; анти-гистоновое антитело; анти-RNP; C-ANCA; P-ANCA; анти-центромерное антитело; анти-фибрилларин и анти-GBM антитело, анти-ганглиозидное антитело; анти-десмогеин 3 антитело; анти-p62 антитело; анти-sp100 антитело; анти-митохондриальное (M2) антитело; анти-ревматоидный фактор антитело; анти-MCV антитело; анти-топоизомераза антитело; анти-нейтрофил цитоплазматическое (cANCA) антитело.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления связывающая молекула для конъюгата по настоящему изобретению может связываться как с рецептором, так и с

рецепторным комплексом, экспрессируемым на поверхности активированного лимфоцита, который ассоциируется с аутоиммунным заболеванием. Рецептор или рецепторный комплекс может содержать член суперсемейства генов иммуноглобулинов (например, CD2, CD3, CD4, CD8, CD19, CD20, CD22, CD28, CD30, CD33, CD37, CD38, CD56, CD79, CD79b, CD90, CD152/CTLA-4, PD-1 или ICOS), член суперсемейства рецепторов TNF (например, CD27, CD40, CD95/Fas, CD134/OX40, CD137/4-1BB, INF-R1, TNFR-2, RANK, TACI, BCMA, остеопротегерин, Apo2/TRAIL-R1, TRAIL-R2, TRAIL-R3, TRAIL-R4 и APO-3), интегрин, рецептор цитокинов, рецептор хемокинов, главный белок гистосовместимости, лектин (C-тип, S-тип или I-тип) или контрольный белок комплемента.

В другом конкретном варианте реализации изобретения пригодные связывающие лиганды, которые являются иммуноспецифичными для вирусного или микробного антигена, представляют собой гуманизированные или моноклональные антитела человека. Используемый в данном документе термин «вирусный антиген» включает в себя, без ограничений, любой вирусный пептид, полипептидный белок (например, ВИЧ gp120, ВИЧ-nef, гликопротеин RSV F, нейраминидазу вируса гриппа, гемагглютинин вируса гриппа, HTLV tax, гликопротеин вируса простого герпеса (например, gB, gC, gD и gE) и поверхностный антиген гепатита В), способный вызывать иммунный ответ. Используемый в данном документе термин «микробный антиген» включает, без ограничений, любой микробный пептид, полипептид, белок, сахарид, полисахарид или молекулу липида (например, полипептиды бактерий, грибов, патогенных простейших или дрожжей, включая, например, LPS и капсульный полисахарид 5/8), который способен вызывать иммунный ответ. Примеры антител, доступных для лечения вирусной или микробной инфекции, включают, без ограничений, паливизумаб, который представляет собой гуманизированное моноклональное антитело против респираторного синцитиального вируса для лечения инфекции RSV; PRO542, который представляет собой слитое антитело CD4 для лечения ВИЧ-инфекции; оставир, который представляет собой антитело человека для лечения вируса гепатита В; ПРОТВИР, который представляет собой гуманизированное антитело IgG 1 для лечения цитомегаловируса; и анти-LPS антитела.

Конъюгаты связывающихся молекул–цитотоксического агента по данному изобретению можно применять в лечении инфекционных заболеваний. Данные инфекционные заболевания включают, без ограничений, инфекции *Acinetobacter*, актиномикоз, африканскую сонную болезнь (африканский трипаносомоз), СПИД (синдром приобретенного иммунодефицита), амебиаз, анаплазмоз, сибирскую язву, инфекцию *Arcano-bacterium haemolyticum*, аргентинскую геморрагическую лихорадку, аскаридоз,

аспергиллез, астровирусную инфекцию, бабезиоз, инфекцию *Bacillus cereus*, бактериальную пневмонию, бактериальный вагиноз, бактероидную инфекцию, балантидиаз, инфекцию байлисаскарис, БК-вирусную инфекцию, черную пьедру, бластоцистную гуманистическую инфекцию, бластомикоз, боливианскую геморрагическую лихорадку, боррелиоз, ботулизм (и детский ботулизм), бразильскую геморрагическую лихорадку, бруцеллез, инфекцию *Burkholderia*, язву Бурули, калицивирусную инфекцию (норовирус и саповирус), кампилобактериоз, кандидоз (монилиаз; молочница), болезнь кошачьих царапин, целлюлит, болезнь Шагаса (американский трипаносомоз), шанкроид, ветряную оспу, хламидию, инфекцию *Chlamydomphila pneumoniae*, холеру, хромобластомикоз, клонорхоз, инфекцию *Clostridium difficile*, коксидиодомикоз, американскую горную клещевую лихорадку, простуду (острый вирусный ринофарингит; острый насморк), болезнь Крейцфельда -Якоба, конго-крымскую геморрагическую лихорадку, криптококкоз, криптоспоридиоз, кожные мигрирующие личинки, циклоспориаз, цистикеркоз, цитомегаловирусную инфекцию, лихорадку Денге, диентамебиаз, дифтерию, диффилобосриаз, дракункулиаз, геморрагическую лихорадку Эбола, экинококкоз, эрлихиоз, энтеробиоз (остричная инфекция), энтерококковую инфекцию, энтеровирусную инфекцию, эпидемический тиф, инфекционную эритему (пятую болезнь), внезапную экзантему, фасциолопсияз, фасциолоз, фатальную семейную бессонницу, филариаз, пищевое отравление *Clostridium perfringens*, свободно живущую амебную инфекцию, инфекцию *Fusobacterium*, газовую гангрену (*Clostridial myonecrosis*), геотрихоз, синдром Герстманна — Штройссlera — Шейнкера, гиардиаз, сап, гнатостомиаз, гонорею, паховую гранулему (донованоз), стрептококковую инфекцию группы А, стрептококковую инфекцию группы В, гемофилическую инфекцию, энтеровирусный везикулярный стоматит (HFMD), хантавирусный легочный синдром, инфекцию *Helicobacter pylori*, гемолитико-уремический синдром, геморрагическую лихорадку с почечным синдромом, гепатит А, гепатит В, гепатит С, гепатит D, гепатит Е, простой герпес, гистоплазмоз, анкилостомную инфекцию, бокавирусную инфекцию человека, эрлихиоз человека, гранулоцитный анаплазмоз человека, метапневмовирусную инфекцию, моноцитарный эрлихиоз человека, папилломавирусную инфекцию человека, вирусную парагриппозную инфекцию человека, гименолепаз, инфекционный мононуклеоз (моно), вызванный вирусом Эпштейна — Барр, грипп, изоспориаз, болезнь Кавасаки, кератит, инфекцию *Kingella kingae*, куру, лихорадку Ласса, легионеллез (болезнь легионеров), легионеллез (лихорадка Понтиак), лейшманиоз, проказу, лептоспироз, листериоз, болезнь Лайма (боррелиоз Лайма), лимфатический филяриоз (слоновая

болезнь), лимфоцитарный хориоменингит, малярию, марбургскую геморрагическую лихорадку, корь, мелиодоз (болезнь Уитмора), менингит, менингококковую болезнь, метагонимоз, микроспоририоз, контагиозный моллюск, паротит, мышинный тиф (эндемический тиф), микоплазменную пневмонию, мицетому, миаз, неонатальный конъюнктивит (офтальмия новорожденного), (новый) вариант болезни Крейтцфельда — Якоба (vCJD, nvCJD), нокардиоз, онхоцеркоз (речная слепота), паракoccидиоидоз (южноамериканский бластомикоз), парагонимоз, пастереллез, *Pediculosis capitis* (головные вши), *Pediculosis corporis* (вши тела), *Pediculosis pubis* (лобковые вши, крабовые вши), воспаление тазовых органов, коклюш, чуму, пневмококковую инфекцию, пневмоцистную пневмонию, пневмонию, полиомиелит, инфекцию *Prevotella*, первичный амебный менингоэнцефалит, прогрессирующую многоочаговую лейкоэнцефалопатию, пситтакоз, лихорадку Q, бешенство, лихорадку от крысиного укуса, респираторно-синцитиальную вирусную инфекцию, риноспоририоз, риновирусную инфекцию, риккетсиозную инфекцию, риккетсиозную осру, лихорадку долины Рифт, пятнистую лихорадку Скалистых гор, ротавирусную инфекцию, краснуху, сальмонеллез, ОРВИ (острый респираторный синдром), чесотку, шистосомоз, сепсис, шигеллез (бациллярная дизентерия), опоясывающий лишай (*Herpes zoster*), натуральную оспу (*Variola*), споротрихоз, стафилококковое пищевое отравление, стафилококковую инфекцию, стронгилоидоз, сифилис, тениоз, столбняк, дерматомикоз бороды и усов (псевдофолликулит волос бороды), грибковое поражение волосистой части (дерматомикоз волосистой части головы), дерматомикоз гладкой кожи (стригущий лишай тела), паховый дерматомикоз (паховый зуд), опоясывающий лишай (стригущий лишай рук), чёрный лишай, грибковое заболевание ног (стопа спортсмена), дерматофитный онихомикоз (онихомикоз), отрубевидный лишай (*Pityriasis versicolor*), токсокароз (глазные мигрирующие личинки), токсокароз (висцеральные мигрирующие личинки), токсоплазмоз, трихинеллез, трихомониаз, трихуроз (власоглав), туберкулез, туляремия, инфекцию *Ureaplasma urealyticum*, венесуэльский лошадиный энцефалит, венесуэльскую геморрагическую лихорадку, вирусную пневмонию, лихорадку Западного Нила, белую пьедра (*Tinea blanca*), псевдотуберкулезную инфекцию *Yersinia*, иерсиниоз, желтую лихорадку, зигомикоз.

Связывающиеся с клетками молекулы, которые являются более предпочтительными в качестве описанных в данном патенте антител к патогенным штаммам, включают, без ограничений, антитела к *Acinetobacter baumannii*, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces gerencseriae* и *Propionibacterium propionicus*, *Trypanosoma brucei*, ВИЧ (вирус иммунодефицита человека), *Entamoeba histolytica*, *Anaplasma genus*, *Bacillus anthracis*,

Arcanobacterium haemolyticum, вирус Junin, *Ascaris lumbricoides*, *Aspergillus* genus, семейство *Astroviridae*, *BabЭСИа* genus, *Bacillus cereus*, разнообразные бактерии, *Bacteroides* genus, *Balantidium coli*, *Baylisascaris* genus, ВК вирус, *Piedraia hortae*, *Blastocystis hominis*, *Blastomyces dermatitides*, Machupo вирус, *Borrelia* genus, *Clostridium botulinum*, *Sabia*, *Brucella* genus, обычно *Burkholderia cepacia* и другие виды *Burkholderia*, *Mycobacterium ulcerans*, семейство *Caliciviridae*, *Campylobacter* genus, обычно *Candida albicans* и другие виды *Candida*, *Bartonella henselae*, группа А *Streptococcus* и *Staphylococcus*, *Trypanosoma cruzi*, *Haemophilus ducreyi*, *Varicella zoster* вирус (VZV), *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Vibrio cholerae*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Clonorchis sinensis*, *Clostridium difficile*, *Coccidioides immitis* и *Coccidioides posadasii*, вирус колорадской клещевой лихорадки, риновирусы, коронавирусы, CJD прион, вирус конго-крымской геморрагической лихорадки, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptosporidium* genus, *Ancylostoma braziliense*; разнообразные паразиты, *Cyclospora cayetanensis*, *Taenia solium*, *Cytomegalovirus*, *Dengue viruses* (DEN-1, DEN-2, DEN-3 и DEN-4) – флавивирусы, *Dientamoeba fragilis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Diphyllobothrium*, *Dracunculus medinensis*, эболавирус, род *Echinococcus*, род *Ehrlichia*, *Enterobius vermicularis*, род *Enterococcus*, род *Enterovirus*, *Rickettsia prowazekii*, парвовирус B19, герпесвирус человека 6 и герпесвирус человека 7, *Fasciolopsis buski*, *Fasciola hepatica* и *Fasciola gigantica*, FFI прион, *Filarioidea* суперсемейство, *Clostridium perfringens*, *Fusobacterium* genus, *Clostridium perfringens*; другие виды *Clostridium*, *Geotrichum candidum*, GSS прион, *Giardia intestinalis*, *Burkholderia mallei*, *Gnathostoma spinigerum* и *Gnathostoma hispidum*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Klebsiella granulomatis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Haemophilus influenzae*, энтеровирусы, в основном вирус коксаки А и энтеровирус 71, вирус Sin Nombre, *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli* O157:H7, семейство *Bunyaviridae*, вирус гепатита А, вирус гепатита В, вирус гепатита С, вирус гепатита D, вирус гепатита Е, вирус простого герпеса 1, вирус простого герпеса 2, *Histoplasma capsulatum*, *Ancylostoma duodenale* и *Necator americanus*, *Haemophilus influenzae*, бокавирус человека, *Ehrlichia ewingii*, *Anaplasma phagocytophilum*, метапневмовирус человека, *Ehrlichia chaffeensis*, вирус папилломы человека, вирус параинfluenцы человека, *Hymenolepis nana* и *Hymenolepis diminuta*, вирус Эпштейна-Барр, семейство *Orthomyxoviridae*, *Isospora belli*, *Kingella kingae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenas*, *Klebsiella rhinoscleromatis*, прион Kuru, вирус Lassa, *Legionella pneumophila*, *Legionella pneumophila*, *Leishmania* genus, *Mycobacterium leprae* и *Mycobacterium lepromatosis*, *Leptospira* genus, *Listeria monocytogenes*, *Borrelia burgdorferi* и другие виды *Borrelia*, *Wuchereria bancrofti* и *Brugia malayi*, вирус лимфоцитарного

хориоменингита (LCMV), *Plasmodium* genus, мабурьский вирус, вирус кори, *Burkholderia pseudomallei*, *Neisseria meningitidis*, *Metagonimus yokagawai*, *Microsporidia* phylum, вирус контагиозного моллюска (MCV), вирус паротита, *Rickettsia typhi*, *Mycoplasma pneumoniae*, разнообразные представители бактерий (*Actinomycetoma*) и грибов (*Eumycetoma*), паразитарные личинки двухкрылых насекомых, *Chlamydia trachomatis* и *Neisseria gonorrhoeae*, прион vCJD, *Nocardia asteroides* и другие виды *Nocardia*, *Onchocerca volvulus*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Paragonimus westermani* и другие виды *Paragonimus*, *Pasteurella* genus, *Pediculus humanus capitis*, *Pediculus humanus corporis*, *Phthirus pubis*, *Bordetella pertussis*, *Yersinia pestis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pneumocystis jirovecii*, полиовирус, *Prevotella* genus, *Naegleria fowleri*, вирус JC, *Chlamydia psittaci*, *Coxiella burnetii*, вирус бешенства, *Streptobacillus moniliformis* и *Spirillum minus*, респираторно-синцитиальный вирус, *Rhinosporidium seeberi*, риновирус, *Rickettsia* genus, *Rickettsia akari*, вирус лихорадки долины Рифт, *Rickettsia rickettsii*, ротавирус, вирус коревой краснухи, *Salmonella* genus, коронавирус SARS, *Sarcoptes scabiei*, *Schistosoma* genus, *Shigella* genus, вирус ветряной оспы, *Variola major* или *Variola minor*, *Sporothrix schenckii*, *Staphylococcus* genus, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Strongyloides stercoralis*, *Treponema pallidum*, *Taenia* genus, *Clostridium tetani*, *Trichophyton* genus, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton* genus, *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton rubrum*, и *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Hortaea werneckii*, *Trichophyton* genus, *Malassezia* genus, *Toxocara canis* или *Toxocara cati*, *Toxoplasma gondii*, *Trichinella spiralis*, *Trichomonas vaginalis*, *Trichuris trichiura*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Francisella tularensis*, *Ureaplasma urealyticum*, вирус венесуэльского энцефалита лошадей, *Vibrio cholerae*, вирус Гуанарито, вирус западного Нила, *Trichosporon beigeli*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia enterocolitica*, вирус желтой лихорадки, *Mucorales* order (*Mucormycosis*) и *Entomophthorales* order (*Entomophthora-mycosis*), *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter* (*Vibrio*) *fetus*, *Aeromonas hydrophila*, *Edwardsiella tarda*, *Yersinia pestis*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhimurium*, *Treponema pertense*, *Treponema caratense*, *Borrelia vincentii*, *Borrelia burgdorferi*, *Leptospira icterohemorrhagiae*, *Pneumocystis carinii*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella melitensis*, *Mycoplasma* spp., *Rickettsia prowazeki*, *Rickettsia tsutsugumushi*, *Chlamydia* spp.; патогенные грибки (*Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Histoplasma capsulatum*); простейшие (*Entamoeba histolytica*, *Trichomonas tenax*, *Trichomonas hominis*, *Trypanosoma gambiense*, *Trypanosoma rhodesiense*, *Leishmania donovani*, *Leishmania tropica*, *Leishmania braziliensis*, *Pneumocystis pneumonia*, *Plasmodium*

vivax, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*); или гельминты (*Schistosoma japonicum*, *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma haematobium*, и анкилостомы).

Другие антитела в качестве связующего лиганда по данному изобретению для лечения вирусных заболеваний включают, но не ограничиваются ими, антитела против антигенов патогенных вирусов, включающих, в качестве примеров, а не ограничения: *Poxviridae*, *Herpesviridae*, *Adenoviridae*, *Papovaviridae*, *Enteroviridae*, *Picornaviridae*, *Parvoviridae*, *Reoviridae*, *Retroviridae*, вирусы гриппа, вирусы парагриппа, паротита, кори, респираторно-синцитиальный вирус, вирус коревой краснухи, *Arboviridae*, *Rhabdoviridae*, *Arenaviridae*, не-A/не-B вирус гепатита, *Rhinoviridae*, *Coronaviridae*, *Rotoviridae*, онковирус [такой как, HBV (гепатоцеллюлярная карцинома), HPV (рак шейки матки, рак ануса), ассоциированный с саркомой Капоши герпесвирус (саркома Капоши), вирус Эпштейна-Барр (назофарингеальная карцинома, лимфома Беркитта, первичная лимфома центральной нервной системы), MCPyV (рак клеток Меркеля), SV40 (вирус обезьян 40), HCV (гепатоцеллюлярная карцинома), HTLV-I (Т-клеточный лейкоз/лимфома взрослых)], иммунные расстройства вызванные вирусом: [таким как вирус иммунодефицита человека (СПИД)]; вирус, поражающий центральную нервную систему: [такой как JCV (прогрессирующая мультифокальная лейкоэнцефалопатия), MeV (подострый склерозирующий лейкоэнцефалит), LCV (лимфоцитарный хориоменингит), *Arbovirus encephalitis*, *Orthomyxoviridae* (возможно) (*Encephalitis lethargica*), RV (бешенство), вирус *Chandipura*, герпесвирусный менингит, синдром Рамсея-Ханта тип II; полиовирус (полиомиелит, пост-полио синдром), HTLV-I (тропический спастический парапарез)]; цитомегаловирус (*Cytomegalovirus retinitis*, HSV (герпетический кератит)); кардиоваскулярный вирус [такой как CBV (перикардит, миокардит)]; респираторная системная/острая вирусная назофарингальная/вирусная пневмония: [вирус Эпштейна-Барр (инфекция EBV/инфекционный мононуклеоз), цитомегаловирус; SARS коронавирус (тяжелый острый респираторный синдром) ортомиксовирусы: вирус гриппа A/B/C (грипп/птичий грипп), парамиксовирус: Вирусы парагриппа человека (Парагрипп), РСВ (респираторно-синцитиальный вирус человека), hMPV]; Вирус пищеварительной системы [MuV (Паротит), Цитомегаловирус (*Cytomegalovirus esophagitis*); Аденовирус (аденовирусная инфекция); Ротавирус, Норовирус, Астровирус, Коронавирус; ВГВ (вирус гепатита В), CBV, HAV (вирус гепатита А), ВГС (вирус гепатита С), ВГД (вирус гепатита D), ВГЕ (вирус гепатита Е), ВГГ (вирус гепатита G)]; Урогенитальный вирус [такой как, вирус ВК, MuV (Паротит)].

СОСТАВЛЕНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ КОНЬЮГАТОВ.

Конъюгаты по заявке на патент составляются в жидком виде или пригодны для лиофилизации, и впоследствии восстанавливаются до жидкой композиции. Жидкий состав, содержащий концентрацию 0,1 г/л ~ 300 г/л конъюгата по данной заявке на патент в качестве активного ингредиента для доставки пациенту без высоких уровней агрегации антител может содержать один или более из полиолов (например, сахаров), буферного агента с pH от 4,5 до 7,5, поверхностно-активного вещества (например полисорбата 20 или 80), антиоксиданта (например, аскорбиновой кислоты и/или метионина), изотонического агента (например, маннита, сорбита или NaCl), хелатирующих агентов, таких как ЭДТА; комплексов металлов (например, белковых комплексов Zn); биоразлагаемых полимеров, таких как полиэфиры; консерванта (например, бензилового спирта) и/или свободной аминокислоты.

В предпочтительном варианте реализации изобретения клиническое применение *in vivo* конъюгата по данному изобретению будет осуществляться в виде раствора или в виде лиофилизированного твердого вещества (такого как порошок), которое может быть восстановлено в стерильной воде для инъекций. Содержание конъюгата в жидкой композиции или в составе лиофилизированного порошке может составлять от 0,01 до 99% масс. в качестве основного ингредиента в композиции. Остальную часть указанного состава составляют вспомогательные вещества, которые состоят из одного или более из следующих соединений: 0,5%~25% буферных реагентов, 0%~20% полиолов, 0%~2,0% поверхностно-активных веществ, 0%~5% консервантов, 0%~30% аминокислот или массивных соединений, 0%~5% антиоксидантов, 0%~0,3% хелатирующих агентов.

Пригодные буферные агенты для применения в указанных составах включают, но не ограничиваясь ими, соли органических кислот, такие как соли лимонной кислоты, аскорбиновой кислоты, глюконовой кислоты, угольной кислоты, винной кислоты, янтарной кислоты, уксусной кислоты или фталевой кислоты; Трис, трометамин (трис(гидроксиметил)аминометан) гидрохлорид, или фосфатный буфер. Кроме того, в качестве буферного агента также можно применять аминокислотные компоненты. Такой аминокислотный компонент включает без ограничения аргинин, глицин, глицилглицин и гистидин. Аргининовые буферы представляют собой буферы включающие ацетат аргинина, хлорид аргинина, фосфат аргинина, сульфат аргинина, сукцинат аргинина и т.д. В некоторых вариантах осуществления аргининовый буфер включает ацетат аргинина. Примеры гистидиновых буферов включают гистидин хлорид-аргинин хлорид, гистидин ацетат-аргинин ацетат, гистидин фосфат-аргинин фосфат, гистидин сульфат-аргинин

сульфат, гистидин сукцинат-аргинин сукцинат и т. д. Композиции буферов имеют pH от 4,5 до 7,5, предпочтительно от около 4,5 до около 6,5, более предпочтительно от около 5,0 до около 6,2. В некоторых вариантах осуществления концентрация солей органических кислот в буфере составляет от около 10 мМ до около 500 мМ.

«Полиол», который необязательно может быть включен в состав, представляет собой вещество с несколькими гидроксильными группами. Полиолы могут быть использованы в качестве стабилизирующих наполнителей и/или агентов изотоничности как в жидких, так и в лиофилизированных составах. Полиолы могут защищать биофармацевтические препараты как от физического, так и от химического разложения. Преимущественно исключенные сорастворители увеличивают эффективное поверхностное натяжение растворителя на границе раздела белков, благодаря чему наиболее энергетически выгодные структурные конформации представляют собой структуры с наименьшей площадью поверхности. Полиолы включают сахара (восстанавливающие и невосстанавливающие сахара), сахарные спирты и сахарные кислоты. «Восстанавливающий сахар» представляет собой такой спирт, который содержит гемиацетальную группу, которая может восстанавливать ионы металлов или ковалентно реагировать с лизином и другими аминокислотами в белках, а «невосстанавливающий сахар» представляет собой такой, который не обладает этими свойствами восстанавливающего сахара. Примерами восстанавливающих сахаров являются фруктоза, манноза, мальтоза, лактоза, арабиноза, ксилоза, рибоза, рамноза, галактоза и глюкоза. Невосстанавливающие сахара включают сахарозу, трегалозу, сорбозу, мелезитозу и рафинозу. Сахарные спирты выбраны из маннита, ксилита, эритрита, мальтита, лактита, эритрита, тритола, сорбита и глицерина. Сахарные кислоты включают L-глюконат и его соли металлов. Предпочтительно невосстанавливающий сахар: сахароза или трегалоза в концентрации около от 0,01% до 15% выбирается в составе, где трегалоза предпочтительнее сахарозы из-за стабильности раствора трегалозы.

Поверхностно-активное вещество, необязательное в композициях, выбирают из полисорбата (полисорбат 20, полисорбат 40, полисорбат 65, полисорбат 80, полисорбат 81, полисорбат 85 и тому подобное); полксамер (например, полксамер 188, поли(этиленоксид)-поли(пропиленоксид), полксамер 407 или полиэтилен-полипропиленгликоль и тому подобное); Triton; додецилсульфат натрия (ДСН); лаурилсульфат натрия; октилглюкозид натрия; лаурил-, миристил-, линолеил- или стеарилсульфобетаин; лаурил-, миристил-, линолеил- или стеарил-саркозин; линолеил-, миристил- или цетил-бетаин; лауроамидопропил-, кокамидопропил-, линолеамидопропил-

, миристамидопропил-, пальмидопропил- или изостеарамидопропилбетаин (например, лауроамидопропил); миристамидопропил-, пальмидопропил- или изостеарамидопропилдиметиламин; метилкокоил- или динатрийметилолеилтаурат натрия; додецилбетаин, додецилдиметиламинооксид, кокамидопропилбетаин и кокоамфо глицинат; и серии MONAQUATTM (например, изостеарилэтилимидония этосульфат); полиэтиленгликоль, полипропилгликоль и сополимеры этилена и пропиленгликоля (например, Pluronic, PF68 и т. д.); и т.п. Предпочтительными поверхностно-активными веществами являются сложные эфиры полиоксиэтиленсорбитана и жирных кислот, например полисорбат 20, 40, 60 или 80 (Твин 20, 40, 60 или 80). Концентрация поверхностно-активного вещества находится в диапазоне от 0,0001% до около 1,0%. В определенных вариантах осуществления концентрация поверхностно-активного вещества составляет от около 0,01% до около 0,1%. В одном варианте концентрация поверхностно-активного вещества составляет около 0,02%.

«Консервант», необязательный в композициях, представляет собой соединение, которое существенно снижает бактериальное действие. Примеры потенциальных консервантов включают в себя хлорид октадецилдиметилбензиламмония, хлорид гексаметония, хлорид бензалкония (смесь хлоридов алкилбензилдиметиламмония, в которой алкильные группы представляют собой длинноцепные соединения) и хлорид бензетония. Другие типы консервантов включают ароматические спирты, такие как фенол, бутил и бензиловый спирт, алкилпарабены, такие как метил или пропилпарабен, катехол, резорцин, циклогексанол, 3-пентанол и м-крезол. Консервант составляет менее 5% указанного состава. Предпочтительно, от 0,01% до 1%. В одном варианте осуществления консервант в данном документе представляет собой бензиловый спирт.

Пригодные необязательные свободные аминокислоты для применения в указанном составе представляют собой, но не ограничиваясь ими, аргинин, лизин, гистидин, орнитин, изолейцин, лейцин, аланин, глицин, глутаминовую кислоту или аспарагиновую кислоту. Включение основной аминокислоты, то есть аргинина, лизина и/или гистидина, является предпочтительным. Если композиция включает гистидин, то он может действовать как в качестве буферного агента, так и в качестве свободной аминокислоты, но когда используется буфер гистидина, он обычно включает в себя свободную негистидиновую аминокислоту, например, гистидиновый буфер и лизин. Аминокислота может присутствовать в своей D- и/или L-форме, но L-форма является типичной. Аминокислота может присутствовать в виде любой подходящей соли, например, гидрохлоридной соли,

такой как аргинин-HCl. Концентрация аминокислоты находится в диапазоне от 0,0001 до около 15,0%. Предпочтительно, от 0,01% до 5%.

Указанные составы могут необязательно содержать метионин или аскорбиновую кислоту в качестве антиоксиданта при концентрации от около 0,01 мг/мл до 5 мг/мл; Указанные составы могут необязательно содержать хелатирующий агент, например, ЭДТА, ЭГТА и т. д., при концентрации от 0,01 мМ до 2 мМ.

Окончательный состав может быть доведен до предпочтительного pH регулирующим агентом (например кислотой, такой как HCl, H₂SO₄, уксусная кислота, H₃PO₄, лимонная кислота и т. п., или основанием, таким как NaOH, KOH, NH₄OH, этаноламин, диэтанолламин или триэтанолламин, фосфат натрия, фосфат калия, цитрат натрия, трометамин и т. п.) и указанный состав должен являться «изотоническим», что подразумевает, что состав, представляющий интерес, имеет по существу одинаковое осмотическое давление с кровью человека. Изотонические составы будут в общем иметь осмотическое давление от около 250 до 350 мОсм. Изотоничность может быть измерена с использованием осмометра давления паров или замерзания, например.

Другие вспомогательные вещества, которые могут быть использованы в жидком или лиофилизированном составе согласно заявке на патент, включают, например, фукозу, целлобиозу, мальтотриозу, мелибиозу, октулозу, рибозу, ксилит, аргинин, гистидин, глицин, аланин, метионин, глутаминовую кислоту, лизин, имидазол, глицилглицин, маннозилглицерат, тритон X-100, плуроник F-127, целлюлозу, циклодекстрин, декстран (10, 40 и/или 70 кДа), полидекстрозу, мальтодекстрин, фиколл, желатин, гидроксипропилметил, фосфат натрия, фосфат калия, ZnCl₂, цинк, оксид цинка, цитрат натрия, тринатрийцитрат, трометамин, медь, фибронектин, гепарин, человеческий сывороточный альбумин, протамин, глицерин, ЭДТА, метакрезол, бензиловый спирт, фенол, многоатомные спирты или многоатомные спирты, гидрированные формы углеводов с карбонильной группой, восстановленной до первичной или вторичной гидроксильной группы.

Другие предполагаемые вспомогательные вещества, которые могут быть использованы в водных фармацевтических композициях, согласно заявке на патент, включают, например, ароматизаторы, антимикробные агенты, подсластители, антиоксиданты, антистатики, липиды, такие как фосфолипиды или жирные кислоты, стероиды, такие как холестерин, белковые вспомогательные вещества, такие как сывороточный альбумин (человеческий сывороточный альбумин), рекомбинантный человеческий альбумин, желатин, казеин, солеобразующие противоионы, такие как натрий

и тому подобное. Эти и дополнительные известные фармацевтические вспомогательные вещества и/или добавки, подходящие для использования в составах согласно настоящего изобретения, известны в данной области техники, например, как указано в *The Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 4th edition, Rowe et al., Eds., American Pharmaceuticals Association (2003); and *Remington: the Science and Practice of Pharmacy*, 21th edition, Gennaro, Ed., Lippincott Williams & Wilkins (2005).

В целях уменьшения боли пациента во время инъекции состава можно использовать местный анальгетический агент, вместе или перед инъекцией состава. Обычно используемые анальгетики: бензиловый спирт (0,01%-1%), прокаин гидрохлорид (0,2%~2,0%), лидокаин гидрохлорид (0,2%~2,0%), 2-три-хлорметил-2-пропанол (0,3%~0,5%), трамадол, морфин, морфин сульфат, гидроморфон, оксикодон гидрохлорид, добутамин, габапентин, циклобензаприн, тразодон, клонидин, кодеин.

Состав конъюгатов по данной патентной заявке может быть изготовлен в виде раствора, предварительно наполненного в шприц, лиофилизированного порошка, или порошка, полученного высокоэффективной распылительной сушкой. Для удержания фармацевтического состава конъюгатов применяют фармацевтический контейнер или сосуд. Указанный сосуд представляет собой флакон, бутылку, предварительно наполненный шприц или предварительно наполненный шприц автоматического инжектора.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу приготовления состава, включающему стадии: (a) лиофилизация состава, содержащего указанные конъюгаты, вспомогательные вещества и буферную систему до порошка; и (b) восстановление лиофилизированной смеси со стадии (a) в среде восстановления, такой, что восстановленная композиция является стабильной. Состав на стадии (a) может дополнительно содержать стабилизатор и одно или более вспомогательных веществ, выбранных из группы, включающей наполнитель, соль, поверхностно-активное вещество и консервант, как описано выше. В качестве восстанавливающих сред может быть использовано несколько разбавленных органических кислот или вода, т. е. стерильная вода, бактериостатическая вода для инъекций (BWFI). Среда для восстановления может быть выбрана из воды, то есть стерильной воды, бактериостатической воды для инъекций (BWFI) или группы, состоящей из уксусной кислоты, пропионовой кислоты, янтарной кислоты, хлорида натрия, хлорида магния, кислого раствора хлорида натрия, кислого раствора хлорида магния и кислого раствора аргинина, в количестве от около 10 до около 250 mM.

Жидкий фармацевтический состав конъюгатов согласно настоящей заявке на патент должен демонстрировать множество заранее определенных характеристик. Одной из основных проблем в жидких лекарственных препаратах является стабильность, поскольку белки/антитела имеют тенденцию образовывать растворимые и нерастворимые агрегаты в процессе производства и хранения. Кроме того, в растворе могут происходить различные химические реакции (дезаминирование, окисление, ограничение, изомеризация и т. д.), приводящие к повышению уровня продуктов разложения и/или потере биологической активности. Предпочтительно, конъюгат в жидкой форме или в форме лиофилизата должен иметь срок годности более 18 месяцев при 25 °С. Более предпочтительный конъюгат в жидкой форме или в форме лиофилизата должен иметь срок годности более 24 месяцев при 25 °С. Наиболее предпочтительный жидкий состав должен демонстрировать срок годности около 24–36 месяцев при 2–8 °С, а состав лиофилизата должен демонстрировать срок годности примерно предпочтительно до 60 месяцев при 2–8 °С. Как жидкие, так и лиофилизированные составы должны демонстрировать срок годности при хранении не менее двух лет при -20 °С или -70 °С.

В некоторых вариантах осуществления состав является стабильным после замораживания (например, -20 °С или -70 °С) и оттаивания состава, например, после 1, 2 или 3 циклов замораживания и оттаивания. Стабильность может быть оценена качественно и/или количественно различными способами, включая оценку соотношения лекарственное средство/антитело (белок) и образование агрегатов (например, с использованием УФ, эксклюзионной хроматографии, путем измерения мутности и/или визуальным контролем); путем оценки неоднородности заряда с помощью катионообменной хроматографии, изоэлектрического фокусирования изображения (icIEF) или электрофореза в капиллярной зоне; анализ аминоконцевой или карбоксиконцевой последовательности; масс-спектрометрический анализ или матричная лазерная десорбционная ионизация/времяпролетная масс-спектрометрия (MALDI/TOF MS) или ВЭЖХ-ТМС; ДСН-ПААГ анализ для сравнения восстановленного и интактного антитела; анализ пептидной карты (например, триптический или LYS-C); оценка биологической активности или антигенсвязывающей функции антитела; и т. п. Нестабильность может включать в себя одно или несколько из: агрегации, дезаминирования (например, Asn дезаминирование), окисления (например, окисление Met), изомеризации (например, изомеризации Asp), отсечения/гидролиза/фрагментации (например, фрагментация шарнирной области), образования сукцинимидов, неспаренного цистеина (-ов), удлинения N-конца, обработки C-конца, различий гликозилирования, и т. п.

Стабильный конъюгат также должен «сохранять свою биологическую активность» в фармацевтической композиции, если биологическая активность конъюгата в данный момент времени, например, в течение 12 месяцев, находится в пределах около 20%, предпочтительно около 10% (в пределах ошибок анализа) биологической активности, проявляемой в то время, когда фармацевтическую композицию готовили, определяли, например, в анализе связывания антигена и/или в анализе цитотоксичности *in vitro*.

Примеры подходящих протоколов введения конъюгата представлены ниже. Конъюгаты вводят ежедневно, еженедельно, раз в две недели, три раза в неделю, один раз каждые четыре недели или ежемесячно в течение 8 ~ 54 недель в виде внутривенного болюса. Болюсные дозы вводятся в количестве от 50 до 1000 мл физиологического раствора, к которому необязательно может быть добавлен человеческий сывороточный альбумин (например, от 0,5 до 1 мл концентрированного раствора человеческого сывороточного альбумина, 100 мг/мл). Дозы будут составлять около от 50 мкг до 20 мг/кг массы тела в неделю, в/в (в диапазоне от 10 мкг до 200 мг/кг на инъекцию). Через 4~54 недели после лечения пациент может пройти второй курс лечения. Клиницисты могут определить конкретные клинические протоколы в отношении пути введения, вспомогательных веществ, разбавителей, дозировок, времени и т. д.

Примеры применения *in vitro* включают обработку клеточных культур для уничтожения всех клеток, за исключением желаемых вариантов, которые не экспрессируют целевой антиген; или уничтожения вариантов, которые экспрессируют нежелательный антиген. Примеры использования *ex vivo* включают обработку **гемопоетических стволовых клеток (HSC)** перед выполнением **трансплантации (HSCT)** одному и тому же пациенту для уничтожения больных или злокачественных клеток. Например, клиническое лечение *ex vivo* для удаления опухолевых клеток или лимфоидных клеток из костного мозга перед аутологичной трансплантацией при лечении рака или при лечении аутоиммунного заболевания, или для удаления Т-клеток и других лимфоидных клеток из аллогенного костного мозга или ткани до трансплантации для того, чтобы предотвратить заболевание «*трансплантат против хозяина*», можно осуществлять следующим образом. У пациента или другого человека берут костный мозг, а затем инкубируют в среде, содержащей сыворотку, к которой добавляют конъюгат по изобретению, в диапазоне концентраций от около 1 пМ до 0,1 мМ, в течение от около 30 минут до около 48 часов при температуре около 37 °С. Точные условия концентрации и время инкубации (= доза) легко определяются квалифицированными врачами. После инкубации клетки костного мозга промывают средой, содержащей сыворотку, и возвращают пациенту внутривенной инфузией согласно

известным методикам. В тех случаях, когда пациент получает другое лечение, такое как курс аблятивной химиотерапии или облучение всего тела между временем сбора костного мозга и реинфузией обработанных клеток, обработанные клетки костного мозга хранят замороженными в жидком азоте с использованием стандартного медицинского оборудования.

Примеры медицинских состояний, которые можно лечить в соответствии со способами уничтожения выбранных клеточных популяций *in vivo* или *ex vivo*, включают злокачественные новообразования любых типов рака, аутоиммунные заболевания, отторжение трансплантата и инфекции (вирусные, бактериальные или паразитарные).

Примеры медицинских состояний, которые могут подлежать лечению в соответствии со способами убийства выбранных популяций клеток *in vivo* или *ex vivo* включают злокачественное новообразование любого типа, включая, например, рак легких, груди, толстой кишки, простаты, почки, поджелудочной железы, яичника и лимфатических органов; меланомы; аутоиммунные заболевания, такие как системная волчанка, ревматоидный артрит и рассеянный склероз; отторжения трансплантата, такие как отторжение при трансплантации почек, отторжение при трансплантации печени, отторжение при трансплантации легких, отторжение при трансплантации сердца и отторжение при трансплантации костного мозга; болезнь «трансплантат против хозяина»; вирусные инфекции, такие как инфекция ЦМВ, инфекция ВИЧ, СПИД, и т. д.; бактериальную инфекцию; и паразитарные инфекции, такие как гиардиоз, амебиаз, шистосомоз и другие, как определено специалистами в данной области техники.

Идентификация субъектов, нуждающихся в лечении заболеваний и состояний, описанных в данном документе, находится в пределах квалификации и знаний специалистов в данной области техники. Ветеринар или врач, квалифицированный в данной области техники, может легко определить, путем использования клинических анализов, физических обследований, медицинского/семейного анамнеза или биологических и диагностических анализов, тех субъектов, которые нуждаются в таком лечении.

Терапевтически эффективное количество может быть легко определено лечащим врачом, который является специалистом в данной области техники, с использованием стандартных методик и путем наблюдения за результатами, полученными в аналогичных обстоятельствах. При определении терапевтически эффективного количества лечащий врач рассматривает ряд факторов, включающих, но не ограничиваясь ими: биологический вид субъекта; его рост, возраст и общее состояние здоровья; конкретное вовлеченное

заболевание; степень вовлечения или тяжесть указанного заболевания; ответ индивидуального субъекта; конкретное вводимое соединение; способ введения; характеристику биодоступности вводимого препарата; выбранный режим дозирования; применение сопутствующих лекарств; и другие значимые обстоятельства.

Количество конъюгата, которое требуется для достижения желаемого биологического эффекта, будет варьироваться в зависимости от ряда факторов, включая химические характеристики, активность и биодоступность конъюгатов, тип заболевания, вид, к которому относится пациент, состояние болезни пациента, путь введения, все факторы, которые диктуют необходимые количества дозы, доставку и режим для введения.

В общих чертах, конъюгаты по настоящему изобретению могут быть предоставлены в водном физиологическом буферном растворе, содержащем 0,1-30% масс./об. конъюгатов для парентерального введения. Типичные диапазоны доз составляют от 1 мкг/кг до 0,1 г/кг массы тела в день; еженедельно, раз в две недели, раз в три недели или в месяц, предпочтительный диапазон доз составляет от 0,01 мг/кг до 20 мг/кг массы тела, еженедельно, раз в две недели или раз в месяц, эквивалентная доза для человека. Предпочтительная дозировка лекарственного средства, которая должна вводиться, вероятно, зависит от таких переменных, как тип и степень прогрессирования заболевания или расстройства, общее состояние здоровья конкретного пациента, относительная биологическая эффективность выбранного соединения, состав соединения, путь введения (внутривенно, внутримышечно или др.), фармакокинетические свойства конъюгатов по выбранному пути доставки, а также скорость (болюс или непрерывная инфузия) и график введения (количество повторений за определенный период времени).

Конъюгаты агент, связывающийся с клетками - цитотоксический агент по данному изобретению также можно вводить в единичных дозированных формах, где термин «единичная доза» означает одну дозу, которую можно вводить пациенту, а также которую можно легко обрабатывать и упаковывать, которая является физически и химически устойчивой единичной дозой, содержащей либо собственно активный конъюгат, либо в виде фармацевтически приемлемой композиции, как описано ниже в данном документе. Таким образом, типичные суммарные суточные дозы составляют от 0,01 до 100 мг/кг массы тела. По общему руководству, единичные дозы для людей варьируются от 1 до 3000 мг в сутки, еженедельно, раз в две недели или раз в три недели. Предпочтительно, указанный диапазон единичной дозы составляет от 1 до 500 мг при введении один-два раза в неделю, раз в две недели или раз в три недели, и еще более предпочтительно, от 10 мг до 500 мг раз в две недели или раз в три недели. Конъюгаты, представленные в настоящем документе,

могут быть составлены в фармацевтические композиции путем смешивания с одним или более фармацевтически приемлемыми наполнителями. Такие композиции единичных доз могут быть получены для применения путем внутривенного или перорального введения, особенно в виде порошков, таблеток, простых капсул или мягких гелевых капсул; или интраназально, особенно в виде порошков, носовых капель или аэрозолей; или кожно, например, местно в виде мазей, кремов, лосьонов, гелей или спреев или в виде трансдермальных пластырей. Указанные композиции можно удобно вводить в стандартной дозированной форме и можно получать любыми способами, хорошо известными в области фармацевтики, например, как описано в Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 21th ed.; Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, 2005. Предпочтительные составы содержат фармацевтические композиции, в которых соединение по данному изобретению составлено для перорального или парентерального введения. Для перорального введения, таблетки, пилюли, порошки, капсулы, пастилки и тому подобное могут содержать один или более из любых из следующих ингредиентов или соединений аналогичного характера: связующее, такое как микрокристаллическая целлюлоза или трагакантовая камедь; разбавитель, такой как крахмал или лактоза; разрыхлитель, такой как крахмал и производные целлюлозы; смазывающее вещество, такое как стеарат магния; вещество, способствующее скольжению, такое как коллоидный диоксид кремния; подсластитель, такой как сахароза или сахарин; или ароматизатор, такой как перечная мята или метил салицилат. Капсулы могут быть в форме твердой капсулы или мягкой капсулы, которые как правило изготавливают из желатиновых смесей, необязательно смешанных с пластификаторами, а также в форме капсулы из крахмала. Кроме того, единичные дозированные формы могут содержать различные другие материалы, которые изменяют физическую форму дозированной формы, например, покрытия из сахара, шеллака или кишечных агентов. Другие пероральные дозированные формы сиропа или эликсира могут содержать подсластители, консерванты, красители, пигменты и ароматизаторы. Кроме того, активные соединения могут быть включены в препараты и составы с быстрым растворением, модифицированным высвобождением и замедленным высвобождением, и где такие составы с замедленным высвобождением предпочтительно являются двумодальными. Предпочтительные таблетки содержат лактозу, кукурузный крахмал, силикат магния, кроскармеллозу натрия, повидон, стеарат магния или тальк в любой комбинации. Жидкие препараты для парентерального введения включают стерильные водные или неводные растворы, суспензии и эмульсии. Указанные жидкие композиции могут также содержать связующие, буферы, консерванты, хелатирующие агенты,

подсластители, ароматизаторы, красящие агенты и тому подобное. Неводные растворители включают спирты, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, растительные масла, такие как оливковое масло и органические сложные эфиры, такие как этилолеат. Водные носители включают смеси спиртов и воды, буферизованные среды и физиологический раствор. В частности, биосовместимый, биоразлагаемый лактидный полимер, сополимер лактида/гликолида или полиоксиэтилен-полиоксипропиленовые сополимеры могут являться пригодными наполнителями для управления высвобождением активных соединений. Внутривенные несущие среды могут содержать вещества для восполнения жидкости и питательных веществ, вещества для восполнения электролитов, такие как на основе декстрозы Рингера, и тому подобное. Другие потенциально пригодные системы парентеральных средств доставки для данных активных соединений включают частицы этилен-винилацетатного сополимера, осмотические насосы, имплантируемые инфузионные системы и липосомы.

Альтернативные пути введения включают составы для ингаляции, которые включают в себя такие средства, как сухой порошок, аэрозоль или капли. Они могут представлять собой водные растворы, содержащие, например, полиоксиэтилен-9-лауриловый эфир, гликохолат и дезоксигхолат или маслянистые растворы для введения в виде носовых капель или в виде геля для применения интраназально. Композиции для трансбуккального введения включают, например, леденцы или пастилки и могут содержать ароматизированную основу, такую как сахароза или камедь акации, и другие вспомогательные вещества, такие как гликохолат. Составы, пригодные для ректального введения, предпочтительно представлены в виде суппозиторий единичных доз с твердым носителем, таким как какао-масло, и могут содержать салицилат. Составы для местного применения на кожу предпочтительно находятся в форме мази, крема, лосьона, пасты, геля, спрея, аэрозоля или масла. Носители, которые можно применять, включают петролатум, ланолин, полиэтиленгликоли, спирты или их комбинации. Составы, пригодные для трансдермального введения, могут быть представлены в виде дискретных пластырей и могут представлять собой липофильные эмульсии или забуференные водные растворы, растворенные и/или диспергированные в полимере или адгезиве.

В конкретном варианте реализации изобретения указанные конъюгаты агент, связывающийся с клетками – цитотоксический агент по данному изобретению вводят одновременно с другими известными или открытыми в будущем терапевтическими агентами, такими как химиотерапевтический агент, лучевая терапия, иммунотерапевтические агенты, агенты против аутоиммунного расстройства,

противоинфекционные агенты или другие конъюгаты антитела-лекарственного средства, что приводит к синергетическому эффекту для эффективного лечения или предупреждения рака, аутоиммунного заболевания или инфекционного заболевания. В другом конкретном варианте реализации изобретения указанные синергетические лекарственные средства или лучевую терапию применяют до или после введения конъюгата, в одном аспекте, по меньшей мере, за час, 12 часов, день, неделю, две недели, три недели, месяц, в дополнительных аспектах, за несколько месяцев до или после введения конъюгата по данному изобретению.

Синергетические агенты предпочтительно выбраны из одного или более следующих лекарственных средств:

1). Химиотерапевтические агенты: а). Алкилирующие агенты: такие как [Азотистые иприты: (хлорамбуцил, циклофосфамид, ифосфамид, мехлорэтамин, мелфалан, трофосфамид); Нитрозомочевины: (кармустин, ломустин); Алкилсульфонаты: (бусульфан, треосульфан); Триазины: (дакарбазин); платиносодержащие соединения: (карбоплатин, цисплатин, оксалиплатин)]; b). растительные алкалоиды: такие как [алкалоиды барвинка: (винкристин, винбластин, виндезин, винорелбин); таксоиды: (паклитаксел, доцетаксол)]; c). ингибиторы ДНК-топоизомеразы: такие как [эпиподофиллины: (9-аминокамптотецин, камптотецин, криснатол, этопозид, этопозид фосфат, иринотекан, тенипозид, топотекан); Митомицины: (митомин С)]; d). антиметаболиты: такие как {[антифолаты: ингибиторы DHFR: (метотрексат, триметотрексат); Ингибиторы IMP дегидрогеназы: (микофеноловая кислота, тиазофуридин, рибавирин, EICAR); ингибиторы рибонуклеотидредуктазы: (гидроксимочевина, дефероксамин)]; [аналоги пиримидина: аналоги урацила: (5-Фторурацил, доксифлуридин, флоксуридин, ратитрексед (Tomudex))]; Аналоги цитозина: (цитарабин, цитозинарабинозид, флударабин); аналоги пурина: (азатиоприн, меркаптопурин, тиогуанин)]}; e). гормональные терапевтические средства: такие как {антагонисты рецепторов: [антиэстрогены: (мегестрол, ралоксифен, тамоксифен); агонисты LHRH: (госкрелин, лейпролид ацетат); антиандрогены: (бикалутамид, флутамид)]; Ретиноиды/Дельтоиды: [аналоги витамина D3: (CB 1093, EB 1089 KN 1060, холекальциферол, эргокальциферол)]; фотодинамическая терапия: (вертепорфин, фталоцианин, фотосенсибилизатор Pc4, деметоксигипокселлин A); цитокины: (интерферон-альфа, интерферон-гамма, фактор некроза опухолей (TNF), белки человека, содержащие домен TNF)]}; f). **ингибиторы киназы, такие как BIBW 2992 (анти-EGFR/Erb2), иматиниб, гефитиниб, пегатиниб, сорафениб, дазатиниб, сунитиниб, эрлотиниб, нилотиниб, лапатиниб, акситиниб, пазопаниб. вандетаниб, E7080 (анти-**

VEGFR2), мумбритиниб, понатиниб (AP24534), бафетиниб (INNO-406), бозутиниб (SKI-606), кабозантиниб, висмодегиб, инипариб, руксолитиниб, CYT387, акситиниб, тивозаниб, сорафениб, бевацизумаб, цетуксимаб, трастузумаб, ранибизумаб, панитумумаб, испинесиб; g). Другие: такие как гемцитабин, эпоксомидины (например, карфилзомиб), бортезомиб, талидомид, леналидомид, помалидомид, тоседостат, зибрестат, PLX4032, STA-9090, Stimuvax, алловектин-7, Xegeva, Provenge, Yervoy, Ингибиторы изопренилирования (такие как ловастатин), Дофаминергические нейротоксины (такие как ион 1-метил-4-фенилпиридиния), Ингибиторы клеточного цикла (такие как стауроспорин), Актиномицины (такие как актиномицин D, дактиномицин), Блеомицины (такие как блеомицин A2, блеомицин B2, пепломицин), Антрациклины (такие как даунорубицин, доксорубицин (адриамицин), идарубицин, эпирубицин, пирарубицин, зорубицин, митоксантрон, ингибиторы MDR (такие как верапамил), Ингибиторы Ca²⁺-АТФазы (такие как тапсигаргин), висмодегиб, Ингибиторы гистондеацетилазы (вориностат, ромидеписин, панобиностат, вальпроевая кислота, моцетиностат (MGCD0103), белиностат, PCI-24781, энтиностат, SB939, ресминостат, гивиностат, AR-42, CUDC-101, сульфорафан, трихостатин A); тапсигаргин, целекоксиб, тиазолидиндионы, эпигаллокатехин галлат, дисульфирам, салиноспирамид А. Более подробные списки известных и открытых в будущем лекарственных средств против рака, которые могут быть использованы в качестве комбинированной терапии (синергетического эффекта) с соединениями и конъюгатами по данному изобретению можно найти на сайте Национального института рака (США) (www.cancer.gov; www.cancer.gov/cancertopics/druginfo/alphalist), American Cancer Society (www.cancer.org/treatment/index) и Cancer Research UK (www.cancerresearchuk.org; www.cancerresearchuk.org/cancer-help/about-cancer/treatment/cancer-drugs/)

2). Агент против аутоиммунных заболеваний включает, без ограничений, циклоспорин, циклоспорин А, аминокaproновую кислоту, азатиоприн, бромокриптин, хлорамбуцил, хлорохин, циклофосфамид, кортикостероиды (например, амцинониды, бетаметазон, будесониды, гидрокортизон, флунизол, флутиказон пропионат, флуоокртолон даназол, дексаметазон, триамцинолона ацетонид, беклометазона дипропионат), DHEA, энанерцепт, гидроксихлорохин, инфликсимаб, мелоксикам, метотрексат, мофетил, микофенилат, преднизон, сиролимус, такролимус.

3). Агент против инфекционного заболевания включает в себя, без ограничений, а). аминогликозиды: амикацин, астромицин, гентамицин (нетилмицин, сизомицин, изепамицин), гигромицин В, канамицин (амикацин, арбекацин, беканамицин, дибекацин, тобрамицин), неомицин (фрамицетин, паромомицин, рибостамицин), нетилмицин,

спектиномицин, стрептомицин, тобрамицин, вердамицин; b). амфениколы: азидамфеникол, хлорамфеникол, флорфеникол, тиамфеникол; c). ансамицины: гелданамицин, гербимицин; d). карбапенемы: биापеном, дорипеном, эртапеном, имипеном/циластатин, меропеном, панипеном; e). цефемы: карбацефем (лоракарбеф), цефаксетрил, цефаклор, цефрадин, цефадроксил, цефалониум, цефалоридин, цефалотин или цефалосин, цефалексин, цефалоглицин, цефамандол, цефапирин, цефатризин, цефазафлур, цефазедон, цефазолин, цефбуперазон, цефкапен, цефальдоксим, цефепим, цефминокс, цефокситин, цефпрозил, цефроксадин, цефтезол, цефуроксим, цефиксим, цефдинир, цефдиторен, цефепим, цефетамет, цефменоксим, цефодизим, цефоницид, цефоперазон, цефоранид, цефотаксим, цефотиам, цефозопран, цефалексин, цефпимизол, цефпирамид, цефпиром, цефподоксим, цефпрозил, цефхином, цефсулодин, цефтазидим, цефтерам, цефтибутен, цефтиолен, цефтизоксим, цефтобипрол, цефтриаксон, цефутоксим, цефузолам, цефамицин (цефокситин, цефотетан, цефметазол), оксацефем (фломоксеф, латамоксеф); f). гликопептиды: блеомицин, ванкомицин (оритаванцин, телаванцин), тейкопланин (далбаванцин), рамопланин; g). Глицилциклины: например, тигециклин; g). Ингибиторы β -Лактамазы: пенам (сульбактам, тазобактам), клавам (клавулановая кислота); i). линкозамиды: клиндамицин, линкомицин; j). липопептиды: даптомицин, A54145, кальций-зависимые антибиотики (CDA); k). макролиды: азитромицин, цетромицин, кларитромицин, диритромицин, эритромицин, флури트로мицин, джозамицин, кетолид (телитромицин, цетромицин), мидекамицин, миокамицин, олеандомицин, рифамицин (рифампицин, рифампин, рифабутин, рифапентин), рокитамицин, рокситромицин, спектиномицин, спирамицин, такролимус (FK506), тролеандомицин, телитромицин; l). монобактамы: азтреонам, тигемонам; m). оксазолидиноны: линезолид; n). пенициллины: амоксициллин, ампициллин (пивампицилин, гетациклин, бакампициллин, метампициллин, талампициллин), азидоциллин, азлоциллин, бензилпенициллин, бензатин бензилпенициллин, бензатин феноксиметил-пенициллин, клометоциллин, прокаин бензилпенициллин, карбенициллин (кариндациллин), клоксациллин, диклоксациллин, эпициллин, флуклоксациллин, мециллинам (пивмециллинам), мезлоциллин, метициллин, нафциллин, оксациллин, пенамециллин, пенициллин, фенетилциллин, феноксиметилпенициллин, пиперациллин, пропициллин, сульбенициллин, темоциллин, тикарциллин; o). полипептиды: бацитрацин, колистин, полимиксин В; p). хинолоны: алатрофлоксацин, балофлоксацин, ципрофлоксацин, клинафлоксацин, данофлоксацин, дифлоксацин, эноксацин, энрофлоксацин, флоксин, гареноксацин, гатифлоксацин, гемифлоксацин, грепафлоксацин, кано тровафлоксацин, левофлоксацин, ломефлоксацин,

марбофлоксацин, моксифлоксацин, надифлоксацин, норфлоксацин, орбифлоксацин, офлоксацин, пефлоксацин, тровафлоксацин, грепафлоксацин, ситафлоксацин, спарфлоксацин, темафлоксацин, тосуфлоксацин, тровафлоксацин; q). стрептограммины: пристинамицин, хинупристин/дальфопристин); г). сульфонамиды: мафенид, пронтозил, сульфацетамид, сульфаметизол, сульфанилимид, сульфасалазин, сульфизоксазол, триметоприм, триметоприм-сульфаметоксазол (котримоксазол); s). стероидные антибактериальные средства: например, фузидиевая кислота; t). тетрациклины: доксициклин, хлортетрациклин, клемоциклин, демеклоциклин, лимециклин, меклоциклин, метациклин, миноциклин, окситетрациклин, пенимециклин, ролитетрациклин, тетрациклин, глицилциклины (например, тигециклин); u). другие типы антибиотиков: аннонацин, арсфенамин, ингибиторы бактопренола (бацитрацин), ингибиторы DADAL/AR (циклосерин), диктиостатин, дискодермолид, элейтеробин, эпотион, этамбутол, этопозид, фаропенем, фузидиевая кислота, фуразолидон, изониазид, лаулималид, метронидазол, мупироцин, миколактон, ингибиторы синтеза NAM (например, фосфомицин), нитрофурантоин, паклитаксел, платенсимицин, пиразинамид, квинупристин/дальфопристин, рифампицин (рифампин), тазобактам, тинидазол, уварицин;

4). Противовирусные лекарственные средства: а). ингибиторы входа/слияния: аплавирок, маравирок, викривирок, *gp41* (энфувиртид), PRO 140, CD4 (ибализумаб); б). ингибиторы интегразы: ралтегравир, элвитегравир, глобоиднан А; с). ингибиторы созревания: бевиримат, вивекон; d). ингибиторы нейраминидазы : осельтамивир, занамивир, перамивир; е). нуклеозиды и нуклеотиды: абакавир, ацикловир, адефовир, амдоксовир, априцитабин, бривудин, цидофовир, клевудин, дексельвуцитабин, диданозин (ddI), элвудитабин, эмтрицитабин (FTC), энтекавир, фамцикловир, фторурацил (5-FU), 3'-фтор-замещенные 2',3'-дидезоксинуклеозидные аналоги (например, 3'-фтор-2',3'-дидезокситимидин (FLT) и 3'-фтор-2',3'-дидезоксигуанозин (FLG), фомивирсен, ганцикловир, идоксуридин, ламивудин (3TC), l-нуклеозиды (например, β -1-тимидин и β -1-2'-дезокситидин), пенцикловир, рацивир, рибавирин, стампидин, ставудин (d4T), таривавирин (вирамин), телбивудин, тенофовир, трифлуридин, валацикловир, валганцикловир, зальцитабин (ddC), зидовудин (AZT); f). ненуклеозиды: амантадин, атевирин, каправирин, диарилпиримидины (этравирин, рилпавирин), делавирдин, докозанол, эмивирин, эфавиренц, фоскарнет (фосфономуравьиная кислота), имиквимод, интерферон-альфа, ловирин, лоденозин, метизазон, невирапин, NOV-205, пэгинтерферон альфа, подофиллотоксин, рифампицин, римантадин, ресиквимод (R-848), тромантадин; g). ингибиторы протеазы: ампренавир, атазанавир, боцепревир, дарунавир, фосампренавир,

индинавир, лопинавир, нелфинавир, плеконарил, ритонавир, саквинавир, талапревир (VX-950), типранавир; h). другие типы противовирусных лекарственных средств: абзим, арбидол, каланолид А, церагенин, циановирин-н, диарилпиримидины, эпигаллокатехин галлат (EGCG), фоскарнет, гриффитсин, тарибавирин (вирамидин), гидроксимочевина, КР-1461, милтефозин, плеконарил, комбинированные гибридные ингибиторы рибавирин, селицилиб.

5). Другие иммунотерапевтические лекарственные средства: например, имиквимод, интерфероны (например, α , β), гранулоцитарные колониестимулирующие факторы, цитокины, интерлейкины (ИЛ-1 ~ ИЛ-35), антитела (например, трастузумаб, пертузумаб, бевацизумаб, цетуксимаб, панитумумаб, инфликсимаб, адалимумаб, базиликсимаб, даклизумаб, омализумаб), Связанные с белком лекарства (например, абраксан), антитело, конъюгированное с лекарственными средствами, выбранными из производного калихеамицина, производных майтансина (DM1 и DM4), CC-1065 и связывающие малую бороздку дуокармицины, сильнодействующие производные таксола, доксорубицин, антимитотические препараты ауристатина (например, Трастузумаб-DM1, Инотузумаб озогамин, Брентуксимаб ведотин, Глембатумумаб ведотин, Лорвотузумаб мертанзин, AN-152 LMB2, TP-38, VB4-845, Кантузумаб мертанзин, AVE9633, SAR3419, CAT-8015 (анти-CD22), IMGN388, милатузумаб-доксорубицин, SGN-75 (анти-CD70), анти-CD22-MCC-DM1, IMGN853, анти-CD22-MMAE, анти-CD22-MMAF, анти-CD22-калихеамицин.

В дополнительном варианте реализации изобретения указанные синергетические агенты выбраны из одного или более следующих лекарственных средств: абатацепт, абиратерона ацетат, абраксан, ацетаминофен / гидрокодон, акалабрутиниб, адуканумаб, адалимумаб, ADXS31-142, ADXS-HER2, афатиниб дималеат, альдеслейкин, алектиниб, алемтузумаб, алитретиноин, адо-трастузумаб эмтанзин, амфетамин/декстроамфетамин, анастрозол, арипипразол, антрациклины, арипипразол, атазанавир, атезолизумаб, аторвастатин, авелумаб, аксикабтаген цилолейцел, акситиниб, белиностат, BCG Live, бевацизумаб, бексаротен, блинатумомаб, бортезомиб, бозутиниб, брентуксимаб ведотин, бригаиниб, будесонид, будесонид/формотерол, бупренорфин, кабазитаксел, кабозантиниб, капматиниб, капецитабин, карфилзомиб, химерные антигенные рецепторные сконструированные Т-клетки (CAR-T), целекоксиб, церитиниб, цетуксимаб, хидамид, циклоспорин, цинакальцет, кризотиниб, кобиметиниб, козентикс, кризотиниб, CTL019, дабигатран, дабрафениб, дакарбазин, даклизумаб, дакомотиниб, даптомицин, даратумумаб, дарбэпоэтин альфа, дарунавир, дасатиниб, денилейкин дифтитокс, деносумаб, депакот, декслансопразол, дексметилфенидат, дексаметазон, система охлаждения DigniCap,

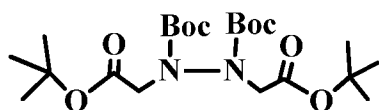
динутуксимаб, доксициклин, дулоксетин, дювелисиб, дурвалумаб, элотузумаб, эмтрицитабин/рилпивириин/тенофовира дизопроксилфумарат, эмтрицитабин / тенофовир/эфавиренз, эноксапарин, энсартиниб, энзалутамид, эпоэтин альфа, эрлотиниб, эзомепразол, эзопиклон, этанерцепт, эверолимус, экземестан, эверолимус, экзенатид ER, эзетимиб, эзетимиб / симвастатин, фенофибрат, филграстим, финголимод, флутиказона пропионат, флутиказон / сальметерол, фулвестрант, газыва, гефитиниб, глатирамер, ацетат гозерелина, икотиниб, иматиниб, ибритумомаб тиуксетан, ибрутиниб, иделализиб, ифосфамид, инфликсимаб, имиквимод, ImmuCyst, иммуно БЦЖ, инипариб, инсулин аспарт, инсулин детемир, инсулин гларгин, инсулин лизпро, интерферон альфа, интерферон альфа-1b, интерферон альфа-2a, интерферон альфа-2b, интерферон бета, интерферон бета-1a, интерферон бета-1b, интерферон гамма-1a, лапатиниб, ипилимумаб, ипратропия бромид / сальбутамол, иксазомиб, канума, ланреотид ацетат, леналидомид, леналиомид, ленватиниба мезилат, летрозол, левотироксин, левотироксин, лидокаин, линезолид, лираглутид, лидексамфетамин, LN-144, лорлатиниб, мемантин, метилфенидат, метопролол, мекинист, мерицитабин/рилпивириин/тенофовир, модафинил, мометазон, мицидак-С, нецитумумаб, нератиниб, нилотиниб, нирапариб, ниволумаб, офатумумаб, обинутузумаб, олапариб, олмесартан, олмесартан / гидрохлоротиазид, омализумаб, сложные этиловые эфиры омега-3 жирных кислот, онкорин, осельтамивир, осимертиниб, оксикодон, палбоциклиб, паливизумаб, панитумумаб, панобиностат, пазопаниб, пембролизумаб, антитело к PD-1, антитело к PD-L1, пеметрексед, пертузумаб, пневмококковая конъюгатная вакцина, помалидомид, прегабалин, Proscavax, пропранолол, кветиапин, рабепразол, хлорид радия 223, ралоксифен, ралтегравир, рамуцирумаб, ранибизумаб, регорафениб, ритуксимаб, ривароксабан, ромидеписин, розувастатин, руксолитиниба фосфат, сальбутамол, саволитиниб, семаглутид, севеламер, силденафил, силтуксимаб, сипулейцел-Т, ситаглиптин, ситаглиптин/метформин, солифенацин, соланезумаб, сонидегиб, сорафениб, сунитиниб, такролимус, такримус, тадалафил, тамоксифен, тафинлар, талимоген, лагерпарепвек, талазопариб, телапревир, талазопариб, темозоломид, темсиролиму, тенофовир/эмтрицитабин, тенофовир дизопроксил фумарат, тестостерон гель, талидомид, TICE БЦЖ, тиотропия бромид, тизагенлеклейцел, торемифен, траметиниб, трастузумаб, трабектедин (эктеинасцидин 743), траметиниб, тремелиумаб, трифлуридин/типирацил, третиноин, уро-БЦЖ, устекинумаб, валсартан, велипариб, вандетаниб, вемурафениб, венетоклакс, вориностат, зив-афлиберцепт, зоставакс и их аналоги, производные, фармацевтически приемлемые соли, носители, разбавители или их вспомогательные вещества, или комбинация вышеуказанного.

Данное изобретение дополнительно проиллюстрировано, но не ограничено описанием в следующих примерах.

ПРИМЕРЫ

Настоящее изобретение далее описано в следующих примерах, которые не предназначены для ограничения объема настоящего изобретения. Клеточные линии, описанные в следующих примерах, поддерживали в культуре в соответствии с условиями, определенными Американской коллекцией типовых культур (ATCC) или Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Брауншвейг, Германия (DMSZ), или Шанхайским институтом клеточной культуры Китайской академии науки, если не указано иное. Реагенты для клеточных культур были получены от Invitrogen Corp., если не указано иное. Все безводные растворители были получены коммерчески и хранились в герметичных склянках под азотом. Все остальные реагенты и растворители были приобретены, имели наивысшее качество и использовались без дальнейшей очистки. Разделение препаративной ВЭЖХ проводили с помощью прибора Varain PreStar HPLC. Спектры ЯМР регистрировали на приборе Bruker 500 МГц. Химические сдвиги (дельта) представлены в частях на миллион (ч/млн) по отношению к тетраметилсилану при 0,00, а константы взаимодействия (J) указаны в Гц. Данные масс-спектров были получены на масс-спектрометре Waters Xevo QTOF, оборудованном модулем разделения Waters Acquity UPLC и детектором Acquity TUV.

Пример 1. Синтез ди-трет-бутил 1,2-бис(2-(трет-бутоксипропан-2-ил)-2-оксоэтил)гидразин-1,2-дикарбоксилата.



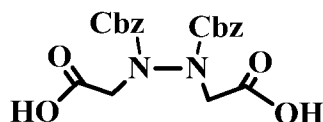
К ди-трет-бутил гидразин-1,2-дикарбоксилату (8,01 г, 34,4 ммоль) в ДМФА (150 мл) добавляли NaH (60% в масле, 2,76 г, 68,8 ммоль). После перемешивания при к. т. в течение 30 минут, добавляли трет-бутил 2-бромацетат (14,01 г, 72,1 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, гасили дополнительным количеством метанола (3 мл), концентрировали, разбавляли EtOAc (100 мл) и водой (100 мл), разделяли и экстрагировали водный слой с помощью cEtOAc (2 x 50 мл). Органические слои объединяли, сушили над MgSO_4 , фильтровали, выпаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (EtOAc/гексан от 1:5 до 1:3) с получением указанного в заголовке соединения (12,98 г, выход 82%) в виде бесцветного масла. МС ЭСИ m/z: рассчитано для $\text{C}_{22}\text{H}_{41}\text{N}_2\text{O}_8$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 461,28, найдено 461,40.

Пример 2. Синтез 2,2'-(гидразин-1,2-диил)диуксусной кислоты.



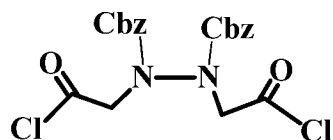
К ди-трет-бутил 1,2-бис(2-(трет-бутоксигидразин-1,2-дикарбоксилату (6,51 г, 14,14 ммоль) в 1,4-диоксане (40 мл) добавляли HCl (12 М, 10 мл). Смесь перемешивали в течение 30 минут, разбавляли диоксаном (20 мл) и толуолом (40 мл), выпаривали и совместно выпаривали с диоксаном (20 мл) и толуолом (40 мл) досуха с получением неочищенного указанного в заголовке продукта для следующей стадии без дальнейшей очистки (2,15 г, выход 103%, чистота ~93%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для C₄H₉N₂O₄ [M+H]⁺ 149,05, найдено 149,40.

Пример 3. Синтез 2,2'-(1,2-бис((бензилокси)карбонил)гидразин-1,2-диил)диуксусной кислоты.



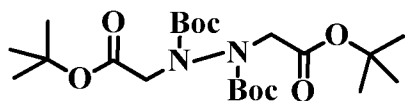
К раствору 2,2'-(гидразин-1,2-диил)диуксусной кислоты (1,10 г, 7,43 ммоль) в смеси ТГФ (200 мл) и NaH₂PO₄ (0,1 М, 250 мл, pH 8,0) 4 порциями добавляли бензил хлороформат (5,01 г, 29,47 ммоль) в течение 2 часов. Смесь перемешивали еще в течение 6 часов, упаривали и очищали на колонке SiO₂, которую элюировали смесью H₂O/CH₃CN (1:9), содержащей 1% муравьиной кислоты, с получением указанного соединения (2,26 г, выход 73%, степень чистоты ~95%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для C₂₀H₂₁N₂O₈ [M+H]⁺ 417,12, найдено 417,40.

Пример 4. Синтез дибензил 1,2-бис(2-хлор-2-оксоэтил)гидразин-1,2-дикарбоксилата.



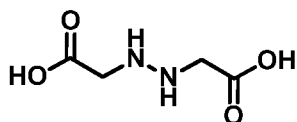
К 2,2'-(1,2-бис((бензилокси)карбонил)гидразин-1,2-диил)диуксусной кислоте (350 мг, 0,841 ммоль) в дихлорэтане (30 мл) добавляли (COCl)₂ (905 мг, 7,13 ммоль) с последующим добавлением 0,030 мл ДМФА. После перемешивания при комнатной температуре в течение 2 часов смесь разбавляли толуолом, упаривали и совместно упаривали с дихлорэтаном (2 x 20 мл) и толуолом (2 x 15 мл) досуха с получением указанного неочищенного продукта (который нестабилен), который использовали в следующей стадии без дополнительной очистки (365 мг, выход 96%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для C₂₀H₁₉Cl₂N₂O₆ [M+H]⁺ 453,05, найдено 453,50.

Пример 5. Синтез ди-трет-бутил 1,2-бис(2-(трет-бутоксигидразин-1,2-дикарбоксилата.



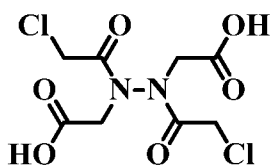
К суспензии NaH (0,259 г, 6,48 ммоль, 3,0 экв.) в безводном ДМФА (2 мл) при комнатной температуре добавляли ди-трет-бутил гидразин-1,2-дикарбоксилат (0,50 г, 2,16 ммоль, 1,0 экв.) в безводном ДМФА (8 мл) в течение 10 минут в атмосфере азота. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 минут и затем охлаждали до 0 °С. К данной смеси по каплям добавляли трет-бутил 2-бромацетат (1,4 мл, 8,61 ммоль, 4,0 экв.). Полученную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Добавляли насыщенный раствор хлорида аммония (100 мл). Органический слой отделяли и водный слой экстрагировали EtOAc (3 x 50 мл). Объединенный органический раствор промывали водой и солевым раствором, сушили над безводным Na2SO4, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO2 (10:1 гексан/EtOAc) с получением указанного соединения в виде бесцветного масла (0,94 г, выход 99,6%). ЭСИ МС m/z [M+Na]⁺ 483,4.

Пример 6. Синтез соединения 2,2'-(гидразин-1,2-диил)диуксусной кислоты.



К раствору ди-трет-бутил 1,2-бис(2-(трет-бутоксигидразин-1,2-дикарбоксилата (0,94 г, 2,04 ммоль) в ДХМ (4 мл) при 0 °С добавляли ТФА (4 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 минут и затем нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Смесь упаривали, и разбавляли ДХМ и упаривали. Данную операцию повторяли трижды с получением белого твердого вещества. Растирали с ДХМ и белое твердое вещество собирали фильтрацией (0,232 г, выход 76,8%). ЭСИ МС m/z [M+H]⁺ 149,2.

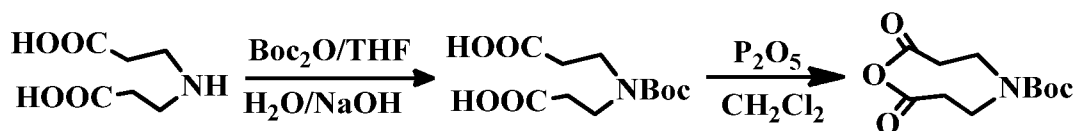
Пример 7. Синтез 2,2'-(1,2-бис(2-хлорацетил)гидразин-1,2-диил)диуксусной кислоты.



К раствору 2,2'-(гидразин-1,2-диил)диуксусной кислоты (0,232 г, 1,57 ммоль, 1,0 экв.) в безводном ТГФ (10 мл) при 0 °С добавляли 2-хлорацетил хлорид (0,38 мл, 4,70 ммоль, 3,0 экв.) в течение 10 минут. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры,

перемешивали в течение ночи и упаривали. Остаток совместно упаривали с ТГФ трижды с получением белого твердого вещества (0,472 г, теоретический выход). ЭСИ МС m/z $[M+H]^+$ 301,1.

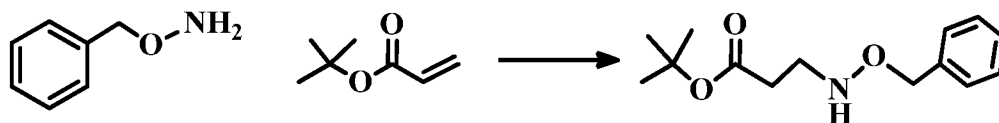
Пример 8. Синтез трет-бутил 2,8-диоксо-1,5-оксазокан-5-карбоксилата.



К раствору 3,3'-азандиилдипропановой кислоты (10,00 г, 62,08 ммоль) в 1,0 М NaOH (300 мл) при 4 °С добавляли ди-трет-бутилдикарбонат (22,10 г, 101,3 ммоль) в 200 мл ТГФ в течение 1 часа. После добавления смесь перемешивали в течение 2 часов при 4 °С. Смесь осторожно подкисляли до pH ~4 с помощью 0,2 М H_3PO_4 , концентрировали в вакууме, экстрагировали с помощью CH_2Cl_2 , сушили над Na_2SO_4 , выпаривали и очищали с помощью флэш-хроматографии на SiO_2 , элюируя с использованием $AcOH/MeOH/CH_2Cl_2$ (0,01:1:5) с получением 3,3'-((трет-бутоксикарбонил)азандиил)дипропановой кислоты (13,62 г, выход 84%). МС ЭСИ m/z $C_{11}H_{19}NO_6$ $[M+H]^+$, рассчитано 262,27, найдено 262,40.

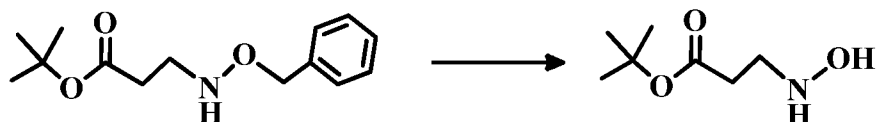
К раствору 3,3'-((трет-бутоксикарбонил)азандиил)дипропановой кислоты (8,0 г, 30,6 ммоль) в CH_2Cl_2 (500 мл) при 0 °С добавляли оксид фосфора (8,70 г, 61,30 ммоль). Смесь перемешивали при 0 °С в течение 2 часов, а затем при к. т. в течение 1 часа, фильтровали через небольшую колонку с SiO_2 , и колонку промывали $EtOAc/CH_2Cl_2$ (1:6). Фильтрат концентрировали и растирали с $EtOAc$ /гексаном с получением указанного в заголовке соединения (5,64 г, выход 74%). МС ЭСИ m/z $C_{11}H_{17}NO_5$ $[M+H]^+$, рассчитано 244,11, найдено 244,30.

Пример 9. Синтез трет-бутил 3-((бензилокси)амино)пропаноата.



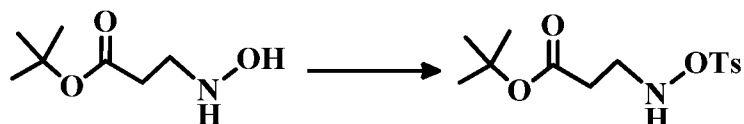
К орто-бензилгидроксиламин гидрохлориду (10,0 г, 62,7 ммоль) в ТГФ (100 мл) добавляли Et_3N (15 мл) и трет-бутил акрилат (12,1 г, 94,5 ммоль). Смесь кипятили с обратным холодильником в течение ночи, упаривали и очищали на колонке SiO_2 , которую элюировали $EtOAc$ /гексан (1:4) с получением указанного соединения 3 (13,08 г, выход 83%). ^1H ЯМР ($CDCl_3$) 7,49~7,25 (м, 5H), 4,75 (с, 2H), 3,20 (т, $J = 6,4$ Гц, 2H), 2,54 (т, $J = 6,4$ Гц, 2H), 1,49 (с, 9H); ЭСИ МС m/z $C_{14}H_{21}NNaO_3$ (M+Na), рассч. 274,15, найдено 274,20.

Пример 10. Синтез трет-бутил 3-(гидроксиамино)пропаноата.



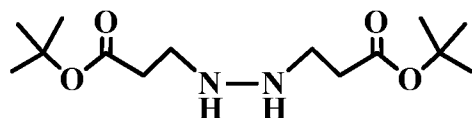
К трет-бутил 3-((бензилокси)амино)пропаноату (13,0 г, 51,76 ммоль) в метаноле (100 мл) добавляли Pd/C (0,85 г, 10% Pd, 50% влаги) в сосуде для гидрирования. После того, как систему вакуумировали и помещали под 2 атм газообразного водорода, реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Неочищенную реакционную смесь пропускали через тонкий слой целита, промывали этанолом, упаривали и очищали на колонке SiO₂, которую элюировали MeOH/ДХМ (1:10~1:5) с получением указанного соединения (7,25 г, выход 87%). ¹H ЯМР (CDCl₃) 3,22 (т, J = 6,4 Гц, 2H), 2,55 (т, J = 6,4 Гц, 2H), 1,49 (с, 9H); ЭСИ МС m/z+ C₇H₁₅NNaO₃ (M+Na), рассч. 184,10, найдено 184,30.

Пример 11. Синтез трет-бутил 3-((тозилокси)амино)пропаноата.



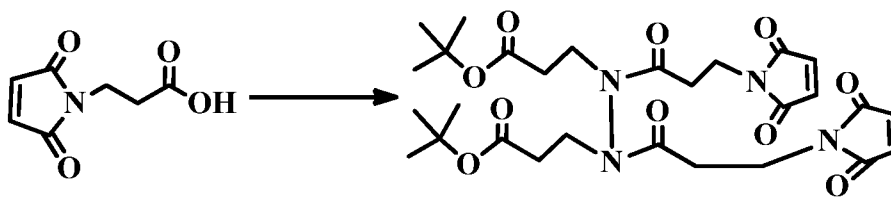
К трет-бутил 3-(гидроксиамино)пропаноату (5,10 г, 31,65 ммоль) в смеси ДХМ (50 мл) и пиридина (20 мл) при 4°C добавляли тозилхлорид (12,05 г, 63,42 ммоль). После добавления смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, упаривали и очищали на колонке SiO₂, которую элюировали EtOAc/ДХМ (1:10~1:6) с получением указанного соединения (8,58 г, выход 86%). ¹H ЯМР (CDCl₃) 7,81 (с, 2H), 7,46 (с, 2H), 3,22 (т, J = 6,4 Гц, 2H), 2,55 (т, J = 6,4 Гц, 2H), 2,41 (с, 3H), 1,49 (с, 9H); ЭСИ МС m/z+ C₁₄H₂₁NNaO₅S (M+Na), рассч. 338,11, найдено 338,30.

Пример 12. Синтез ди-трет-бутил 3,3'-(гидразин-1,2-диил)дипропаноата.



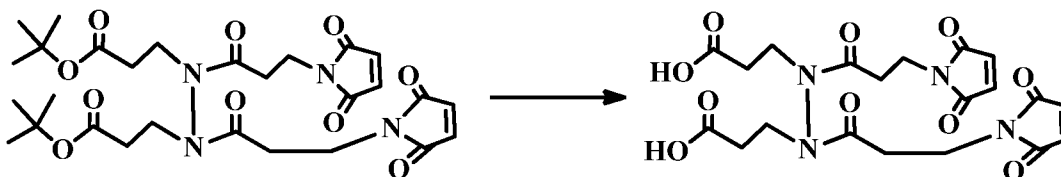
К трет-бутил 3-аминопропаноату (3,05 г, 21,01 ммоль) в ТГФ (80 мл) добавляли трет-бутил 3-((тозилокси)амино)пропаноат (5,10 г, 16,18 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа и затем при 45 °C в течение 6 часов. Смесь упаривали и очищали на колонке SiO₂, которую элюировали CH₃OH/ДХМ/Et₃N (1:12:0,01~1:8:0,01) с получением указанного соединения (2,89 г, выход 62%). ЭСИ МС m/z+ C₁₄H₂₈N₂NaO₄ (M+Na), рассч. 311,20, найдено 311,40.

Пример 13. Синтез ди-трет-бутил 3,3'-(1,2-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропаноил)гидразин-1,2-диил)дипропаноата.



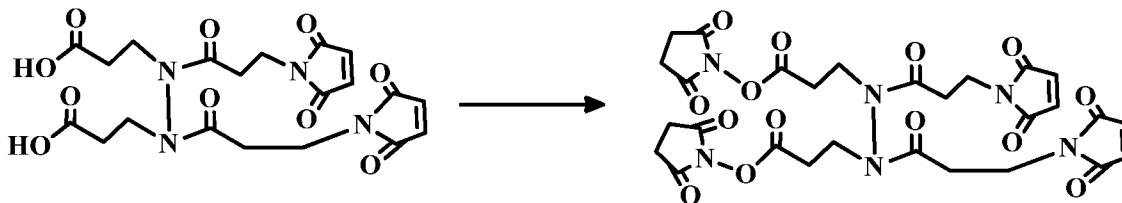
К 3-малеими́до-пропановой кислоты (1,00 г, 5,91 ммоль) в ДХМ (50 мл) добавляли оксалил дихлорид (2,70 г, 21,25 ммоль) и ДМФА (50 мкл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов, упаривали и упаривали совместно с ДХМ/толуолом с получением неочищенного хлорида 3-малеими́допропановой кислоты. К ди-трет-бутил 3,3'-(гидразин-1,2-диил)дипропаноату (0,51 г, 1,76 ммоль) в смеси ДХМ (35 мл) добавляли неочищенный хлорид 3-малеими́до-пропановой кислоты. Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке SiO_2 , которую элюировали $\text{EtOAc}/\text{ДХМ}$ (1:15~1:8) с получением указанного соединения (738 мг, выход 71%). ЭСИ МС m/z $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{NaO}_{10}$ ($\text{M}+\text{Na}$), расщ. 613,26, найдено 613,40.

Пример 14. Синтез 3,3'-(1,2-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропаноил)-гидразин-1,2-диил)дипропановой кислоты.



К соединению 14 (700 мг, 1,18 ммоль) в диоксане (4 мл) добавляли HCl (конц. 1 мл). Смесь перемешивали в течение 30 минут, разбавляли EtOH (10 мл) и толуолом (10 мл), упаривали и совместно упаривали с EtOH (10 мл) и толуолом (10 мл) с получением указанного неочищенного продукта (560 мг), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЭСИ МС m/z $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_{10}$ ($\text{M}-\text{H}$), расщ. 477,13, найдено 477,20.

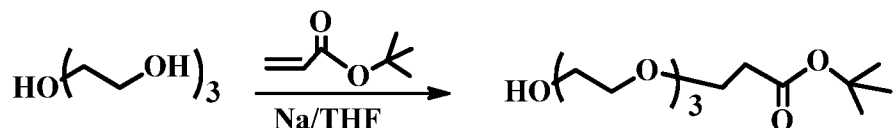
Пример 15. Синтез бис(2,5-диоксопирролидин-1-ил)-3,3'-(1,2-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропаноил)гидразин-1,2-диил)дипропаноата.



К неочищенной 3,3'-(1,2-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропаноил)-гидразин-1,2-диил)дипропановой кислоте (~560 мг, ~1,17 ммоль) в ДМАА (8 мл) добавляли NHS (400 мг, 3,47 ммоль) и EDC (1,01 г, 5,26 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи,

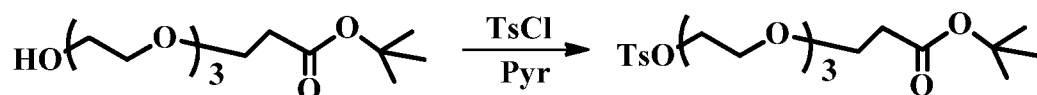
упаривали и очищали на колонке SiO_2 , которую элюировали $\text{EtOAc}/\text{ДХМ}$ (1:12~1:7) с получением указанного соединения (520 мг, выход 65% за 2 стадии). ЭСИ МС m/z + $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{NaO}_{14}$ ($M+\text{Na}$), расщ. 695,17, найдено 695,40.

Пример 16. Синтез трет-бутил 3-(2-(2-(2-гидроксиэтокс)этокс)этокс)пропаноата.



К 350 мл безводного ТГФ добавляли 80 мг (0,0025 моль) металлического натрия и триэтиленгликоль (150,1 г, 1,00 моль) при перемешивании. После полного растворения натрия добавляли трет-бутил акрилат (24 мл, 0,33 моль). Раствор перемешивали в течение 20 часов при комнатной температуре и нейтрализовали 8 мл 1,0 М HCl . Растворитель удаляли под вакуумом и остаток суспендировали в солевом растворе (250 мл) и экстрагировали этилацетатом (3 x 125 мл). Объединенные органические слои промывали соевым раствором (100 мл), затем водой (100 мл), сушили над сульфатом натрия и удаляли растворитель. Полученное бесцветное масло сушили под вакуумом с получением 69,78 г (выход 76%) указанного продукта. ^1H ЯМР: 1,41 (с, 9H), 2,49 (т, 2H, $J = 6,4$ Гц), 3,59-3,72 (м, 14H). ЭСИ МС m/z - $\text{C}_{13}\text{H}_{25}\text{O}_6$ ($M-\text{H}$), расщ. 277,17, найдено 277,20.

Пример 17. Синтез трет-бутил 3-(2-(2-(2-тозилокси)этокс)этокс)этокс)пропаноата.



Раствор трет-Бутил 3-(2-(2-(2-гидроксиэтокс)этокс)этокс)пропаноата (10,0 г, 35,95 ммоль) в ацетонитриле (50,0 мл) обрабатывали пиридином (20,0 мл). Раствор тозилхлорида (7,12 г, 37,3 ммоль) в 50 мл ацетонитрила добавляли по каплям с помощью капельной воронки в течение 30 минут. Спустя 5 часов анализ ТСХ показал завершение реакции. Образовавшийся гидрохлорид пиридина отфильтровывали и растворитель удаляли. Остаток очищали на силикагеле путем элюирования от 20% этилацетата в гексане до чистого этилацетата с получением 11,2 г (выход 76%) указанного соединения. ^1H ЯМР: 1,40 (с, 9H), 2,40 (с, 3H), 2,45 (т, 2H, $J = 6,4$ Гц), 3,52-3,68 (м, 14H), 4,11 (т, 2H, $J = 4,8$ Гц), 7,30 (д, 2H, $J = 8,0$ Гц), 7,75 (д, 2H, $J = 8,0$ Гц); ЭСИ МС m/z + $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{O}_8\text{S}$ ($M+\text{H}$), расщ. 433,18, найдено 433,30.

Пример 18. Синтез трет-бутил 3-(2-(2-(2-азидоэтокс)этокс)этокс)пропаноата.



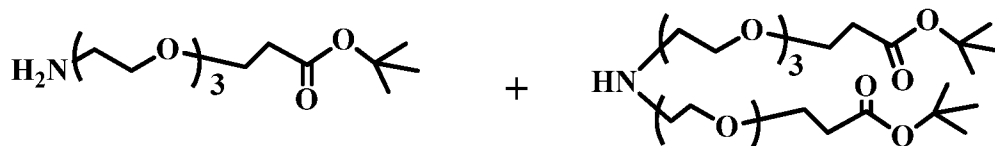
К 50 мл ДМФА при перемешивании добавляли трет-бутил 3-(2-(2-(2-тозилокси)этоксид)этоксид)этоксид)пропаноат (4,0 г, 9,25 ммоль) и азид натрия (0,737 г, 11,3 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 80 оС. Спустя 4 часов анализ ТСХ показал завершение реакции. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и гасили водой (25 мл). Водный слой отделяли и экстрагировали этилацетатом (3 x 35 мл). Объединенные органические слои сушили над безводным сульфатом магния, фильтровали и удаляли растворитель под вакуумом. Неочищенный азид (2,24 г, выход 98%, степень чистоты около 93% по данным ВЭЖХ) использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ^1H ЯМР (CDCl_3): 1,40 (с, 9H), 2,45 (т, 2H, $J = 6,4$ Гц), 3,33 (т, 2H, $J = 5,2$ Гц), 3,53-3,66 (м, 12H). ЭСИ МС m/z + $\text{C}_{13}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_8$ ($\text{M}+\text{H}$), расч. 304,18, найдено 304,20.

Пример 19. Синтез 3-(2-(2-(2-азидоэтоксид)этоксид)этоксид)пропановой кислоты.



К трет-бутил 3-(2-(2-(2-азидоэтоксид)этоксид)этоксид)пропаноату (2,20 г, 7,25 ммоль) в 1,4-диоксане (40 мл) добавляли HCl (12 М, 10 мл). Смесь перемешивали в течение 40 минут, разбавляли диоксаном (20 мл) и толуолом (40 мл), упаривали и совместно упаривали с диоксаном (20 мл) и толуолом (40 мл) досуха с получением указанного неочищенного продукта, который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки (1,88 г, выход 105%, степень чистоты ~92% по данным ВЭЖХ). МС ЭСИ m/z : рассчитано для $\text{C}_9\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_5$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ 248,12, найдено 248,40.

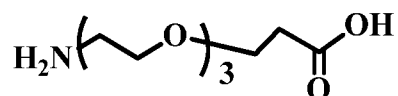
Пример 20. Синтез трет-бутилового эфира 13-амино-4,7,10-триоксадодекановой кислоты и трет-бутилового эфира 13-амино-бис(4,7,10-триоксадодекановой кислоты).



Неочищенный исходный азид 3-(2-(2-(2-азидоэтоксид)этоксид)этоксид)пропановую кислоту (5,0 г, ~14,84 ммоль) растворяли в этаноле (80 мл) и добавляли 300 мг 10% Pd/C. Систему вакуумировали и помещали под 2 атм газообразного водорода с использованием реактора гидрирования с энергичным перемешиванием. Затем реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, и ТСХ показала израсходование исходных материалов. Неочищенную реакционную смесь пропускали через тонкий слой целита и промывали этанолом. Растворитель удаляли и указанный амин очищали на

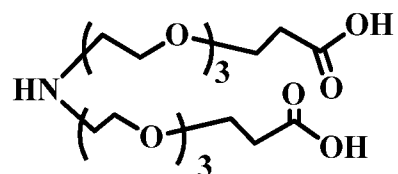
силикагеле с использованием смеси метанола (от 5% до 15%) и 1% триэтиламина в метилен хлориде в качестве элюента с получением трет-бутилового эфира 13-амино-4,7,10-триоксадодекановой кислоты (1,83 г, выход 44%, ЭСИ МС m/z + $C_{13}H_{27}NO_5$ (M+H), расщ. 278,19, найдено 278,30) и 13-амино-бис(трет-бутиловый эфир 4,7,10-триоксадодекановой кислоты) (2,58 г, выход 32%, ЭСИ МС m/z + $C_{26}H_{52}NO_{10}$ (M+H), расщ. 538,35, найдено 538,40).

Пример 21. Синтез соли HCl 3-(2-(2-(2-аминоэтокс)этокс)этокс)пропановой кислоты.



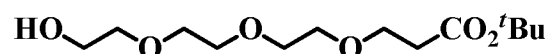
К трет-бутиловому эфиру 13-амино-4,7,10-триоксадодекановой кислоты (0,80 г, 2,89 ммоль) в 30 мл диоксана добавляли 10 мл HCl (36%) при перемешивании. Спустя 0,5 часов анализ ТСХ показал завершение реакции, реакцию смесь упаривали и совместно упаривали с EtOH и EtOH/толуолом с получением указанного продукта в виде соли HCl (степень чистоты >90%, 0,640 г, выход 86%) без дальнейшей очистки. ЭСИ МС m/z + $C_9H_{20}NO_5$ (M+H), расщ. 222,12, найдено 222,20.

Пример 22. 13-Амино-бис(4,7,10-триоксадодекановая кислота, соль HCl).



К трет-бутиловому эфиру 13-амино-бис(4,7,10-триоксадодекановой кислоты) (1,00 г, 1,85 ммоль) в 30 мл диоксана добавляли 10 мл HCl (36%) при перемешивании. Спустя 0,5 часов анализ ТСХ показал завершение реакции, реакцию смесь упаривали и совместно упаривали с EtOH и EtOH/толуолом с получением указанного продукта в виде соли HCl (степень чистоты >90%, 0,71 г, выход 91%) без дальнейшей очистки. ЭСИ МС m/z + $C_{18}H_{36}NO_{10}$ (M+H), расщ. 426,22, найдено 426,20.

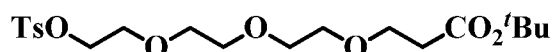
Пример 23. Синтез *трет*-бутил 3-(2-(2-(2-гидроксиэтокс)этокс)этокс)пропаноата.



К раствору 2,2'-(этан-1,2-диилбис(окси))диэтанола (55,0 мл, 410,75 ммоль, 3,0 экв.) в безводном ТГФ (200 мл) добавляли натрий (0,1 г). Смесь перемешивали до полного израсходования Na, а затем по каплям добавляли *трет*-бутилакрилат (20,0 мл, 137,79 ммоль, 1,0 экв.). Смесь перемешивали в течение ночи и затем гасили при 0 °С раствором

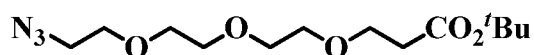
HCl (20,0 мл, 1 Н). THF удаляли упариванием на ротормном испарителе, добавляли солевой раствор (300 мл) и полученную смесь экстрагировали EtOAc (3 × 100 мл). Органические слои промывали соляным раствором (3 × 300 мл), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали с получением бесцветного масла (30,20 г, выход 79,0%), которое использовали без дополнительной очистки. МС ЭСИ m/z: рассчитано для C₁₃H₂₇O₆ [M + H]⁺ 278,1729, найдено 278,1730.

Пример 24. Синтез *трет*-бутил 3-(2-(2-(2-тозилокси)этокси)этокси)пропаноата.



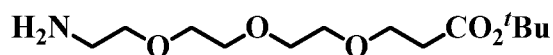
К раствору трет-бутил 3-(2-(2-(2-гидроксиэтокси)этокси)этокси)пропаноата (30,20 г, 108,5 ммоль, 1,0 экв.) и TsCl (41,37 г, 217,0 ммоль, 2,0 экв.) в безводном ДХМ (220 мл) при 0 °С добавляли ТЭА (30,0 мл, 217,0 ммоль, 2,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи и затем промывали водой (3 × 300 мл) и соевым раствором (300 мл), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO₂ (3:1 гексан/EtOAc) с получением бесцветного масла (39,4 г, выход 84,0%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для C₂₀H₃₃O₈S [M + H]⁺ 433,1818, найдено 433,2838.

Пример 25. Синтез *трет*-бутил 3-(2-(2-(2-азидоэтокси)этокси)этокси)пропаноата.



К раствору трет-бутил 3-(2-(2-(2-(тозилокси)этокси)этокси)этокси)пропаноата (39,4 г, 91,1 ммоль, 1,0 экв.) в безводном ДМФА (100 мл) добавляли NaN₃ (20,67 г, 316,6 ммоль, 3,5 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли воду (500 мл) и экстрагировали с использованием EtOAc (3 × 300 мл). Объединенные органические слои промывали водой (3 × 900 мл) и соевым раствором (900 мл), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO₂ (5:1 гексан/EtOAc) с получением светло-желтого масла (23,8 г, выход 85,53%). ЭСИ МС m/z: рассч для C₁₃H₂₅O₃N₅Na [M+Na]⁺ 326,2, найдено 326,2.

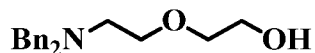
Пример 26. Синтез *трет*-бутил 3-(2-(2-(2-аминоэтокси)этокси)этокси)пропаноата.



Никель Ренея (7,5 г, суспензия в воде) промывали водой (трижды) и изопропиловым спиртом (трижды) и смешивали с *трет*-бутил 3-(2-(2-(2-азидоэтокси)этокси)этокси)пропаноатом (5,0 г, 16,5 ммоль) в изопропиловом спирте. Смесь перемешивали в атмосфере H₂ при комнатной температуре в течение 16 часов, а затем

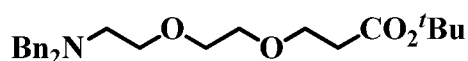
фильтровали через слой целита, промывая изопропиловым спиртом. Фильтрат концентрировали и очищали с помощью колоночной хроматографии (5–25% MeOH/ДХМ) с получением светло-желтого масла (2,60 г, выход 57%). МС ЭСИ m/z : рассчитано для $C_{13}H_{28}NO_5$ $[M+H]^+$ 279,19; найдено 279,19.

Пример 27. Синтез 2-(2-(дибензиламино)этокси)этанола



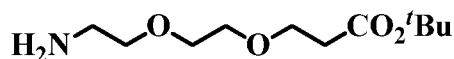
К 2-(2-аминоэтокси)этанолу (21,00 г, 200 ммоль, 1,0 экв.) и K_2CO_3 (83,00 г, 600 ммоль, 3,0 экв.) в ацетонитриле (350 мл) добавляли $BnBr$ (57,0 мл, 480 ммоль, 2,4 экв.). Смесь кипятили с обратным холодильником в течение ночи. Добавляли воду (1 л) и экстрагировали с использованием $EtOAc$ (3×300 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (1000 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (4:1 гексан/ $EtOAc$) с получением бесцветного масла (50,97 г, выход 89,2%). МС ЭСИ m/z : рассчитано для $C_{18}H_{23}NO_2Na$ $[M+Na]^+$ 309,1729, найдено 309,1967.

Пример 28. Синтез *трет*-бутил 3-(2-(2-(дибензиламино)этокси)этокси)пропаноата.



К смеси 2-(2-(дибензиламино)этокси)этанола (47,17 г, 165,3 ммоль, 1,0 экв.), *трет*-бутилакрилата (72,0 мл, 495,9 ммоль, 3,0 экв.) и $n-Bu_4NI$ (6,10 г, 16,53 ммоль, 0,1 экв.) в ДХМ (560 мл) добавляли раствор гидроксида натрия (300 мл, 50%). Смесь перемешивали в течение ночи. Органический слой отделяли, а водный слой экстрагировали с использованием $EtOAc$ (3×100 мл). Органические слои промывали водой (3×300 мл) и солевым раствором (300 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (7:1 гексан/ $EtOAc$) с получением бесцветного масла (61,08 г, выход 89,4%). МС ЭСИ m/z : рассчитано для $C_{25}H_{36}NO_4$ $[M+H]^+$ 414,2566, найдено 414,2384.

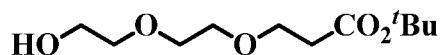
Пример 29. Синтез *трет*-бутил 3-(2-(2-аминоэтокси)этокси)пропаноата.



К раствору *трет*-бутил 3-(2-(2-(дибензиламино)этокси)этокси)пропаноата (20,00 г, 48,36 ммоль, 1,0 экв.) в ТГФ (30 мл) и $MeOH$ (60 мл) добавляли Pd/C (2,00 г, 10% масс., 50% влажный) в склянке для гидрирования. Смесь встряхивали при давлении 1 атм H_2 в течение ночи, фильтровали через целит (вспомогательное фильтровальное вещество) и фильтрат

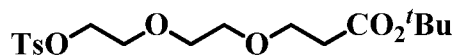
упаривали с получением бесцветного масла (10,58 г, выход 93,8%). МС ЭСИ m/z : рассчитано для $C_{11}H_{24}NO_4$ $[M + H]^+$ 234,1627, найдено 234,1810.

Пример 30. Синтез *трет*-бутил 3-(2-(2-гидроксиэтокси)этокси)пропаноата.



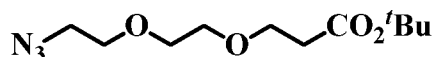
К раствору 2,2'-оксидиэтанола (19,7 мл, 206,7 ммоль, 3,0 экв.) в безводном ТГФ (100 мл) добавляли натрий (0,1 г). Смесь перемешивали пока Na не исчез и затем по каплям добавляли *трет*-бутил акрилат (10,0 мл, 68,9 ммоль, 1,0 экв.). Смесь перемешивали в течение ночи, добавляли солевой раствор (200 мл) и экстрагировали EtOAc (3 × 100 мл). Органические слои промывали солевым раствором (3 × 300 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (1:1 гексан/EtOAc) с получением бесцветного масла (8,10 г, выход 49,4%). МС ЭСИ m/z : рассчитано для $C_{11}H_{23}O_5$ $[M + H]^+$ 235,1467, найдено 235,1667.

Пример 31. Синтез *трет*-бутил 3-(2-(2-(тозилокси)этокси)этокси)пропаноата.



К раствору *трет*-бутил 3-(2-(2-гидроксиэтокси)этокси)пропаноата (6,24 г, 26,63 ммоль, 1,0 экв.) и TsCl (10,15 г, 53,27 ммоль, 2,0 экв.) в безводном ДХМ (50 мл) при 0 °C добавляли пиридин (4,3 мл, 53,27 ммоль, 2,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, затем промывали водой (100 мл) и водный слой экстрагировали ДХМ (3 × 50 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (300 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (5:1 гексан/EtOAc) с получением бесцветного масла (6,33 г, выход 61,3%). МС ЭСИ m/z : рассчитано для $C_{18}H_{27}O_7S$ $[M + H]^+$ 389,1556, найдено 389,2809.

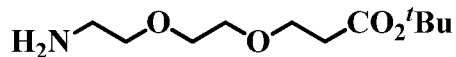
Пример 32. Синтез *трет*-бутил 3-(2-(2-азидоэтокси)этокси)пропаноата.



К раствору *трет*-бутил 3-(2-(2-(тозилокси)этокси)этокси)пропаноата (5,80 г, 14,93 ммоль, 1,0 экв.) в безводном ДМФА (20 мл) добавляли NaN_3 (5,02 г, 77,22 ммоль, 5,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли воду (120 мл) и экстрагировали EtOAc (3 × 50 мл). Объединенные органические слои промывали водой (3 × 150 мл) и солевым раствором (150 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (5:1 гексан/EtOAc) с

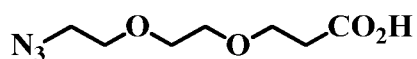
получением бесцветного масла (3,73 г, выход 69,6%). ЭСИ МС m/z : рассч для $C_{11}H_{22}O_3N_4Na$ $[M+H]^+$ 260,1532, найдено 260,2259.

Пример 33. Синтез *трет*-бутил 3-(2-(2-аминоэтокс)этокс)пропаноата.



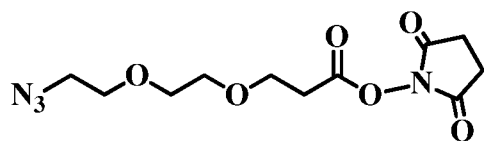
трет-бутил 3-(2-(2-азидоэтокс)этокс)пропаноат (0,18 г, 0,69 ммоль) растворяли в MeOH (3,0 мл, с 60 мкл конц. HCl) и гидрировали с Pd/C (10 мас. %, 20 мг) с шариком H_2 в течение 30 минут. Катализатор отфильтровывали через слой целита, с промыванием слоя MeOH. Фильтрат упаривали с получением бесцветного масла (0,15 г, выход 93%). ЭСИ МС m/z : рассч для $C_{11}H_{24}NO_4$ $[M+H]^+$ 234,16; найдено 234,14.

Пример 34. Синтез 3-(2-(2-азидоэтокс)этокс)пропановой кислоты.



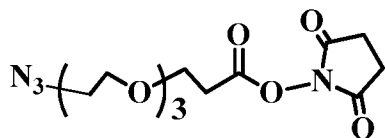
трет-бутил 3-(2-(2-азидоэтокс)этокс)пропаноат (2,51 г, 9,68 ммоль), растворенный в 1,4-диоксане (30 мл) обрабатывали 10 мл HCl (конц.) при комнатной температуре. Смесь перемешивали в течение 35 минут, разбавляли EtOH (30 мл) и толуолом (30 мл) и упаривали под вакуумом. Неочищенную смесь очищали на силикагеле с использованием смеси метанола (от 5% до 10%) и 1% муравьиной кислоты в метилен хлориде в качестве элюента с получением указанного соединения (1,63 г, выход 83%), ЭСИ МС m/z $C_7H_{12}N_3O_4$ $[M-H]^-$, рассч. 202,06, найдено 202,30.

Пример 35. Синтез 2,5-диоксопирролидин-1-ил 3-(2-(2-азидоэтокс)этокс)пропаноата.



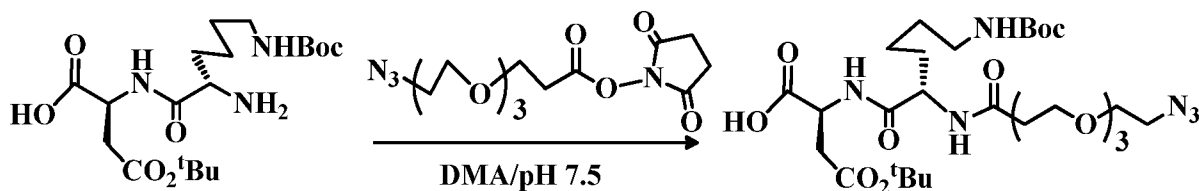
К 3-(2-(2-азидоэтокс)этокс)пропановой кислоте (1,60 г, 7,87 ммоль) в 30 мл дихлорметана при перемешивании добавляли NHS (1,08 г, 9,39 ммоль) и EDC (3,60 г, 18,75 ммоль). Спустя 8 часов анализ ТСХ показал, что реакция была завершена, реакционную смесь упаривали и очищали на силикагеле с использованием смеси этилацетата (от 5% до 10%) в метилен хлориде в качестве элюента с получением указанного соединения (1,93 г, выход 82%). ЭСИ МС m/z $C_{11}H_{17}N_4O_6$ $[M+H]^+$, рассч. 301,11, найдено 301,20.

Пример 36. Синтез 2,5-диоксопирролидин-1-ил 3-(2-(2-(2-азидоэтокс)этокс)этокс)пропаноата.



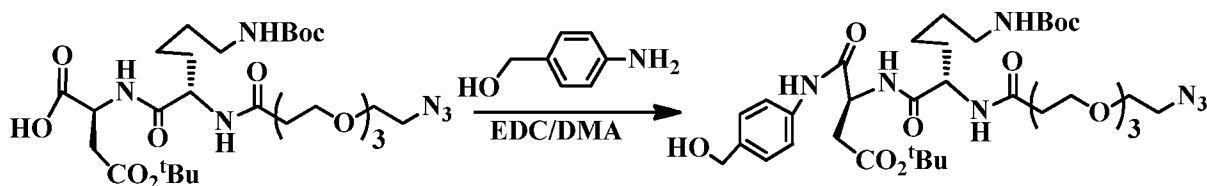
К 3-(2-(2-(2-азидоэтокси)этокси)этокси)пропановой кислоте (4,50 г, 18,21 ммоль) в 80 мл дихлорметана при перемешивании добавляли NHS (3,0 г, 26,08 ммоль) и EDC (7,60 г, 39,58 ммоль). Спустя 8 часов анализ ТСХ показал, что реакция была завершена, реакционную смесь упаривали и очищали на силикагеле с использованием смеси этилацетата (от 5% до 10%) в метилен хлориде в качестве элюента с получением указанного соединения (5,38 г, выход 86%). ЭСИ МС m/z $C_{13}H_{20}N_4O_7$ $[M+H]^+$, расч. 345,13, найдено 345,30.

Пример 37. Синтез (14S,17S)-1-азидо-17-(2-(трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадекан-18-овой кислоты



К раствору (S)-2-((S)-2-амино-6-((трет-бутоксикарбонил)амино)гексанамидо)-4-(трет-бутоксикарбонил)-4-оксобутановой кислоты (2,81 г, 6,73 ммоль) в смеси ДМАА (70 мл) и 0,1 М NaH_2PO_4 (50 мл, pH 7,5) добавляли 2,5-диоксопирролидин-1-ил 3-(2-(2-(2-азидоэтокси)этокси)этокси)пропаноат (3,50 г, 10,17 ммоль). Смесь перемешивали в течение 4 часов, упаривали под вакуумом, очищали на силикагеле с использованием смеси метанола (от 5% до 15%) в метилен хлориде, содержащем 0,5% уксусной кислоты, в качестве элюента с получением указанного соединения (3,35 г, выход 77%). ЭСИ МС m/z $C_{28}H_{51}N_6O_{11}$ $[M+H]^+$, расч. 647,35, найдено 647,80.

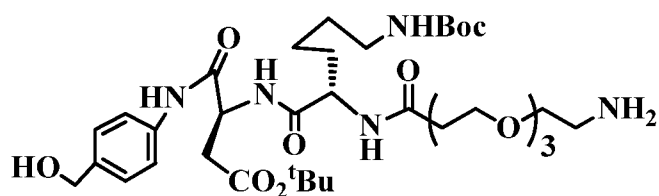
Пример 38. Синтез (14S,17S)-трет-бутил 1-азидо-14-(4-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-17-((4-(гидроксиметил)фенил)карбамоил)-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазанонадекан-19-оата



К (14S,17S)-1-азидо-17-(2-(трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазанонадекан-19-оата

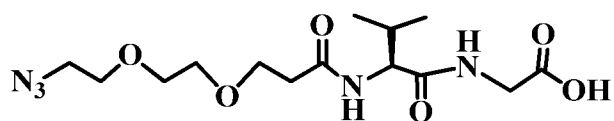
кислоте (3,30 г, 5,10 ммоль) и (4-аминофенил)метанолу (0,75 г, 6,09 ммоль) в ДМАА (25 мл) добавляли EDC (2,30 г, 11,97 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали под вакуумом, очищали на силикагеле с использованием смеси метанола (от 5% до 8%) в метилен хлориде в качестве элюента с получением указанного соединения (3,18 г, выход 83%). ЭСИ МС m/z $C_{35}H_{58}N_7O_{11}$ $[M+H]^+$, расщ. 752,41, найдено 752,85.

Пример 39. Синтез (14S,17S)-трет-бутил 1-амино-14-(4-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-17-((4-(гидроксиметил)фенил)карбамоил)-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-дiazанонадекан-19-оата



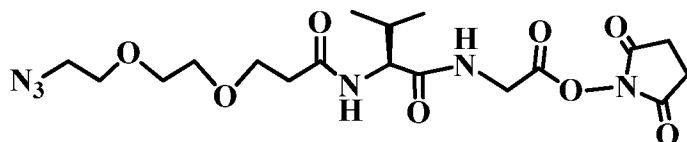
К раствору (14S,17S)-трет-бутил 1-азидо-14-(4-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-17-((4-(гидроксиметил)фенил)карбамоил)-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-дiazанонадекан-19-оата (1,50 г, 1,99 ммоль) в ТГФ (35 мл) добавляли Pd/C (200 мг, 10% Pd, 50% влаги) в сосуде для гидрирования. Смесь встряхивали при давлении 1 атм H_2 в течение ночи, фильтровали через целит (вспомогательное фильтровальное вещество) и фильтрат упаривали с получением указанного соединения (1,43 г, выход 99%), который сразу использовали на следующей стадии без дальнейшей очистки. ЭСИ МС m/z $C_{35}H_{60}N_5O_{11}$ $[M+H]^+$, расщ. 726,42, найдено 726,70.

Пример 40. Синтез (S)-15-азидо-5-изопропил-4,7-диоксо-10,13-диокса-3,6-дiazапентадекан-1-овой кислоты



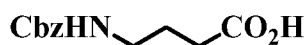
К раствору (S)-2-(2-амино-3-метилбутанамидо)уксусной кислоты (Val-Gly) (1,01 г, 5,80 ммоль) в смеси ДМАА (50 мл) и 0,1 М NaH_2PO_4 (50 мл, pH 7,5) добавляли 2,5-диоксопирролидин-1-ил 3-(2-(2-азидоэтокс)этокс)пропаноат (1,90 г, 6,33). Смесь перемешивали в течение 4 часов, упаривали под вакуумом, очищали на силикагеле с использованием смеси метанола (от 5% до 15%) в метилен хлориде, содержащем 0,5% уксусной кислоты, в качестве элюента с получением указанного соединения (1,52 г, выход 73%). ЭСИ МС m/z $C_{14}H_{26}N_5O_6$ $[M+H]^+$, расщ. 360,18, найдено 360,40.

Пример 41. Синтез (S)-2,5-диоксопирролидин-1-ил 15-азидо-5-изопропил-4,7-диоксо-10,13-диокса-3,6-дiazапентадекан-1-оата



К раствору (S)-15-азидо-5-изопропил-4,7-диоксо-10,13-диоксо-3,6-дизапентадекан-1-овой кислоты (1,50 г, 4,17 ммоль) в 40 мл дихлорметана при перемешивании добавляли NHS (0,88 г, 7,65 ммоль) и EDC (2,60 г, 13,54 ммоль). Спустя 8 часов анализ ТСХ показал, что реакция была завершена, реакционную смесь упаривали и очищали на силикагеле с использованием смеси этилацетата (от 5% до 20%) в метилен хлориде в качестве элюента с получением указанного соединения (1,48 г, выход 78%). ЭСИ МС m/z $C_{18}H_{29}N_6O_8$ $[M+H]^+$, расщ. 457,20, найдено 457,50.

Пример 42. Синтез 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутановой кислоты.



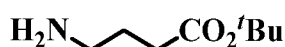
Раствор 4-аминомасляной кислоты (7,5 г, 75 ммоль) и NaOH (6 г, 150 ммоль) в H_2O (40 мл) охлаждали до 0 °С и по каплям добавляли раствор CbzCl (16,1 г, 95 ммоль) в ТГФ (32 мл). Через 1 ч реакционную смесь оставляли нагреваться до к. т. и перемешивали в течение 3 ч. ТГФ удаляли в вакууме, доводили pH водного раствора до 1,5 добавлением 6 н. HCl. Экстрагировали этилацетатом и органический слой промывали соевым раствором, сушили и упаривали с получением указанного соединения (16,4 г, выход 92 %). МС ЭСИ m/z : рассчитано для $C_{12}H_{16}NO_5$ $[M+H]^+$ 238,10, найдено 238,08.

Пример 43. Синтез *трет*-бутил 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутаноата.



К раствору 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутановой кислоты (16,4 г, 69,2 ммоль) и *t*-BuOH (15,4 г, 208 ммоль) в ДХМ (100 мл) добавляли ДМАП (0,8 г, 6,56 ммоль) и DCC (17,1 г, 83 ммоль). После перемешивания при к. т. в течение ночи реакционную смесь фильтровали, и фильтрат концентрировали. Остаток растворяли в этилацетате и промывали 1 н. HCl, соляным раствором и сушили над Na_2SO_4 . Упаривание и очистка колоночной хроматографией (от 10 до 50% EtOAc/гексан) приводили к указанному соединению (7,5 г, выход 37%). МС ЭСИ m/z : рассчитано для $C_{16}H_{23}NO_4Na$ $[M+Na]^+$ 316,16, найдено 316,13.

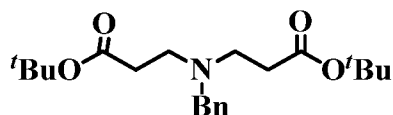
Пример 44. Синтез *трет*-бутил 4-аминобутаноата.



трет-бутил 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутаноат (560 мг, 1,91 ммоль) растворяли в MeOH (50 мл) и смешивали с катализатором Pd/C (10 мас. %, 100 мг), затем гидрировали (1 атм) при комнатной температуре в течение 3 часов. Катализатор

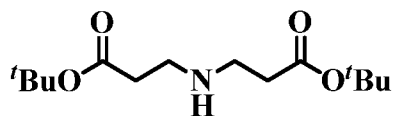
отфильтровывали и все летучие вещества удаляли под вакуумом с получением указанного соединения (272 мг, выход 90%). МС ЭСИ m/z : рассчитано для $C_8H_{18}NO_2$ $[M+H]^+$ 160,13, найдено 160,13.

Пример 45. Синтез ди-*трет*-бутил 3,3'-(бензилазандиил)дипропаноата.



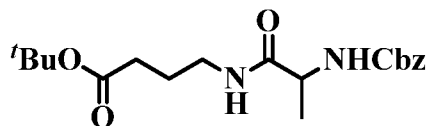
Смесь фенилметанамина (2,0 мл, 18,29 ммоль, 1,0 экв.) и *трет*-бутил акрилата (13,3 мл, 91,46 ммоль, 5,0 экв.) кипятили с обратным холодильником при 80 °С в течение ночи и затем упаривали. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (20:1 гексан/ $EtOAc$) с получением указанного соединения в виде бесцветного масла (5,10 г, выход 77%). ЭСИ МС m/z : расчч для $C_{21}H_{34}NO_4$ $[M+H]^+$ 364,2, найдено 364,2. ^1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 7,38 – 7,21 (м, 5H), 3,58 (с, 2H), 2,76 (т, $J = 7,0$ Гц, 4H), 2,38 (т, $J = 7,0$ Гц, 4H), 1,43 (с, 17H).

Пример 46. Синтез ди-*трет*-бутил 3,3'-азандиилдипропаноата.



К раствору ди-*трет*-бутил 3,3'-(бензилазандиил)дипропаноата (1,37 г, 3,77 ммоль, 1,0 экв.) в $MeOH$ (10 мл) добавляли Pd/C (0,20 г, 10% Pd/C , 50% влаги) в сосуде для гидрирования. Смесь встряхивали в течение ночи в атмосфере H_2 и затем фильтровали через слой целита. Фильтрат упаривали с получением указанного соединения в виде бесцветного масла (1,22 г, выход 89%). ЭСИ МС m/z : расчч для $C_{14}H_{28}NO_4$ $[M+H]^+$ 274,19, найдено 274,20.

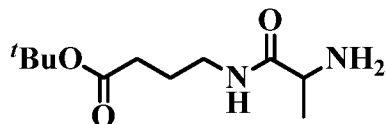
Пример 47. Синтез *трет*-бутил 4-(2-(((бензилокси)карбонил)амино)пропанамидо)бутаноата.



К раствору *трет*-бутил 4-аминобутаноата (1,00 г, 6,28 ммоль, 1,0 экв.) и Z-L-аланина (2,10 г, 9,42 ммоль, 1,5 экв.) в безводном ДХМ (50 мл) при 0 °С добавляли НАТУ (3,10 г, 8,164 ммоль, 1,3 экв.) и ТЭА (2,6 мл, 18,8 ммоль, 3,0 экв.). Реакционную смесь перемешивали при 0 °С в течение 10 минут, затем нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Смесь разбавляли ДХМ и промывали водой и соевым раствором, сушили над безводным Na_2SO_4 , упаривали и очищали колоночной

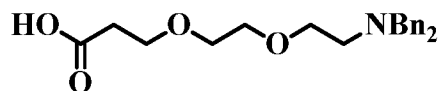
хроматографией на SiO₂ (10:3 петролейный эфир/этилацетат) с получением указанного соединения в виде бесцветного масла (1,39 г, выход 61%). ЭСИ МС m/z: рассч для C₁₉H₂₉N₂O₅Na [M+H]⁺ 387,2, найдено 387,2.

Пример 48. Синтез трет-бутил 4-(2-аминопропанамидо)бутаноата.



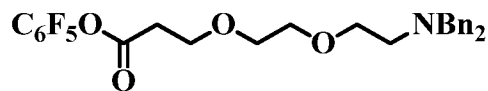
К раствору *трет*-бутил 4-(2-(((бензилокси)карбонил)амино)пропанамидо)бутаноата (1,39 г, 3,808 ммоль, 1,0 экв.) в MeOH (12 мл) добавляли Pd/C (0,20 г, 10 мас. %, 10% влаги) в сосуде для гидрирования. Смесь встряхивали в течение 2 часов, затем фильтровали через целит (вспомогательное фильтровальное вещество) и упаривали с получением указанного соединения в виде светло-желтого масла (0,838 г, выход 95%). ЭСИ МС m/z: рассч для C₁₁H₂₃N₂O₃ [M+H]⁺ 231,16, найдено 231,15.

Пример 49. Синтез 3-(2-(2-(дибензиламино)этокси)этокси)пропановой кислоты.



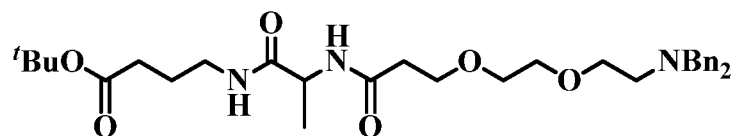
К раствору *трет*-бутил 3-(2-(2-(дибензиламино)этокси)этокси)пропаноата (2,3 г, 5,59 ммоль, 1,0 экв.) в ДХМ (10 мл) при комнатной температуре добавляли ТФА (5 мл). После перемешивания в течение 90 минут реакционную смесь разбавляли безводным толуолом и упаривали, данную операцию повторяли трижды с получением указанного соединения в виде светло-желтого масла (2,0 г, теоретический выход), которое непосредственно использовали на следующей стадии. ЭСИ МС m/z: рассч. для C₂₁H₂₈NO₄ [M+H]⁺ 358,19, найдено 358,19.

Пример 50. Синтез перфторфенил 3-(2-(2-(дибензиламино)этокси)этокси)пропаноата.



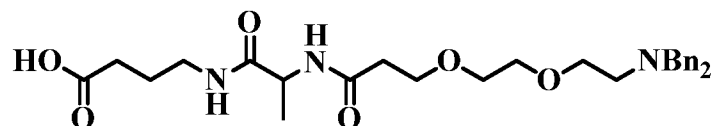
К раствору 3-(2-(2-(дибензиламино)этокси)этокси)пропановой кислоты (2,00 г, 5,59 ммоль, 1,0 экв.) в безводном ДХМ (30 мл) при 0 °С добавляли ДИПЭА до нейтрального pH и затем добавляли PFP (1,54 г, 8,38 ммоль, 1,5 экв.) и DIC (1,04 мл, 6,70 ммоль, 1,2 экв.). Спустя 10 минут реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Смесь фильтровали, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO₂ (15:1 петролейный эфир/этилацетат) с получением указанного соединения в виде бесцветного масла (2,10 г, выход 72%). ЭСИ МС m/z: рассч. для C₂₇H₂₇F₅NO₄ [M+H]⁺ 524,2, найдено 524,2.

Пример 51. Синтез *трет*-бутил 2-бензил-13-метил-11,14-диоксо-1-фенил-5,8-диокса-2,12,15-триазанонадекан-19-оата.



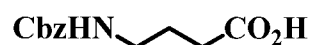
К раствору *трет*-бутил 4-(2-аминопропанамидо)бутаноата (0,736 г, 3,2 ммоль, 1,0 экв.) и перфторфенил 3-(2-(2-(дибензиламино)этокс)этокс)пропаноата (2,01 г, 3,84 ммоль, 1,2 экв.) в безводном ДМАА (20 мл) при 0 °С добавляли ДИПЭА (1,7 мл, 9,6 ммоль, 3,0 экв.). После перемешивания при 0 °С в течение 10 минут реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Добавляли воду (100 мл) и смесь экстрагировали EtOAc (3 × 100 мл). Объединенные органические слои промывали водой (3 × 200 мл) и солевым раствором (200 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO₂ (25:2 ДХМ/MeOH) с получением указанного соединения в виде бесцветного масла (1,46 г, выход 80%). ЭСИ МС m/z: расщ для C₃₂H₄₈N₃O₆ [M+H]⁺ 570,34, найдено 570,33.

Пример 52. Синтез 2-бензил-13-метил-11,14-диоксо-1-фенил-5,8-диокса-2,12,15-триазанонадекан-19-овой кислоты.



К раствору *трет*-бутил 2-бензил-13-метил-11,14-диоксо-1-фенил-5,8-диокса-2,12,15-триазанонадекан-19-оата (0,057 г, 0,101 ммоль, 1,0 экв.) в ДХМ (3 мл) при комнатной температуре добавляли ТФА (1 мл) и перемешивали в течение 40 минут. Реакционную смесь разбавляли безводным толуолом и затем упаривали. Данную операцию повторяли трижды с получением указанного соединения в виде бесцветного масла (0,052 г, теоретический выход), которое непосредственно использовали на следующей стадии. ЭСИ МС m/z: расщ для C₂₈H₄₀N₃O₆ [M+H]⁺ 514,28, найдено 514,28.

Пример 53. Синтез 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутановой кислоты

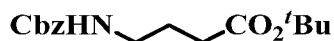


Раствор 4-аминомасляной кислоты (7,5 г, 75 ммоль) и NaOH (6 г, 150 ммоль) в H₂O (40 мл) охлаждали до 0 °С и по каплям обрабатывали раствором CbzCl (16,1 г, 95 ммоль) в ТГФ (32 мл). Через 1 ч реакционную смесь оставляли нагреваться до к. т. и перемешивали в течение 3 ч. ТГФ удаляли в вакууме, доводили pH водного раствора до 1,5 добавлением 6 н. HCl. Экстрагировали этилацетатом и органический слой промывали солевым

раствором, сушили и упаривали с получением указанного соединения (16,4 г, выход 92 %).

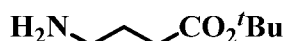
ЭСИ МС m/z расщ для $C_{12}H_{16}NO_5$ $[M+H]^+$ 238,10, найдено 238,08.

Пример 54. Синтез трет-бутил 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутаноата.



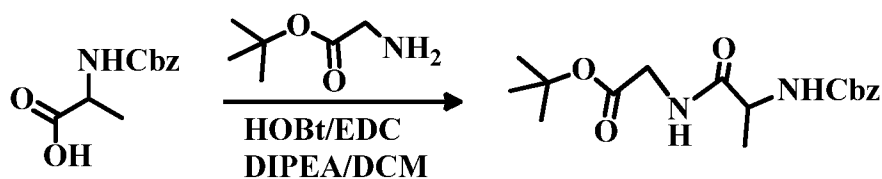
К раствору 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутановой кислоты (16,4 г, 69,2 ммоль) и t -BuOH (15,4 г, 208 ммоль) в ДХМ (100 мл) добавляли ДМАП (0,8 г, 6,56 ммоль) и DCC (17,1 г, 83 ммоль). После перемешивания при к. т. в течение ночи реакционную смесь фильтровали, и фильтрат концентрировали. Остаток растворяли в этилацетате и промывали 1 н. HCl, соляным раствором и сушили над Na_2SO_4 . Концентрирование и очистка с помощью колоночной хроматографии (от 10 до 50% EtOAc/гексаны) позволяла получить указанное в заголовке соединение (7,5 г, выход 37%). МС ЭСИ m/z : рассчитано для $C_{16}H_{23}NO_4\text{Na}$ $[M+\text{Na}]^+$ 316,16, найдено 316,13.

Пример 55. Синтез трет-бутил 4-аминобутаноата.



трет-бутил 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутаноат (560 мг, 1,91 ммоль) растворяли в MeOH (50 мл) и смешивали с катализатором Pd/C (10 мас. %, 100 мг), затем гидрировали (1 атм) при комнатной температуре в течение 3 часов. Катализатор отфильтровывали и все летучие вещества удаляли под вакуумом с получением указанного соединения (272 мг, выход 90%). МС ЭСИ m/z : рассчитано для $C_8H_{18}NO_2$ $[M+H]^+$ 160,13, найдено 160,13.

Пример 56. Синтез трет-бутил 2-((2-(((бензилокси)карбонил)амино)пропанамидо)ацетата.



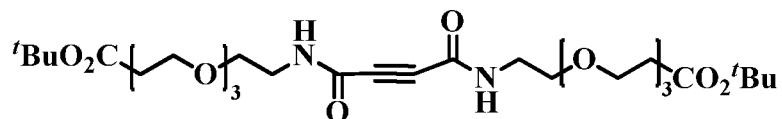
2-(((бензилокси)карбонил)амино)пропионовую кислоту (0,84 г, 5 ммоль), трет-бутил 2-аминоацетат (0,66 г, 5 ммоль), HOBt (0,68 г, 5 ммоль), EDC (1,44 г, 7,5 ммоль) растворяли в ДХМ (20 мл) с последующим добавлением ДИПЭА (1,7 мл, 10 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, промывали H_2O (100 мл) и водный слой экстрагировали EtOAc. Органические слои объединяли, сушили над MgSO_4 , фильтровали, упаривали при пониженном давлении и остаток очищали на колонке SiO_2 с получением указанного соединения 1 (0,87 г, 52%). ЭСИ m/z : рассчитано для $C_{17}H_{25}N_2O_5$ $[M+H]^+$: 337,17, найдено 337,17.

Пример 57. Синтез 2-(2-(((бензилокси)карбонил)амино)пропанамидо)уксусной КИСЛОТЫ.



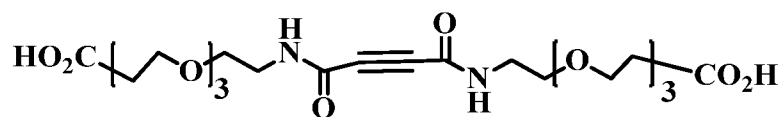
Трет-бутил 2-(2-(((бензилокси)карбонил)амино)пропанамидо)ацетат (0,25 г, 0,74 ммоль) растворяли в ДХМ (30 мл) с последующим добавлением ТФА (10 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, упаривали с получением указанного соединения, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЭСИ m/z: рассчитано для C₁₃H₁₇N₂O₅ [M+H]⁺: 281,11, найдено 281,60.

Пример 58. Синтез ди-*трет*-бутил 14,17-диоксо-4,7,10,21,24,27-гексаокса-13,18-дiazатриаконт-15-ин-1,30-диоата.



Ацетилендикарбоновую кислоту (0,35 г, 3,09 ммоль, 1,0 экв.) растворяли в НМП (10 мл) и охлаждали до 0 °С, затем добавляли трет-бутил 3-(2-(2-(2-аминоэтоксид)этоксид)этоксид) пропаноат (2,06 г, 7,43 ммоль, 2,4 экв.), с последующим добавлением порциями DMTMM (2,39 г, 8,65 ммоль, 2,8 экв.). Реакционную смесь перемешивали при 0 °С в течение 6 ч, а затем разводили этилацетатом и промывали водой и соляным раствором. Органический раствор концентрировали и растирали со смесью растворителей, содержащей этилацетат и петролейный простой эфир. Твердое вещество отфильтровывали, фильтрат концентрировали и очищали с помощью колоночной хроматографии (80–90% ЭА/ППЭ) с получением светло-желтого масла (2,26 г, выход > 100%), которое использовали без дополнительной очистки. МС ЭСИ $m/z[M+H]^+$ 633,30.

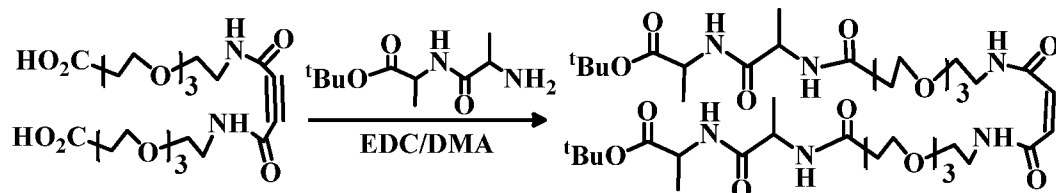
Пример 59. Синтез 14,17-диоксо-4,7,10,21,24,27-гексаокса-13,18-дiazатриаконт-15-ин-1,30-диовой кислоты.



Соединение ди-*трет*-бутил 14,17-диоксо-4,7,10,21,24,27-гексаокса-13,18-дiazатриаконт-15-ин-1,30-диоат (2,26 г) растворяли в дихлорметане (15 мл) и охлаждали до 0 °С, затем обрабатывали ТФА (15 мл). Реакционную смесь нагревали до к. т. и перемешивали в течение 45 мин, а затем удаляли на роторном испарителе растворитель и остаточную ТФК. Неочищенный продукт очищали с помощью колоночной хроматографии

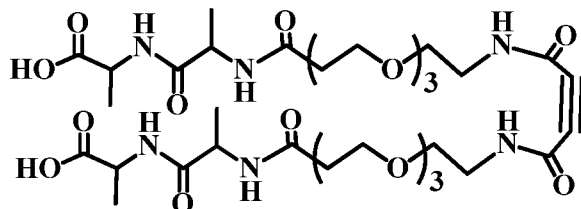
(0–15% MeOH/ДХМ) с получением светло-желтого масла (1,39 г, выход 86% за две стадии). МС ЭСИ m/z $[M+H]^+$ 521,24.

Пример 60. Синтез ди-трет-бутил 2,5,38,41-тетраметил-4,7,20,23,36,39-гексаоксо-10,13,16,27,30,33-гексаокса-3,6,19,24,37,40-гексаазадотетракокт-21-ин-1,42-диоата



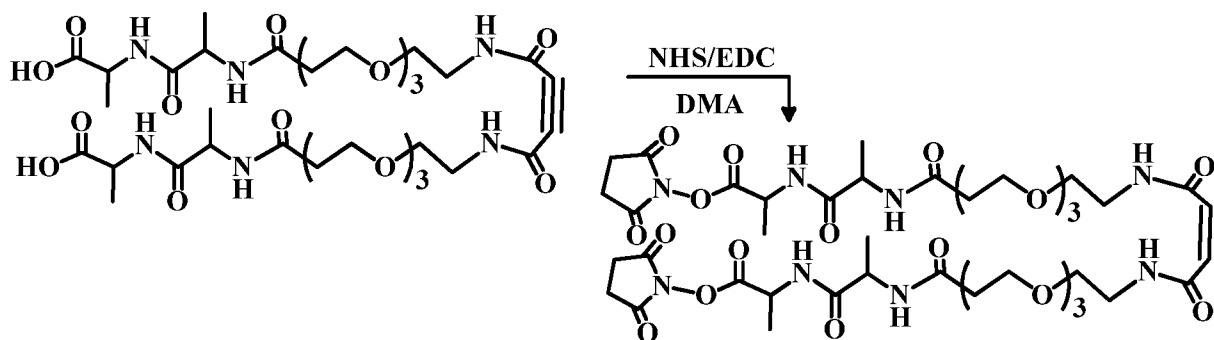
К раствору 14,17-диоксо-4,7,10,21,24,27-гексаокса-13,18-дiazатриаконт-15-ин-1,30-диовой кислоты (1,38 г, 2,65 ммоль), трет-бутил 2-(2-аминопропанамидо)пропаноата (0,75 г, 3,47 ммоль) в смеси ДМАА (40 мл) добавляли EDC (2,05 г, 10,67 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке SiO₂, которую элюировали EtOAc/CH₂Cl₂ (от 1:5 до 1:1) с получением указанного соединения (2,01 г, выход 82%, степень чистоты ~95% по данным ВЭЖХ). МС ЭСИ m/z : рассчитано для C₄₂H₇₃N₆O₁₆ $[M+H]^+$ 917,50, найдено 917,90.

Пример 61. Синтез 2,5,38,41-тетраметил-4,7,20,23,36,39-гексаоксо-10,13,16,27,30,33-гексаокса-3,6,19,24,37,40-гексаазадотетракокт-21-ин-1,42-диовой кислоты



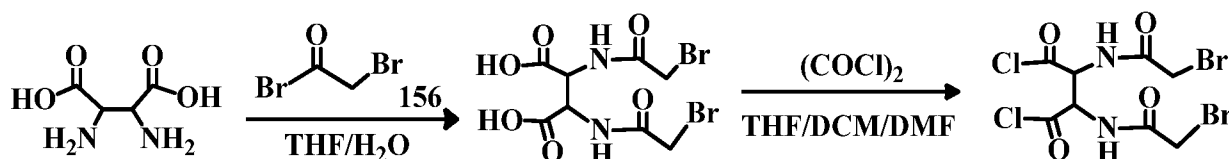
ди-трет-бутил 2,5,38,41-тетраметил-4,7,20,23,36,39-гексаоксо-10,13,16,27,30,33-гексаокса-3,6,19,24,37,40-гексаазадотетракокт-21-ин-1,42-диоат (1,50 г, 1,63 ммоль) растворяли в смеси CH₂Cl₂ (10 мл) и ТФА (10 мл). Смесь перемешивали в течение ночи, разбавляли толуолом (20 мл), упаривали с получением указанного соединения (1,33 г, выход 101%, степень чистоты ~92% по данным ВЭЖХ), которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. МС ЭСИ m/z : рассчитано для C₃₄H₅₆N₆O₁₆ $[M+H]^+$ 805,37, найдено 805,85.

Пример 62. Синтез бис(2,5-диоксопирролидин-1-ил) 2,5,38,41-тетраметил-4,7,20,23,36,39-гексаоксо-10,13,16,27,30,33-гексаокса-3,6,19,24,37,40-гексаазадотетракокт-21-ин-1,42-диоата



К раствору 2,5,38,41-тетраметил-4,7,20,23,36,39-гексаоксо-10,13,16,27,30,33-гексаокса-3,6,19,24,37,40-гексаазадотетракокт-21-ин-1,42-диовой кислоты (1,30 г, 1,61 ммоль) в смеси ДМАА (10 мл) добавляли NHS (0,60 г, 5,21 ммоль) и EDC (1,95 г, 10,15 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке SiO_2 , которую элюировали $\text{EtOAc}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (от 1:4 до 2:1) с получением указанного соединения (1,33 г, выход 83%, степень чистоты ~95% по данным ВЭЖХ). МС ЭСИ m/z : рассчитано для $\text{C}_{42}\text{H}_{63}\text{N}_8\text{O}_{20}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 999,40, найдено 999,95.

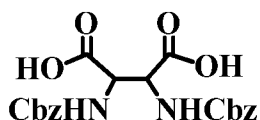
Пример 63. Синтез 2,3-бис(2-бромацетило)сукцинил дихлорида.



К 2,3-диаминоянтарной кислоте (5,00 г, 33,77 ммоль) в смеси ТГФ/ H_2O /ДИПЭА (125 мл/125 мл/8 мл) добавляли 2-бромацетил бромид (25,0 г, 125,09 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 ($\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ 5:95) с получением 2,3-бис(2-бромацетило)янтарной кислоты (9,95 г, выход 76%) в виде светло-желтого масла. МС ЭСИ m/z : рассчитано для $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 388,89, найдено 388,68.

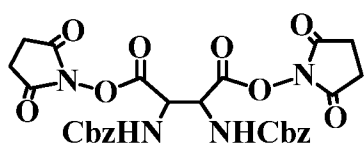
К 2,3-бис(2-бромацетило)янтарной кислоте (3,50 г, 9,02 ммоль) в дихлорметане (80 мл) добавляли оксалил дихлорид (5,80 г, 46,05 ммоль) и ДМФА (0,01 мл). Смесь перемешивали в течение 2,5 часов, разбавляли толуолом, упаривали и совместно упаривали с дихлорэтаном (2 x 20 мл) и толуолом (2 x 15 мл) досуха с получением 2,3-бис(2-бромацетило)сукцинил дихлорида в качестве неочищенного продукта (который нестабилен), который использовали в следующей стадии без дополнительной очистки (3,90 г, выход 102%). ЭСИ МС m/z расщ для $\text{C}_8\text{H}_9\text{Br}_2\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 424,82, найдено 424,90.

Пример 64. Синтез 2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)янтарной кислоты.



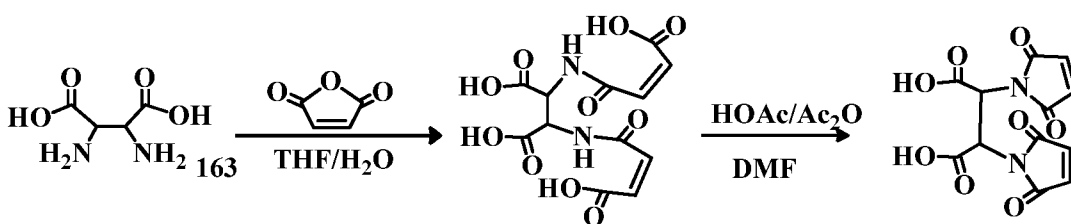
К раствору 2,3-диаминаянтарной кислоты (4,05 г, 27,35 ммоль) в смеси ТГФ (250 мл) и NaH_2PO_4 (0,1 М, 250 мл, pH 8,0) 4 порциями добавляли бензил хлороформат (15,0 г, 88,23 ммоль) в течение 2 часов. Смесь перемешивали еще в течение 6 часов, упаривали и очищали на колонке SiO_2 , которую элюировали смесью $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ (1:9), содержащей 1% муравьиной кислоты, с получением указанного соединения (8,65 г, выход 76%, степень чистоты ~95%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_8$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 417,12, найдено 417,60.

Пример 65. Синтез бис(2,5-диоксопирролидин-1-ил) 2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)сукцината



К раствору 2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)янтарной кислоты (4,25 г, 10,21 ммоль) в смеси ДМАА (70 мл) добавляли NHS (3,60 г, 31,30 ммоль) и EDC (7,05 г, 36,72 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке SiO_2 , которую элюировали $\text{EtOAc}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1:6) с получением указанного соединения (5,42 г, выход 87%, степень чистоты ~95%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для $\text{C}_{28}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_{12}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 611,15, найдено 611,60.

Пример 66. Синтез 2,3-бис(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)янтарной кислоты.

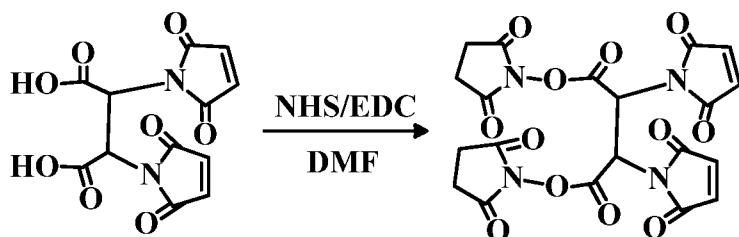


К 2,3-диаминаянтарной кислоте (5,00 г, 33,77 ммоль) в смеси ТГФ/ H_2O /ДИПЭА (125 мл/125 мл/2 мл) добавляли малеиновый ангидрид (6,68 г, 68,21 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали с получением 2,3-бис((Z)-3-карбоксиакриламидо)янтарной кислоты (11,05 г, выход 99%) в виде белого твердого вещества. МС ЭСИ m/z: рассчитано для $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_{10}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 345,05, найдено 345,35.

К 2,3-бис((Z)-3-карбоксиакриламидо)янтарной кислоте (11,05 г, 33,43 ммоль) в смеси растворителей HOAc (70 мл), ДМФА (10 мл) и толуола (50 мл) добавляли уксусный ангидрид (30 мл). Смесь перемешивали в течение 2 часов, кипятили с обратным

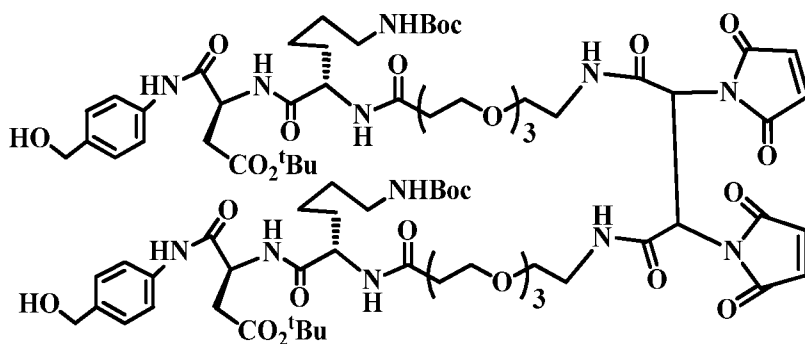
холодильником с *Насадкой Дина*-Старка при 100 оС в течение 6 часов, упаривали, упаривали совместно с EtOH (2 x 40 мл) и толуолом (2 x 40 мл) и очищали на колонке SiO₂, которую элюировали H₂O/CH₃CN (1:10) с получением указанного соединения (7,90 г, выход 76%, степень чистоты ~95%). ЭСИ МС m/z рассч для C₁₂H₉N₂O₈ [M+H]⁺ 309,03, найдено 309,30.

Пример 67. Синтез бис(2,5-диоксопирролидин-1-ил) 2,3-бис(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)сукцината



К раствору 2,3-бис(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)янтарной кислоты (4,00 г, 12,98 ммоль) в смеси ДМФА (70 мл) добавляли NHS (3,60 г, 31,30 ммоль) и EDC (7,05 г, 36,72 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке SiO₂, которую элюировали EtOAc/CH₂Cl₂ (1:6) с получением указанного соединения (5,73 г, выход 88%, степень чистоты ~96% по данным ВЭЖХ). МС ЭСИ m/z: рассчитано для C₂₀H₁₅N₄O₁₂ [M+H]⁺ 503,06, найдено 503,45.

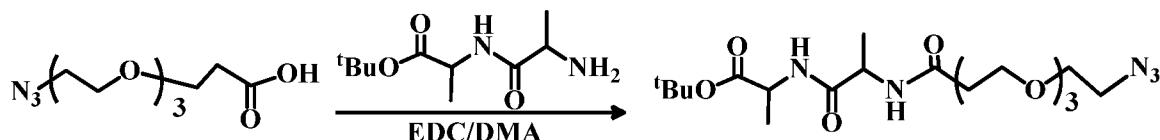
Пример 68. Синтез (3S,6S,39S,42S)-ди-трет-бутил 6,39-бис(4-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-22,23-бис(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)-3,42-бис((4-(гидроксиметил)фенил)карбамоил)-5,8,21,24,37,40-гексаоксо-11,14,17,28,31,34-гексаокса-4,7,20,25,38,41-гексаазатетратетраконтан-1,44-диоата



К (14S,17S)-трет-бутил 1-амино-14-(4-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-17-((4-(гидроксиметил)фенил)карбамоил)-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-дизанонадекан-19-оату (1,43 г, 1,97 ммоль) и 2,3-бис(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)янтарной кислоте (0,30 г, 0,97 ммоль) в ДМАА (25 мл) добавляли EDC (1,30 г, 6,77 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали под вакуумом, очищали на силикагеле с

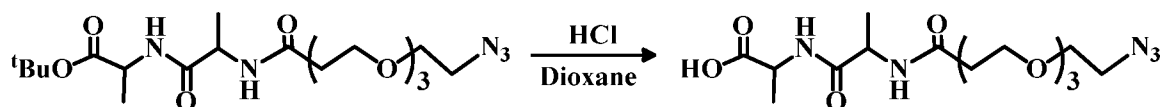
использованием смеси метанола (от 5% до 8%) в метилен хлориде в качестве элюента с получением указанного соединения (1,33 г, выход 80%). ЭСИ МС m/z $C_{82}H_{123}N_{12}O_{28}$ $[M+H]^+$, расщ. 1722,85, найдено 1722,98.

Пример 69. Синтез трет-бутил 1-азидо-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадекан-18-оата



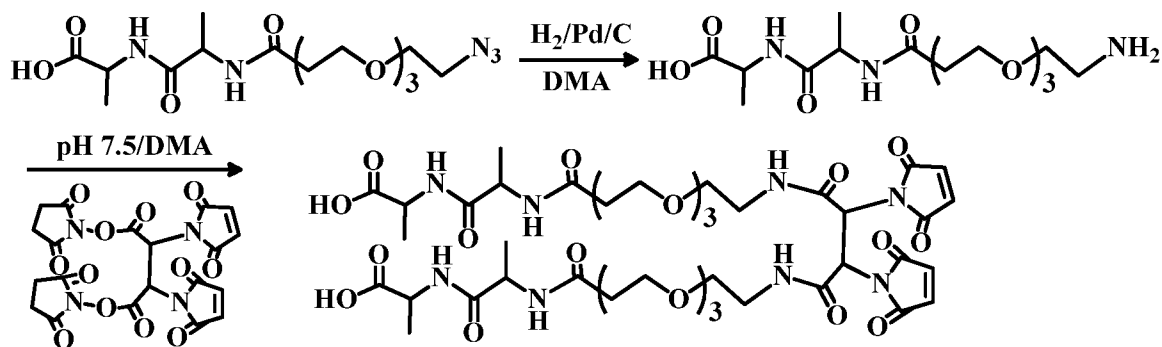
К раствору 3-(2-(2-(2-азидоэтокс)этокс)этокс)пропановой кислоты (1,55 г, 6,27 ммоль), трет-бутил 2-(2-аминопропанамидо)пропаноата (1,35 г, 6,27 ммоль) в смеси ДМАА (60 мл) добавляли EDC (3,05 г, 15,88 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке SiO_2 , которую элюировали $EtOAc/CH_2Cl_2$ (1:3) с получением указанного соединения (2,42 г, выход 86%, степень чистоты ~95% по данным ВЭЖХ). МС ЭСИ m/z : рассчитано для $C_{19}H_{36}N_5O_7$ $[M+H]^+$ 446,25, найдено 446,60.

Пример 70. Синтез 1-азидо-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадекан-18-овой кислоты



К трет-бутил 1-азидо-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадекан-18-оату (2,20 г, 4,94 ммоль) в 1,4-диоксане (40 мл) добавляли HCl (12 М, 10 мл). Смесь перемешивали в течение 40 минут, разбавляли диоксаном (20 мл) и толуолом (40 мл), упаривали и совместно упаривали с диоксаном (20 мл) и толуолом (40 мл) досуха с получением указанного неочищенного продукта, который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки (1,92 г, выход 100%, степень чистоты ~94% по данным ВЭЖХ). МС ЭСИ m/z : рассчитано для $C_{15}H_{28}N_5O_7$ $[M+H]^+$ 390,19, найдено 390,45.

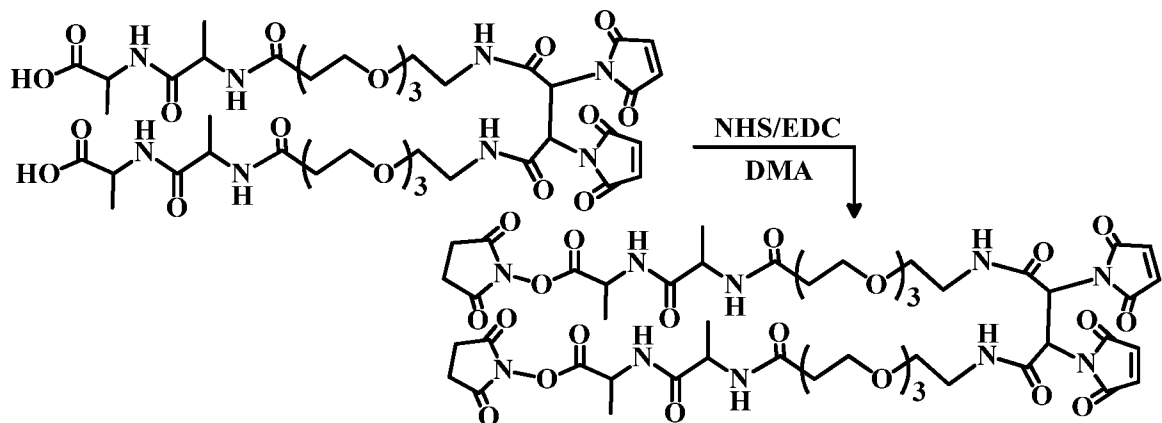
Пример 71. Синтез 21,22-бис(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)-2,5,38,41-тетраметил-4,7,20,23,36,39-гексаоксо-10,13,16,27,30,33-гексаокса-3,6,19,24,37,40-гексаазадотетраконтан-1,42-диовой кислоты.



К 1-азидо-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадекан-18-овой кислоте (1,90 г, 4,88 ммоль) в ДМАА (40 мл) добавляли Pd/C (0,20 г, 50% влаги). Систему вакуумировали и помещали под 2 атм газообразного водорода с использованием реактора гидрирования с энергичным перемешиванием. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 6 часов при комнатной температуре, и ТСХ показала израсходование исходных материалов. Неочищенную реакционную смесь пропускали через тонкий слой целита и промывали этанолом. Растворитель упаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, 1-амино-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадекан-18-овой кислоты в ДМАА, которую непосредственно использовали на следующей стадии. ЭСИ МС m/z + $C_{15}H_{30}N_3O_7$ (M+H), расч. 364,20, найдено 364,30.

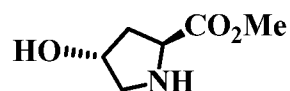
К amino соединению в ДМАА (~30 мл) добавляли 0,1 М NaH_2PO_4 , pH 7,5 (20 мл) с последующим добавлением бис(2,5-диоксопирролидин-1-ил) 2,3-бис(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)сукцината (1,30 г, 2,59 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке SiO_2 , которую элюировали смесью 8% воды в CH_3CN с получением указанного соединения (1,97 г, выход 81%). ЭСИ МС m/z + $C_{42}H_{63}N_8O_{20}$ (M+H), расч. 999,41, найдено 999,95.

Пример 72. Синтез бис(2,5-диоксопирролидин-1-ил) 21,22-бис(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-2,5,38,41-тетраметил-4,7,20,23,36,39-гексаоксо-10,13,16,27,30,33-гексаокса-3,6,19,24,37,40-гексаазадотетраконтан-1,42-диоата



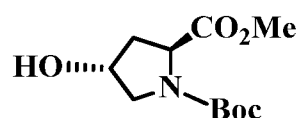
К раствору 21,22-бис(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-2,5,38,41-тетраметил-4,7,20,23,36,39-гексаоксо-10,13,16,27,30,33-гексаокса-3,6,19,24,37,40-гексаазадотетраконтан-1,42-диовой кислоты (1,50 г, 1,50 ммоль) в смеси ДМАА (10 мл) добавляли NHS (0,60 г, 5,21 ммоль) и EDC (1,95 г, 10,15 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке SiO₂, которую элюировали EtOAc/CH₂Cl₂ (от 1:4 до 2:1) с получением указанного соединения (1,50 г, выход 83%, степень чистоты ~95% по данным ВЭЖХ). МС ЭСИ m/z: рассчитано для C₅₀H₆₉N₁₀O₂₄ [M+H]⁺ 1193,44, найдено 1193,95.

Пример 73. Синтез (2S,4R)-метил 4-гидроксипирролидин-2-карбоксилат гидрохлорида.



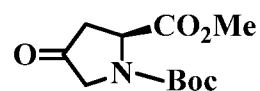
К раствору транс-4-гидрокси-L-пролина (15,0 г, 114,3 ммоль) в сухом метаноле (250 мл) при 0-4 °С по каплям добавляли тионилхлорид (17 мл, 231 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, упаривали, кристаллизовали с EtOH/гексаном с получением указанного соединения (18,0 г, выход 87%). ЭСИ МС m/z 168,2 ([M+Na]⁺).

Пример 74. Синтез (2S,4R)-1-*трет*-бутил 2-метил 4-гидроксипирролидин-1,2-дикарбоксилата.



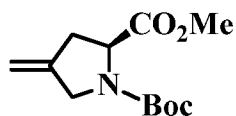
К раствору метилового эфира транс-4-гидрокси-L-пролина (18,0 г, 107,0 ммоль) в смеси MeOH (150 мл) и раствора гидрокарбоната натрия (2,0 М, 350 мл) тремя порциями добавляли Boc₂O (30,0 г, 137,6 ммоль) в течение 4 часов. После дополнительного перемешивания в течение 4 часов, реакционную смесь упаривали до ~350 мл и экстрагировали EtOAc (4 × 80 мл). Объединенные органические слои промывали соевым раствором (100 мл), сушили (MgSO₄), фильтровали, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO₂ (1:1 гексан/EtOAc) с получением указанного соединения (22,54 г, выход 86%). ЭСИ МС m/z 268,2 ([M+Na]⁺).

Пример 75. Синтез (S)-1-*трет*-бутил 2-метил 4-оксопирролидин-1,2-дикарбоксилата.



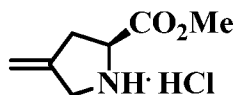
Указанное соединение получали окислением Десса-Мартина, описанным в: Franco Manfre et al. J. Org. Chem. 1992, 57, 2060-2065. В качестве альтернативы методика окисления по Сверну приведена ниже: К раствору $(\text{COCl})_2$ (13,0 мл, 74,38 ммоль) в CH_2Cl_2 (350 мл), охлажденному до -78°C добавляли сухой ДМСО (26,0 мл). Раствор перемешивали при -78°C в течение 15 минут и затем добавляли (2S,4R)-1-*трет*-бутил 2-метил 4-гидроксипирролидин-1,2-дикарбоксилат (8,0 г, 32,63 ммоль) в CH_2Cl_2 (100 мл). После перемешивания при -78°C в течение 2 часов по каплям добавляли триэтиламин (50 мл, 180,3 ммоль) и реакционный раствор нагревали до комнатной температуры. Смесь разбавляли водным раствором NaH_2PO_4 (1,0 М, 400 мл) и фазы разделяли. Водный слой экстрагировали CH_2Cl_2 (2 x 60 мл). Органические слои объединяли, сушили над MgSO_4 , фильтровали, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (7:3 гексан/ EtOAc) с получением указанного соединения (6,73 г, выход 85%). ЭСИ MS m/z 266,2 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$).

Пример 76. Синтез (S)-1-*трет*-бутил 2-метил 4-метиленпирролидин-1,2-дикарбоксилата.



К суспензии метилтрифенилфосфоний бромида (19,62 г, 55,11 ммоль) в ТГФ (150 мл) при 0°C добавляли *трет*-бутоксид калия (6,20 г, 55,30 ммоль) в безводном ТГФ (80 мл). После перемешивания при 0°C в течение 2 часов полученный желтый илид добавляли к раствору (S)-1-*трет*-бутил 2-метил 4-оксопирролидин-1,2-дикарбоксилата (6,70 г, 27,55 ммоль) в ТГФ (40 мл). После перемешивания при комнатной температуре в течение 1 часа реакционную смесь упаривали, разбавляли EtOAc (200 мл), промывали H_2O (150 мл), солевым раствором (150 мл), сушили над MgSO_4 , упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (9:1 гексан/ EtOAc) с получением указанного соединения (5,77 г, выход 87%). ЭИ MS m/z 264 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$).

Пример 77. Синтез (S)-метил 4-метиленпирролидин-2-карбоксилат гидрохлорида.



К раствору (S)-1-*трет*-бутил 2-метил 4-метиленпирролидин-1,2-дикарбоксилата (5,70 г, 23,63 ммоль) в EtOAc (40 мл) при 4°C добавляли HCl (12 М, 10 мл). Смесь перемешивали в течение 1 часа, разбавляли толуолом (50 мл), упаривали, и

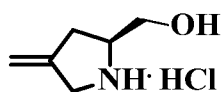
кристаллизовали с EtOH/гексаном с получением указанного соединения в виде соли HCl (3,85 г, выход 92%). ЭСИ МС m/z 142,2 ($[M+H]^+$).

Пример 78. Синтез (S)-трет-бутил 2-(гидроксиметил)-4-метиленпирролидин-1-карбоксилата.



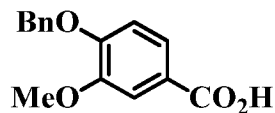
К раствору (S)-1-трет-бутил 2-метил 4-метиленпирролидин-1,2-дикарбоксилата. (5,20 г, 21,56 ммоль) в безводном ТГФ (100 мл) при 0 °С добавляли LiAlH₄ (15 мл, 2 М в ТГФ). После перемешивания при 0 °С в течение 4 часов реакцию гасили добавлением метанола (5 мл) и воды (20 мл). Реакционную смесь нейтрализовали 1 М HCl до pH 7, разбавляли EtOAc (80 мл), фильтровали через целит, отделяли и водный слой экстрагировали EtOAc. Органические слои объединяли, сушили над Na₂SO₄, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO₂ (1:5 EtOAc/ДХМ) с получением указанного соединения (3,77 г, выход 82%). ЭИ MS m/z 236,40 ($[M+Na]^+$).

Пример 79. Синтез (S)-(4-метиленпирролидин-2-ил)метанол гидрохлорида.



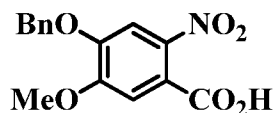
К раствору (S)-трет-бутил 2-(гидроксиметил)-4-метиленпирролидин-1-карбоксилата (3,70 г, 17,36 ммоль) в EtOAc (30 мл) при 4 °С добавляли HCl (12 М, 10 мл). Смесь перемешивали в течение 1 часа, разбавляли толуолом (50 мл), упаривали, и кристаллизовали с EtOH/гексаном с получением указанного соединения в виде соли HCl (2,43 г, выход 94%). ЭСИ МС m/z 115,1 ($[M+H]^+$).

Пример 80. Синтез 4-(бензилокси)-3-метоксибензойной кислоты.



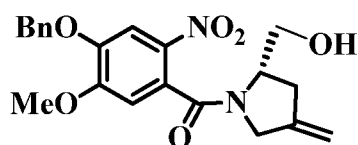
К смеси 4-гидрокси-3-метоксибензойной кислоты (50,0 г, 297,5 ммоль) в этаноле (350 мл) и водн. растворе NaOH (2,0 М, 350 мл) добавляли BnBr (140,0 г, 823,5 ммоль). Смесь перемешивали при 65 °С в течение 8 часов, упаривали, совместно упаривали с водой (2 × 400 мл) и упаривали до ~400 мл, подкисляли до pH 3,0 6 Н HCl. Твердое вещество собирали фильтрованием, кристаллизовали с EtOH, сушили при 45 °С под вакуумом с получением указанного соединения (63,6 г, выход 83%). ЭСИ МС m/z 281,2 ($[M+Na]^+$).

Пример 81. Синтез 4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитробензойной кислоты.



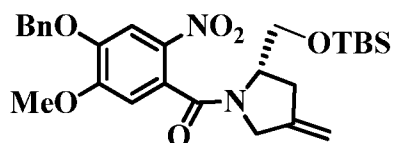
К раствору 4-(бензилокси)-3-метоксибензойной кислоты (63,5 г, 246,0 ммоль) в CH_2Cl_2 (400 мл) и HOAc (100 мл) добавляли HNO_3 (дымящая, 25,0 мл, 528,5 ммоль). смесь перемешивали в течение 6 часов, упаривали, кристаллизовали с EtOH , сушили при 40 °С под вакуумом с получением указанного соединения (63,3 г, выход 85%). ЭСИ МС m/z 326,1 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$).

Пример 82. Синтез (S)-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитрофенил)(2-(гидроксиметил)-4-метиленипирролидин-1-ил)метанона.



Каталитическое количество ДМФА (30 мкл) добавляли к раствору 4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитробензойной кислоты (2,70 г, 8,91 ммоль) и оксалил хлорида (2,0 мл, 22,50 ммоль) в безводном CH_2Cl_2 (70 мл) и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Избыток CH_2Cl_2 и оксалил хлорида удаляли на роторном испарителе. Ацетил хлорид ресуспендировали в свежем CH_2Cl_2 (70 мл) и медленно добавляли к предварительно смешанному раствору гидрохлоридной соли (S)-(4-метиленипирролидин-2-ил)метанола (1,32 г, 8,91 ммоль) и Et_3N (6 мл) в CH_2Cl_2 при 0 °С в атмосфере N_2 . Реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивание продолжали в течение 8 часов. После удаления CH_2Cl_2 и Et_3N , остаток распределяли между H_2O и EtOAc (70/70 мл). Водный слой дополнительно экстрагировали EtOAc (2 x 60 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (40 мл), сушили (MgSO_4) и упаривали. Очистка остатка флэш-хроматографией (силикагель, 2:8 гексан/ EtOAc) приводила к указанному соединению (2,80 г, выход 79%). ЭИ МС m/z 421,2 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$).

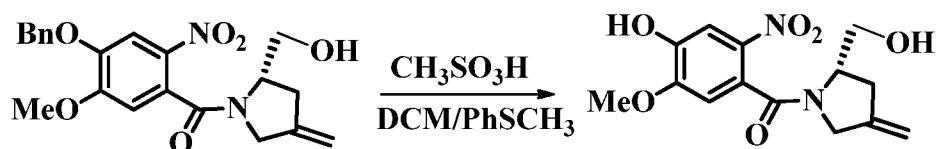
Пример 83. Синтез (S)-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитрофенил)(2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)-4-метиленипирролидин-1-ил)метанона.



К (S)-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитрофенил)(2-(гидроксиметил)-4-метиленипирролидин-1-ил)метанону (2,78 г, 8,52 ммоль) в смеси ДХМ (10 мл) и пиридина

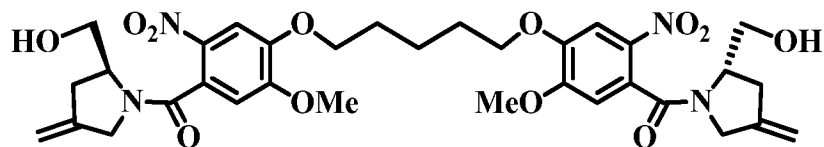
(10 мл) добавляли трет-бутилхлордиметилсилан (2,50 г, 16,66 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке SiO₂, которую элюировали EtOAc/CH₂Cl₂ (1:6) с получением указанного соединения (3,62 г, выход 83%, степень чистоты ~95%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для C₂₇H₃₇N₂O₆Si [M+H]⁺ 513,23, найдено 513,65.

Пример 84. Синтез (S)-(4-(4-бензилокси-5-метокси-2-нитрофенил)(2-(гидроксиметил)-4-метиленипирролидин-1-ил)метанона.



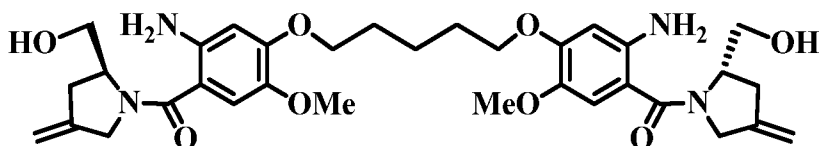
К (S)-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитрофенил)(2-(гидроксиметил)-4-метиленипирролидин-1-ил)метанону (2,80 г, 7,03 ммоль) в смеси ДХМ (30 мл) и CH₃SO₃H (8 мл) добавляли PhSCH₃ (2,00 г, 14,06 ммоль). Смесь перемешивали в течение 0,5 часа, разбавляли ДХМ (40 мл), нейтрализовали аккуратным добавлением 0,1 М раствора Na₂CO₃. Смесь разделяли и водный раствор экстрагировали ДХМ (2 × 10 мл). Органические слои объединяли, сушили над Na₂SO₄, упаривали и очищали на колонке SiO₂, которую элюировали MeOH/CH₂Cl₂ (от 1:15 до 1:6) с получением указанного соединения (1,84 г, выход 85%, степень чистоты ~95%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для C₁₄H₁₇N₂O₆ [M+H]⁺ 309,10, найдено 309,30.

Пример 85. Синтез (S)-((пентан-1,5-диилбис(окси))бис(5-метокси-2-нитро-4,1-фенилен))бис(((S)-2-(гидроксиметил)-4-метиленипирролидин-1-ил)метанона)



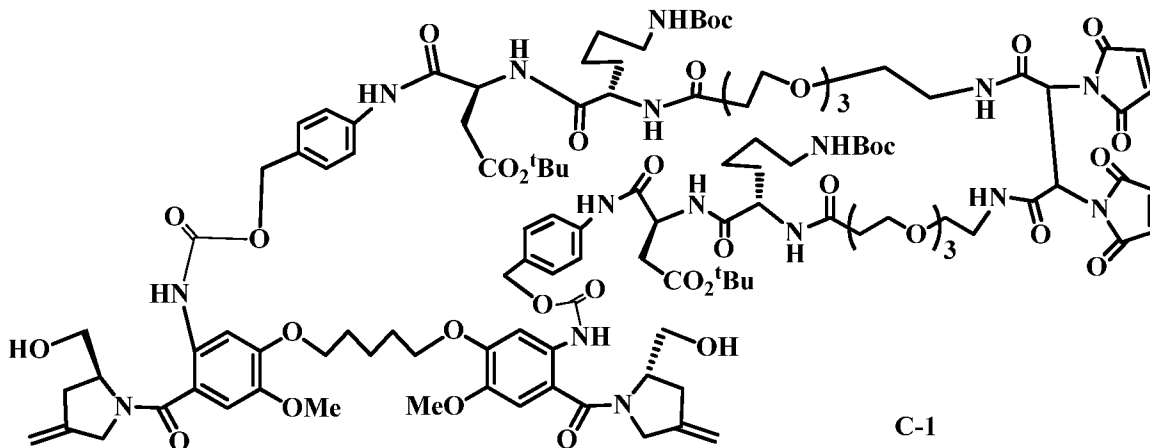
К (S)-(4-гидрокси-5-метокси-2-нитрофенил)(2-(гидроксиметил)-4-метиленипирролидин-1-ил)метанону (0,801 г, 2,60 ммоль) в бутаноне (10 мл) добавляли Cs₂CO₃ (2,50 г, 7,67 ммоль) с последующим добавлением 1,5-дийодпентана (415 мг, 1,28 ммоль). Смесь перемешивали в течение 26 часов, упаривали и очищали на колонке SiO₂, которую элюировали MeOH/CH₂Cl₂ (от 1:15 до 1:5) с получением указанного соединения (0,675 г, выход 77%, степень чистоты ~95%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для C₃₃H₄₁N₄O₁₂ [M+H]⁺ 685,26, найдено 685,60.

Пример 86. Синтез (S)-((пентан-1,5-диилбис(окси))бис(2-амино-5-метокси-4,1-фенилен))бис(((S)-2-(гидроксиметил)-4-метиленипирролидин-1-ил)метанона)



К (S)-((пентан-1,5-диилбис(окси))бис(5-метокси-2-нитро-4,1-фенилен))бис(((S)-2-(гидроксиметил)-4-метиленипирролидин-1-ил)метанону) (0,670 г, 0,98 ммоль) в CH_3OH (10 мл) добавляли $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (1,01 г, 5,80 ммоль) в H_2O (8 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 часов. Реакционную смесь упаривали и совместно упаривали с ДМАА (2×10 мл) и EtOH (2×10 мл) под высоким вакуумом досуха с получением указанного соединения (общая масса 1,63 г), содержащего неорганические соли, которое непосредственно использовали в реакции следующей стадии (без дополнительной очистки). ЭСИ МС m/z 647,32 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$).

Пример 87. Синтез С-1 (аналог димера PBD, имеющий бис-линкер).



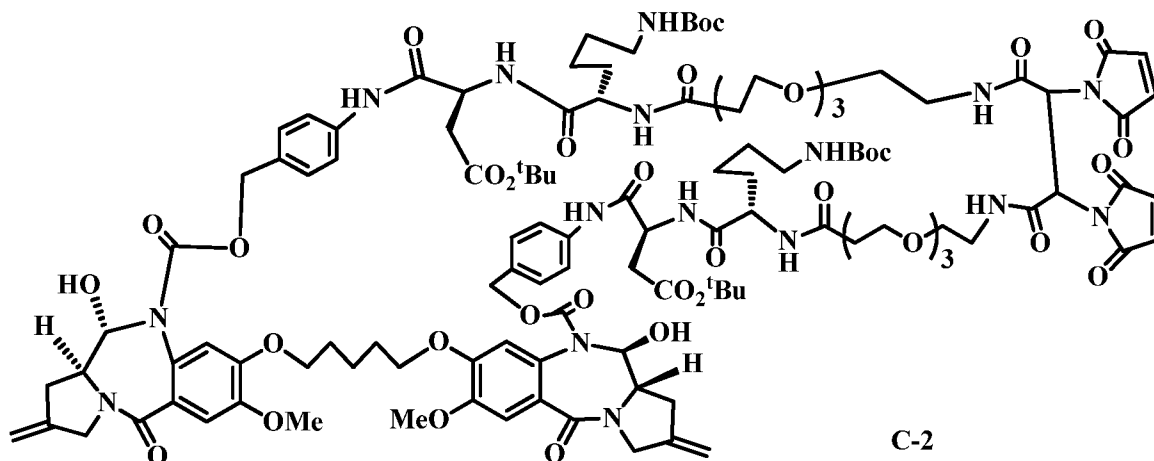
К (3S,6S,39S,42S)-ди-трет-бутил 6,39-бис(4-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-22,23-бис(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-3,42-бис((4-(гидроксиметил)фенил)карбамоил)-5,8,21,24,37,40-гексаоксо-11,14,17,28,31,34-гексаокса-4,7,20,25,38,41-гексаазатетратетраконтан-1,44-диоату (0,840 г, 0,488 ммоль) в ТГФ (8 мл) содержащем пиридин (0,100 мл, 1,24 ммоль) при 0 °С добавляли по каплям раствор трифосгена (0,290 мг, 0,977 ммоль) в ТГФ (3,0 мл). Реакционную смесь перемешивали при 0 °С в течение 15 минут, затем использовали непосредственно на следующей стадии.

(S)-((пентан-1,5-диилбис(окси))бис(2-амино-5-метокси-4,1-фенилен))бис(((S)-2-(гидроксиметил)-4-метиленипирролидин-1-ил)метанон), содержащий неорганические соли (0,842 мг, ~0,49 ммоль) суспендировали в EtOH (10 мл) и при 0 °С добавляли трихлорид, полученный выше, в ТГФ. Смесь перемешивали при 0 °С в течение 4 часов, затем нагревали до комнатной температуры в течение 1 часа, упаривали и очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (L) мм x 10(d) мм, колонка C_{18} , 10-80% ацетонитрил/вода в течение 40 минут,

$v = 8$ мл/мин) с получением указанного соединения (561,1 мг, выход 48% за три стадии).

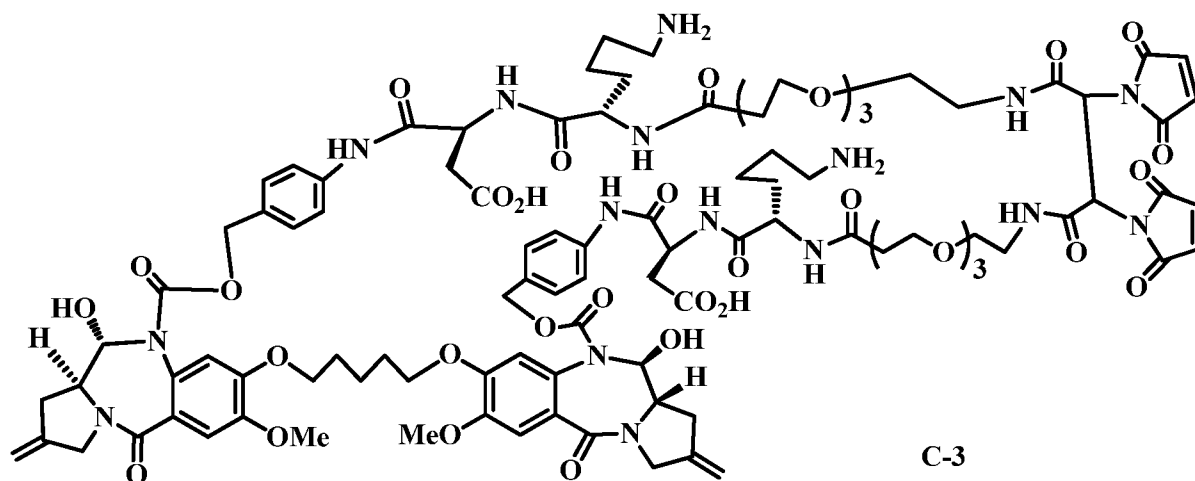
ЭСИ МС m/z : расщ для $C_{117}H_{163}N_{16}O_{38}$ $[M+H]^+$ 2400,12, найдено 2400,90.

Пример 88. Синтез С-2 (аналог димера PBD, имеющий бис-линкер).



Периодинан Десса-Мартина (138,0 мг, 0,329 ммоль) добавляли к раствору соединения **C-1** (132,0 мг, 0,055 ммоль) в ДХМ (5,0 мл) при 0 °С. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 часов. Затем добавляли насыщенный раствор $NaHCO_3/Na_2SO_3$ (5,0 мл/5,0 мл) и смесь экстрагировали ДХМ (3 × 25 мл). Объединенные органические слои промывали $NaHCO_3/Na_2SO_3$ (5,0 мл/5,0 мл), соевым раствором (10 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали, упаривали и очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (L) мм × 10(d) мм, колонка C_{18} , 10-80% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, $v = 8$ мл/мин) с получением указанного соединения (103,1 мг, выход 78%) в виде пены. ЭСИ МС m/z : расщ для $C_{117}H_{158}N_{16}O_{38}$ $[M+H]^+$ 2396,09, найдено 2396,65.

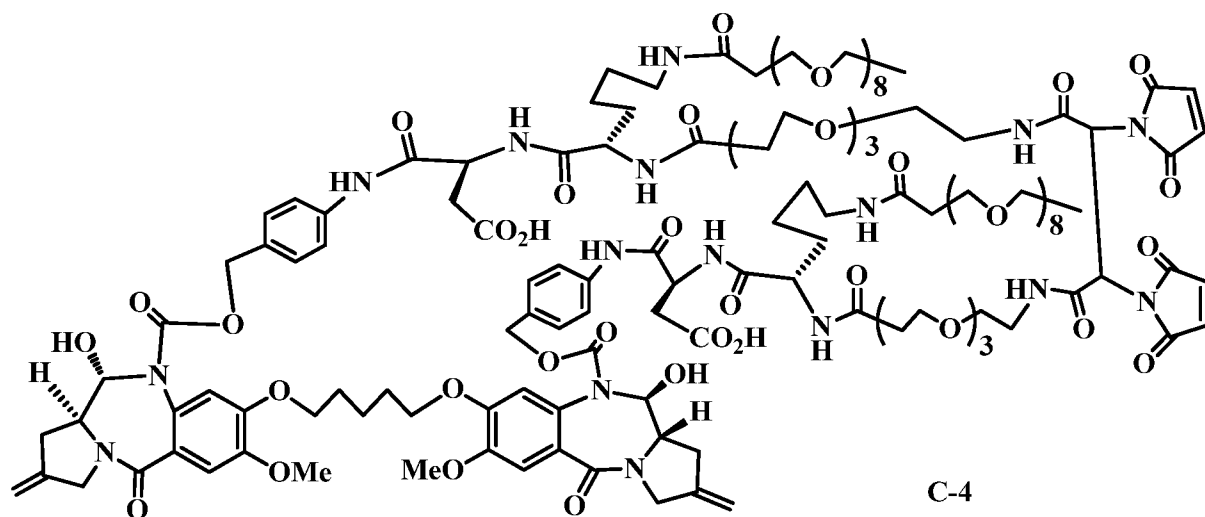
Пример 89. Синтез С-3 (аналог димера PBD, имеющий бис-линкер).



Соединение **C-2** (55,0 мг, 0,023 ммоль) растворяли в ДХМ (3 мл) с последующим добавлением ТФА (3 мл) при 4 °С. Реакционную смесь затем перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, затем упаривали и совместно упаривали с ДХМ/толуолом

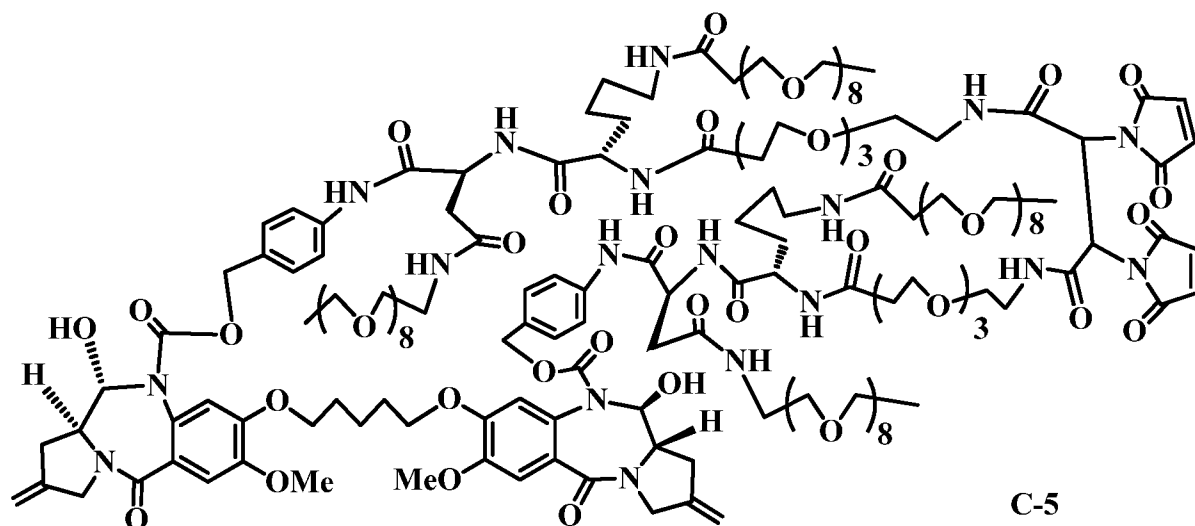
досуха с получением неочищенного продукта С-3 (48,0 мг, выход 100%, степень чистоты 92% по данным ВЭЖХ), который дополнительно очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (L) мм x 20(d) мм, колонка C₁₈, 5-60% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, $v = 8$ мл/мин) с получением чистого продукта С-3 (42,1 мг, выход 88%, степень чистоты 96%) в виде пены. ЭСИ МС m/z: расщ для C₉₉H₁₂₆N₁₆O₃₄ [M+H]⁺ 2083,86, найдено 2084,35.

Пример 90. Синтез С-4 (аналог димера РВD, имеющий бис-линкер).



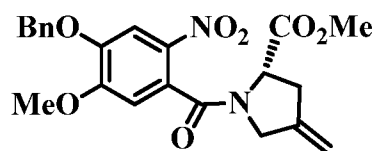
Соединение С-3 (35,0 мг, 0,017 ммоль) растворяли в смеси растворителей ТГФ (3 мл) и 0,1 М, NaH₂PO₄ (3 мл), рН 7,5, с последующим добавлением N-сукцинимидил 2,5,8,11,14,17,20,23-октаоксагексакозан-26-оата (43,0 мг, 0,084 ммоль) 4 порциями в течение 2 часов. Затем реакционную смесь продолжали перемешивать при комнатной температуре в течение 4 часов и совместно упаривали с ДМФА (10 мл) досуха с получением неочищенного продукта С-4, который дополнительно очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (L) мм x 20(d) мм, колонка C₁₈, 20-60% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, $v = 8$ мл/мин) с получением чистого продукта **С-4** (39,4 мг, выход 81%, степень чистоты 96%) в виде пены. ЭСИ МС m/z: расщ для C₁₃₅H₁₉₅N₁₆O₅₂ [M+H]⁺ 2872,30, найдено 2871,65.

Пример 91. Синтез С-5 (аналог димера РВD, имеющий бис-линкер).



К раствору соединения C-4 (35,0 мг, 0,012 ммоль) и 2,5,8,11,14,17,20,23-октаоксапентакозан-25-амина (15,1 мг, 0,0394 ммоль) в сухом ДМАА (2 мл) добавляли EDC (30,0 мг, 0,156 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 14 часов, упаривали и очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (L) мм x 20(d) мм, колонка C₁₈, 20-60% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, $v = 8$ мл/мин) с получением чистого продукта **C-5** (31,2 мг, выход 77%, степень чистоты 97% по данным ВЭЖХ) в виде пены. ЭСИ MS m/z : расчч для C₁₆₁H₂₄₉N₁₈O₆₂ [M+H]⁺ 3426,68, найдено 3427,21.

Пример 92. Синтез (S)-метил 1-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитробензоил)-4-метиленипирролидин-2-карбоксилата.



Каталитическое количество ДМФА (30 мкл) добавляли к раствору 4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитробензойной кислоты (2,70 г, 8,91 ммоль) и оксалил хлорида (2,0 мл, 22,50 ммоль) в безводном CH₂Cl₂ (70 мл) и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Избыток CH₂Cl₂ и оксалил хлорида удаляли на роторном испарителе. Ацетил хлорид ресуспендировали в свежем CH₂Cl₂ (70 мл) и медленно добавляли к предварительно смешанному раствору (S)-метил 4-метиленипирролидин-2-карбоксилат гидрохлорида (1,58 г, 8,91 ммоль) и Et₃N (6 мл) в CH₂Cl₂ при 0 °C в атмосфере N₂. Реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивание продолжали в течение 8 часов. После удаления CH₂Cl₂ и Et₃N, остаток распределяли между H₂O и EtOAc (70/70 мл). Водный слой дополнительно экстрагировали EtOAc (2 x 60 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (40 мл), сушили (MgSO₄)

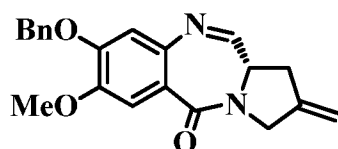
и упаривали. Очистка остатка флэш-хроматографией (силикагель, 2:8 гексан/EtOAc) приводила к указанному соединению (2,88 г, выход 76%). ЭИ MS m/z 449,1 ($[M+Na]^+$).

Пример 93. Синтез (S)-1-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитробензоил)-4-метиленипирролидин-2-карбальдегида.



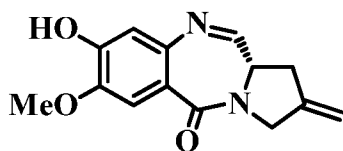
К энергично перемешиваемому раствору (S)-метил 1-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитробензоил)-4-метиленипирролидин-2-карбоксилата (2,80 г, 6,57 ммоль) в безводном CH_2Cl_2 (60 мл) по каплям добавляли DIBAL-H (1 Н в CH_2Cl_2 , 10 мл) при $-78^\circ C$ в атмосфере N_2 . После дополнительного перемешивания смеси в течение 90 минут избыток реагента разложили добавлением 2 мл метанола с последующим добавлением 5% HCl (10 мл). Полученной смеси давали нагреться до $0^\circ C$. Слои разделяли и водный слой дополнительно экстрагировали CH_2Cl_2 (3×50 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором, сушили ($MgSO_4$) и упаривали. Очистка остатка флэш-хроматографией (силикагель, 95:5 $CHCl_3/MeOH$) приводила к указанному соединению (2,19 г, выход 84%). ЭСИ MS m/z 419,1 ($[M+Na]^+$).

Пример 94. Синтез (S)-8-(бензилокси)-7-метокси-2-метилен-2,3-дигидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a]азепин-5(11aH)-она.



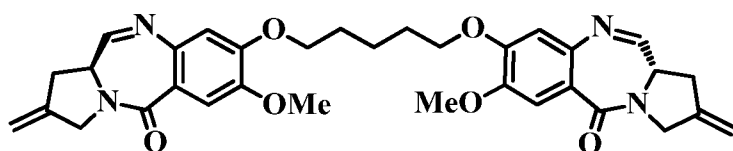
Смесь (S)-1-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитробензоил)-4-метиленипирролидин-2-карбальдегида (2,18 г, 5,50 ммоль) и $Na_2S_2O_4$ (8,0 г, 45,97 ммоль) в ТГФ (60 мл) и H_2O (40 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 20 часов. Растворители удаляли под высоким вакуумом. Остаток ресуспендировали в MeOH (60 мл) и по каплям добавляли HCl (6 M) до достижения pH ~ 2. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Реакционную смесь промывали путем удаления большей части MeOH, затем разбавления EtOAc (100 мл). Раствор EtOAc промывали нас. раствором $NaHCO_3$, солевым раствором, сушили ($MgSO_4$) и упаривали. Очистка остатка флэш-хроматографией (силикагель, 97:3 $CHCl_3/MeOH$) приводила к указанному соединению (1,52 г, выход 80%). ЭСИ MS m/z 372,1 ($[M+Na]^+$).

Пример 95. Синтез (S)-8-гидрокси-7-метокси-2-метилен-2,3-дигидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a]азепин-5(11aH)-она.



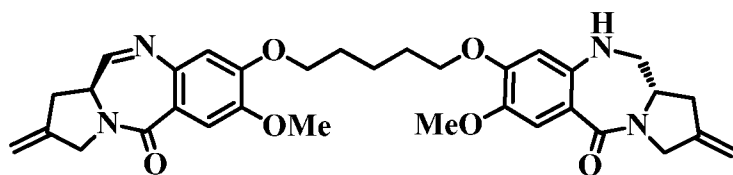
К раствору (S)-8-(бензилокси)-7-метокси-2-метилен-2,3-дигидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-а]азепин-5(11aH)-она (1,50 г, 4,32 ммоль) в 70 мл CH_2Cl_2 при 0 °C добавляли 25 мл $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$. Смесь перемешивали при 0 °C в течение 10 минут, затем при комнатной температуре в течение 2 часов, разбавляли CH_2Cl_2 , доводили pH до 4 холодным 1,0 Н NaHCO_3 и фильтровали. Водный слой экстрагировали CH_2Cl_2 (3 x 60 мл). Органические слои объединяли, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 ($\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1:15) с получением 811 мг (выход 73%) указанного продукта. ЭСИ МС m/z 281,1 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$).

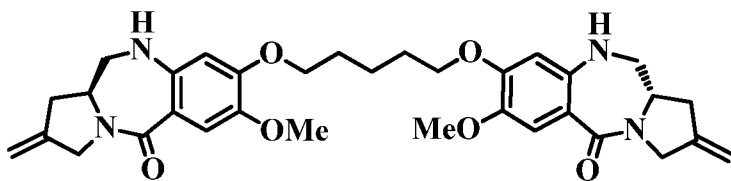
Пример 96. Синтез (11aS,11a'S)-8,8'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(7-метокси-2-метилен-2,3-дигидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-5(11aH)-она).



К перемешиваемому суспендированному раствору Cs_2CO_3 (0,761 г, 2,33 ммоль) в бутаноне (8 мл) добавляли (S)-8-гидрокси-7-метокси-2-метилен-2,3-дигидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-а]азепин-5(11aH)-он (401 мг, 1,55 ммоль) и 1,5-дийодпентан (240 мг, 0,740 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 ($\text{EtOAc}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1:10) с получением 337 мг (выход 78%) указанного продукта. ЭСИ МС m/z 607,2 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$).

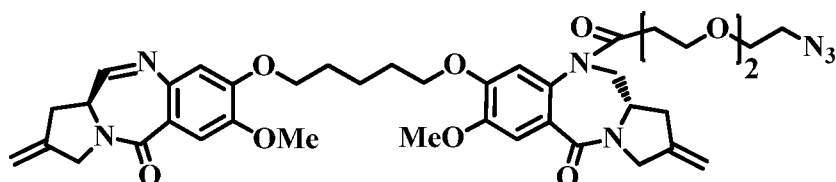
Пример 97. Синтез (S)-7-метокси-8-((5-(((S)-7-метокси-2-метилен-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пентил)окси)-2-метилен-2,3-дигидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-5(11aH)-она и (11aS,11a'S)-8,8'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(7-метокси-2-метилен-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-5(10H)-она)





К раствору (11aS,11a'S)-8,8'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(7-метокси-2-метилден-2,3-дигидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-5(11aH)-она) (150 мг, 0,256 ммоль) в безводном дихлорметане (1 мл) и абсолютном этаноле (1,5 мл) при 0 °С добавляли боргидрид натрия в метоксиэтиловом эфире (85 мкл, 0,5 М, 0,042 ммоль). Ледяную баню удаляли спустя 5 минут и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов, затем охлаждали до 0 °С, гасили насыщенным раствором хлорида аммония, разбавляли дихлорметаном и фазы разделяли. Органический слой промывали солевым раствором, сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали через целит и упаривали. Остаток очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (колонка C₁₈, ацетонитрил/вода). Соответствующие фракции экстрагировали дихлорметаном и упаривали с получением наполовину восстановленного соединения, (S)-7-метокси-8-((5-(((S)-7-метокси-2-метилден-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пентил)окси)-2-метилден-2,3-дигидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-5(11aH)-она (64,7 мг, 43%), МС m/z 609,2 ([M+Na]⁺), 625,3 ([M+K]⁺) и 627,2 ([M+Na+H₂O]⁺); полностью восстановленного соединения, (11aS,11a'S)-8,8'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(7-метокси-2-метилден-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-5(10H)-она) (16,5 мг, 11%), МС m/z 611,2 ([M+Na]⁺), 627,2 ([M+K]⁺), 629,2 ([M+Na+H₂O]⁺); и также выделяли непрореагировавший исходный материал (10,2 мг, 7%), МС m/z 607,2 ([M+Na]⁺), 625,2 ([M+Na+H₂O]⁺).

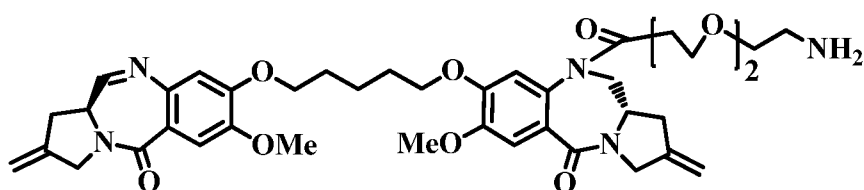
Пример 98. Синтез (S)-8-((5-(((S)-10-(3-(2-(2-азидоэтокс)этокс)пропаноил)-7-метокси-2-метилден-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пентил)окси)-7-метокси-2-метилден-2,3-дигидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-5(11aH)-она.



К смеси (S)-7-метокси-8-((5-(((S)-7-метокси-2-метилден-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пентил)окси)-2-метилден-2,3-дигидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-5(11aH)-она (60,0 мг, 0,102 ммоль) и

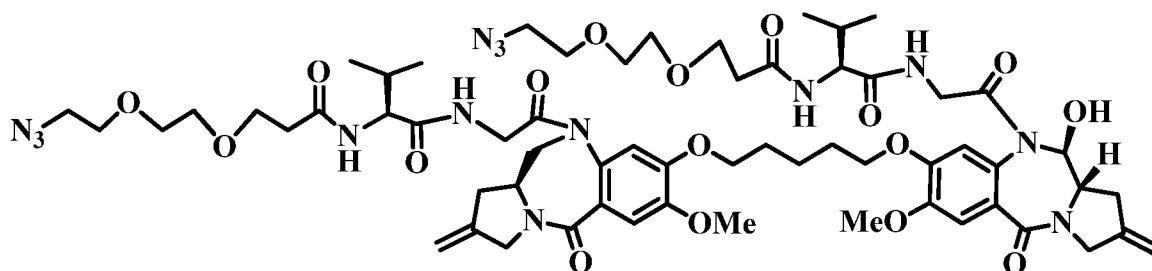
2,5-диоксопирролидин-1-ил 3-(2-(2-азидоэтокси)этокси)пропаноата (40,5 мг, 0,134 ммоль) в дихлорметане (5 мл) добавляли EDC (100,5 мг, 0,520 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO₂ (EtOAc/CH₂Cl₂, 1:6) с получением 63,1 мг (выход 81%) указанного продукта. ЭСИ МС m/z C₄₀H₅₀N₇O₉ [M+H]⁺, расщ. 772,36, найдено 772,30.

Пример 99. Синтез (S)-8-((5-(((S)-10-(3-(2-(2-аминоэтокси)этокси)пропаноил)-7-метокси-2-метилден-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пентил)окси)-7-метокси-2-метилден-2,3-дигидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-5(11aH)-она.



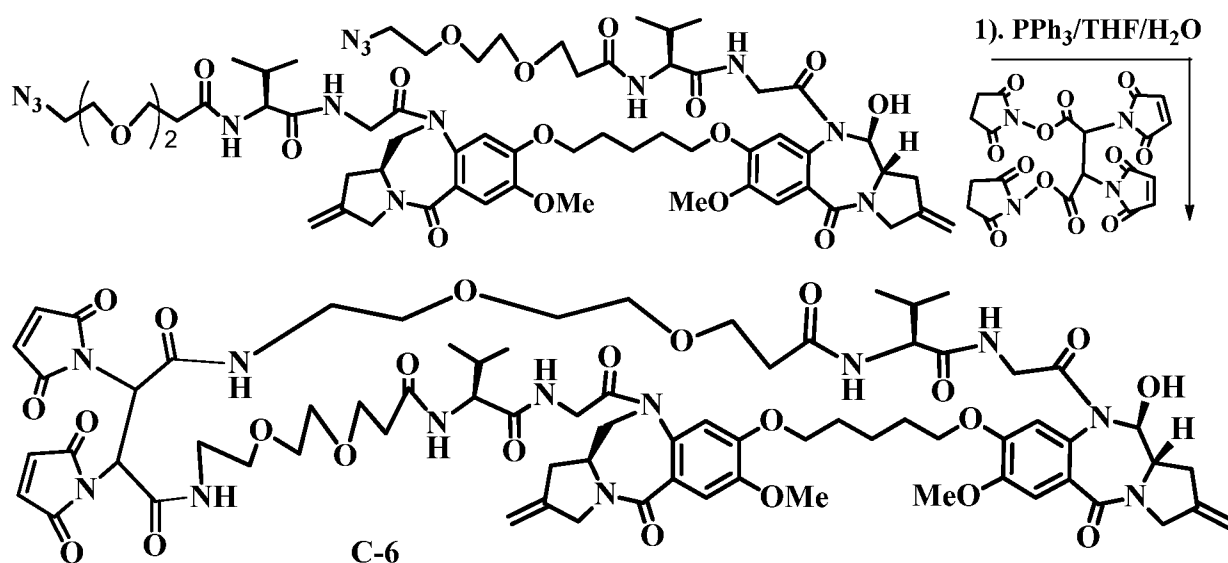
К раствору (S)-8-((5-(((S)-10-(3-(2-(2-азидоэтокси)этокси)пропаноил)-7-метокси-2-метилден-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пентил)окси)-7-метокси-2-метилден-2,3-дигидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-5(11aH)-она (60 мг, 0,078 ммоль) в смеси ТГФ (5 мл) и буферного раствора NaH₂PO₄ (pH 7,5, 1,0 М, 0,7 мл) добавляли PPh₃ (70 мг, 0,267 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, упаривали и очищали на C₁₈ препаративной ВЭЖХ, с элюированием вода/CH₃CN (от 90% воды до 35% воды в течение 35 минут) с получением 45,1 мг (выход 79%) указанного продукта после сушки под высоким вакуумом. ЭСИ МС m/z C₄₀H₅₂N₅O₉ [M+H]⁺, расщ. 746,37, найдено 746,50.

Пример 100. Синтез (S)-N-(2-((S)-8-((5-(((11S,11aS)-10-((S)-15-азидо-5-изопропил-4,7-диоксо-10,13-диокса-3,6-дiazапентадекан-1-оил)-11-гидрокси-7-метокси-2-метилден-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пентил)-окси)-7-метокси-2-метилден-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-10(5H)-ил)-2-оксоэтил)-2-(3-(2-(2-азидоэтокси)этокси)пропанамидо)-3-метилбутанамида.



К смеси (S)-7-метокси-8-((5-(((S)-7-метокси-2-метилден-5-оксо-2,3,5,10,11,11а-гексагидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пентил)окси)-2-метилден-2,3-дигидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-5(11аН)-она (60,0 мг, 0,102 ммоль) и (S)-15-азидо-5-изопропил-4,7-диоксо-10,13-диокса-3,6-дiazапентадекан-1-овой кислоты (90,2 мг, 0,25 ммоль) в ДМАА (8 мл) добавляли BrOP (240,2 мг, 0,618 ммоль). Смесь перемешивали при 60 °С в течение ночи, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO₂ (CH₃ОН/CH₂Cl₂, от 1:10 до 1:5) с получением 97,1 мг (выход 74%) указанного продукта. ЭСИ МС m/z C₆₁H₈₇N₁₄O₁₇ [M+H]⁺, расщ. 1287,63, найдено 1287,95.

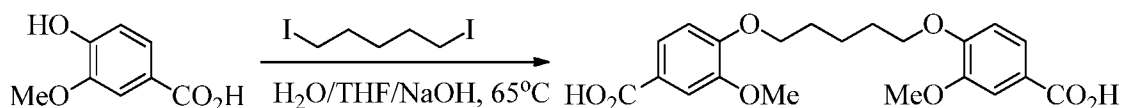
Пример 101. Синтез (S)-N-(2-((S)-8-((5-(((1S,11aS)-10-((S)-15-амино-5-изопропил-4,7-диоксо-10,13-диокса-3,6-дiazапентадекан-1-оил)-11-гидрокси-7-метокси-2-метилден-5-оксо-2,3,5,10,11,11а-гексагидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пентил)окси)-7-метокси-2-метилден-5-оксо-2,3,11,11а-тетрагидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-10(5Н)-ил)-2-оксоэтил)-2-(3-(2-(2-аминоэтоксид)этоксид)пропанамидо)-3-метилбутанамид (С-6).



К раствору (S)-N-(2-((S)-8-((5-(((1S,11aS)-10-((S)-15-азидо-5-изопропил-4,7-диоксо-10,13-диокса-3,6-дiazапентадекан-1-оил)-11-гидрокси-7-метокси-2-метилден-5-оксо-2,3,5,10,11,11а-гексагидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пентил)окси)-7-метокси-2-метилден-5-оксо-2,3,11,11а-тетрагидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-10(5Н)-ил)-2-оксоэтил)-2-(3-(2-(2-азидоэтоксид)этоксид)пропанамидо)-3-метилбутанамид (85 мг, 0,066 ммоль) в смеси ТГФ (5 мл) добавляли PPh₃ (100 мг, 0,381 ммоль). Смесь перемешивали в течение 2 часов, затем добавляли буферный раствор NaH₂PO₄ (рН 7,5, 1,0 М, 0,7 мл) и смесь перемешивали в

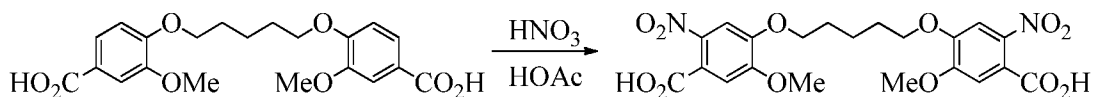
течение 10 минут. После подтверждения по данным ЖХ-МС образования (S)-N-(2-((S)-8-(((5-(((11S,11aS)-10-((S)-15-амино-5-изопропил-4,7-диоксо-10,13-диокса-3,6-дизапентадекан-1-оил)-11-гидрокси-7-метокси-2-метилден-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пентил)окси)-7-метокси-2-метилден-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-10(5H)-ил)-2-оксоэтил)-2-(3-(2-(2-аминоэтокси)этокси)пропанамидо)-3-метилбутанамид (ЭСИ МС m/z C₆₁H₉₀N₁₀O₁₇ [M+Na]⁺, расч. 1257,66, найдено 1257,90) добавляли бис(2,5-диоксопирролидин-1-ил) 2,3-бис(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)сукцинат (33 мг, 0,066 ммоль). Смесь продолжали перемешивать в течение 4 часов, упаривали и очищали на C₁₈ препаративной ВЭЖХ, с элюированием вода/CH₃CN (от 90% воды до 30% воды в течение 35 минут) с получением 40,1 мг (выход 40%) указанного продукта С-5 после сушки под высоким вакуумом. ЭСИМС m/z C₇₃H₉₅N₁₂O₂₃ [M+H]⁺, расч. 1507,66, найдено 1507,90.

Пример 102. Синтез 4,4'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(3-метоксибензойной кислоты).



Раствор дийодпропана (19,0 г, 58,6 ммоль) в ТГФ (75 мл) добавляли по каплям в течение 4 часов к энергично перемешиваемому раствору ванильной кислоты (20,0 г, 119 ммоль) в ТГФ (150 мл) и водном растворе NaOH (340 мл) при 65 °С в отсутствие света (колба завернута в фольгу). После нагревания с обратным холодильником в течение 48 часов в темноте раствор охлаждали и ТГФ удаляли упариванием под вакуумом. Остаток экстрагировали этилацетатом, водный слой отделяли и подкисляли до pH 2 конц. HCl. Полученный осадок собирали фильтрацией, промывали, сушили и перекристаллизовывали из ледяной уксусной кислоты с получением соответствующей бис-карбоновой кислоты (14,0 г, 34,7 ммоль). Белое твердое вещество, выход (60%).

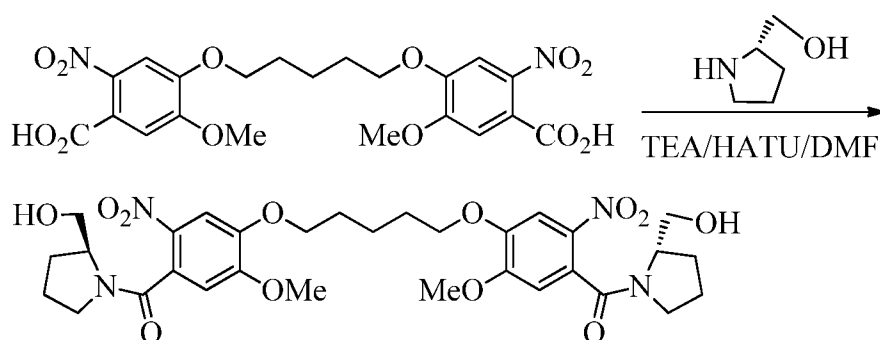
Пример 103. Синтез 4,4'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(5-метокси-2-нитробензойной кислоты).



К суспензии 4,4'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(3-метоксибензойной кислоты) (18,0 г, 66,8 ммоль) в HOAc (80 мл, 1800 ммоль) по каплям при комнатной температуре добавляли HNO₃ (80 мл, 1778 ммоль). Спустя 2 часа перемешивания смесь выливали в 100 г льда и экстрагировали этилацетатом (2 x 200 мл). Органический слой отделяли и промывали H₂O

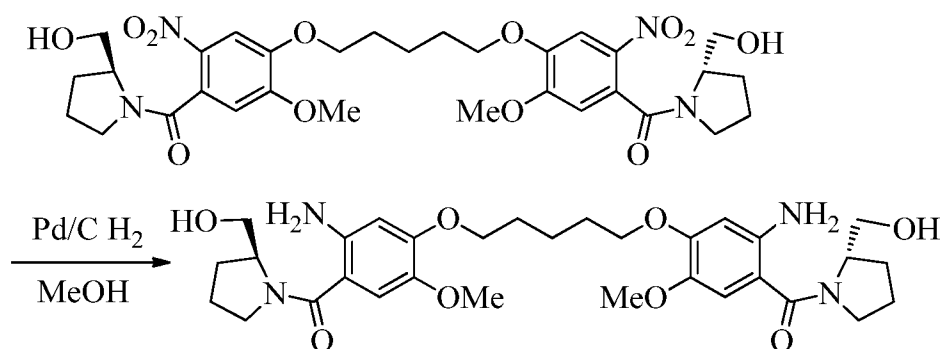
(2 x 100 мл), затем добавляли 4 Н NaOH (400 мл). После экстрагирования этилацетатом (2 x 100 мл) основной водный слой отделяли и подкисляли до pH 2 конц. HCl. Смесь экстрагировали этилацетатом (2 x 250 мл). Объединенный органический экстракт промывали солевым раствором, сушили, фильтровали и упаривали. Остаток очищали флэш-хроматографией (ДХМ/MeOH = 4/1) с получением 4,4'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(5-метокси-2-нитробензойной кислоты) (6,1 г, 12,3 ммоль) в виде бледно-желтого твердого вещества с выходом 18%. R_f 0,3 (ДХМ/MeOH = 3/1)

Пример 104. Синтез (S)-((пентан-1,5-диилбис(окси))бис(5-метокси-2-нитро-4,1-фенилен))бис(((S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)метанона).



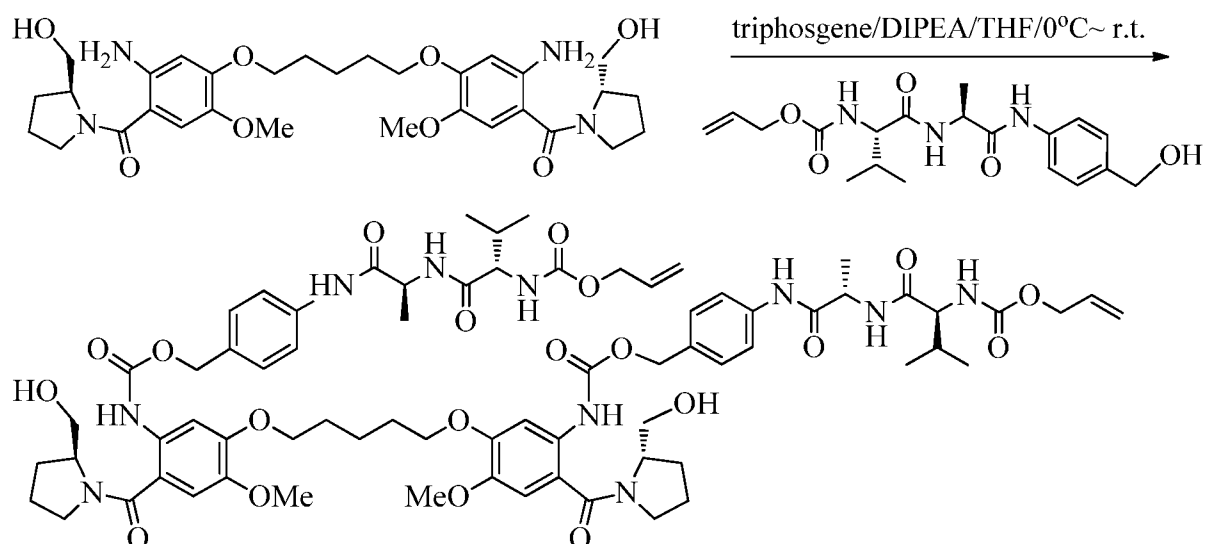
К раствору 4,4'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(5-метокси-2-нитробензойной кислоты) (5,0 г, 10,0 ммоль) и L-(+)-пролинола (2,25 г, 22,3 ммоль) в ДМФА (100 мл) при комнатной температуре добавляли ТЭА (4,0 г). Через 10 минут перемешивания добавляли HATU (10,77 г, 28,3 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. После полной конверсии смесь разбавляли H₂O (100 мл) и экстрагировали этилацетатом (2 x 100 мл) и ДХМ (2 x 50 мл), объединенный органический экстракт промывали солевым раствором, сушили, фильтровали и упаривали. Остаток очищали хроматографией (ДХМ/MeOH = 15/1) с получением (S)-((пентан-1,5-диилбис(окси))бис(5-метокси-2-нитро-4,1-фенилен))бис(((S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)метанона) (6,0 г, 9,1 ммоль) в виде белой пены с выходом 91%.

Пример 105. Синтез (S)-((пентан-1,5-диилбис(окси))бис(2-амино-5-метокси-4,1-фенилен))бис(((S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)метанона).



К раствору (S)-((пентан-1,5-диилбис(окси))бис(5-метокси-2-нитро-4,1-фенилен))бис(((S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)метанона) (6,0 г, 9,1 ммоль) в MeOH (100 мл) добавляли 10% Pd/C (2,4 г), смесь перемешивали в атмосфере водорода при комнатной температуре в течение ночи. После 14 часов перемешивания Pd/C удаляли фильтрованием и промывали MeOH. Фильтрат упаривали и остаток очищали хроматографией (ДХМ/MeOH = 10/1) с получением (S)-((пентан-1,5-диилбис(окси))бис(2-амино-5-метокси-4,1-фенилен))бис(((S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)метанона) (3,54 г, 5,9 ммоль) в виде белой пены с выходом 65%.

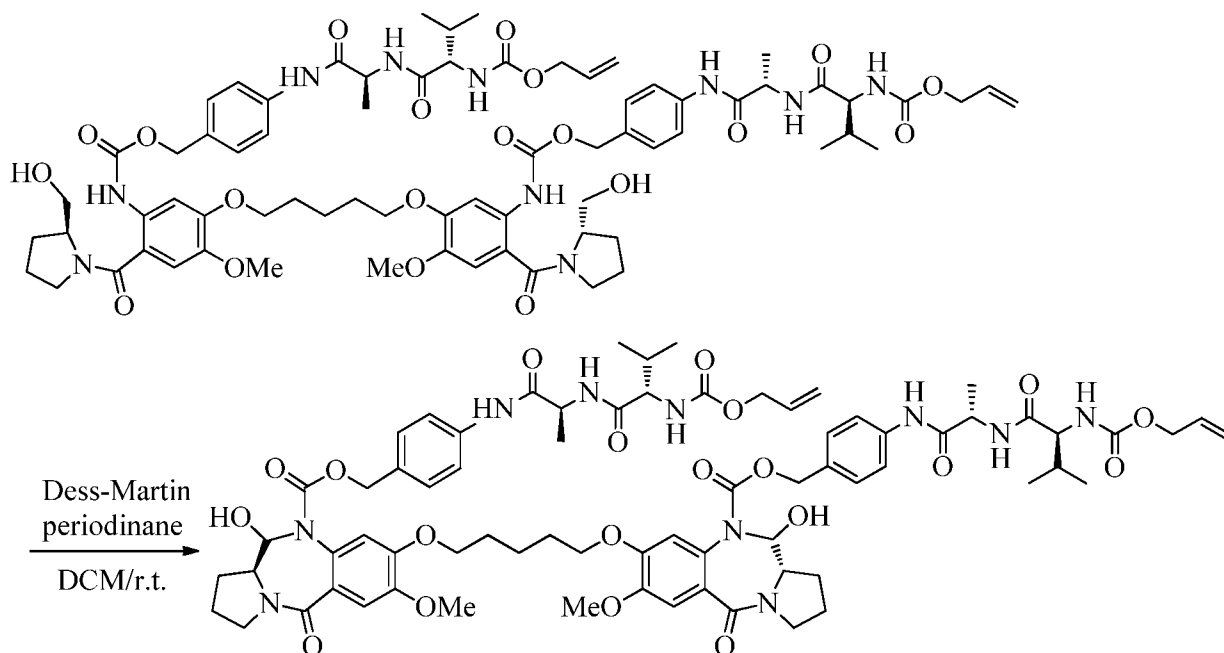
Пример 106. Синтез бис(4-((S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил) ((S)-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(2-((S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-карбонил)-4-метокси-5,1-фенилен))дикарбамата.



К раствору аллил ((S)-1-(((S)-1-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)карбамата (8,0 г, 21,3 ммоль) в сухом ТГФ (300 мл) при 5 °С добавляли ДИПЭА (5,5 г, 40,3 ммоль) и раствор трифосгена (3,2 г, 10,8 ммоль) в сухом ТГФ (50 мл). После 15 минут перемешивания раствор повторно охлаждали до 5 °С и добавляли смесь (S)-((пентан-1,5-диилбис(окси))бис(2-амино-5-метокси-4,1-фенилен))бис(((S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)метанона) (3,2 г, 5,3 ммоль) и ДИПЭА (2,75 г, 21,6 ммоль) в сухом ТГФ (150 мл). Полученный раствор оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. ТГФ удаляли упариванием под вакуумом. Остаток очищали хроматографией (ДХМ/MeOH = 20/1) с получением бис(4-((S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил) ((S)-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(2-((S)-2-

(гидроксиметил)пирролидин-1-карбонил)-4-метокси-5,1-фенилен))дикарбамата (7,0 г, 4,97 ммоль) в виде желтой пены с выходом 94%.

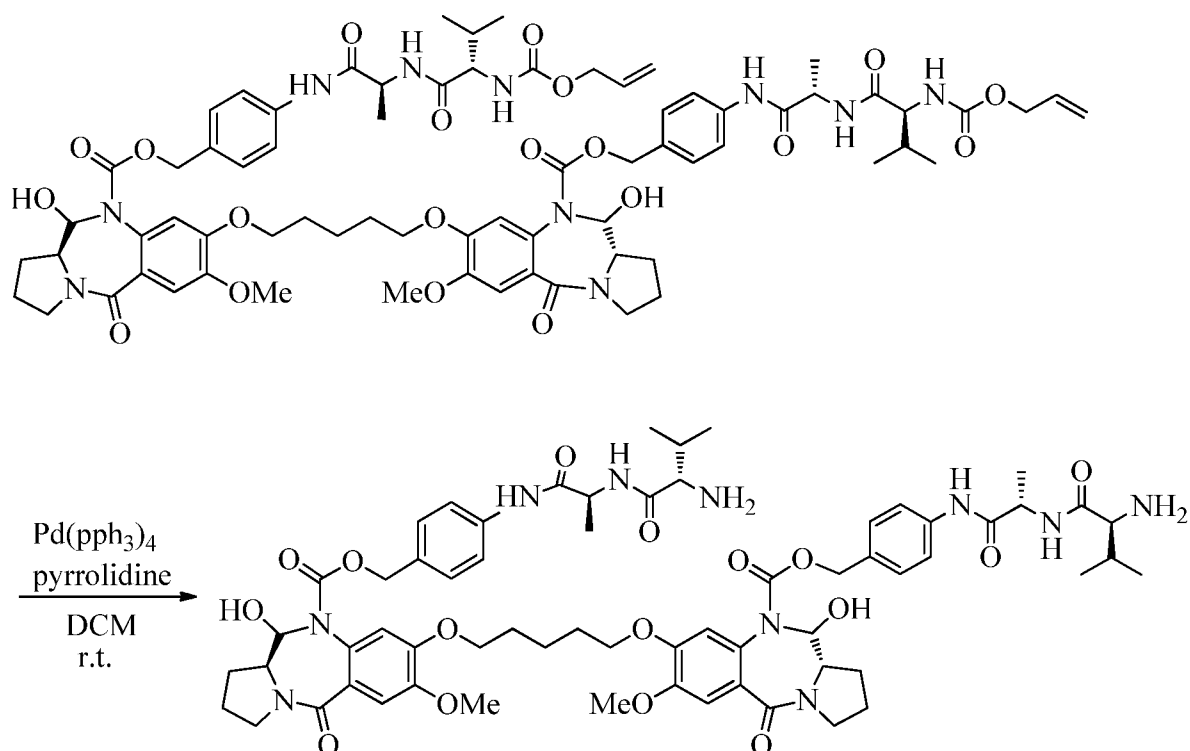
Пример 107. Синтез (11S,11aS,11'S,11a'S)-бис(4-((S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил) 8,8'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-10(5H)-карбоксилата).



К раствору бис(4-((S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил)((S)-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(2-((S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-карбонил)-4-метокси-5,1-фенилен))дикарбамата (300 мг, 0,21 ммоль) в сухом ДХМ (15 мл) при комнатной температуре добавляли DMP (280 мг, 0,66 ммоль) в атмосфере азота. После завершения конверсии к реакционному раствору добавляли водный раствор Na_2SO_3 с последующим добавлением водного раствора NaHCO_3 , смесь дополнительно перемешивали в течение 15 минут и экстрагировали ДХМ (3×20 мл). Объединенный органический экстракт промывали солевым раствором, сушили, фильтровали и упаривали. Остаток очищали хроматографией (ДХМ/MeOH = 20/1) с получением (11S,11aS,11'S,11a'S)-бис(4-((S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил) 8,8'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]diazепин-10(5H)-карбоксилата) (270 мг, 0,19 ммоль) в виде сероватой пены с выходом 92%.

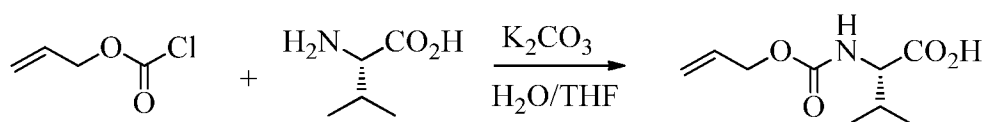
Пример 108. Синтез (11S,11aS,11'S,11a'S)-бис(4-((S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил) 8,8'-(пентан-1,5-

диилбис(окси))бис(11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11а-тетрагидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-10(5Н)-карбоксилата).



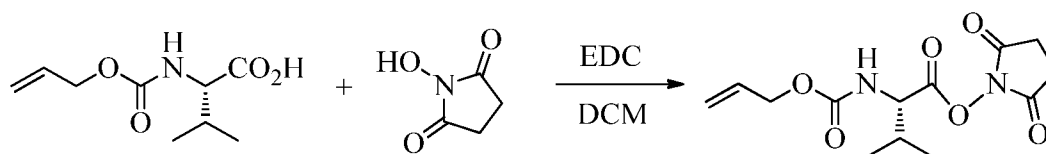
К раствору (11S,11aS,11'S,11a'S)-бис(4-((S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил) 8,8'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11а-тетрагидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-10(5Н)-карбоксилата) (774 мг, 0,55 ммоль) и пирролидина (196 мг, 2,76 ммоль) в сухом ДХМ (8 мл) добавляли Pd(pph₃)₄ (76 мг, 0,066 ммоль). Реакционную смесь продували аргоном и перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре, после чего реакционную смесь разбавляли ДХМ и последовательно промывали насыщенным водным раствором NH₄Cl и соевым раствором. Органическую фазу сушили над Na₂SO₄, фильтровали и упаривали. Остаток очищали хроматографией (ДХМ/MeOH = 6/1) с получением (11S,11aS,11'S,11a'S)-бис(4-((S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил) 8,8'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11а-тетрагидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-10(5Н)-карбоксилата) (420 мг, 0,34 ммоль) в виде сероватого твердого вещества с выходом 62%.

Пример 109. Синтез (S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутановой кислоты.



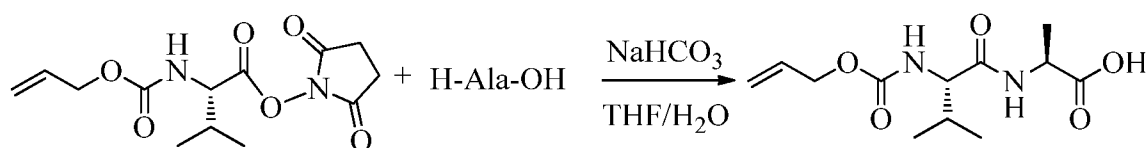
Аллил хлороформат (24,8 г, 205 ммоль) добавляли по каплям к перемешиваемому раствору L-валина (20 г, 171 ммоль) и K_2CO_3 (35,4 г, 257 ммоль) в H_2O (250 мл) и ТГФ (250 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, затем растворитель упаривали при пониженном давлении и оставшийся раствор экстрагировали диэтиловым эфиром (100 мл). Водную порцию подкисляли до pH 2 конц. HCl и экстрагировали ДХМ (3 x 200 мл). Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и упаривали с получением указанного продукта (35 г, 174 ммоль). Белое твердое вещество, выход (100%).

Пример 110. Синтез (S)-2,5-диокспирролидин-1-ил 2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутаноата.



К перемешиваемому раствору (S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутановой кислоты (35 г, 174 ммоль) в сухом ДХМ (500 мл) добавляли EDC (66,9 г, 348 ммоль) и N-гидроксисукцинимид (30 г, 261 ммоль) при комнатной температуре. После 14 часов перемешивания реакционную смесь разбавляли ДХМ, и промывали водой и солевым раствором. Органическую фазу сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и упаривали с получением продукта (54,5 г), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. Выход: (100%) вязкое бесцветное масло. $R_f=0,5$ (ПЭ/ЕОАс = 2/1)

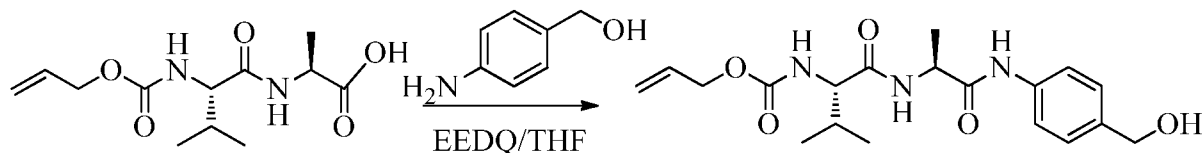
Пример 111. Синтез (S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропановой кислоты.



К раствору H-Ala-OH (15,7 г, 176 ммоль) и $NaHCO_3$ (15,5 г, 185 ммоль) в ТГФ (200 мл) и H_2O (200 мл) добавляли раствор (S)-2,5-диокспирролидин-1-ил 2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутаноата (50 г, 168 ммоль) в ТГФ (100 мл) при комнатной температуре. Спустя 72 часа перемешивания ТГФ упаривали при пониженном давлении. Остаток подкисляли до pH 3 лимонной кислотой и экстрагировали этилацетатом (3 x 350 мл), объединенные экстракты промывали солевым раствором, сушили, фильтровали и упаривали с получением белого твердого вещества. Растирание с

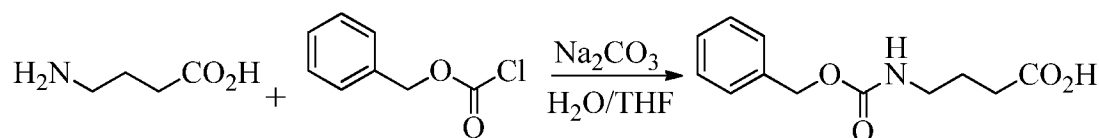
диэтиловым эфиром (избыток) приводило к чистому продукту в виде белого порошка (25,2 г, 93 ммоль, 55%).

Пример 112. Синтез аллил ((S)-1-(((S)-1-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)карбамата.



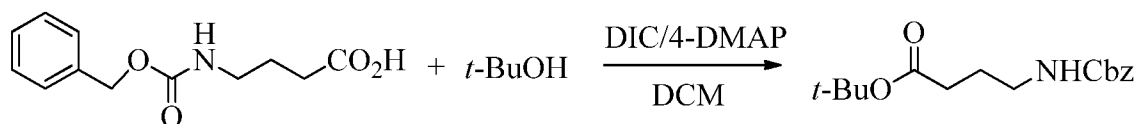
К раствору (S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропановой кислоты (25,2 г, 92,6 ммоль) и *para*-аминобензилового спирта (12,0 г, 97,6 ммоль) в ТГФ (300 мл) при комнатной температуре добавляли EEDQ (24,0 г, 97,2 ммоль). Спустя 18 часов перемешивания растворитель упаривали при пониженном давлении с получением бледно-коричневого твердого вещества. Твердое вещество растирали с диэтиловым эфиром и фильтровали, промывали избытком диэтилового эфира. Это приводило к продукту в виде белого твердого вещества (40 г, 106 ммоль, 100%).

Пример 113. Синтез 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутановой кислоты.



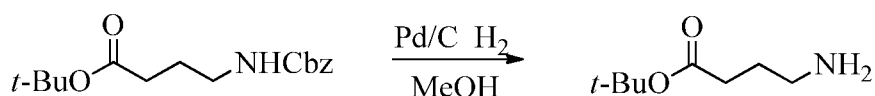
Na_2CO_3 (41,1 г, 387 ммоль) добавляли к раствору 4-аминобутановой кислоты (20 г, 193 ммоль) в H_2O (300 мл) при 5 °С. После 10 минут перемешивания по каплям добавляли раствор CbzCl (33,2 мл, 232 ммоль) в ТГФ (100 мл). Реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. После полной конверсии смесь разбавляли H_2O (100 мл) и экстрагировали этилацетатом (2 x 100 мл). Водный слой подкисляли до pH 2 конц. HCl и экстрагировали этилацетатом (3 x 100 мл). Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и упаривали с получением белого твердого вещества. Растирание с петролейным эфиром (избыток) приводило к чистому продукту в виде белого порошка (31,6 г, 70%).

Пример 114. Синтез трет-бутил 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутаноата.



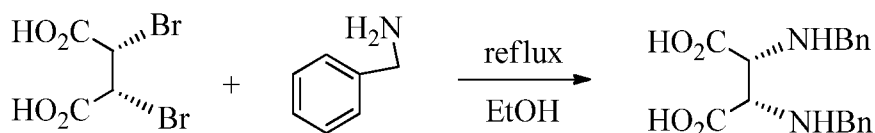
К перемешиваемому раствору 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутановой кислоты (5,9 г, 24,9 ммоль) и трет-бутанола (14,7 г, 199 ммоль) в сухом ДХМ (250 мл) при 0 °С добавляли 4-DMAP (0,61 г, 5 ммоль) и DIC (4,7 г, 37,3 ммоль). После 16 часов перемешивания реакционную смесь фильтровали и экстрагировали ДХМ (2 x 200 мл). Объединенный органический экстракт промывали 1 Н HCl и солевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и упаривали. Остаток очищали хроматографией (100% ДХМ) с получением трет-бутил 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутаноата (4,26 г, 14,5 ммоль, 58%) в виде вязкого бесцветного масла.

Пример 115. Синтез трет-бутил 4-аминобутаноата.



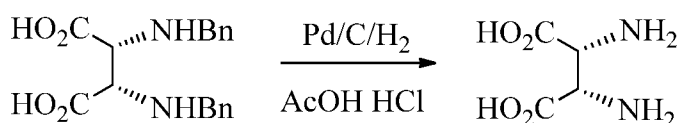
К раствору трет-бутил 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутаноата (1,69 г, 5,77 ммоль) в MeOH (40 мл) добавляли 10% Pd/C (400 мг), смесь перемешивали в атмосфере водорода при комнатной температуре в течение ночи. После 14 часов перемешивания Pd/C удаляли фильтрованием и промывали MeOH. Фильтрат упаривали с получением продукта, который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки (897 мг, 5,64 ммоль), бесцветная жидкость, выход 98%.

Пример 116. Синтез (2R,3S)-2,3-бис(бензиламино)янтарной кислоты.



К раствору мезо-2,3-дибромянтарной кислоты (50 г, 181 ммоль) в EtOH (400 мл) по каплям добавляли бензиламин (150 мл). После завершения добавления смесь нагревали до 90 °С и перемешивали в течение ночи. Смесь охлаждали до комнатной температуры и разбавляли H₂O. Добавляли 6 Н HCl до pH 4 с получением белого осадка. Осадок фильтровали, промывали H₂O и сушили с получением (2R,3S)-2,3-бис(бензиламино)янтарной кислоты (50 г, 152 ммоль, 84%).

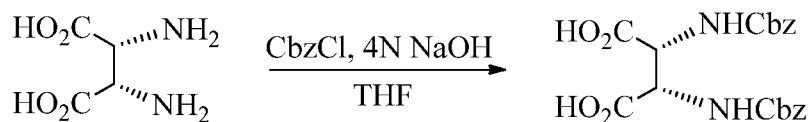
Пример 117. Синтез (2R,3S)-2,3-диаминоянтарной кислоты.



К раствору (2R,3S)-2,3-бис(бензиламино)янтарной кислоты (18 г, 55 ммоль) в AcOH (100 мл) и HCl (100 мл) добавляли 10% Pd/C (3 г), смесь перемешивали в атмосфере

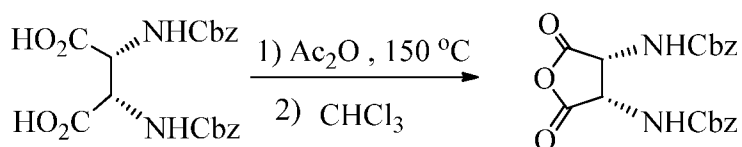
водорода при 50 °С в течение ночи. После 48 часов перемешивания Pd/C удаляли фильтрованием и промывали H₂O. Фильтрат упаривали и остаток растворяли в 1 Н NaOH (200 мл). Добавляли AcOH до pH 5 с получением белого осадка. Осадок фильтровали, промывали H₂O и сушили с получением (2R,3S)-2,3-диаминоянтарной кислоты (8,7 г, 58,8 ммоль, 100%).

Пример 118. Синтез 2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)янтарной кислоты.



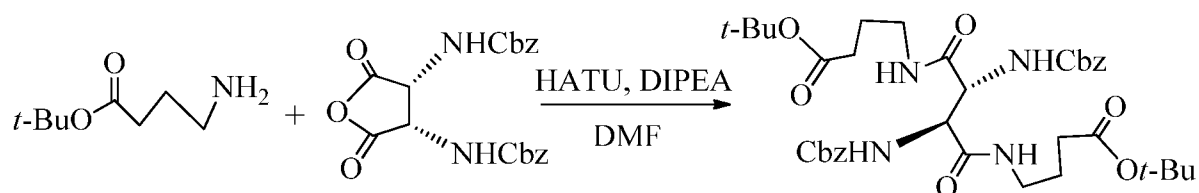
К раствору (2R,3S)-2,3-диаминоянтарной кислоты (31,74 г, 214 ммоль) в ТГФ (220 мл) и 4 Н NaOH (214 мл) при 0 °С по каплям добавляли CbzCl (61 мл, 428 ммоль). После завершения добавления смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 часов. Реакционную смесь разбавляли H₂O (1600 мл) и экстрагировали этилацетатом (2 x 15600 мл). Водный слой отделяли и подкисляли конц. HCl до pH 2. Полученный раствор перемешивали в течение 1 часа и выдерживали при 5 °С с получением белого осадка. Осадок фильтровали, промывали H₂O и сушили с получением 2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)янтарной кислоты (52,2 г, 125 ммоль, 59%).

Пример 119. Синтез дибензил ((3R,4S)-2,5-диоксотетрагидрофуран-3,4-диил)дикарбамата.



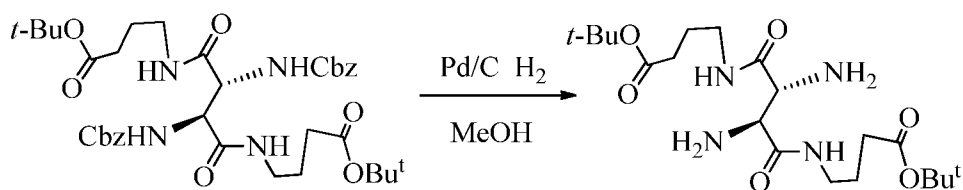
Раствор 2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)янтарной кислоты (5,0 г, 12 ммоль) в Ac₂O (37,5 мл) кипятили с обратным холодильником в течение 20 минут, охлаждали и упаривали с получением соответствующего ангидрида. Смесь диастереомеров обрабатывали CHCl₃ (37 мл), нерастворимый мезо-изомер фильтровали и промывали ПЭ с получением кристаллов дибензил ((3R,4S)-2,5-диоксотетрагидрофуран-3,4-диил)дикарбамата (2,0 г, 5 ммоль, 42%).

Пример 120. Синтез ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)сукцинил)бис(азандиил)дибутаноата.



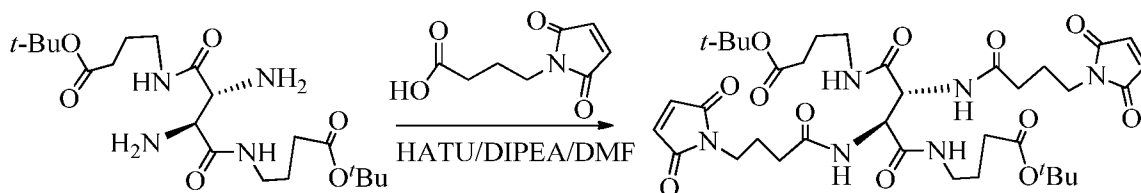
К раствору дибензил ((3R,4S)-2,5-диоксотетрагидрофуран-3,4-диил)дикарбамата (2,03 г, 5,1 ммоль) и трет-бутил 4-аминобутаноата (1,79 г, 11,3 ммоль) в ДМФА (45 мл) при 0 °С добавляли ДИПЭА (1,98 г, 15,3 ммоль). Через 5 минут перемешивания добавляли НАТУ (4,66 г, 12,3 ммоль). Смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 часов. После полной конверсии смесь разбавляли H₂O (90 мл) и экстрагировали этилацетатом (2 x 200 мл) и ДХМ (2 x 90 мл), объединенный органический экстракт промывали солевым раствором и сушили над Na₂SO₄. Большую часть растворителя удаляли при пониженном давлении и осаждалось белое твердое вещество, которое собирали и сушили с получением ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)сукцинил)бис(азандиил))дибутаноата (2,8 г, 4,0 ммоль) в виде белого твердого вещества с выходом 80%.

Пример 121. Синтез ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S)-2,3-диаминосукцинил)бис(азандиил))дибутаноата.



К раствору 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)сукцинил)бис(азандиил))дибутаноата (2,8 г, 4,0 ммоль) в MeOH (100 мл) добавляли 10% Pd/C (1,1 г), смесь перемешивали в атмосфере водорода при комнатной температуре в течение ночи. После 18 часов перемешивания Pd/C удаляли фильтрованием и промывали MeOH. Фильтрат упаривали с получением продукта, который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки (940 мг, 2,2 ммоль), бесцветная жидкость, выход 55%.

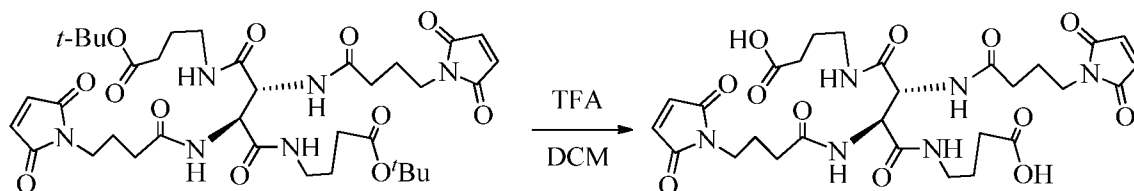
Пример 122. Синтез ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)сукцинил)бис(азандиил))дибутаноата.



К раствору ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S)-2,3-диаминосукцинил)бис(азандиил))дибутаноата (940 мг, 2,19 ммоль) и 4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутановой кислоты (840 мг, 4,59 ммоль) в ДМФА (25 мл) при 0 °С добавляли ДИПЭА (1,13 г, 8,76 ммоль). Через 5 минут перемешивания добавляли НАТУ

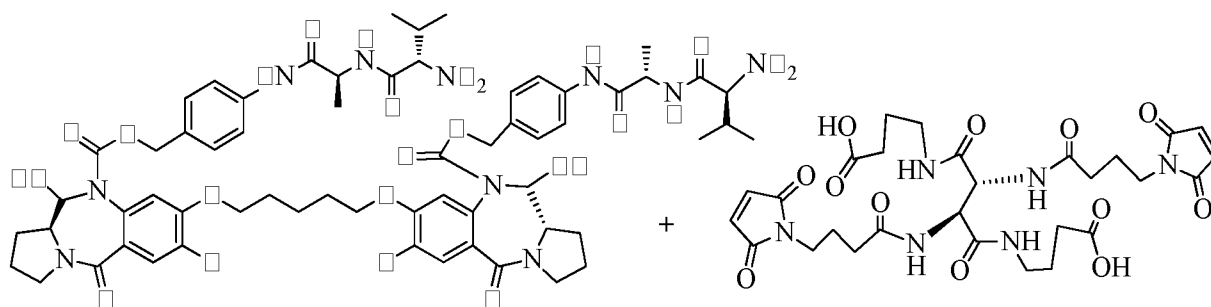
(1,74 г, 4,58 ммоль). Смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 часа. После полной конверсии смесь разбавляли H₂O (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (2 x 100 мл) и ДХМ (2 x 50 мл), объединенные органические экстракты промывали солевым раствором и сушили над Na₂SO₄. Большую часть растворителя удаляли при пониженном давлении и осаждалось белое твердое вещество, которое собирали и сушили с получением ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)сукцинил)бис(азандиил))дибутаноата (1,36 г, 1,79 ммоль) в виде белого твердого вещества с выходом 82%.

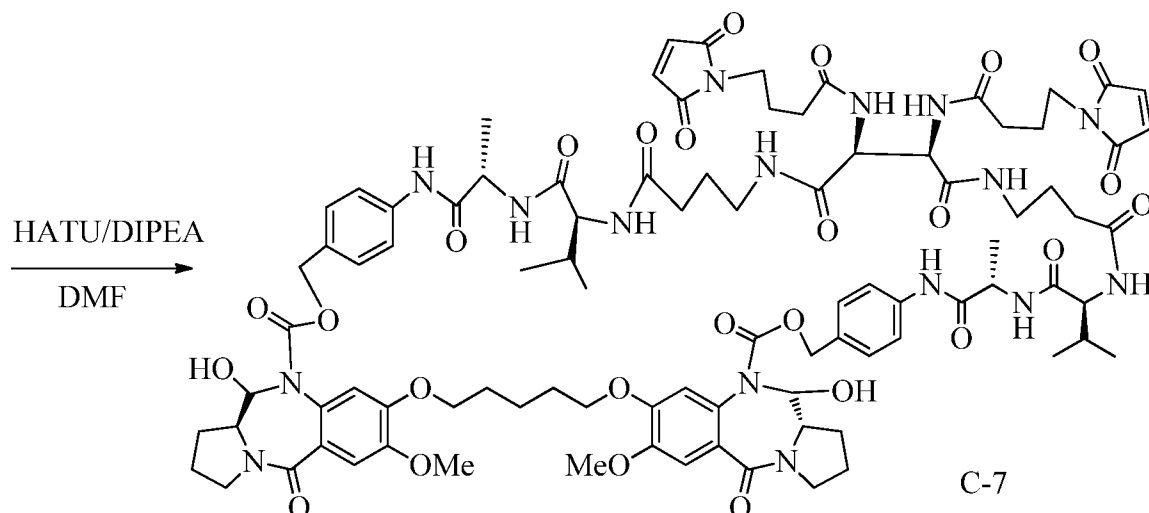
Пример 123. Синтез 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)сукцинил)бис(азандиил))дибутановой кислоты.



К раствору ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)сукцинил)бис(азандиил))дибутаноата (1,36 г, 1,79 ммоль) в ДХМ (15 мл) при комнатной температуре 0 °C добавляли ТФА (30 мл). После 18 часов перемешивания реакционную смесь упаривали и остаток растворяли в сухом толуоле. Растворитель удаляли упариванием под вакуумом с получением белого осадка, который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки (1,3 мг, 2,0 ммоль, выход 100%).

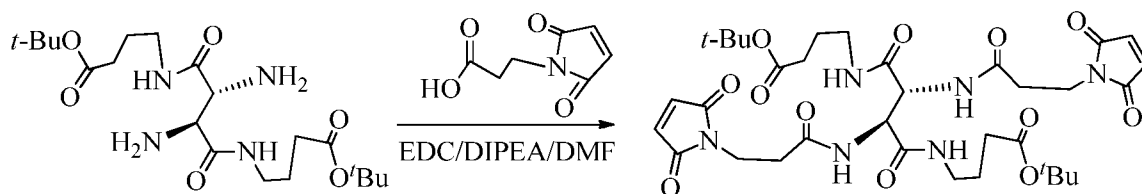
Пример 124. Синтез продукта PBD C-7.





К раствору (11S,11aS,11'S,11a'S)-бис(4-((S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил 8,8'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-10(5H)-карбоксилата) (215 мг, 0,17 ммоль) и 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)сукцинил)бис(азандиил))дибутановой кислоты (115 мг, 0,18 ммоль) в ДМФА (18 мл) при 0 °С добавляли ДИПЭА (90 мг, 0,70 ммоль). Через 5 минут перемешивания добавляли HATU (132 мг, 0,35 ммоль). Смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. После полной конверсии смесь разбавляли H₂O (2 мл) и экстрагировали этилацетатом (2 x 40 мл) и ДХМ (2 x 20 мл), объединенный органический экстракт промывали солевым раствором, сушили, фильтровали и упаривали. Остаток очищали препаративной ВЭЖХ с получением продукта PBD C-6 (10 мг) в виде белого порошка.

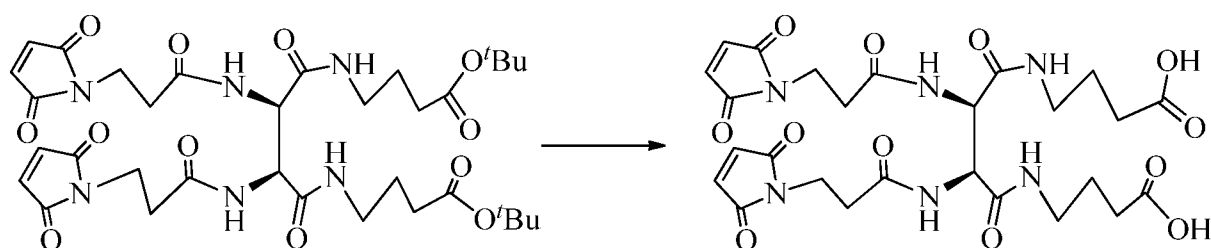
Пример 125. Синтез ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)сукцинил)бис(азандиил))дибутаноата.



К раствору ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S)-2,3-диаминосукцинил)бис(азандиил))дибутаноата (900 мг, 2,09 ммоль) и 3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропановой кислоты (840 мг, 4,97 ммоль) в ДМФА (25 мл) при 0 °С добавляли ДИПЭА (0,93 г, 7,21 ммоль). Через 5 минут перемешивания добавляли EDC (1,74 г, 9,06 ммоль). Смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 часа. После полной конверсии смесь разбавляли H₂O (50 мл) и экстрагировали

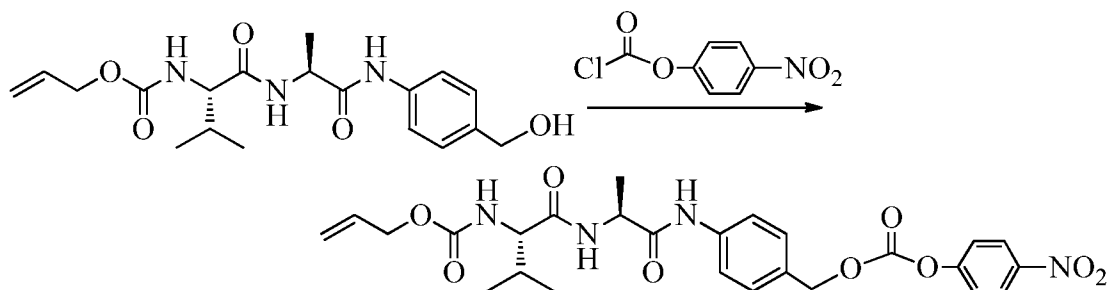
этилацетатом (2 x 100 мл) и ДХМ (2 x 50 мл), объединенные органические экстракты промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4 . Большую часть растворителя удаляли при пониженном давлении и осаждалось белое твердое вещество, которое собирали и сушили с получением ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)сукцинил)бис(азандиил))дибутаноата (1,27 г, 1,79 ммоль) в виде белого твердого вещества с выходом 83%. ЭСИ МС m/z + $\text{C}_{34}\text{H}_{49}\text{N}_6\text{O}_{12}$, рассч. 733,33 (M+H), найдено 733,55.

Пример 126. Синтез 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)сукцинил)бис(азандиил))дибутановой кислоты.



К Ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)сукцинил)бис(азандиил))дибутаноату (502,0 мг, 0,685 ммоль) в 1,4-диоксане (8 мл) при 4°C добавляли конц. HCl (3 мл). Затем смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут, разбавляли 1,4-диоксаном (8 мл), упаривали, совместно упаривали с диоксаном/толуолом (1:1, 2 x 10 мл) досуха и кристаллизовали с EtOH /гексаном с получением указанного соединения (289,0 г, выход 68%). ЭСИ МС m/z + $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{N}_6\text{O}_{12}$, рассч. 621,21 (M+H), найдено 621,55.

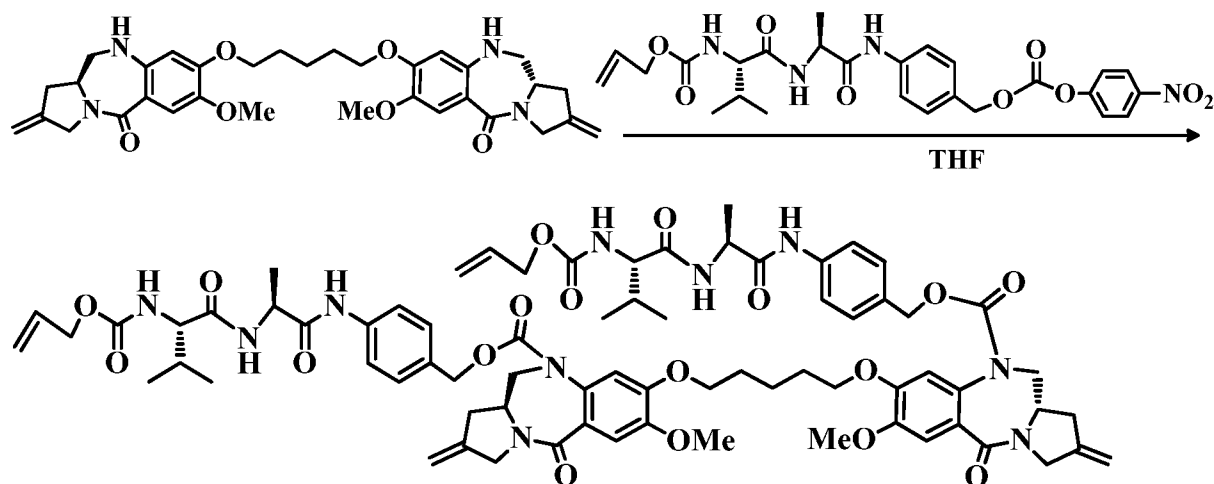
Пример 127. Синтез аллил ((S)-3-метил-1-(((S)-1-((4-(((4-нитрофенокси)карбонил)окси)метил)фенил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-1-оксобутан-2-ил)карбамата.



К аллил ((S)-1-(((S)-1-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)карбамату (2,21 г, 5,86 ммоль) в смеси сухого пиридина (5 мл) и CH_2Cl_2 (20 мл) добавляли 4-нитрофенил хлороформат (1,82 г, 9,05 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 8 часов, упаривали и очищали на

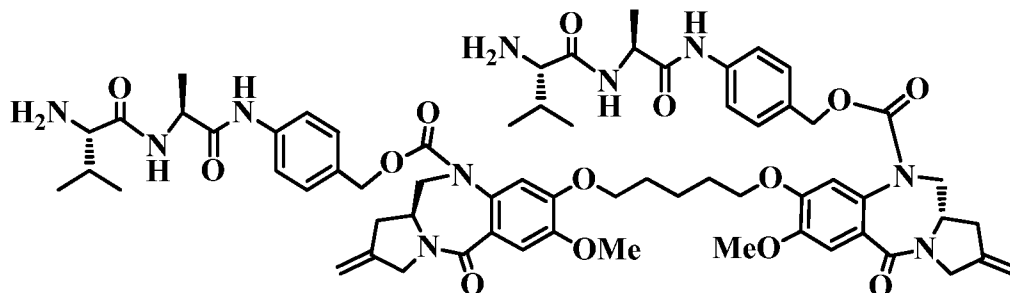
колонке SiO₂, которую элюировали EtOAc/CH₂Cl₂ (1:12) с получением указанного соединения (2,63 г, выход 83%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для C₂₆H₃₁N₄O₉ [M+H]⁺ 543,21, найдено 543,60.

Пример 128. Синтез (11aS,11a'S)-бис(4-((S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил) 8,8'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(7-метокси-2-метил-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-10(5H)-карбоксилата).



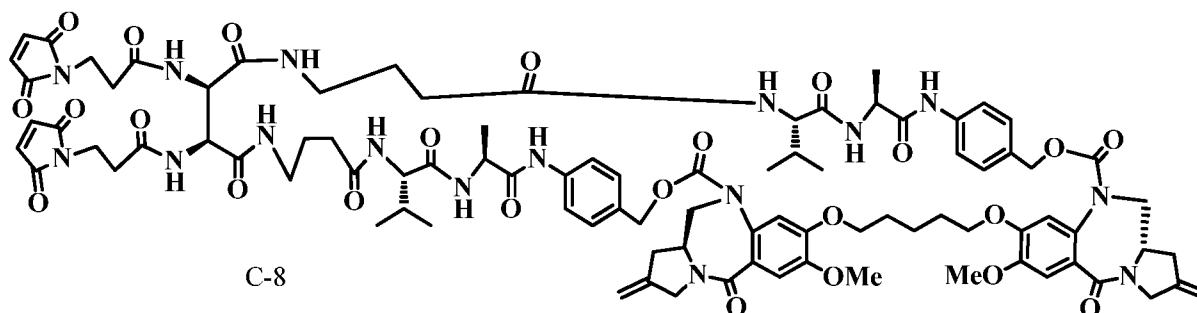
К (11aS,11a'S)-8,8'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(7-метокси-2-метил-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-5(10H)-ону) (288,2 мг, 0,490 ммоль) в сухом CH₃CN (5 мл) добавляли аллил ((S)-3-метил-1-(((S)-1-((4-(((4-нитрофенокси)карбонил)окси)метил)фенил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-1-оксобутан-2-ил)карбамат (770,2 мг, 1,420 ммоль) и ДИПЭА (2 мл). Смесь перемешивали при 45 °С в течение 8 часов, упаривали и очищали на колонке SiO₂, которую элюировали EtOAc/CH₂Cl₂ (1:8) с получением указанного соединения (492,0 мг, выход 72%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для C₇₃H₉₁N₁₀O₁₈ [M+H]⁺ 1395,64, найдено 1395,95.

Пример 129. Синтез (11aS,11a'S)-бис(4-((S)-2-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил) 8,8'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(7-метокси-2-метил-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-10(5H)-карбоксилата).



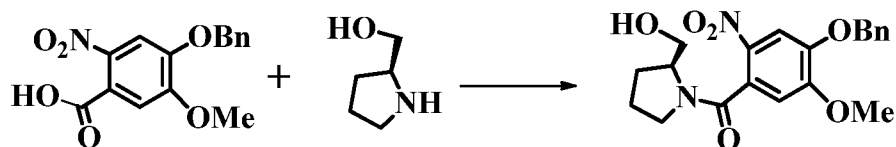
К раствору (11aS,11a'S)-бис(4-((S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил 8,8'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(7-метокси-2-метил-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-10(5H)-карбоксилата) (274,2 мг, 0,197 ммоль) и пирролидина (49 мг, 6,90 ммоль) в сухом ДХМ (5 мл) добавляли $\text{Pd}(\text{pPh}_3)_4$ (152,0 мг, 0,132 ммоль). Реакционную смесь продували аргоном и перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре, после чего реакционную смесь разбавляли ДХМ и последовательно промывали насыщенным водным раствором NH_4Cl и соевым раствором. Органическую фазу сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и упаривали. Остаток очищали хроматографией (ДХМ/MeOH/ Et_3N = 6/1/0,02) с получением указанного соединения (166,7 мг, выход 69%) в виде сероватого твердого вещества. МС ЭСИ m/z: рассчитано для $\text{C}_{65}\text{H}_{83}\text{N}_{10}\text{O}_{14}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1227,60, найдено 1227,93.

Пример 130. Синтез продукта PBD C-8.



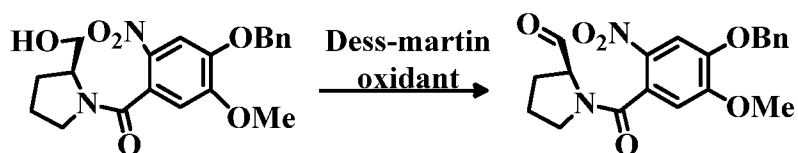
К (11aS,11a'S)-бис(4-((S)-2-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил) 8,8'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(7-метокси-2-метил-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]diazепин-10(5H)-карбоксилату) (151,1 мг, 0,123 ммоль) и 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)сукцинил)бис(азандиил))дибутановой кислоте (77,1 мг, 0,124 ммоль) в ДМАА (5 мл) добавляли EDC (95,2 мг, 0,496 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 8 часов, упаривали и очищали на ВЭЖХ колонке C18 3 мкм (25 x 4 см) с применением градиентного элюирования смесью (А) ацетонитрила и (В) воды/0,1% муравьиной кислоты (градиент: 15% А : 85% В вплоть до 25% А : 75% В в течение 5 минут, 35% А : 65% В в течение 15 минут, 60% А : 40% В вплоть до 50% А : 50% В в течение 15 минут, 15% А : 85% В в течение 5 минут) со скоростью потока 8 мл/мин. Фракции, содержащие указанное соединение, объединяли, упаривали и сушили в эксикаторе с P_2O_5 с получением соединения PBD C-8 (149,2 мг, выход 67%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для $\text{C}_{91}\text{H}_{111}\text{N}_{16}\text{O}_{24}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1811,79, найдено 1812,35.

Пример 131. Синтез (S)-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитрофенил)(2-(гидроксил-этил)пирролидин-1-ил)метанола.



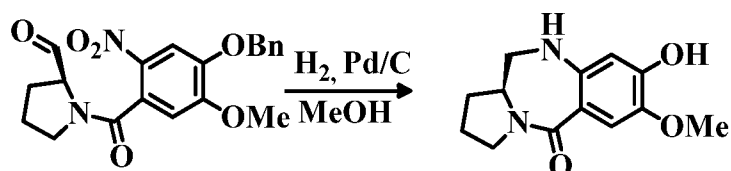
К 4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитробензойной кислоте (10,20 г, 33,65 ммоль) и (S)-пирролидин-2-илметанолу (3,85 г, 38,09 ммоль) в сухом ДМФА (150 мл) добавляли EDC (19,50 г, 101,56 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, упаривали и очищали на колонке SiO₂, которую элюировали EtOAc/CH₂Cl₂ (1:4) с получением указанного соединения (11,56 г, выход 89%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для C₂₀H₂₃N₂O₆ [M+H]⁺ 387,15, найдено 387,65.

Пример 132. Синтез (S)-1-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитробензоил)пирролидин-2-карбальдегида.



К раствору (S)-1-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитрофенил)(2-(гидроксиметил)-пирролидин-1-ил)метанона (3,80 г, 9,84 ммоль) в сухом ДХМ (15 мл) добавляли периодинан Десса-Мартина (DMP) (5,80 г, 13,67 ммоль) в атмосфере азота при комнатной температуре. После завершения конверсии к реакционному раствору добавляли водный раствор Na₂SO₃ с последующим добавлением водного раствора NaHCO₃, смесь дополнительно перемешивали в течение 15 минут и экстрагировали ДХМ (3 × 20 мл). Объединенный органический экстракт промывали солевым раствором, сушили, фильтровали и упаривали. Остаток очищали хроматографией на SiO₂ (ДХМ/EtOAc = 4/1) с получением указанного соединения (3,13 г, выход 83%) в виде сероватой пены. ЭСИ МС m/z расщ для C₂₀H₂₁N₂O₆ [M+H]⁺ 385,13, найдено 385,60, 404,75 [M+H₂O+H]⁺.

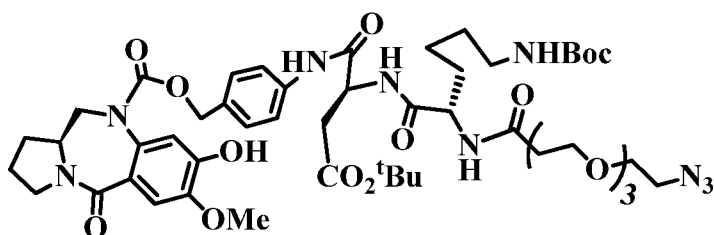
Пример 133. Синтез 8-гидрокси-7-метокси-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-5(10H)-она.



К раствору (S)-1-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитробензоил)пирролидин-2-карбальдегида (3,00 г, 7,80 ммоль) в метаноле (75 мл) добавляли Pd/C (10% Pd, 50% влаги, 250 мг) в сосуде для гидрирования. После того, как из шейкера откачали воздух, подавали водород (5 фунтов на квадратный дюйм, 34 кПа). Реакционный сосуд встряхивали в течение

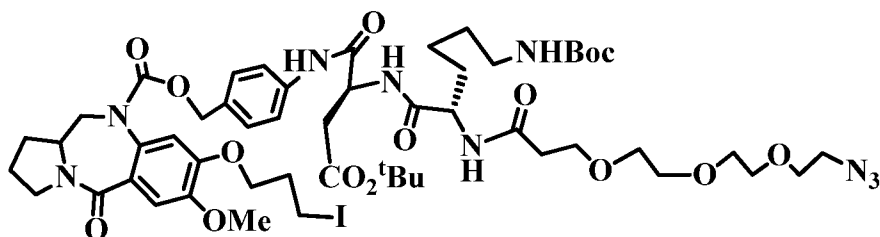
ночи и фильтровали через целит. Фильтрат упаривали и очищали хроматографией на SiO_2 (ДХМ/MeOH/Et₃N = 4/1/0,05) с получением указанного соединения (1,66 г, выход 86%) в виде сероватой пены. МС ЭСИ m/z: рассчитано для $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_3$ [M+H]⁺ 249,12, найдено 249,50.

Пример 134. Синтез 4-((14S,17S)-1-азидо-17-(2-(трет-бутоксигидрокси)-2-оксоэтил)-14-(4-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил 8-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11а-тетрагидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-10(5Н)-карбоксилата.



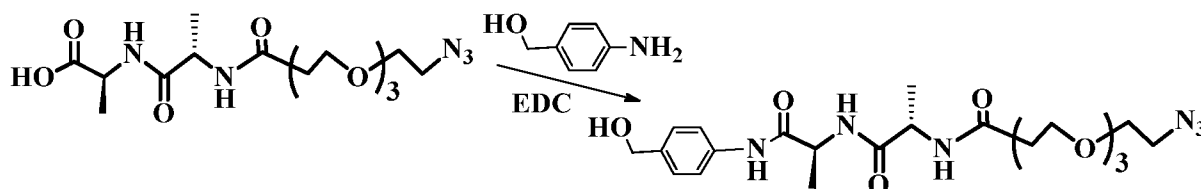
К раствору (14S,17S)-трет-бутил 1-азидо-14-(4-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-17-((4-(гидроксиметил)фенил)карбамоил)-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-дизазанадекан-19-оата (10,15 г, 13,50 ммоль) в сухом ТГФ (300 мл) при 4-8 °С добавляли ДИПЭА (3,15 г, 24,41 ммоль) и раствор трифосгена (5,15 г, 17,36 ммоль) в сухом ТГФ (50 мл). После 15 минут перемешивания раствор повторно охлаждали до 4-8 °С и затем его по каплям добавляли к раствору 8-гидрокси-7-метокси-2,3,11,11а-тетрагидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-5(10Н)-она (2,92 г, 11,76 ммоль) в смеси ТГФ (100 мл) при 4-8 °С в течение 45 минут. Полученному раствору давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Смесь разбавляли толуолом (50 мл), упаривали под вакуумом и очищали хроматографией на SiO₂ (ДХМ/MeOH = 15/1) с получением указанного соединения (10,02 г, выход 82%) в виде желтой пены. МС ЭСИ m/z: рассчитано для C₅₀H₇₄N₉O₁₅ [M+H]⁺ 1040,52, найдено 1040,90.

Пример 135. Синтез (S)-4-((14S,17S)-1-азидо-17-(2-(трет-бутоксигидрокси)-2-оксоэтил)-14-(4-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил 8-(3-иодопропокси)-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11а-тетрагидро-1H-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-10(5H)-карбоксилата.



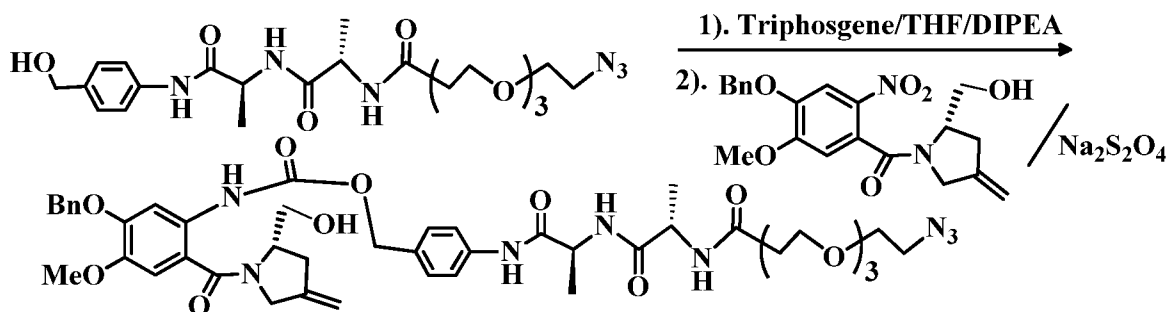
К раствору 4-((14S,17S)-1-азидо-17-(2-(трет-бутоксипропилокси)-2-оксоэтил)-14-(4-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил 8-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-10(5H)-карбоксилата (2,02 г, 1,94 ммоль) в бутаноне (50 мл) добавляли Cs₂CO₃ (2,50 г, 7,67 ммоль) и 1,3-дийодпропан (2,50 г, 8,45 ммоль). Смесь перемешивали при 45 оС в темноте в течение 36 часов, упаривали и очищали на колонке SiO₂, которую элюировали EtOAc/CH₂Cl₂ (1:5) с получением указанного соединения (2,08 г, выход 90%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для C₅₂H₇₇IN₉O₁₅ [M+H]⁺ 1194,45, найдено 1194,95.

Пример 136. Синтез (S)-2-((S)-1-азидо-14-метил-12-оксо-3,6,9-триокса-13-азапентадеканамидо)-N-(4-(гидроксиметил)фенил)пропанамида.



К раствору (14S,17S)-1-азидо-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадекан-18-овой кислоты (3,02 г, 7,75 ммоль) и (4-аминофенил)метанола (1,05 г, 8,53 ммоль) в ДМАА добавляли EDC (4,90 г, 25,52 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 14 часов, упаривали и очищали на колонке SiO₂, которую элюировали EtOAc/CH₂Cl₂ (от 1:8 до 1:3) с получением указанного соединения (3,52 г, выход 92%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для C₂₂H₃₅IN₆O₇ [M+H]⁺ 495,25, найдено 495,60.

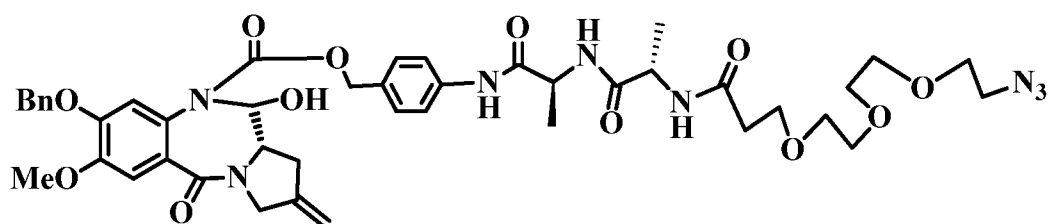
Пример 137. Синтез (11R,11aS)-4-((14S,17S)-1-азидо-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил 8-(бензилокси)-11-гидрокси-7-метокси-2-метил-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-10(5H)-карбоксилата.



Смесь (S)-4-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитрофенил)(2-(гидроксиметил)-4-метил-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-10(5H)-карбоксилата (3,90 г, 9,80 ммоль) и Na₂S₂O₄ (6,0 г, 34,47 ммоль) в ТГФ (60 мл) и H₂O (40 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 20 часов, доводили pH до 10 Na₂CO₃, упаривали, очищали на короткой колонке C-18, которую

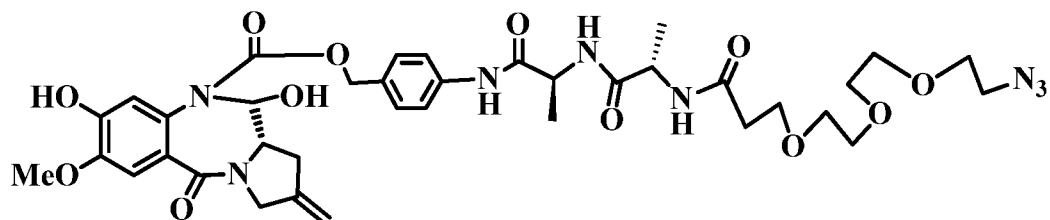
элюировали $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}/\text{Et}_3\text{N}$ (от 99,4/0,5/0,2 до 50/49,8/0,2). Фракции, содержащие восстановленный аминок продукт, объединяли, упаривали, разбавляли ТГФ (50 мл), затем охлаждали до 4-8 °С. Отдельно к раствору 2-(1-азидо-14-метил-12-оксо-3,6,9-триокса-13-азапентадеканамидо)-N-(4-(гидроксиметил)фенил)пропанамида (6,70 г, 13,56 ммоль) в сухом ТГФ (150 мл) при 4-8 °С добавляли ДИПЭА (3,50 г, 27,12 ммоль) и раствор трифосгена (4,10 г, 13,80 ммоль) в сухом ТГФ (20 мл). После 15 минут перемешивания при 4-8 °С раствор добавляли по каплям к указанному выше раствору амина при 4-8 °С в течение 45 минут. Смесь нагревали до комнатной температуры и продолжали перемешивание в течение 2 часов, упаривали, экстрагировали CH_2Cl_2 (3 x 30 мл), сушили над Na_2SO_4 , упаривали и очищали на колонке SiO_2 , которую элюировали $\text{EtOAc}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (от 1:10 до 1:5) с получением указанного соединения (7,23 г, выход 83% за две стадии). МС ЭСИ m/z : рассчитано для $\text{C}_{45}\text{H}_{57}\text{N}_8\text{O}_{12}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 889,40, найдено 889,90.

Пример 138. Синтез (11S,11aS)-4-((14S,17S)-1-азидо-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил 8-(бензилокси)-11-гидрокси-7-метокси-2-метилен-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-10(5H)-карбоксилата.



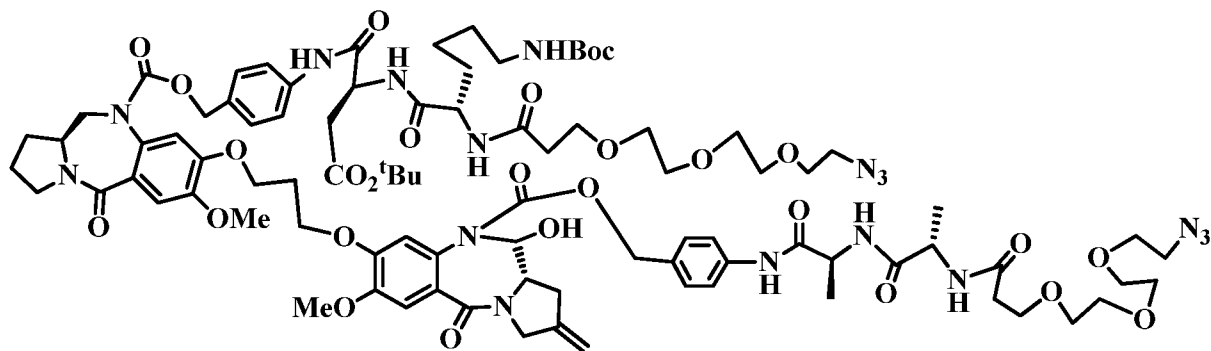
К раствору (11R,11aS)-4-((14S,17S)-1-азидо-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил 8-(бензилокси)-11-гидрокси-7-метокси-2-метилен-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-10(5H)-карбоксилата (3,80 г, 4,27 ммоль) в сухом ДХМ (40 мл) добавляли периодинан Десса-Мартина (DMP) (2,80 г, 6,60 ммоль) в атмосфере азота при комнатной температуре. После завершения конверсии к реакционному раствору добавляли водный раствор Na_2SO_3 с последующим добавлением водного раствора NaHCO_3 , смесь дополнительно перемешивали в течение 15 минут и экстрагировали ДХМ (3 x 20 мл). Объединенный органический экстракт промывали солевым раствором, сушили, фильтровали и упаривали. Остаток очищали хроматографией на SiO_2 ($\text{ДХМ}/\text{EtOAc}$ = от 5/1 до 2/1) с получением указанного соединения (2,99 г, выход 79%) в виде сероватой пены. МС ЭСИ m/z : рассчитано для $\text{C}_{44}\text{H}_{55}\text{N}_8\text{O}_{12}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 886,39, найдено 886,80.

Пример 139. Синтез (11S,11aS)-4-((14S,17S)-1-азидо-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил 8,11-дигидрокси-7-метокси-2-метилден-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-10(5H)-карбоксилата.



К раствору (11S,11aS)-4-((14S,17S)-1-азидо-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил 8-(бензилокси)-11-гидрокси-7-метокси-2-метилден-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-10(5H)-карбоксилата (2,90 г, 3,27 ммоль) в 40 мл CH_2Cl_2 при 0 °C добавляли 15 мл $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$. Смесь перемешивали при 0 °C в течение 10 минут, затем при комнатной температуре в течение 1 часа, разбавляли CH_2Cl_2 , доводили pH до 4 холодным 1,0 Н NaHCO_3 и фильтровали. Водный слой экстрагировали CH_2Cl_2 (3 x 60 мл). Органические слои объединяли, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 ($\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ от 1:15 до 1:5) с получением 1,95 г (выход 75%) указанного продукта. МС ЭСИ m/z: рассчитано для $\text{C}_{37}\text{H}_{48}\text{N}_8\text{O}_{12}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 797,34, найдено 797,90.

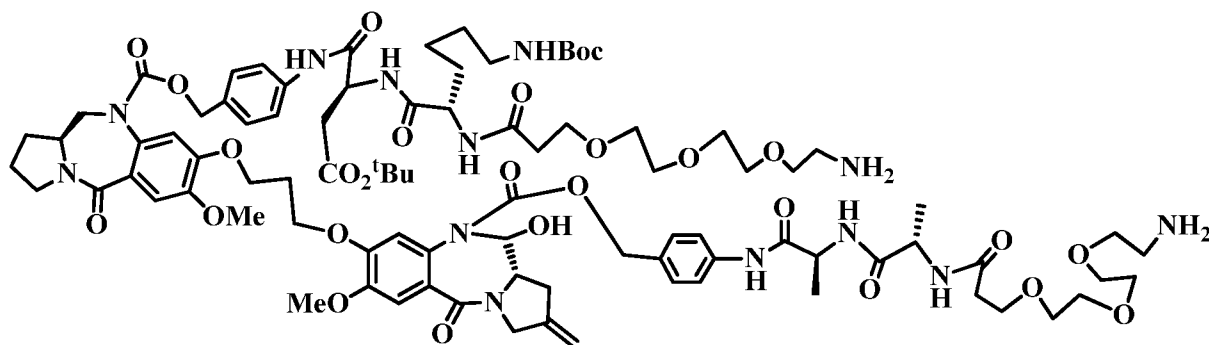
Пример 140. Синтез (11S,11aS)-4-((14S,17S)-1-азидо-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил 8-(3-(((S)-10-(((4-((14S,17S)-1-азидо-17-(2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил)-14-(4-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил)окси)карбонил)-7-метокси-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пропокси)-11-гидрокси-7-метокси-2-метилден-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-10(5H)-карбоксилата.



К раствору (11S,11aS)-4-((14S,17S)-1-азидо-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил 8,11-дигидрокси-7-метокси-2-метилден-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-10(5H)-карбоксилата (402

мг, 0,504 ммоль) и (S)-4-((14S,17S)-1-азидо-17-(2-(трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-14-(4-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил 8-(3-иодопропокси)-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-10(5H)-карбоксилата (650 мг, 0,544 ммоль) в бутаноне (50 мл) добавляли Cs₂CO₃ (0,50 г, 1,53 ммоль). Смесь перемешивали при 45 °С в темноте в течение 36 часов, упаривали и очищали на колонке SiO₂, которую элюировали EtOAc/CH₂Cl₂ (от 1:8 до 1:3) с получением указанного соединения (809 мг, выход 86%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для C₈₉H₁₂₄N₁₇O₂₇ [M+H]⁺ 1862,89, найдено 1863,45.

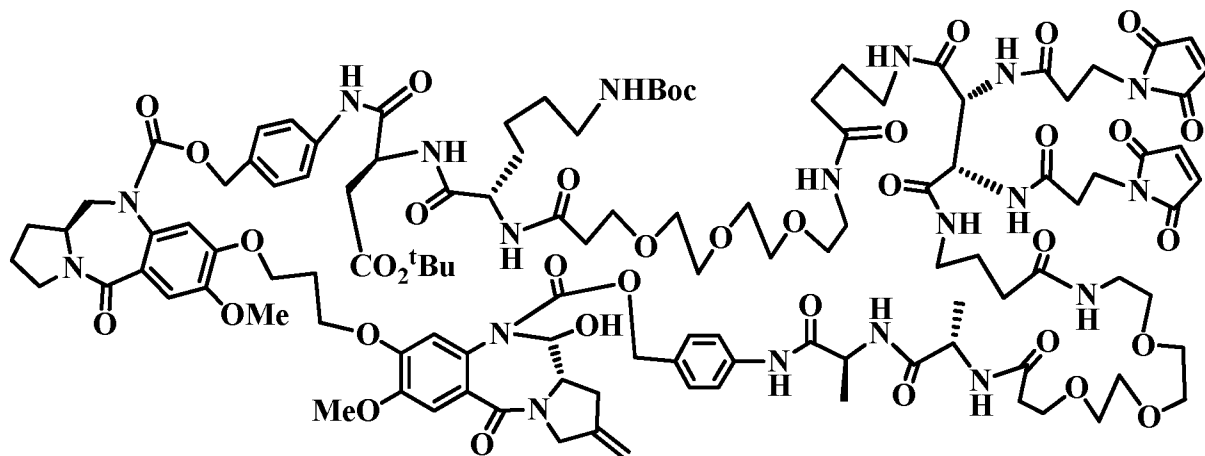
Пример 141. Синтез (11S,11aS)-4-((14S,17S)-1-амино-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил 8-(3-(((S)-10-(((4-((14S,17S)-1-амино-17-(2-(трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил)окси)карбонил)-7-метокси-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пропокси)-11-гидрокси-7-метокси-2-метилден-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-10(5H)-карбоксилата.



К (11S,11aS)-4-((14S,17S)-1-Азидо-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил 8-(3-(((S)-10-(((4-((14S,17S)-1-азидо-17-(2-(трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил)окси)карбонил)-7-метокси-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пропокси)-11-гидрокси-7-метокси-2-метилден-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-10(5H)-карбоксилату (750 мг, 0,402 ммоль) в ТГФ (8 мл) добавляли Me₃P (1,0 М в толуоле, 2,0 мл, 2,0 ммоль) при 0 - 4 °С в атмосфере N₂. После перемешивания в течение 5 минут ледяную баню удалили и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Затем добавляли воду (1 мл) и смесь перемешивали в течение 10 минут. Смесь разбавляли 1,4-диоксаном (10 мл), упаривали и совместно упаривали с диоксаном/толуолом досуха с получением неочищенного amino продукта (725 мг, выход

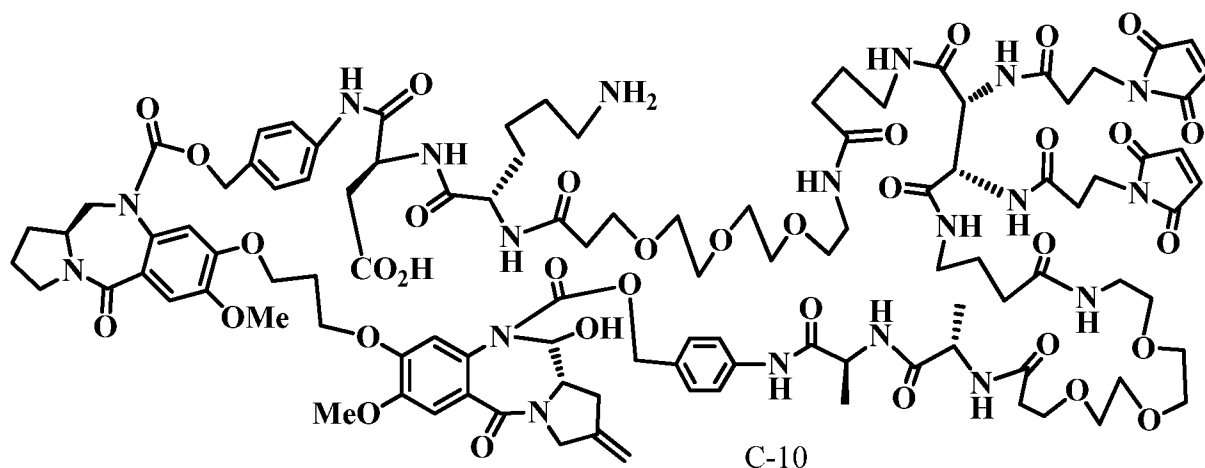
~99%), который непосредственно использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. МС ЭСИ m/z : рассчитано для $C_{89}H_{128}N_{13}O_{27}$ $[M+H]^+$ 1810,90, найдено 1811,50.

Пример 142. Синтез асимметрично сшитого димера PBD C-9.



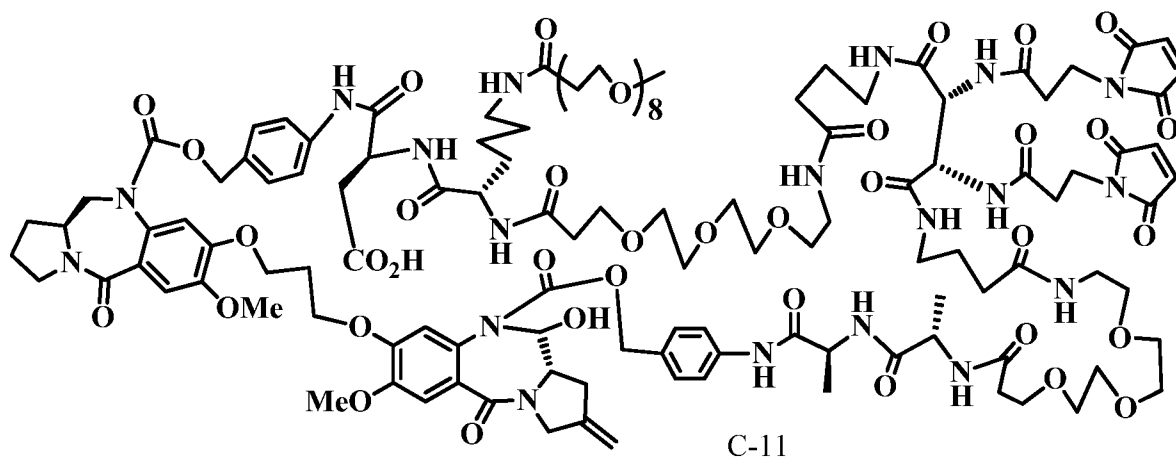
К вышеуказанному неочищенному аминсоединению ((11S,11aS)-4-((14S,17S)-1-амино-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил 8-(3-(((S)-10-(((4-((14S,17S)-1-амино-17-(2-(трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил)окси)карбонил)-7-метокси-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пропокси)-11-гидрокси-7-метокси-2-метил-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-10(5H)-карбоксилату) в сухом ДМАА (8 мл) добавляли 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)сукцинил)бис(азандиил))дибутановую кислоту (248,0 мг, 0,400 ммоль) и EDC (500,0 мг, 2,60 ммоль). Смесь перемешивали в течение 24 часов, упаривали и очищали на C_{18} препаративной ВЭЖХ (17% C_{18} , 250 мм x 50 мм), с элюированием вода/ CH_3CN (от 80% воды до 30% воды в течение 40 минут, 9 мл/мин) с получением 488,1 мг (выход 51%) продукта C-9 после сушки под высоким вакуумом. ЭСИ МС m/z $C_{115}H_{156}N_{19}O_{37}$ $[M+H]^+$, рассч. 2395,08, найдено 2395,90.

Пример 143. Синтез асимметрично сшитого димера PBD C-10.



Соединение C-9 (465,0 мг, 0,194 ммоль) растворяли в ДХМ (4 мл) с последующим добавлением ТФА (2 мл) при 0-4 °С. Реакционную смесь затем перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, разбавляли толуолом (5 мл), затем упаривали и совместно упаривали с ДХМ/толуолом досуха с получением неочищенного продукта C-3 (48,0 мг, выход 100%, степень чистоты 92% по данным ВЭЖХ), который дополнительно очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (L) мм x 20(d) мм, колонка C₁₈, 5-60% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, $v = 8$ мл/мин) с получением чистого продукта **C-10** (373,1 мг, выход 85%, степень чистоты 96%) в виде пены. ЭСИ МС m/z : расщ для C₁₀₆H₁₄₀N₁₉O₃₅ [M+H]⁺ 2238,97, найдено 2239,50.

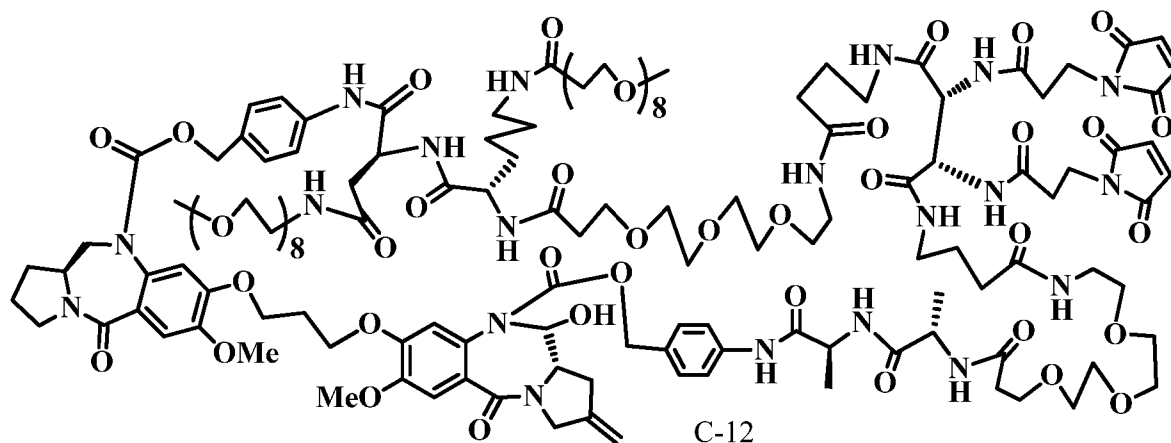
Пример 144. Синтез асимметрично сшитого димера PBD C-11.



Соединение C-10 (235,0 мг, 0,105 ммоль) растворяли в смеси растворителей ТГФ (3 мл) и 0,1 М, NaH₂PO₄ (3 мл), pH 7,5, с последующим добавлением N-сукцинимидил 2,5,8,11,14,17,20,23-октаоксагексакозан-26-оата (43,0 мг, 0,084 ммоль) 4 порциями в течение 2 часов. Затем реакционную смесь продолжали перемешивать при комнатной температуре в течение 4 часов и совместно упаривали с ДМФА (10 мл) досуха с получением неочищенного продукта C-11, который дополнительно очищали обращенно-фазовой

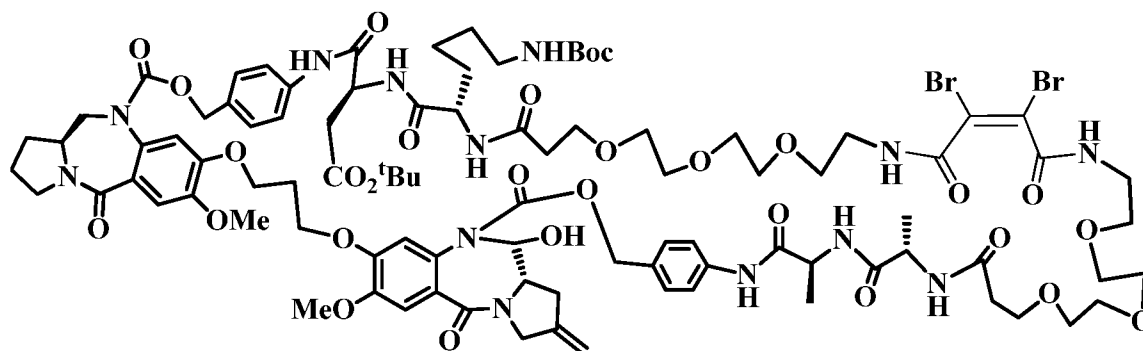
ВЭЖХ (250 (L) мм x 50(d) мм, колонка C₁₈, 20-60% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, $\nu = 8$ мл/мин) с получением чистого продукта **C-11** (215,5 мг, выход 78%, степень чистоты 95%) в виде пены. ЭСИ МС m/z: расщ для C₁₂₄H₁₇₄N₁₉O₄₄ [M+H]⁺ 2633,20, найдено 2633,85.

Пример 145. Синтез асимметрично сшитого димера PBD C-12.



К раствору соединения C-11 (65,0 мг, 0,0246 ммоль) и 2,5,8,11,14,17,20,23-октаоксапентакозан-25-амин (15,1 мг, 0,0394 ммоль) в сухом ДМАА (2 мл) добавляли EDC (30,0 мг, 0,156 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 часов, упаривали и очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (L) мм x 30 (d) мм, колонка C₁₈, 20-60% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, $\nu = 8$ мл/мин) с получением чистого продукта **C-12** (60,2 мг, выход 81%, степень чистоты 95% по данным ВЭЖХ) в виде пены. ЭСИ МС m/z: расщ для C₁₄₁H₂₀₉N₂₀O₅₁ [M+H]⁺ 2998,43, найдено 2999,40.

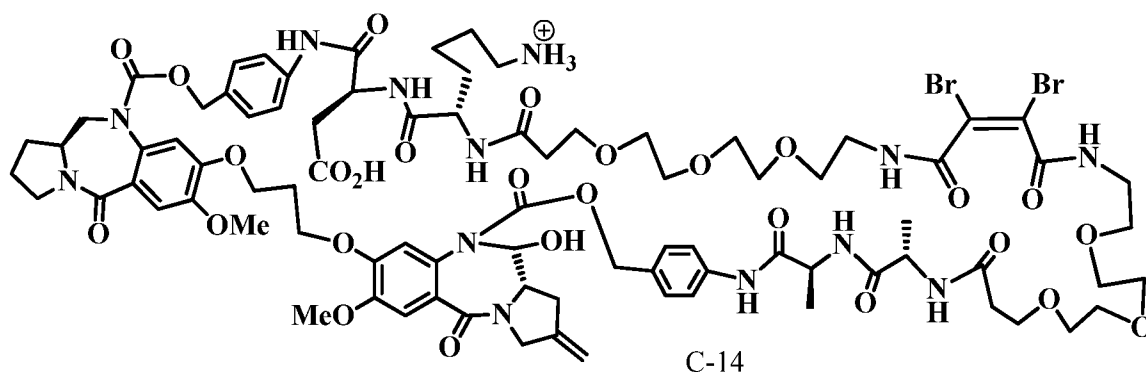
Пример 146. Синтез асимметрично сшитого димера PBD C-13.



К неочищенному аминсоединению ((11S,11aS)-4-((14S,17S)-1-амино-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил 8-(3-(((S)-10-(((4-((14S,17S)-1-амино-17-(2-(трет-бутоксид)-2-оксоэтил)-14-(4-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил)окси)карбонил)-7-метокси-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пропокси)-11-гидрокси-7-

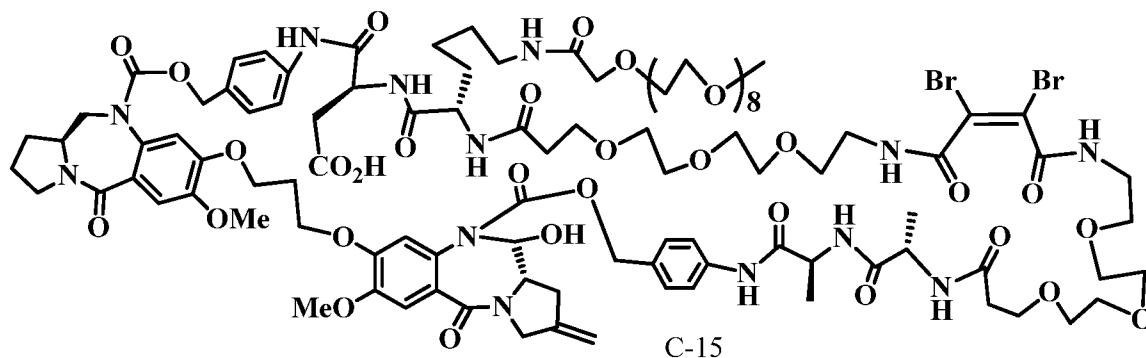
метокси-2-метилден-5-оксо-2,3,11,11а-тетрагидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]дiazепин-10(5Н)-карбоксилату) (~120 мг, ~0,0662 ммоль) в сухом ТГФ (10 мл) добавляли 3,4-дибромфуран-2,5-дион (16,8 мг, 0,0661 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 часов, затем добавляли EDC (50,2 мг, 0,261 ммоль). Смесь постоянно перемешивали в течение 12 часов, упаривали и очищали на колонке SiO₂, которую элюировали MeOH/CH₂Cl₂ (от 1:12 до 1:6) с получением чистого продукта **C-13** (112,2 мг, выход 83%) в виде пены. ЭСИ МС m/z: расчс для C₉₃H₁₂₆Br₂N₁₃O₂₉ [M+H]⁺ 2046,7073, найдено 2046,8260.

Пример 147. Синтез асимметрично сшитого димера PBD C-14.



Соединение C-13 (100,2 мг, 0,0489 ммоль) растворяли в ДХМ (4 мл) с последующим добавлением ТФА (2 мл) при 0-4 °С. Реакционную смесь затем перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, разбавляли толуолом (5 мл), затем упаривали и совместно упаривали с ДХМ/толуолом досуха с получением неочищенного продукта C-14 (94,3 мг, выход 102%, степень чистоты 93% по данным ВЭЖХ), который дополнительно очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (L) мм x 20(d) мм, колонка C₁₈, 5-60% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, v = 8 мл/мин) с получением чистого продукта **C-14** (76,6 мг, выход 83%, степень чистоты 96%) в виде пены. ЭСИ МС m/z: расчс для C₈₄H₁₀₉Br₂N₁₃O₂₇ [M+H]⁺ 1890,5995, найдено 1890,6250, 1893,6565 [M+H+2]⁺.

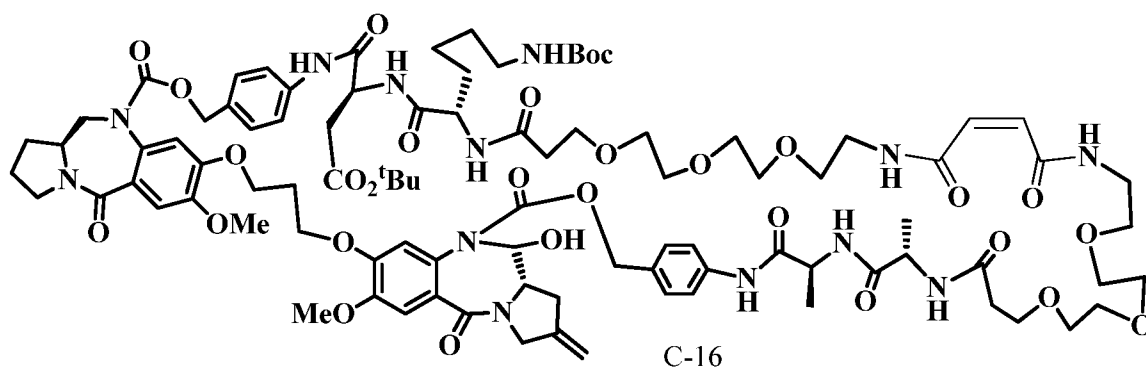
Пример 148. Синтез асимметрично сшитого димера PBD C-15.



Соединение C-14 (55,0 мг, 0,0291 ммоль) растворяли в смеси растворителей ТГФ (3 мл) и

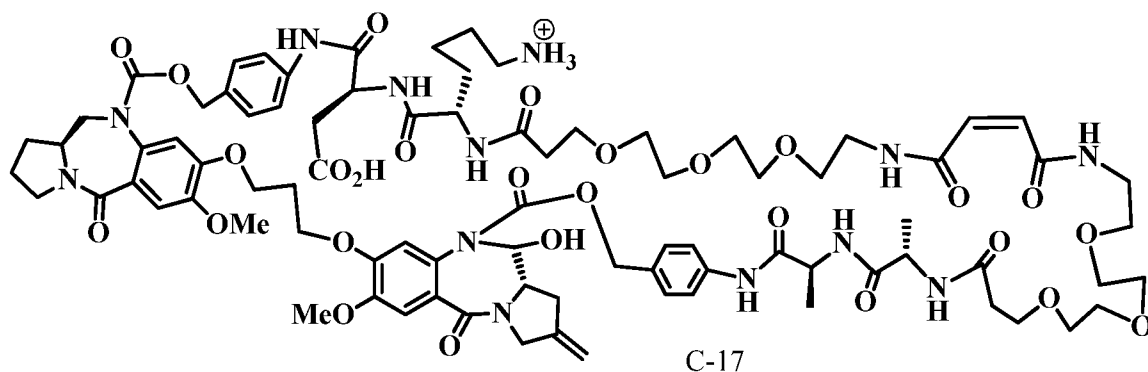
0,1 М, NaH_2PO_4 (3 мл), pH 7,5, с последующим добавлением N-сукцинимидил 2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаоксаоктакозан-28-оата (47,2 мг, 0,0875 ммоль) 4 порциями в течение 2 часов. Затем реакционную смесь продолжали перемешивать при комнатной температуре в течение 4 часов и совместно упаривали с ДМФА (10 мл) досуха с получением неочищенного продукта C-15, который дополнительно очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (L) мм x 50(d) мм, колонка C_{18} , 20-60% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, $v = 8$ мл/мин) с получением чистого продукта **C-15** (215,5 мг, выход 78%, степень чистоты 95%) в виде пены. ЭСИ МС m/z: расч для $\text{C}_{103}\text{H}_{146}\text{Br}_2\text{N}_{13}\text{O}_{37}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 2314,8309, найдено 2314,8575, 2316,8705 $[\text{M}+\text{H}+2]^+$, 2318,1445 $[\text{M}+\text{H}+4]^+$.

Пример 149. Синтез асимметрично сшитого димера PBD C-16.



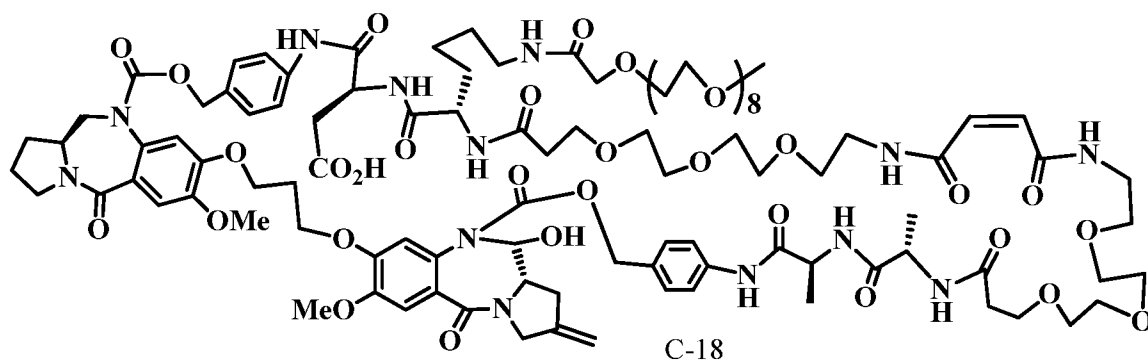
К неочищенному аминсоединению ((11S,11aS)-4-((14S,17S)-1-амино-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил 8-(3-(((S)-10-(((4-((14S,17S)-1-амино-17-(2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил)-14-(4-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил)окси)карбонил)-7-метокси-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пропокси)-11-гидрокси-7-метокси-2-метил-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-10(5H)-карбоксилату) (~120 мг, ~0,0662 ммоль) в сухом ТГФ (10 мл) добавляли 3,4-фуран-2,5-дион (6,5 мг, 0,0661 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 часов, затем добавляли EDC (50,2 мг, 0,261 ммоль). Смесь постоянно перемешивали в течение 12 часов, упаривали и очищали на колонке SiO_2 , которую элюировали $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (от 1:12 до 1:6) с получением чистого продукта **C-16** (107,3 мг, выход 86%) в виде пены. ЭСИ МС m/z: расч для $\text{C}_{93}\text{H}_{128}\text{N}_{13}\text{O}_{29}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1890,8941, найдено 1890,8990.

Пример 150. Синтез асимметрично сшитого димера PBD C-17.



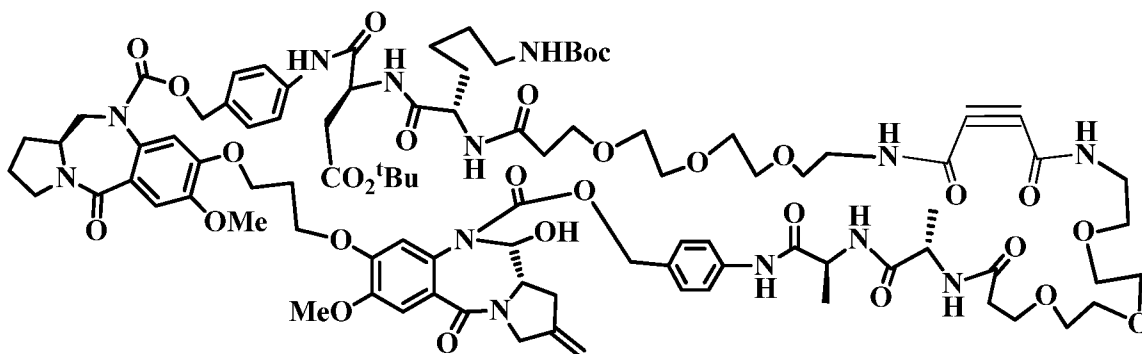
Соединение C-16 (85,5 мг, 0,0452 ммоль) растворяли в ДХМ (4 мл) с последующим добавлением ТФА (2 мл) при 0-4 °С. Реакционную смесь затем перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, разбавляли толуолом (5 мл), затем упаривали и совместно упаривали с ДХМ/толуолом досуха с получением неочищенного продукта C-17 (81,3 мг, выход 104%, степень чистоты 92% по данным ВЭЖХ), который дополнительно очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (L) мм x 20(d) мм, колонка C₁₈, 5-60% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, ν = 8 мл/мин) с получением чистого продукта **C-17** (67,4 мг, выход 86%, степень чистоты 96%) в виде пены. ЭСИ МС m/z : расч для C₈₄H₁₁₂N₁₃O₂₇ [M+H]⁺ 1734,7785, найдено 1734,8285.

Пример 151. Синтез асимметрично сшитого димера PBD C-18.



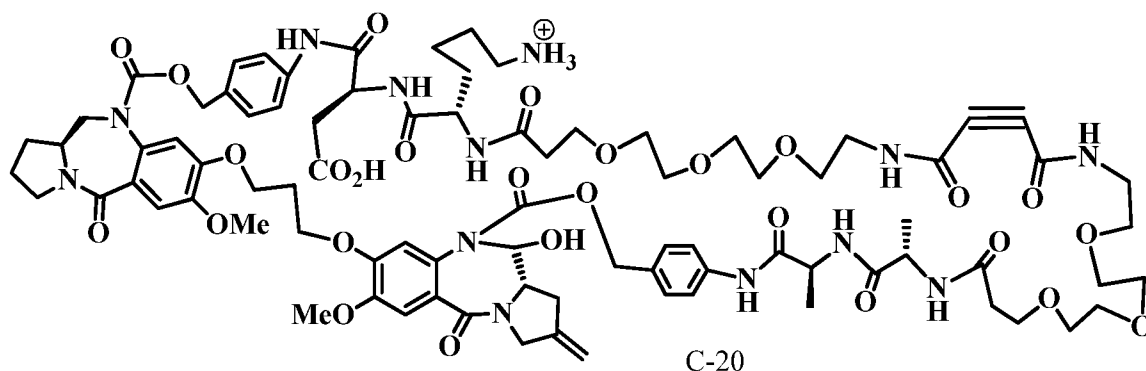
Соединение C-17 (53,0 мг, 0,0305 ммоль) растворяли в смеси растворителей ТГФ (3 мл) и 0,1 М, NaH₂PO₄ (3 мл), pH 7,5, с последующим добавлением N-сукцинимидил 2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаоксаоктакозан-28-оата (47,0 мг, 0,0874 ммоль) 4 порциями в течение 2 часов. Затем реакционную смесь продолжали перемешивать при комнатной температуре в течение 4 часов и совместно упаривали с ДМФА (10 мл) досуха с получением неочищенного продукта C-18, который дополнительно очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (L) мм x 50(d) мм, колонка C₁₈, 20-60% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, ν = 8 мл/мин) с получением чистого продукта **C-18** (53,25 мг, выход 83%, степень чистоты 95%) в виде пены. ЭСИ МС m/z : расч для C₁₀₃H₁₄₈N₁₃O₃₇ [M+H]⁺ 2159,0099, найдено 2159,0890.

Пример 152. Синтез асимметрично сшитого димера PBD C-19.



К неочищенному аминсоединению ((11S,11aS)-4-((14S,17S)-1-амино-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил 8-(3-(((S)-10-(((4-((14S,17S)-1-амино-17-(2-(трет-бутоксикарбонил)-2-оксоэтил)-14-(4-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил)окси)карбонил)-7-метокси-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пропокси)-11-гидрокси-7-метокси-2-метил-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazепин-10(5H)-карбоксилату) (~120 мг, ~0,0662 ммоль) в сухом ТГФ (10 мл) добавляли бут-2-индиовую кислоту (7,5 мг, 0,0661 ммоль) и EDC (50,2 мг, 0,261 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 часов, упаривали и очищали на колонке SiO₂, которую элюировали MeOH/CH₂Cl₂ (от 1:12 до 1:6) с получением чистого продукта **C-19** (86,3 мг, выход 69%) в виде пены. ЭСИ МС m/z: расчч для C₉₃H₁₂₆N₁₃O₂₉ [M+H]⁺ 1888,8784, найдено 1888,8895.

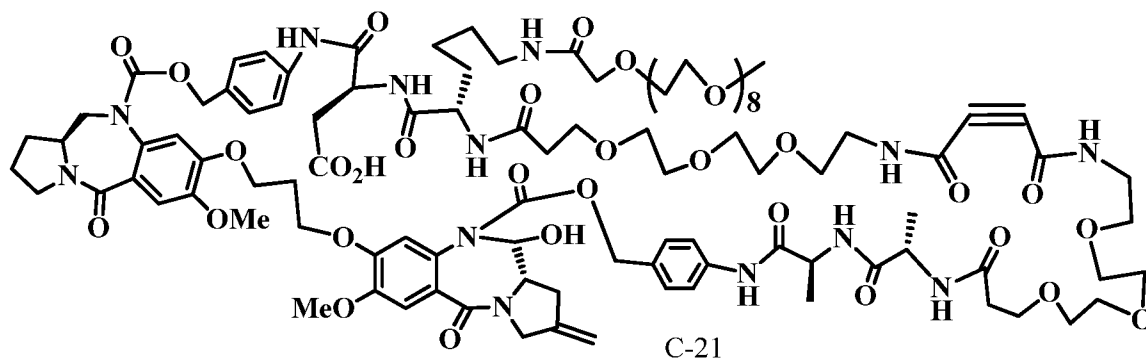
Пример 153. Синтез асимметрично сшитого димера PBD C-20.



Соединение C-19 (75,5 мг, 0,0397 ммоль) растворяли в ДХМ (4 мл) с последующим добавлением ТФА (2 мл) при 0-4 °С. Реакционную смесь затем перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, разбавляли толуолом (5 мл), затем упаривали и совместно упаривали с ДХМ/толуолом досуха с получением неочищенного продукта C-17 (72,2 мг, выход 105%, степень чистоты 91% по данным ВЭЖХ), который дополнительно

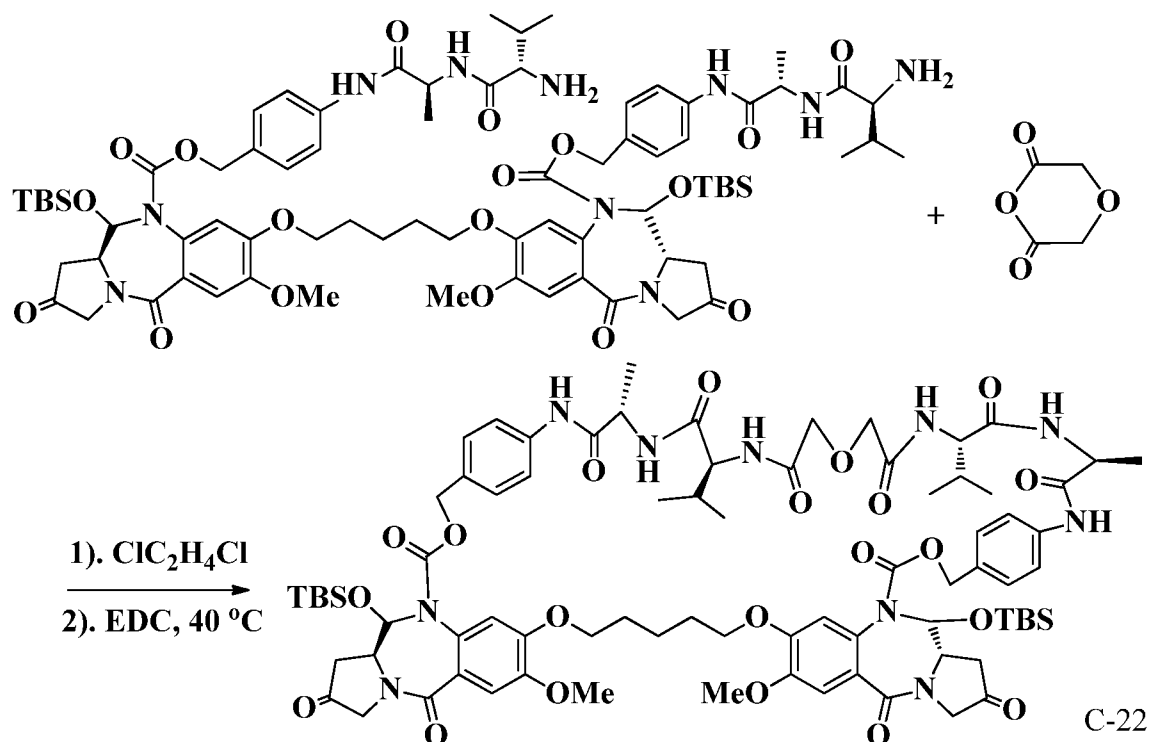
очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (L) мм x 20(d) мм, колонка C₁₈, 5-60% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, ν = 8 мл/мин) с получением чистого продукта **C-20** (55,7 мг, выход 81%, степень чистоты 95%) в виде пены. ЭСИ МС m/z : расщ для C₈₄H₁₁₀N₁₃O₂₇ [M+H]⁺ 1732,7629, найдено 1732,8025.

Пример 154. Синтез асимметрично сшитого димера PBD C-21.



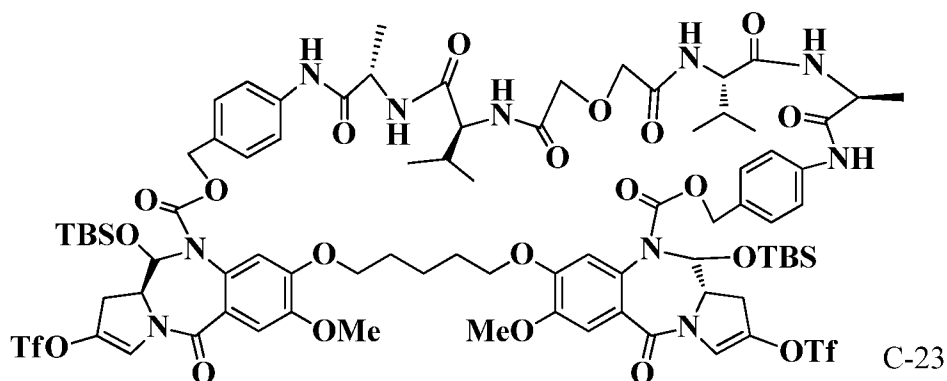
Соединение C-20 (45,0 мг, 0,026 ммоль) растворяли в смеси растворителей ТГФ (3 мл) и 0,1 М, NaH₂PO₄ (3 мл), pH 7,5, с последующим добавлением N-сукцинимидил 2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаоксооктакозан-28-оата (47,0 мг, 0,0874 ммоль) 4 порциями в течение 2 часов. Затем реакционную смесь продолжали перемешивать при комнатной температуре в течение 4 часов и совместно упаривали с ДМФА (10 мл) досуха с получением неочищенного продукта C-18, который дополнительно очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (L) мм x 50(d) мм, колонка C₁₈, 20-60% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, ν = 8 мл/мин) с получением чистого продукта **C-21** (45,3 мг, выход 81%, степень чистоты 95%) в виде пены. ЭСИ МС m/z : расщ для C₁₀₃H₁₄₆N₁₃O₃₇ [M+H]⁺ 2156,9943, найдено 2157,1250.

Пример 155. Синтез сшитого димера PBD C-22.



К (11S,11aS,11'S,11a'S)-бис(4-((S)-2-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил) 8,8'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(11-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-7-метокси-2,5-диоксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дизаепин-10(5H)-карбоксилату) (2,26 г, 1,51 ммоль) в дихлорэтано (40 мл) добавляли 1,4-диоксан-2,6-дион (176 мг, 1,51 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 часов, затем добавляли EDC (1,16 г, 6,04 ммоль) и ДИПЭА (0,40 г, 3,10 ммоль). Смесь перемешивали при $40\text{ }^\circ\text{C}$ в течение 24 часов, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 ($\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ от 1:15 до 1:5) с получением 1,99 г (выход 83%) соединения C-22. ЭСИ МС m/z расщ для $\text{C}_{79}\text{H}_{109}\text{N}_{10}\text{O}_{21}\text{Si}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1589,7307, найдено 1589,9025.

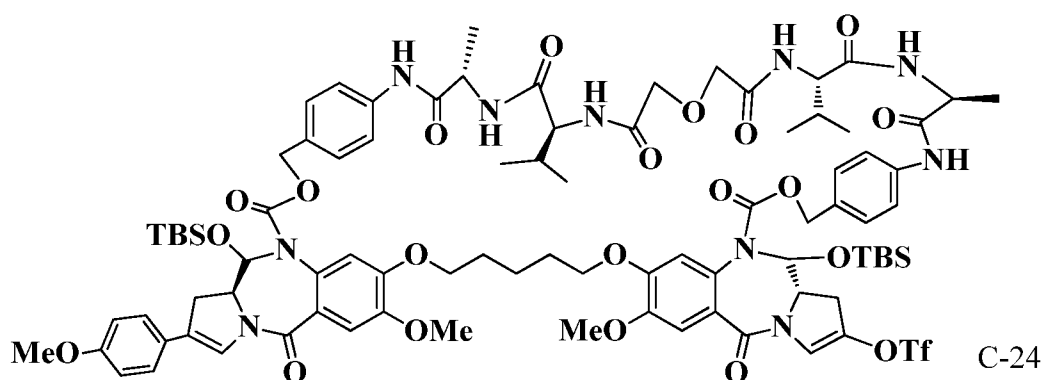
Пример 156. Синтез сшитого димера PBD C-23.



К соединению C-22 (1,98 г, 1,24 ммоль) в смеси безводного CH_2Cl_2 (30 мл) и 2,6-лутидина (2,0 мл, 17,16 ммоль) при $-45\text{ }^\circ\text{C}$ в атмосфере N_2 добавляли

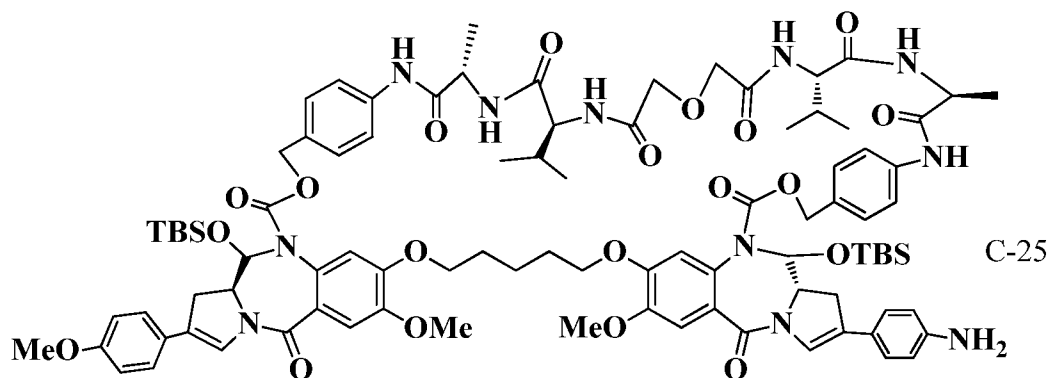
трифторметансульфоновый ангидрид (2,68 мл, 15,93 ммоль). Смесь перемешивали при -45 °С в течение 2 часов, разбавляли CH_2Cl_2 (30 мл), промывали водой (50 мл), 5% уксусной кислотой (2 x 80 мл), насыщенным раствором NaHCO_3 (2 x 80 мл), соевым раствором (80 мл) и сушили над Na_2SO_4 . Фильтрация и упаривание растворителя под вакуумом приводило к неочищенному продукту, который очищали на колонке SiO_2 , которую элюировали $\text{EtOAc}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (от 1:10 до 1:6) с получением С-23 в виде белой пены (1,68 г, выход 74%). ЭСИ МС m/z расч для $\text{C}_{81}\text{H}_{107}\text{F}_6\text{N}_{10}\text{O}_{25}\text{S}_2\text{Si}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1583,6293, найдено 1583,7055.

Пример 157. Синтез сшитого димера PBD С-24.



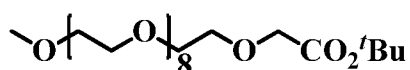
К раствору С-23 (348,1 мг, 0,22 ммоль) в смеси толуола (3 мл), EtOH (10 мл) в H_2O (1,5 мл) при комнатной температуре добавляли твердый $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (10 мг, 8,69 ммоль), 4-метоксифенилбороновую кислоту (40 мг, 0,26 ммоль), Na_2CO_3 (37 мг, 0,35 ммоль). Реакционную смесь оставляли перемешиваться в атмосфере N_2 в течение 24 часов, по завершении которых реакцию считали завершённой по данным ЖХ-МС и ТСХ (EtOAc). Растворитель удаляли под вакуумом и полученный остаток распределяли между EtOAc (100 мл) и H_2O (100 мл). Водную фазу экстрагировали EtOAc (3 x 40 мл) и объединенные органические слои промывали H_2O (40 мл), соевым раствором (40 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и упаривали с получением неочищенного продукта, который очищали флэш-хроматографией на SiO_2 (элюирование $\text{EtOAc}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, от 1:10 до 1:6) с получением соединения С-24 в виде белой пены (286 мг, выход 72%). ЭСИ МС m/z расч для $\text{C}_{87}\text{H}_{114}\text{F}_3\text{N}_{10}\text{O}_{23}\text{SSi}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1811,7270, найдено 1811,7965.

Пример 158. Синтез сшитого димера PBD С-25.



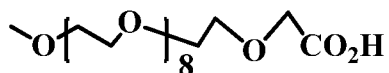
К раствору C-24 (250,1 мг, 0,138 ммоль) в смеси толуола (3 мл), EtOH (10 мл) в H₂O (1,5 мл) при комнатной температуре добавляли твердый Pd(PPh₃)₄ (10 мг, 8,69 ммоль), 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)анилин (60 мг, 0,27 ммоль), Na₂CO₃ (40 мг, 0,37 ммоль). Реакционную смесь оставляли перемешиваться в атмосфере N₂ в течение 24 часов, по завершении которых реакцию считали завершенной по данным ЖХ-МС и ТСХ (EtOAc). Растворитель удаляли под вакуумом и полученный остаток распределяли между EtOAc (100 мл) и H₂O (100 мл). Водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 40 мл) и объединенные органические слои промывали H₂O (40 мл), солевым раствором (40 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и упаривали с получением неочищенного продукта, который очищали флэш-хроматографией на SiO₂ (элюирование EtOH/CH₂Cl₂, от 1:15 до 1:8) с получением соединения C-25 в виде бледной пены (142 мг, выход 59%). ЭСИ МС m/z рассч для C₉₂H₁₂₀N₁₁O₂₀Si₂ [M+H]⁺ 1754,8250, найдено 1754,9830.

Пример 159. Синтез трет-бутил 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаоксагентакриконтан-31-оата.



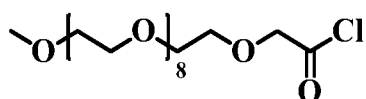
К раствору 2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаоксооктакосан-28-ола (42,8 г, 100 ммоль) в ТГФ (1,0 л) добавляли NaN (60%, 8,0 г, 200 ммоль). После перемешивания при к. т. в течение 30 мин к смеси добавляли *трет*-бутил 2-бромацетат (48,8 г, 250 ммоль) и перемешивали при к. т. в течение 1 ч. Затем смесь выливали на ледяную воду, экстрагировали с использованием ДХМ, и органический слой промывали соляным раствором, сушили над безводным Na₂SO₄. Очистка с помощью колоночной хроматографии (0%–5% MeOH: ДХМ) приводила к указанному соединению в виде желтого масла (32 г, выход 59%). ЭСИ МС m/z 543,35 [M+H]⁺.

Пример 160. Синтез 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаоксагентакриконтан-31-овой кислоты.



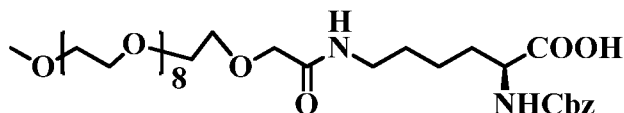
Трет-бутил 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаоксагентриаконтан-31-оат (40,0 г, 73,8 ммоль) растворяли в ДХМ (400 мл) и затем добавляли муравьиную кислоту (600 мл). Полученный раствор перемешивали при 25 °С в течение ночи. Все летучие вещества удаляли под вакуумом с получением указанного продукта в виде желтого масла (36,0 г, выход ~100%). ЭСИ m/z : рассчитано для $C_{21}H_{43}O_{12}$ $[M+H]^+$: 487,27, найдено 487,24.

Пример 161. Синтез 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаоксагентриаконтан-31-оил хлорида.



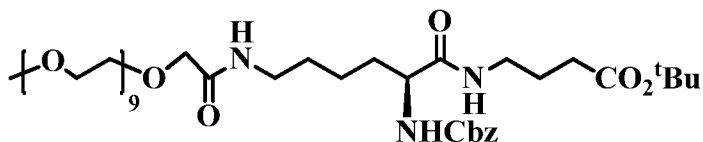
К раствору 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаоксагентриаконтан-31-овой кислоты (36,0 г, 73,8 ммоль), растворенной в ДХМ (640 мл), добавляли $(COCl)_2$ (100 мл) и ДМФА (52 г, 0,74 ммоль). Полученный раствор перемешивали при к. т. в течение 4 ч. Все летучие вещества удаляли в вакууме с получением указанного в заголовке продукта в виде желтого масла.

Пример 162. Синтез (S)-37-(((бензилокси)карбонил)амино)-31-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса-32-азаоктатриаконтан-38-овой кислоты.



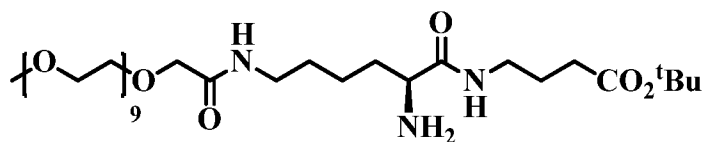
Z-L-Lys-OH (41,4 г, 147,6 ммоль), Na_2CO_3 (23,4 г, 221,4 ммоль) и NaOH (5,9 г, 147,6 ммоль) растворяли в воде (720 мл). Смесь охлаждали до 0 °С, затем добавляли раствор 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаоксагентриаконтан-31-оил хлорида. (37,2 г, 73,8 ммоль) в ТГФ (20 мл). Полученную смесь перемешивали при к. т. в течение 1 ч. ТГФ удаляли в вакууме, и к водному раствору при охлаждении льдом добавляли концентрированную HCl до достижения уровня pH 3. После экстрагирования ДХМ органический слой промывали соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и упаривали с получением указанного продукта в виде желтого масла (55 г, выход 99%). ЭСИ m/z : рассчитано для $C_{35}H_{60}N_2O_{15}$ $[M+H]^+$: 749,40, найдено 749,39.

Пример 163. Синтез (S)-трет-бутил 37-(((бензилокси)карбонил)амино)-31,38-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса-32,39-дiazатритетрактан-43-оата.



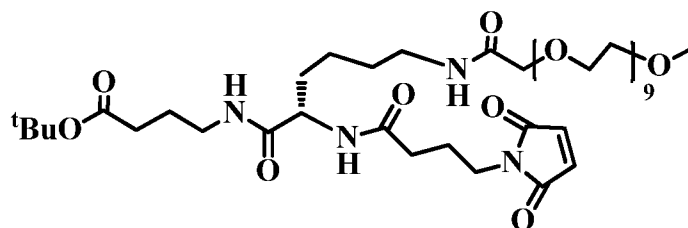
Смесь трет-бутил 4-аминобутаноата (1,03 г, 6,12 ммоль) и (S)-37-(((бензилокси)карбонил)амино)-31-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса-32-азаоктатриаконтан-38-овой кислоты (4,16 г, 5,56 ммоль) в ДМФА (18 мл) охлаждали до 0 °С и последовательно добавляли НАТУ (2,32 г, 6,12 ммоль) и ТЭА (1,2 мл, 8,34 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 50 мин, затем разводили водой (300 мл) и экстрагировали с помощью EtOAc (3 × 250 мл). Раствор EtOAc промывали солевым раствором, сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO₂ (32:1 ДХМ/MeOH) с получением указанного соединения (4,40 г, выход 89%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для C₄₃H₇₅N₃O₁₆ [M+H]⁺ 890,51, найдено 891,09.

Пример 164. Синтез (S)-трет-бутил 37-амино-31,38-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса-32,39-диазатритетраконтан-43-оата.



К раствору (S)-трет-бутил 37-(((бензилокси)карбонил)амино)-31,38-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса-32,39-диазатритетраконтан-43-оата (1 г, 1,13 ммоль) в MeOH (50 мл) добавляли Pd/C (10 мас. %, 0,10 г) в сосуде для гидрирования. Смесь встряхивали в течение 2 часов, фильтровали через целит (вспомогательное фильтровальное вещество) и фильтрат упаривали с получением указанного соединения (1,0 г, 1,32 ммоль, выход >100%), который непосредственно использовали на следующей стадии без дальнейшей очистки. ЭСИ m/z: рассчитано для C₃₅H₇₀N₃O₁₄ [M+H]⁺: 756,48, найдено 756,47.

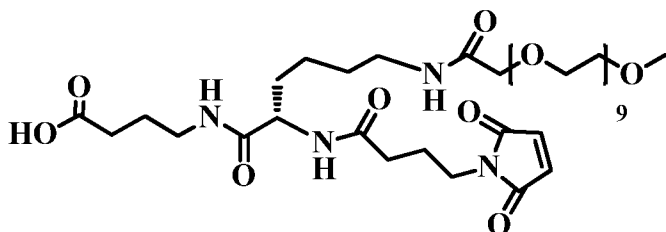
Пример 165. Синтез (S)-трет-бутил 37-(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-31,38-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса-32,39-диазатритетраконтан-43-оата.



К раствору (S)-трет-бутил 37-амино-31,38-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса-32,39-диазатритетраконтан-43-оата (0,93 г, 1,23 ммоль, 1,0 экв.) и 4-(малеимидил)бутановой кислоты (0,27 г, 1,47 ммоль, 1,2 экв.) в ДМАА (40 мл) при комнатной температуре добавляли EDC (0,90 г, 4,68 ммоль). Смесь перемешивали в течение

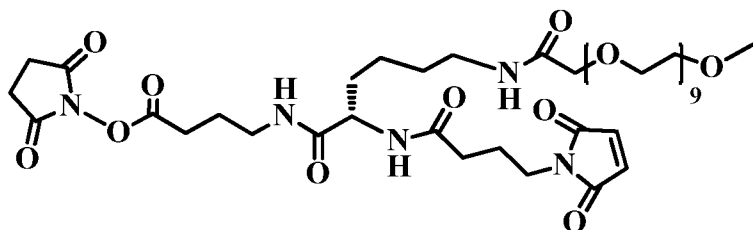
ночи, затем концентрировали, разводили водой (50 мл) и экстрагировали ДХМ (80 мл × 3), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали, концентрировали and очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO₂ (ДХМ:MeOH = 25:1) с получением указанного в заголовке соединения в виде светло-желтого масла (1,01 г, 90%). ЭСИ m/z: рассчитано для C₄₃H₇₇N₄O₁₇ [M+H]⁺: 921,5, найдено: 921,5.

Пример 166. Синтез (S)-37-(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-31,38-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса-32,39-дiazатритетраконтан-43-овой кислоты.



(S)-трет-бутил 37-(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-31,38-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса-32,39-дiazатритетраконтан-43-оат (0,90 г, 0,98 ммоль) растворяли в HCOOH (50 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Реакционную смесь упаривали и дважды совместно упаривали с толуолом, и остаток помещали под вакуумный насос с получением указанного соединения (0,85 г, 0,98 ммоль, неочищенный продукт). ЭСИ m/z: рассчитано для C₃₉H₆₉N₄O₁₇ [M+H]⁺: 865,46, найдено 865,44.

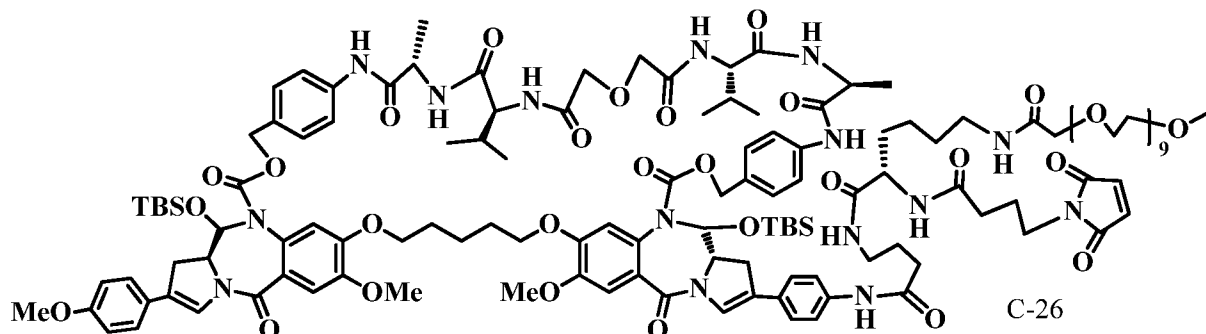
Пример 167. Синтез (S)-2,5-диоксопирролидин-1-ил 37-(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-31,38-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса-32,39-дiazатритетраконтан-43-оата.



К раствору (S)-37-(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-31,38-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса-32,39-дiazатритетраконтан-43-овой кислоты (0,80 г, 0,92 ммоль, 1,0 экв.) и 1-гидроксипирролидин-2,5-диона (NHS) (0,20 г, 1,73 ммоль, 2,0 экв.) в ДМАА (20 мл) при комнатной температуре добавляли EDC (0,90 г, 4,68 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, затем упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO₂ (ДХМ:EtOAc от 10:1 до 5:1) с получением указанного соединения

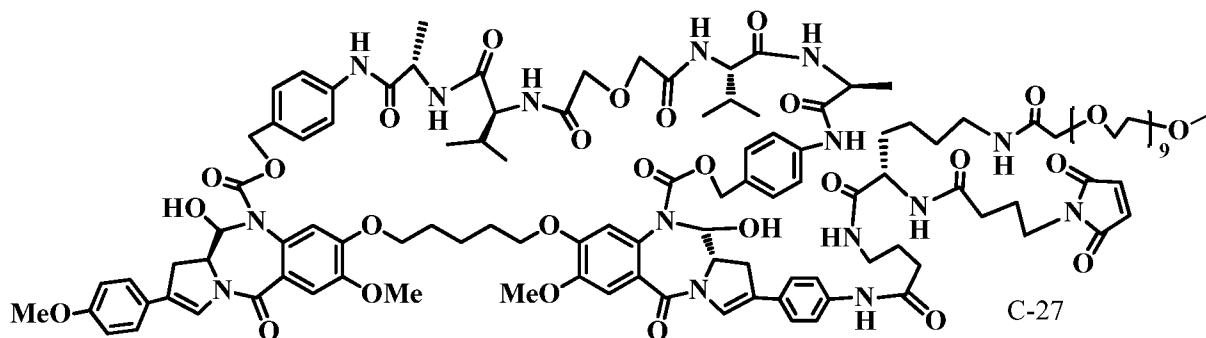
в виде светло-желтого масла (0,803 г, выход 91%). ЭСИ m/z : рассчитано для $C_{43}H_{72}N_5O_{19}$ $[M+H]^+$: 962,47, найдено: 962,55.

Пример 168. Синтез сшитого димера PBD C-26.



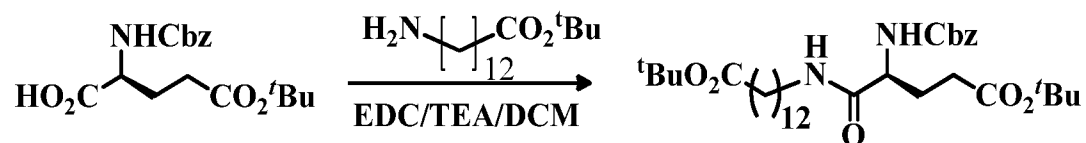
К димеру PBD C-25 (120 мг, 0,068 ммоль) и (S)-37-(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-31,38-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса-32,39-диазатригетраконтан-43-овой кислоте (70 мг, 0,0809 ммоль) в ДМАА (3 мл) добавляли EDC (60 мг, 0,312 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, затем упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (ДХМ:EtOAc от 10:1 до 5:1) с получением указанного соединения в виде пены (152 мг, выход 86%). ЭСИ МС m/z расчч для $C_{131}H_{186}N_{15}O_{36}Si_2$ $[M+H]^+$: 2601,26, найдено: 2601,55.

Пример 168. Синтез сшитого димера PBD C-27.



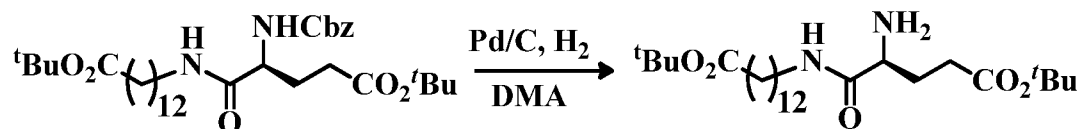
Соединение C-26 (75,5 мг, 0,0290 ммоль) растворяли в ДХМ (2 мл) с последующим добавлением ТФА (2 мл) при 0-4 °С. Реакционную смесь затем перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, разбавляли толуолом (5 мл), затем упаривали и совместно упаривали с ДХМ/толуолом досуха с получением неочищенного продукта C-17 (72,2 мг, выход 105%, степень чистоты 91% по данным ВЭЖХ), который дополнительно очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (L) мм x 20(d) мм, колонка C_{18} , 5-60% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, $v = 8$ мл/мин) с получением чистого продукта **C-27** (55,2 мг, выход 80%, степень чистоты 95%) в виде пены. ЭСИ МС m/z : расчч для $C_{119}H_{158}N_{15}O_{36}$ $[M+H]^+$ 2373,09, найдено 2373,90.

Пример 169. Синтез (S)-трет-бутил 13-(2-(((бензилокси)карбонил)амино)-5-(трет-бутоксид)-5-оксопентанамидо)тридеканоата.



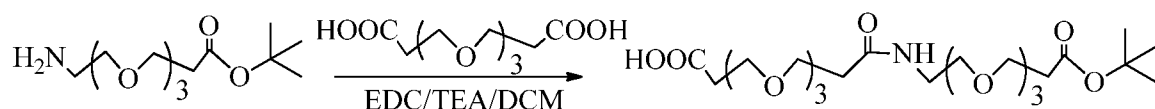
К раствору (S)-2-(((бензилокси)карбонил)амино)-5-(трет-бутокси)-5-оксопентановой кислоты (3,50 г, 10,38 ммоль) и трет-бутил 13-аминотридеcanoата (3,00 г, 10,51 ммоль) в ДМФА (70 мл) добавляли EDC (10,00 г, 52,08 ммоль) и ТЭА (1,60 мл, 11,16 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 8 часов, упаривали под вакуумом, разбавляли водой, насыщенной NaCl, (80 мл) и EtOAc (100 мл), отделяли. Водный слой экстрагировали этилацетатом (50 мл × 3) и объединенные органические фазы один раз промывали 100 мл насыщенного солевого раствора, сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и упаривали. Остаток очищали колоночной хроматографией на SiO₂ (EtOAc/ДХМ, 1:15) с получением указанного соединения (5,45 г, выход 87%), ЭСИ: m/z: расчч для C₃₄H₅₇N₂O₇ [M+H]⁺: 605,41, найдено 605,38.

Пример	170.	Синтез	(S)-трет-бутил	13-(2-амино-5-(трет-бутоксиде)-5-оксопентанамидо)тридеcanoата.



К раствору (S)-трет-бутил 13-(2-(((бензилокси)карбонил)амино)-5-(трет-бутокси)-5-оксопентанамидо)тридеcanoата (2,80 г, 4,63 ммоль) в ДМАА (100 мл) добавляли 10% Pd/C (0,41 г), смесь перемешивали в атмосфере водорода при комнатной температуре в течение 18 часов. Затем Pd/C удаляли фильтрацией через целит и фильтрующий слой промывали ДМАА. Фильтрат упаривали с получением продукта в виде желтой пены, который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки (2,19 г, выход 101%). ЭСИ m/z : рассчитано для $C_{26}H_{51}N_2O_5$ $[M-H]^+$: 471,37, найдено 471,80.

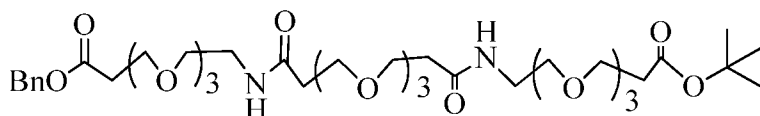
Пример 171. Синтез 2,2-диметил-4,17-диоксо-3,7,10,13,20,23,26-гептаокса-16-азанонакозан-29-овой кислоты



К раствору трет-бутил 3-(2-(2-(2-аминоэтокси)этокси)пропаноата (6,00 г, 21,64 ммоль) и 3,3'-((оксис(этан-2,1-диил))бис(окси))дипропановой кислоты (21,01 г, 84,00

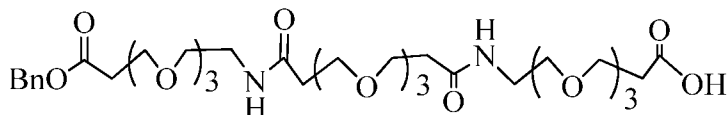
ммоль) в ДМАА (200 мл) добавляли EDC (18,00 г, 93,75 ммоль) и ДИПЭА (5,00 г, 38,75 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, затем упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 ($\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ от 1:12 до 1:5) с получением указанного соединения в виде белого масла (9,15 г, выход 86%). ЭСИ m/z : рассчитано для $\text{C}_{23}\text{H}_{44}\text{NO}_{11}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 510,28, найдено: 510,55.

Пример 172. Синтез 1-бензил 39-трет-бутил 14,26-диоксо-4,7,10,17,20,23,30,33,36-нонаокса-13,27-дiazанонатриаконтан-1,39-диоата.



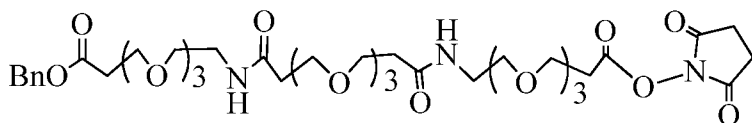
К раствору (S)-трет-бутил 13-(2-амино-5-(трет-бутоксид)-5-оксопентанамидо)тридеканата (5,11 г, 10,03 ммоль) и бензил 3-(2-(2-(2-аминоэтоксид)этоксид)этоксид)пропаноата (3,21 г, 10,31 ммоль) в ДМАА (100 мл) добавляли EDC (8,02 г, 41,77 ммоль) и ДИПЭА (3,00 г, 23,25 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, затем упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 ($\text{EtOAc}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ от 1:8 до 1:3) с получением указанного соединения в виде белого масла (7,01 г, выход 87%). ЭСИ m/z : рассчитано для $\text{C}_{39}\text{H}_{67}\text{N}_2\text{O}_{15}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 803,44, найдено: 803,80.

Пример 173. Синтез 3,16,28-триоксо-1-фенил-2,6,9,12,19,22,25,32,35,38-декаокса-15,29-дiazагентетрааконтан-41-овой кислоты.



1-бензил 39-трет-бутил 14,26-диоксо-4,7,10,17,20,23,30,33,36-нонаокса-13,27-дiazанонатриаконтан-1,39-диоат (6,90 г, 8,60 ммоль) растворяли в HCOOH (50 мл) и перемешивали при 0 - 4 °C в течение 1 часа. Реакционную смесь разбавляли толуолом (50 мл), упаривали и дважды совместно упаривали с толуолом, и остаток помещали под вакуумный насос с получением указанного соединения (6,45 г, выход ~101%, неочищенный продукт). ЭСИ m/z : рассчитано для $\text{C}_{35}\text{H}_{59}\text{N}_2\text{O}_{15}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 747,38, найдено 747,50.

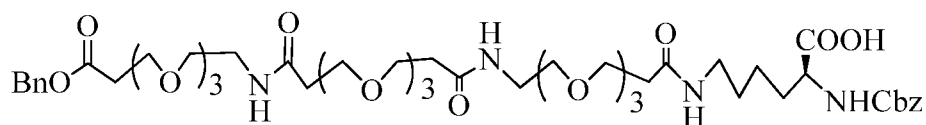
Пример 174. Синтез 1-бензил 39-(2,5-диоксопирролидин-1-ил) 14,26-диоксо-4,7,10,17,20,23,30,33,36-нонаокса-13,27-дiazанонатриаконтан-1,39-диоата.



К раствору 3,16,28-триоксо-1-фенил-2,6,9,12,19,22,25,32,35,38-декаокса-15,29-дiazагентетрааконтан-41-овой кислоты (4,01 г, 5,37 ммоль) и NHS (N-гидроксисукцинимид)

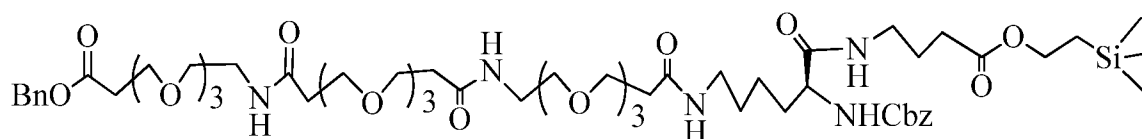
(0,68 г, 5,91 ммоль) в ДМАА (100 мл) добавляли EDC (1,52 г, 7,92 ммоль) и ДИПЭА (0,50 г, 3,87 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, затем упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 ($\text{EtOAc}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ от 1:8 до 1:4) с получением указанного соединения в виде белой пены (4,17 г, выход 92%). ЭСИ m/z : рассчитано для $\text{C}_{39}\text{H}_{62}\text{N}_3\text{O}_{17}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 844,40, найдено: 844,85.

Пример 175. Синтез (S)-47-(((бензилокси)карбонил)амино)-3,16,28,41-тетраоксо-1-фенил-2,6,9,12,19,22,25,32,35,38-декаокса-15,29,42-триазаоктатетраконтан-48-овой кислоты.



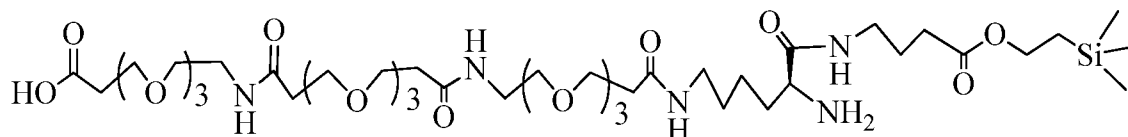
К раствору (S)-6-амино-2-(((бензилокси)карбонил)амино)гексановой кислоты (1,38 г, 4,92 ммоль) в ДМАА (30 мл) и буфера 100 мМ NaH_2PO_4 , pH 7,5 (40 мл) добавляли 1-бензил 39-(2,5-диоксопирролидин-1-ил) 14,26-диоксо-4,7,10,17,20,23,30,33,36-нонаокса-13,27-дизанонатриаконтан-1,39-диоат (4,15 г, 4,92 ммоль) 4 порциями в течение 2 часов. Смесь перемешивали в течение 4 часов, затем упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 ($\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ от 1:7 до 1:4) с получением указанного соединения в виде белой пены (4,07 г, выход 82%). ЭСИ m/z : рассчитано для $\text{C}_{49}\text{H}_{77}\text{N}_4\text{O}_{18}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 1009,51, найдено: 1009,90.

Пример 176. Синтез (S)-1-бензил 51-(2-(триметилсилил)этил) 45-(((бензилокси)карбонил)амино)-14,26,39,46-тетраоксо-4,7,10,17,20,23,30,33,36-нонаокса-13,27,40,47-тетраазагептатриаконтан-1,51-диоата.



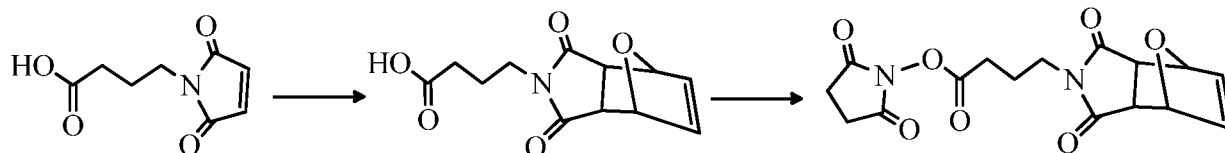
К раствору (S)-47-(((бензилокси)карбонил)амино)-3,16,28,41-тетраоксо-1-фенил-2,6,9,12,19,22,25,32,35,38-декаокса-15,29,42-триазаоктатетраконтан-48-овой кислоты (4,00 г, 3,96 ммоль) и 2-(триметилсилил)этил 4-аминобутаноата (0,90 г, 4,43 ммоль) в ДМАА (25 мл) добавляли EDC (2,03 г, 10,57 ммоль). Смесь перемешивали в течение 6 часов, затем упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 ($\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ от 1:15 до 1:8) с получением указанного соединения в виде белой пены (3,97 г, выход 84%). ЭСИ m/z : рассчитано для $\text{C}_{58}\text{H}_{96}\text{N}_5\text{O}_{19}\text{Si}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 1194,64, найдено: 1194,90.

Пример 177. Синтез 12-амино-2,2-диметил-6,11,18,31,43-пентаоксо-5,21,24,27,34,37,40,47,50,53-декаокса-10,17,30,44-тетрааза-2-силагексапентаконтан-56-овой кислоты.



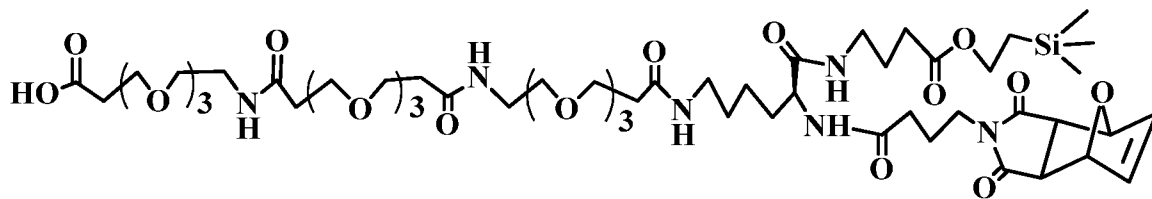
К раствору (S)-1-бензил 51-(2-(триметилсилил)этил) 45-(((бензилокси)-карбонил)амино)-14,26,39,46-тетраоксо-4,7,10,17,20,23,30,33,36-нонаокса-13,27,40,47-тетраазагептаконтан-1,51-диоата (3,90 г, 3,33 ммоль) в MeOH (40 мл) добавляли Pd/C (10 мас. %, 0,20 г) в сосуде для гидрирования. Смесь встряхивали при давлении 40 фунт/кв. дюйм (275 кПа) H_2 в течение 2 часов, фильтровали через целит (вспомогательное фильтровальное вещество) и фильтрат упаривали с получением указанного соединения (3,16 г, выход 98%), который непосредственно использовали на следующей стадии без дальнейшей очистки. ЭСИ МС: m/z: расщ для $C_{43}H_{83}N_5O_{17}Si$ $[M+H]^+$: 970,55, найдено 970,70.

Пример 178. Синтез 2,5-диоксопирролидин-1-ил 4-((3aR,7R,7aS)-1,3-диоксо-3a,4,7,7a-тетрагидро-1H-4,7-эпоксизоиндол-2(3H)-ил)бутаноата.



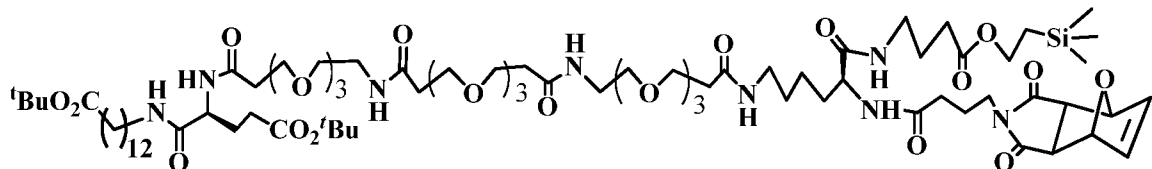
4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутановую кислоту (10,0 г, 54,62 ммоль) и фуран (5 мл, 68,74 ммоль) в эфире (90 мл) в сосуде для давления нагревали при 170 °C в течение 6 часов. Затем раствор охлаждали до комнатной температуры, упаривали под вакуумом и кристаллизовали в EtOH/гексане с получением 4-((3aR,7R,7aS)-1,3-диоксо-3a,4,7,7a-тетрагидро-1H-4,7-эпоксизоиндол-2(3H)-ил)бутановой кислоты (11,24 г, 44,76 ммоль, выход 82%). Затем к полученной кислоте, повторно растворенной в CH_2Cl_2 (100 мл), добавляли NHS (7,00 г, 60,86 ммоль) и EDC (25,00 г, 130,20 ммоль). Смесь перемешивали в течение 6 часов, затем упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (EtOAc: CH_2Cl_2 от 1:8 до 1:5) с получением указанного соединения в виде белой пены (13,57 г, выход 87%). ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{16}H_{17}N_2O_7$ $[M+H]^+$: 349,09, найдено: 349,55.

Пример 179. Синтез (12S)-12-(4-((3aR,4S,7R)-1,3-диоксо-3a,4,7,7a-тетрагидро-1H-4,7-эпоксизоиндол-2(3H)-ил)бутанамидо)-2,2-диметил-6,11,18,31,43-пентаоксо-5,21,24,27,34,37,40,47,50,53-декаокса-10,17,30,44-тетрааза-2-силагексапентаконтан-56-овой кислоты.



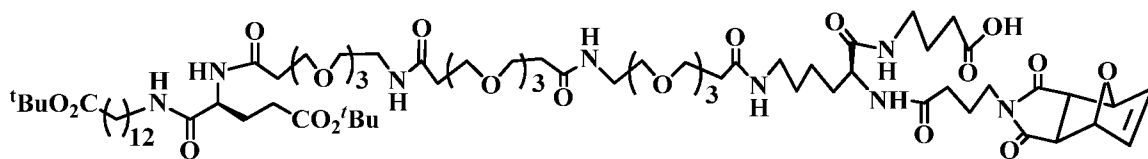
К смеси 12-амино-2,2-диметил-6,11,18,31,43-пентаоксо-5,21,24,27,34,37,40,47,50, 53-декаокса-10,17,30,44-тетрааза-2-силагексапентаконтан-56-овой кислоты (3,10 г, 3,19 ммоль) в ДМАА (20 мл) и 100 мМ NaH_2PO_4 , pH 7,5 (20 мл) при 15 °C добавляли 2,5-диоксопирролидин-1-ил 4-((3aR,4S,7R)-1,3-диоксо-3a,4,7,7a-тетрагидро-1H-4,7-эпоксизоиндол-2(3H)-ил)бутаноат (1,60 г, 4,60 ммоль) в ДМАА (10 мл). Смесь перемешивали в течение 6 часов, затем упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 ($\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ от 1:7 до 1:4) с получением указанного соединения в виде белой пены (3,07 г, выход 80%). ЭСИ МС m/z: расчч для $\text{C}_{55}\text{H}_{95}\text{N}_6\text{O}_{21}\text{Si}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 1203,63, найдено: 1203,84.

Пример 180. Синтез (7S,53S)-68-трет-бутил 1-(2-(триметилсилил)этил) 53-(3-(трет-бутокс)-3-оксипропил)-7-(4-((3aR,4S,7R)-1,3-диоксо-3a,4,7,7a-тетрагидро-1H-4,7-эпоксизоиндол-2(3H)-ил)бутанамидо)-6,13,26,38,51,54-гексаоксо-16,19,22,29,32,35,42,45,48-нонаокса-5,12,25,39,52,55-гексаазаоктагексаконтан-1,68-диоата.



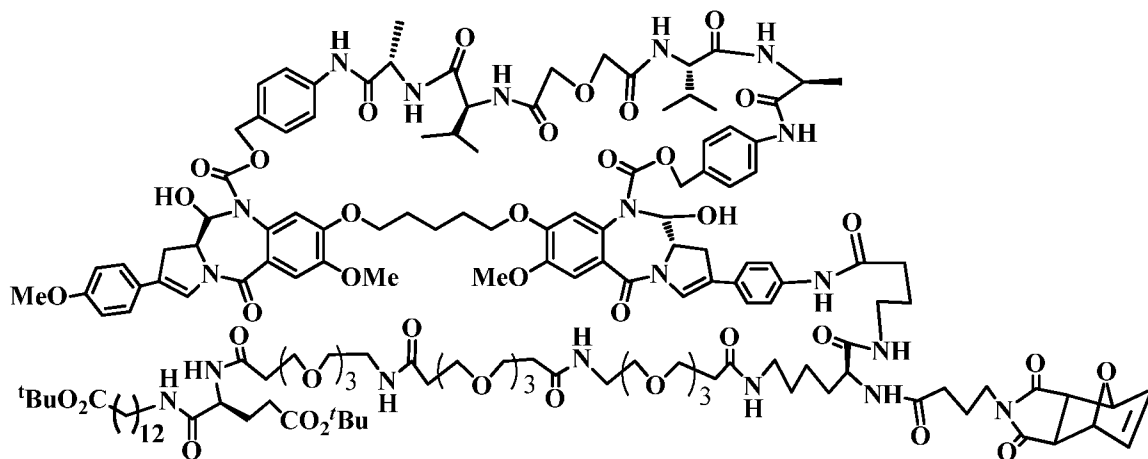
К раствору (12S)-12-(4-((3aR,4S,7R)-1,3-диоксо-3a,4,7,7a-тетрагидро-1H-4,7-эпоксизоиндол-2(3H)-ил)бутанамидо)-2,2-диметил-6,11,18,31,43-пентаоксо-5,21,24,27,34,37,40, 47,50,53-декаокса-10,17,30,44-тетрааза-2-силагексапентаконтан-56-овой кислоты (3,00 г, 2,49 ммоль) и (S)-трет-бутил 13-(2-амино-5-(трет-бутокс)-5-оксипентанамидо)тридеcanoата (1,18 г, ~2,49 ммоль) в ДМАА (40 мл) добавляли EDC (2,03 г, 10,57 ммоль). Смесь перемешивали в течение 6 часов, затем упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 ($\text{EtOAc}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ от 1:10 до 1:4) с получением указанного соединения в виде белой пены (3,50 г, выход 85%). ЭСИ МС m/z: расчч для $\text{C}_{81}\text{H}_{143}\text{N}_8\text{O}_{25}\text{Si}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 1655,98, найдено: 1655,90.

Пример 181. Синтез (19S,65S)-19-(3-(трет-бутокс)-3-оксипропил)-65-(4-((3aR,4S,7R)-1,3-диоксо-3a,4,7,7a-тетрагидро-1H-4,7-эпоксизоиндол-2(3H)-ил)бутанамидо)-2,2-диметил-4,18,21,34,46,59,66-гептаоксо-3,24,27,30,37,40,43,50,53,56-декаокса-17,20,33,47,60,67-гексаазагенгептаконтан-71-овой кислоты.



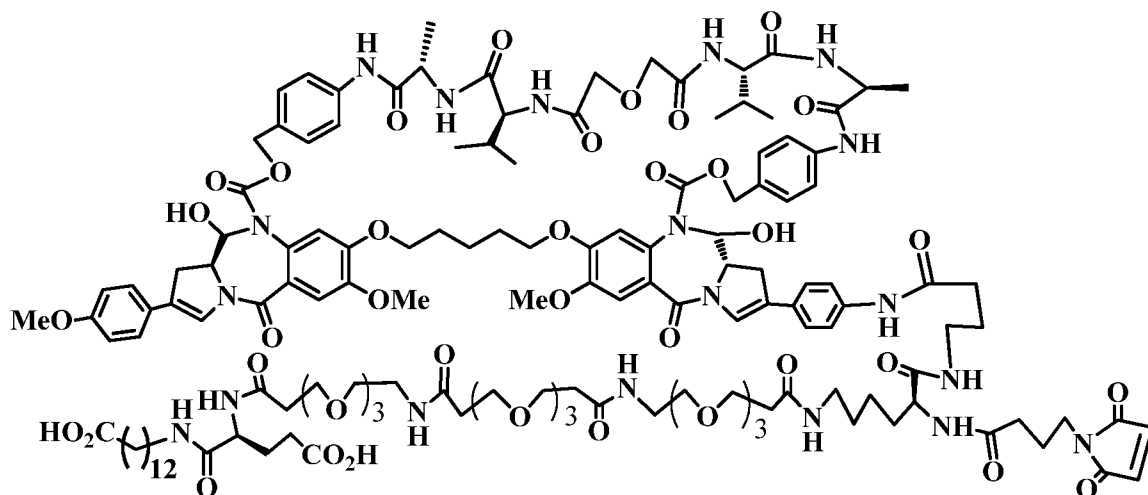
К раствору (7S,53S)-68-трет-бутил 1-(2-(триметилсилил)этил) 53-(3-(трет-бутоксипропил)-7-(4-((3aR,4S,7R)-1,3-диоксо-3a,4,7,7a-тетрагидро-1H-4,7-эпоксизоиндол-2(3H)-ил)бутанамидо)-6,13,26,38,51,54-гексаоксо-16,19,22,29,32,35,42,45,48-нонаоксо-5,12,25,39,52,55-гексаазаоктагексаконтан-1,68-диоата (3,40 г, 2,05 ммоль) в ТГФ (40 мл) добавляли TBAF (1,53 г, 5,74 ммоль) в ТГФ (10 мл). Смесь перемешивали в течение 4 часов, затем упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO₂ (MeOH:CH₂Cl₂ от 1:6 до 1:3) с получением указанного соединения в виде белой пены (2,77 г, выход 87%). ЭСИ МС m/z: расщ для C₇₆H₁₃₁N₈O₂₅Si [M+H]⁺: 1554,91, найдено: 1554,95.

Пример 182. Синтез сшитого димера PBD C-28.



К раствору (19S,65S)-19-(3-(трет-бутоксипропил)-65-(4-((3aR,4S,7R)-1,3-диоксо-3a,4,7,7a-тетрагидро-1H-4,7-эпоксизоиндол-2(3H)-ил)бутанамидо)-2,2-диметил-4,18,21,34,46,59,66-гептаоксо-3,24,27,30,37,40,43,50,53,56-декаоксо-17,20,33,47,60,67-гексаазагенгептаконтан-71-овой кислоты (126 мг, 0,081 ммоль) и димера PBD C-25 (140 мг, 0,080 ммоль) в ДМАА (10 мл) добавляли EDC (45 мг, 0,234 ммоль). Смесь перемешивали в течение 8 часов, затем упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO₂ (EtOAc:CH₂Cl₂ от 1:8 до 1:3) с получением указанного соединения в виде белой пены (195 мг, выход 79%). ЭСИ m/z: рассчитано для C₁₅₆H₂₂₀N₁₉O₄₄ [M+H]⁺: 3063,55, найдено: 3063,90.

Пример 183. Синтез сшитого димера PBD C-29.

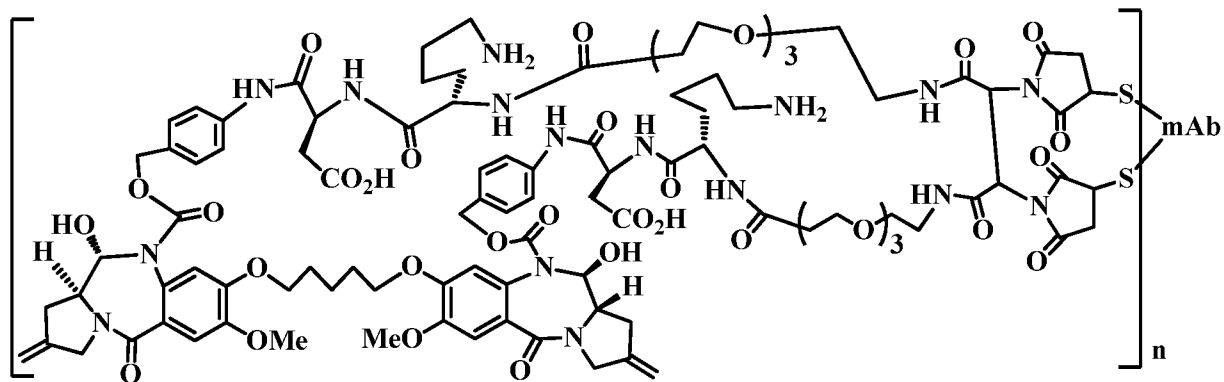


Сшитый димер PBD C-28 (180 мг, 0,0587 ммоль) в смеси растворителей ДМАА (8 мл) и толуола (10 мл) кипятили с обратным холодильником при 120 °С в течение 6 часов, и ЖХ-МС показывала, что фурановая защита была снята с малеимидной группы. Раствор упаривали под вакуумом, и повторно растворяли в смеси 1,4-диоксана (6 мл) и 12 М раствора HCl (2 мл). После перемешивания в течение 30 минут смесь упаривали и очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (L) мм x 30(d) мм, колонка C₁₈, 5-60% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, $v = 8$ мл/мин) с получением чистого продукта **C-29** (143,2 мг, выход 83%, степень чистоты 95%) в виде пены после лиофилизации. ЭСИ МС m/z : расчч для C₁₄₈H₂₀₈N₁₉O₄₃ [M+H]⁺ 2939,46, найдено 2939,90.

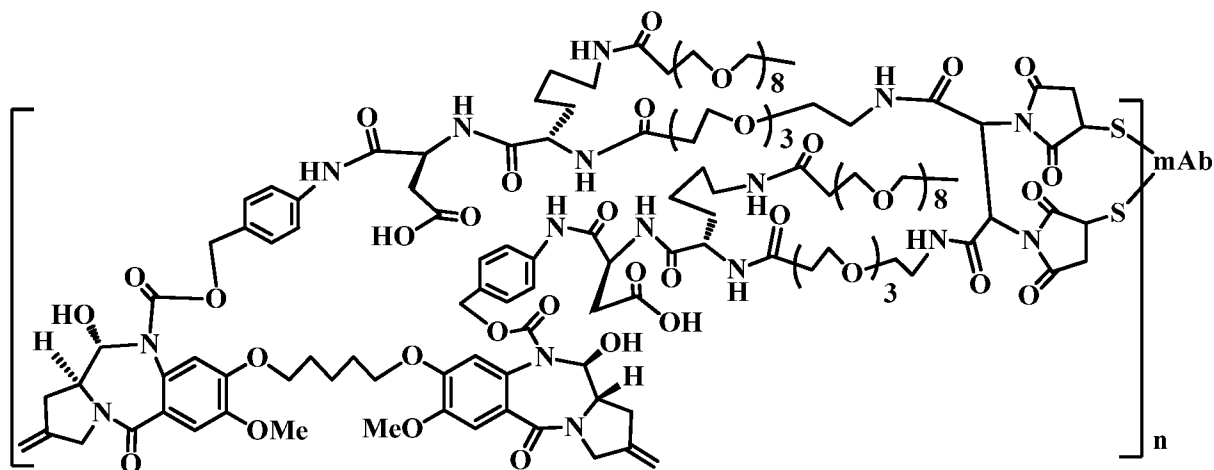
Пример 184. Общий метод получения конъюгатов **СС-3**, **СС-4**, **СС-5**, **СС-6**, **СС-7**, **СС-8**, **СС-10**, **СС-11**, **СС-12**, **СС-14**, **СС-15**, **СС-17**, **СС-18**, **СС-20**, **СС-21**, **СС-27** и **СС-29** из сшитого димера PBD **C-3**, **C-4**, **C-5**, **C-6**, **C-7**, **C-8**, **C-10**, **C-11**, **C-12**, **C-14**, **СС-1**, **C-17**, **C-18**, **C-20**, **C-21**, **C-27** и **C-29**, соответственно.

К смеси 2,0 мл 10 мг/мл Герцептина при pH 6,0~8,0 добавляли 0,70 ~ 2,0 мл буфера ФСБ 100 mM NaH₂PO₄, буферов с pH 6,5~8,5, ТСЕР (14-35 мкл, 20 mM в воде) и соединение **C-3**, **C-4**, **C-5**, **C-6**, **C-7**, **C-8**, **C-10**, **C-11**, **C-12**, **C-14**, **СС-1**, **C-17**, **C-18**, **C-20**, **C-21**, **C-27** или **C-29** (14-28 мкл, 20 mM в ДМАА, независимо. Смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 4~18 часов, затем добавляли ДНАА (135 мкл, 50 mM). После непрерывного инкубирования при комнатной температуре в течение ночи к смеси добавляли малеимид (40 мкл, 20 mM в ДМАА) и затем непрерывно инкубировали в течение еще 2 часов, очищали на колонке G-25, которую элюировали буфером 100 mM NaH₂PO₄, 50 mM NaCl pH 6,0~7,5 с получением 12,8~18,1 мг конъюгатов **СС-3**, **СС-4**, **СС-5**, **СС-6**, **СС-7**, **СС-8**, **СС-10**, **СС-11**, **C-12**, **C-14**, **СС-1**, **C-17**, **C-18**, **C-20**, **C-21**, **C-27** или **C-29** (выход 83%~94%), соответственно в 13,6~15,8 мл буфера. Отношения димера PBD/антитела (DAR)

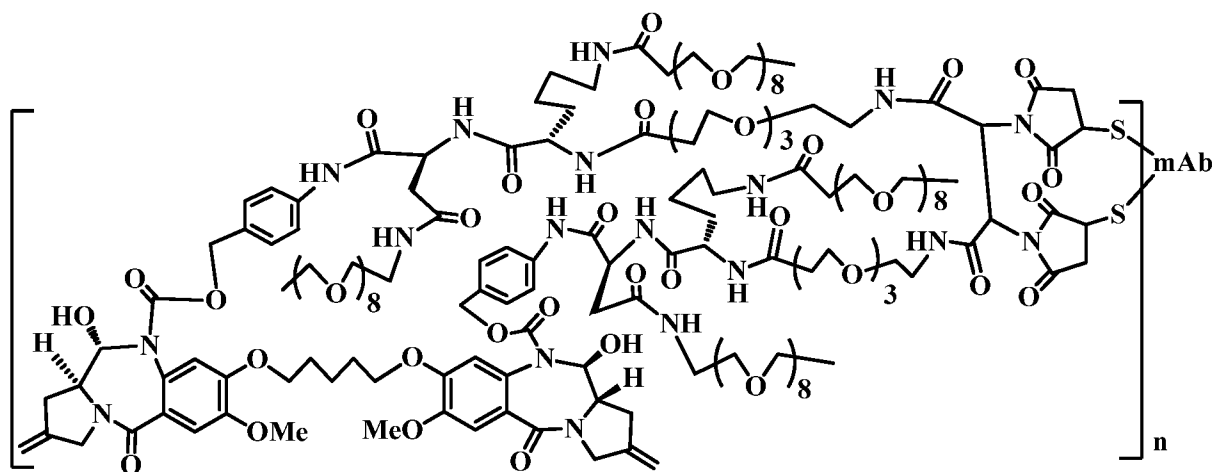
были равны 3,6~4,1 по данным масс-спектра УЭЖХ-QTOF. Конъюгаты представляли собой 95~99% мономер по данным анализа гель-фильтрационной ВЭЖХ хроматографии (Tosoh Bioscience, Tskgel G3000SW, 7,8 мм ВД x 30 см, 0,5 мл/мин, 100 мин) и одной полосой, измеренной при помощи электрофореза в ДНС-ПААГ геле. Структуры конъюгатов показаны ниже:



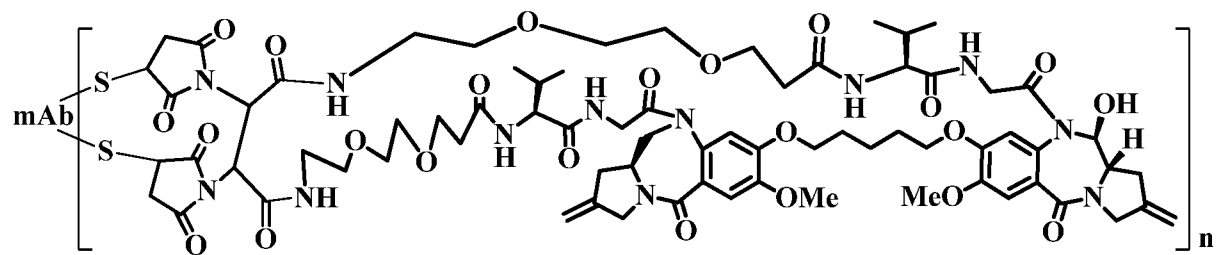
CC-3



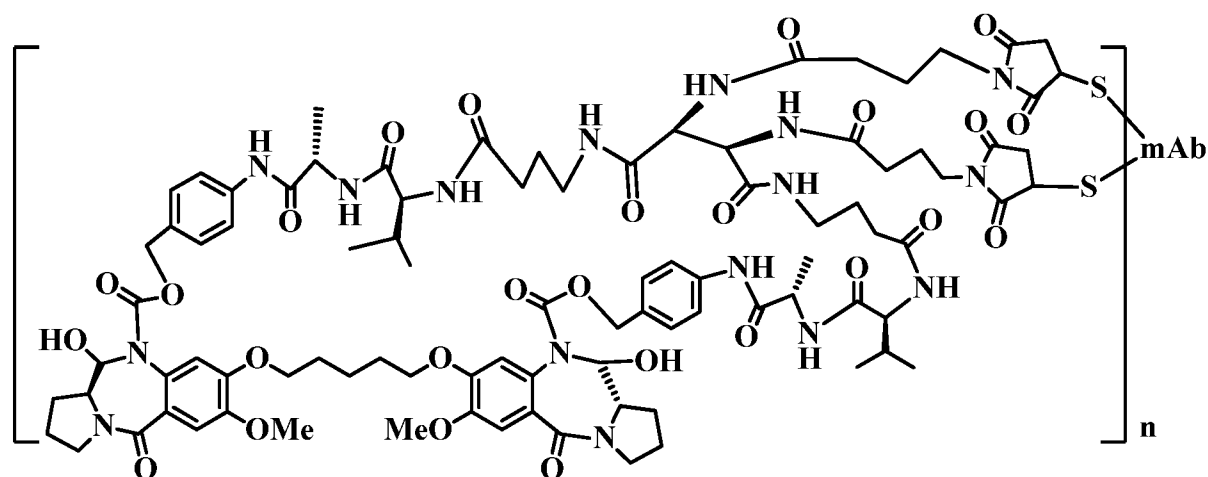
CC-4



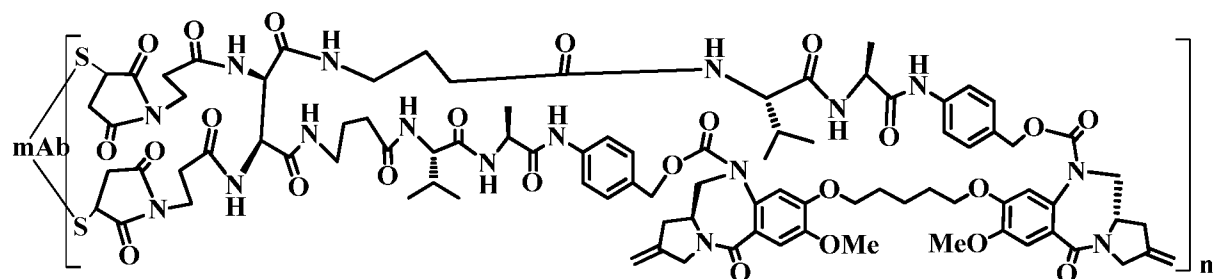
CC-5



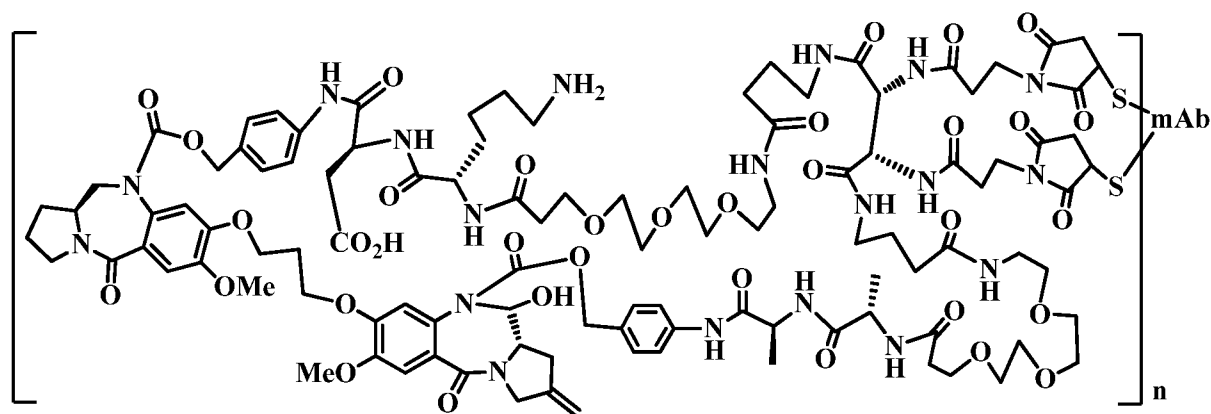
CC-6



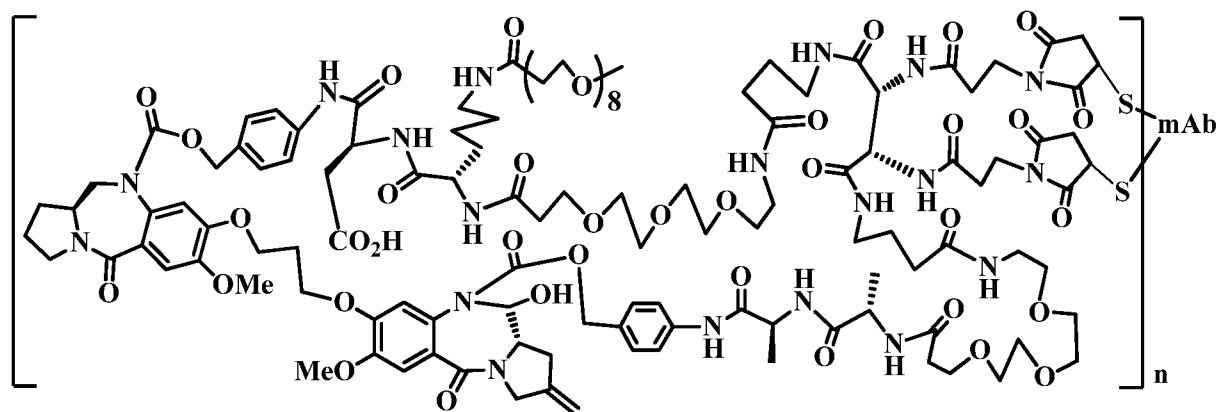
CC-7



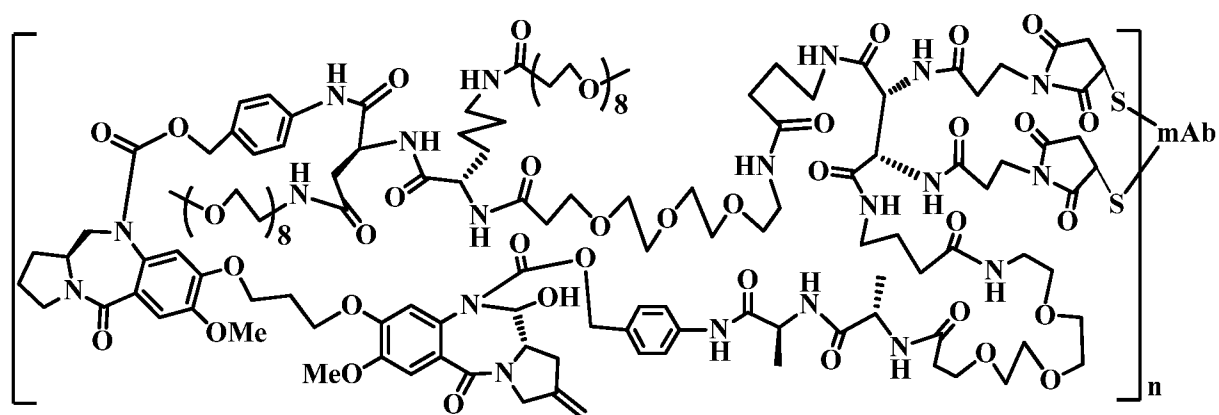
CC-8



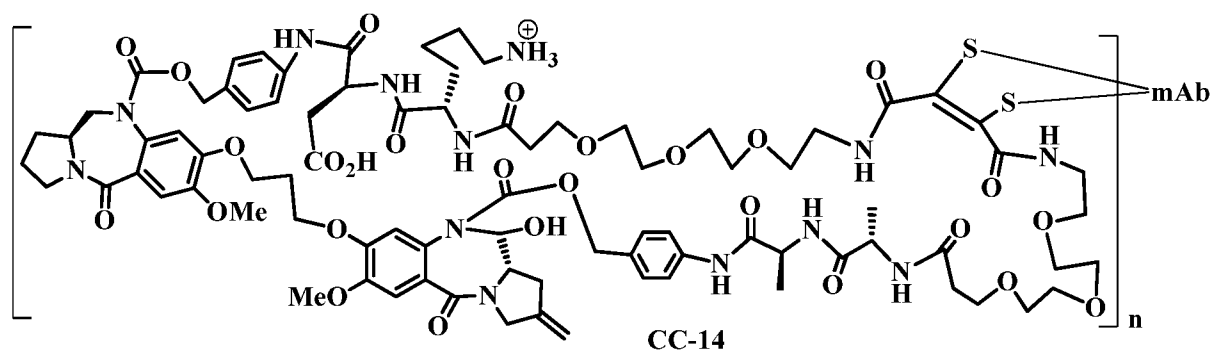
CC-10



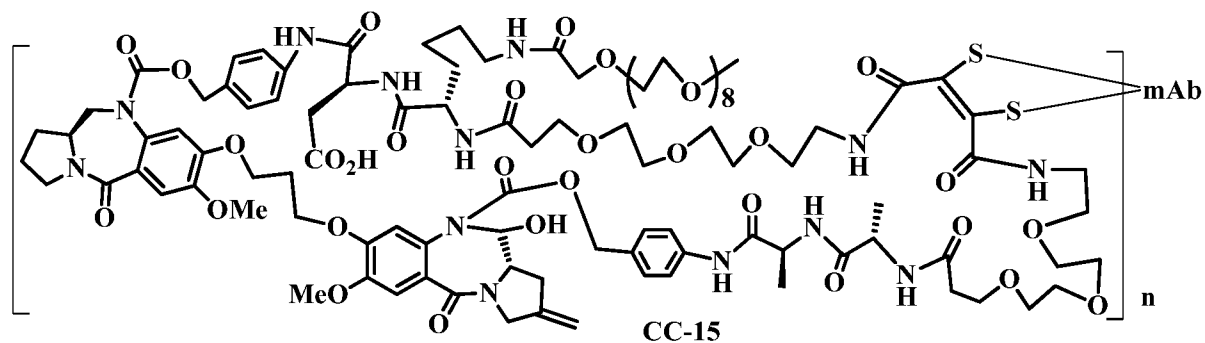
CC-11



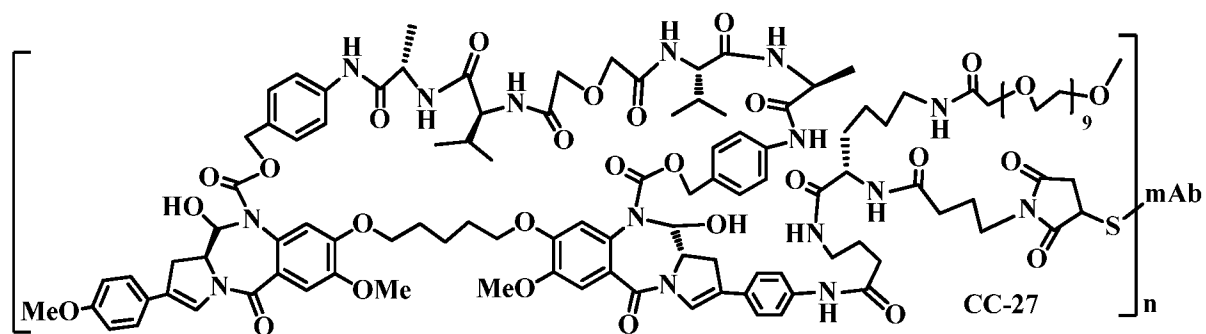
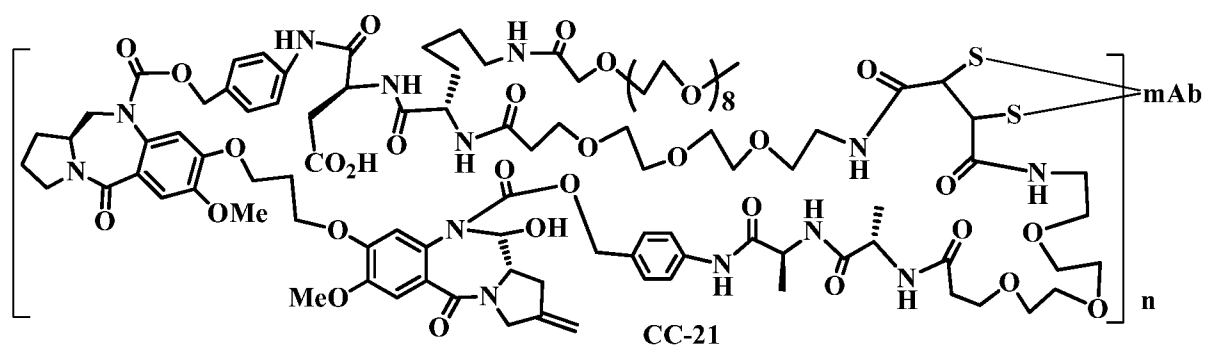
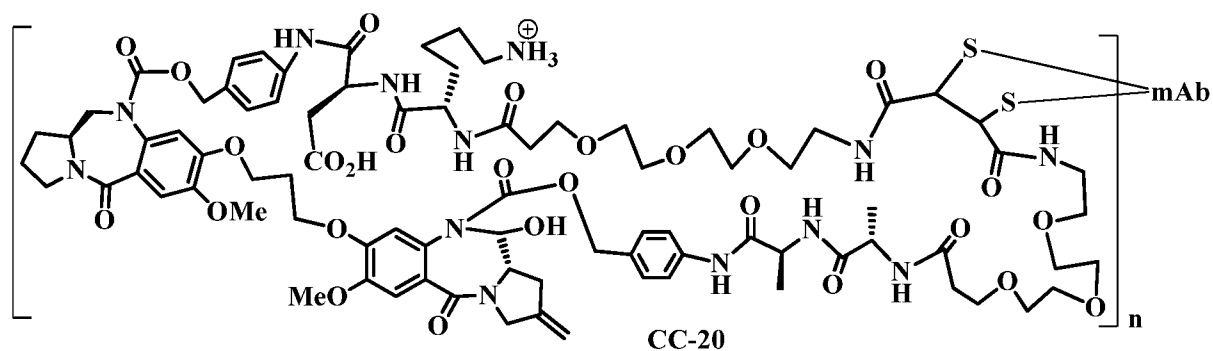
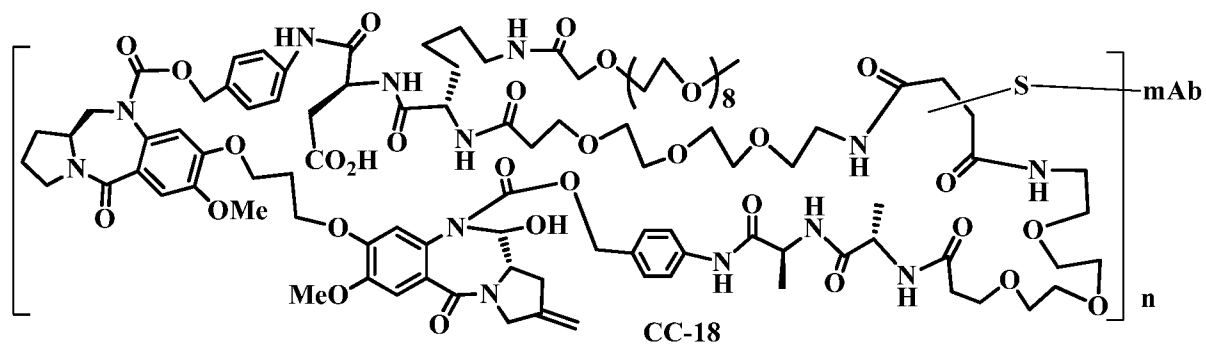
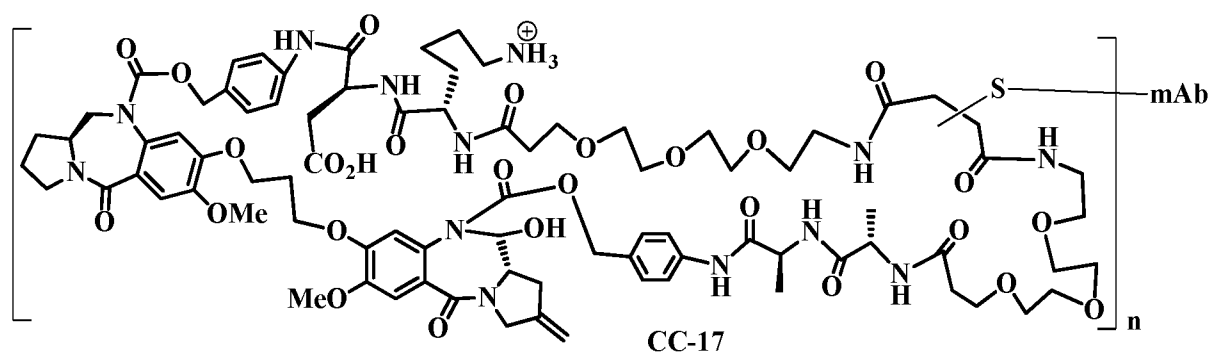
CC-12.

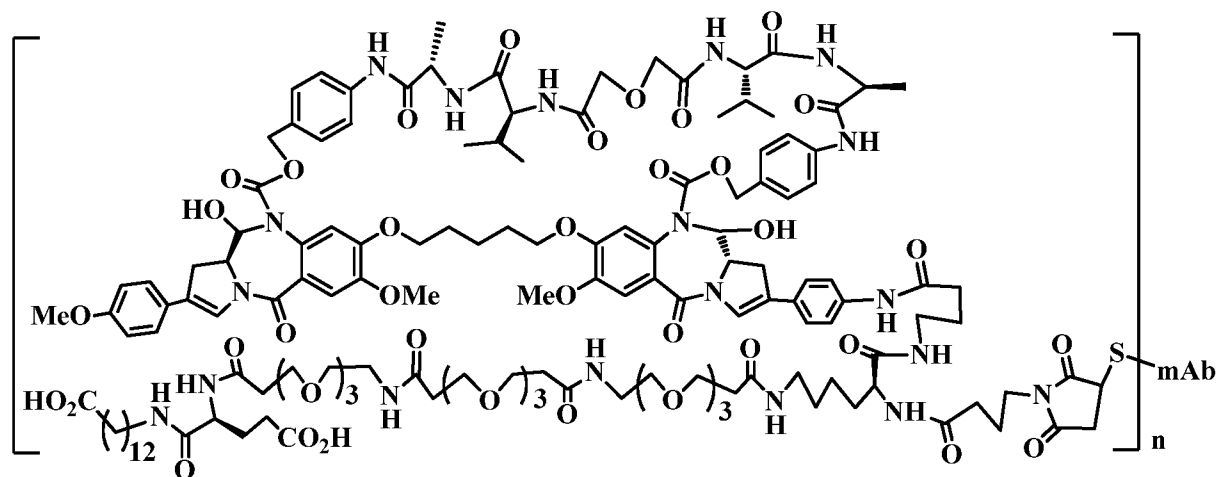


CC-14



CC-15





CC-29

Пример 185. Оценка *in vitro* цитотоксичности конъюгатов **CC-3**, **CC-4**, **CC-5**, **CC-6**, **CC-7**, **CC-8**, **CC-10**, **CC-11**, **CC-12**, **CC-14**, **CC-15**, **CC-17**, **CC-18**, **CC-20**, **CC-21**, **CC-27** и **CC-29** по сравнению с T-DM1:

Клеточной линией, использованной в анализах цитотоксичности, была NCI-N87, клеточная линия карциномы желудка человека; клетки выращивали в RPMI-1640 с 10% FBS. Для проведения анализа клетки (180 мкл, 6000 клеток) добавляли в каждую лунку в 96-луночной планшете и инкубировали в течение 24 часов при 37 °C с 5% CO₂. Затем клетки обрабатывали тестируемыми соединениями (20 мкл) в различных концентрациях в подходящей среде для культивирования клеток (общий объем, 0,2 мл). Контрольные лунки содержали клетки и среду, но не содержали испытуемых соединений. Планшеты инкубировали в течение 120 часов при 37 °C с 5% CO₂. Затем в лунки добавляли МТТ (5 мг/мл) (20 мкл), и планшеты инкубировали в течение 1,5 часа при 37 °C. Среду осторожно удаляли, а затем добавляли ДМСО (180 мкл). После встряхивания в течение 15 минут измеряли оптическую плотность при 490 нм и 570 нм с эталонным фильтром 620 нм. % ингибирования рассчитывали по следующему уравнению: % ингибирования = [1-(проба для анализа)/(проба для контроля)] × 100.

Результаты IC₅₀ цитотоксичности:

	DAR (соотношение лекарственного средства/моноклонального антитела)	клетка N87 (Ag+), IC ₅₀ (нМ)
Конъюгат CC-3	4,1	0,0172 нМ

Конъюгат СС-4	3,8	0,0397 нМ
Конъюгат СС-5	4,0	0,104 нМ
Конъюгат СС-6	3,8	1,132 нМ
Конъюгат СС-7	3,8	0,0212 нМ
Конъюгат СС-8	3,8	61,36 нМ
Конъюгат СС-10	3,9	0,133 нМ
Конъюгат СС-11	3,8	0,431 нМ
Конъюгат СС-12	3,6	0,716 нМ
Конъюгат СС-14	3,9	0,997 нМ
Конъюгат СС-15	4,0	0,504 нМ
Конъюгат СС-17	3,5	1,231 нМ
Конъюгат СС-18	3,5	0,821 нМ
Конъюгат СС-20	3,9	2,036 нМ
Конъюгат СС-21	3,9	0,693 нМ

Конъюгат СС-27	3,6	0,731 нМ
Конъюгат СС-29	3,6	1,115 нМ
T-DM1	3,5	0,165 нМ

Пример 186. Противоопухолевая активность *in vivo* (бестимусные мыши balb/c, несущие ксенотрансплантат опухоли psi-p87).

Эффективность *in vivo* конъюгатов **СС-2, СС-3, СС-4, СС-5, СС-6, СС-7, СС-10, СС-11, СС-12, СС-18** и **СС-29** наряду с T-DM1 оценивали в моделях ксенотрансплантата опухоли клеточной линии N-87 карциномы желудка человека. Самок бестимусных мышей BALB/c возрастом пять недель (78 животных) инокулировали подкожно в область под правым плечом клетки N-87 карциномы (5×10^6 клеток/мышь) в 0,1 мл бессывороточной среды. Опухолям давали вырасти в течение 8 дней до среднего размера 130 мм³. Затем животные были случайным образом разделены на 13 групп (по 6 животных в группе). Первая группа мышей служила в качестве контрольной группы и получала носитель с фосфатно-солевым буферным раствором (ФБСР). Животным в 12 группах вводили внутривенно конъюгаты **СС-2, СС-3, СС-4, СС-5, СС-6, СС-7, СС-10, СС-11, СС-12, СС-18** и **СС-29** и T-DM1, соответственно, в дозе 3 мг/кг. Проводили оценку опухоли в трех измерениях каждые 4 дня, и объемы опухолей рассчитывали по формуле: объем опухоли = $1/2$ (длина $\times$ ширина $\times$ высота). В то же время измеряли массу животных. Мышей умерщвляли по достижению одного из следующих критериев: (1) потеря массы тела составляла более чем 20% от массы тела до введения соединения, (2) объем опухоли превышал 2000 мм³, (3) животные были слишком больны, чтобы самостоятельно достигнуть источника еды и воды или (4) у них наблюдался некроз кожи. Мышь считалась не имеющей опухоли, при отсутствии опухоли при пальпации.

Результаты представлены на Фиг. 33. Все 12 конъюгатов не вызывали снижения массы тела животных. Животных в контрольной группе умерщвляли на 35 день из-за объема опухоли более 2000 мм³, и некоторые из них были слишком больны. В данном исследовании 9 протестированных конъюгатов кроме СС-6 продемонстрировали лучшую противоопухолевую активность, чем T-DM1. У всех 6/6 животных в группах соединений

СС-4 и **СС-3** не было измеримых опухолей на день 14 и до дня 30. В отличие от этого, **T-DM1** при дозе 3 мг/кг не смог устранить опухоли.

Пример 187. Исследование печеночной токсичности у животных конъюгата **СС-4**, **СС-29** при высокой дозе по сравнению с **T-DM1** на мышах **ICR**.

Двадцать мышей **ICR** затем были случайно разделены на 4 группы (5 животных на группу), и каждому животному дозировали 75 мг/кг конъюгатов (**ФСБ**, **СС-4**, **СС-29** и **T-DM1**) в одной в.в. инъекции, соответственно. Через пять дней после проведения собирали образец 150 мкл крови из ретро-орбитального венозного сплетения (синуса) каждой мыши. После центрифугирования образцов крови сыворотку собирали для анализа уровней АСТ и АЛТ в соответствии с тестовыми наборами от BioSino Bio-Technology и Science Inc (Пекин, Китай). Средние значения АСТ и АЛТ от 5 животных на группу перечислены ниже. После того, как мышей умерщвляли, их ткани печени собирали, фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина, обезвоживали последовательно этанольных растворов и заливали парафином. Срезы (толщиной 5 мкм) вырезали, переносили на предметные стекла и окрашивали гематоксилином и эозином (H&E) (Kiernan JA (2008) *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice*. 4th ed. Bloxham, UK: Scion; Gomori, Sheehan and Hrapchak: *Histotechnology A Self-Instructional Text*, ASCP Press. American Society of Clinical Pathologists Chicago 1990). Окрашенные образцы рассматривали с помощью оптического микроскопа (Nikon Eclipse TE2000-U, Токио, Япония) и фотографировали при увеличении 200х.

Как показано ниже, оба **СС-4** и **T-DM1** при дозе 75 мг/кг повышали АСТ и АЛТ в сыворотке до намного более высоких уровней, чем в группе **СС-29**.

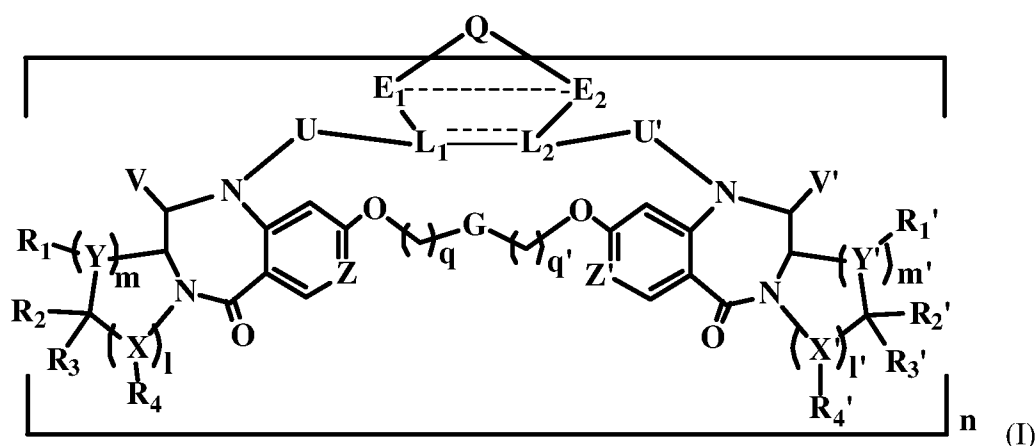
	ФСБ	СС-4	СС-29	T-DM1
АСТ	27 ± 11 (МЕ/л)	2550 ± 430 (МЕ/л)	578 ± 83 (МЕ/л)	1350 ± 460 (МЕ/л)
АЛТ	38 ± 16 (МЕ/л)	383 ± 45 (МЕ/л)	147 ± 28 (МЕ/л)	305 ± 133 (МЕ/л)

На Фиг. 34 у обеих групп **СС-4** и **T-DM1** наблюдали гидрогенез гепатоцитов, гиперплазию клеток Купфера и очаговый некроз, но в группе **СС-29** не наблюдали очевидных различий от контрольной группы **ФСБ**. Таким образом, на Фиг. 33 и Фиг. 34 показано, что конъюгат **СС-29** имеет гораздо более широкое терапевтическое окно (с гораздо более высокой противоопухолевой активностью и гораздо более низкой побочной токсичностью *in vivo*), чем **T-DM1**.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Формула изобретения

1. Сшитое производное димера PBD (англ.: pyrrolobenzo-diazepine dimer - димер пирролобензодиазепина) и его конъюгат с молекулой, связывающейся с клетками, имеющие структуру Формулы (I):



или их фармацевтически приемлемые соли, гидраты или гидратированные соли, или полиморфные кристаллические структуры данных соединений или их оптические изомеры, рацематы, диастереомеры или энантиомеры;

где:

----- представляет собой необязательную одинарную связь или может отсутствовать;

===== представляет собой необязательную одинарную связь или двойную связь;

V и V' являются одинаковыми или разными и независимо выбраны из группы, состоящей из H, OH, -NHOH; OR₅ (простой эфир); OCOR₅ (сложный эфир); OCOOR₅ (карбонат); NR₅R₅', NR₅COR₅' или NR₅NR₅'NR₅' (амин); OCONR₅R₅' (карбамат); NR₅(C=NH)NR₅'R₅' (гуанидин); NR₅CONR₅'R₅' (мочевина); OCSNHR₅ (тиокарбамат); -SH (тиол); -SR₅ (сульфид); SOR₅ (сульфоксид); SOOR₅ (сульфон); SO₃, HSO₃, HSO₂ или соли HSO₃³⁻, SO₃²⁻ или -HSO₂⁻ (сульфит); OSO₃ (бисульфит); NR₅SOOR₅' (сульфонамид); H₂S₂O₅ или соли S₂O₅²⁻ (метабисульфит); PO₃SH₃, PO₂S₂H₂, POS₃H₂, PS₄H₂ или соли PO₃S³⁻, PO₂S³⁻, POS₃³⁻, PS₄³⁻ (моно-, ди-, три-, и тетра-тиофосфат); (R₅O)₂POSR₅' (сложный эфир тиофосфата); HS₂O₃ или соли S₂O₃²⁻ (тиосульфат); HS₂O₄ или соли S₂O₄²⁻ (дитионит); P(=S)(OR₅)(S)(OH) (фосфородитиоат) или их соли, образованные катионом; -NR₅OR₅' (производное гидросиламина); R₅C(=O)NOH (гидроксамовая кислота) или их соли, образованные катионом; HOCH₂SO₂⁻, или его соли (формальдегидсульфоксидат); NR₅COR₅' (амид); O-гликозида; N₃ (азидо); CN (циано); X (галоген: F, Cl, Br или I); C(R₅)(R₅')(R₅'') (триалкил), OP(O)(OR₅)(NHR₅) или OP(O)(NHR₅)(NHR₅') (фосфорамидат

(фосфорамидная кислота), или $P(R_5)(R_5')(R_5'')$ триарилфосфония; Ак (аминокислота) или $NR_5CO(Ак)_t$ (пептид), где Ак представляет собой аминокислоту или полипептид, содержащий $t=1\sim 100$ аминокислотных остатков; группу производного аминокислоты: α -, β -, γ - или ω -аминокислоту или неприродную аминокислоту; где R_5 , R_5' и R_5'' описаны ниже;

l, m, q, l', m' и q' независимо равны 0, 1, 2, 3, 4 или 5; n равно 1~30;

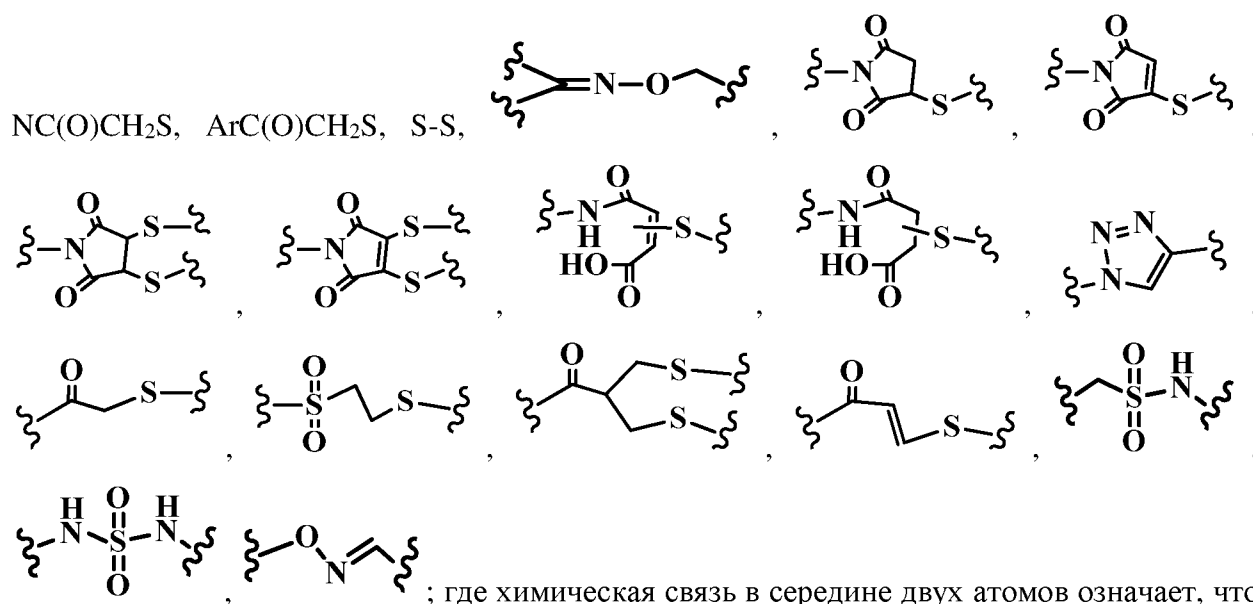
X, X', Y и Y', одинаковые или различные, независимо представляют собой N, O, S, алкил, такой как CH_2 или CHR_5 , алкен, такой как $=CH-$ или $=CR_5-$, простой эфир, такой как $-C(OR_5)H-$;

Z и Z', одинаковые или различные, независимо представляют собой N, CH, CR_5 , COH, CNH_2 , $CNHR_5$, или COR_5 , или Z и Z' связаны вместе с $-COR_5OC-$; где R_5 независимо выбран из $C_1\sim C_8$ алкила и арила;

G представляет собой $-CH_2-$, O, $-N(R_5)-$, S, $-P(O)(OR_5)-$, $-P(O)(NR_5R_5')-$, где Z и Z' определены выше;

U и U' независимо представляют собой C(O), C(O)O, C(O)NH, C(O)N(R_5), C(=NH), C(=NH)O, C(=NH)NH, C(=NH)N(R_5), $-C=N-$, C(=S), C(O)S, C(S)NH, C(S)N(R_5), S(O), S(O)O, S(O)NH, S(O)(OR_5), S(O)(N(R_5)), S(O_2), S(O_2)O, P(O)(OR_5), P(O)(OR_5)O, P(O)(NH_2), P(O)(NR_5R_5'), P(O)(OR_5)NH-, P(O)(OR_5) $NR_5'-$, P(O) (N(R_5R_5')) (N(R_5), P(S)(OR_5), P(S)(OR_5)O, P(S)(NH_2), P(S)(NR_5R_5'), P(S)(OR_5)NH-, P(S)(OR_5) $NR_5'-$, P(S)(N(R_5R_5'))N(R_5), R_5 , R_5O ;

E₁ и E₂ независимо представляют собой S, R_5S , C(O)S, C(O)NH, C(O)O, C(O) R_5S , C(=NH)NH, C(=NH)N(R_5), C(=NH)S, $-C=N-$, C(=S)S, C(O)S, C(=S)NH, C(=S)N(R_5), Ar-S,



она может связываться с любым из примыкающих двух атомов; волнистая линия представляет собой участок присоединения;

L_1 и L_2 независимо представляют собой способный к отделению линкер или линкер, который имеет функциональную группу, которая позволяет реакцию с агентом, связывающимся с клетками (CBA – англ.: cell-binding agent). L_1 и L_2 независимо имеют формулу: $—Ww—(Ak)r—Tt—$; или $—Ww—(Ak)r—Tt—Q$; или $Q—Ww—(Ak)r—Tt—$; где: -W- представляет собой единицу вставки; w равно 0 или 1; -Ak- независимо представляет собой аминокислотный остаток; r независимо представляет собой целое число от 0 до 100; -T- представляет собой спейсерную единицу, которая может представлять собой линейный алкил, разветвленный алкил или полиэтиленгликоль; и t равно 0 или 1~100; указанная единица вставки W может независимо содержать саморасщепляющийся спейсер, пептидные единицы, гидразоновую связь, дисульфидную, сложноэфирную или тиоэфирную связь; w равно 1, 2 или 3; указанная единица вставки (--W--), когда она присутствует, может связывать таргетированную связывающую молекулярную единицу (CBA) с аминокислотным остатком (--Ak--) или связывать T, когда Ak отсутствует. Указанная единица вставки W может независимо содержать саморасщепляющийся спейсер, пептидные единицы, гидразоновую связь, дисульфидные или тиоэфирные связи. В связи с этим молекула, связывающаяся с клетками (CBA), имеет функциональную группу, которая может образовывать связь с функциональной группой вставки. Функциональные группы, которые могут присутствовать на связывающей молекуле, либо естественным образом, либо вследствие химических манипуляций, включают сульфгидрил (--SH), amino, гидроксил, карбонил, оксиамино, алкинил, гетероароматическую группу, аномерную гидроксильную группу углевода и карбоксил; кроме того, L_1 и L_2 независимо выбраны из O, NH, N, S, P, NNH, NHHN, $N(R_3)$, $N(R_3)N(R_3')$, CH, CO, $C(O)NH$, $C(O)O$, $NHC(O)NH$, $NHC(O)O$, полиэтиленокси-единицу формулы $(OCH_2CH_2)_pOR_3$, или $(OCH_2CH(CH_3))_pOR_3$, или $NH(CH_2CH_2O)_pR_3$, или $NH(CH_2CH(CH_3)O)_pR_3$, или $N[(CH_2CH_2O)_pR_3]-[(CH_2CH_2O)_{p'}R_3']$, или $(OCH_2CH_2)_pCOOR_3$, или $CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_pCOOR_3$, где p и p' независимо представляют собой целое число в диапазоне от 0 до около 1000 или их комбинацию; C_1 - C_8 алкил, амид, амины, имины, гидразины, гидразоны; C_2 - C_8 гетероалкил, алкилциклоалкил, простые эфиры, сложные эфиры, гидразоны, мочевины, семикарбазиды, карбазиды, алкоксиамины, уретаны, аминокислоты, пептиды, ацилоксиламины, гидроксамовые кислоты или гетероциклоалкил; C_3 - C_8 арил, Ag-арил, Ag-алкил, гетероцикл, карбоцикл, циклоалкил, гетероалкилциклоалкил, алкилкарбонил или гетероарил; полиэтиленокси-единицу

формулы $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p\text{OR}_3$, или $(\text{OCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3))_p\text{OR}_3$, или $\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_p\text{R}_3$, или $\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{O})_p\text{R}_3$, или $\text{N}[(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_p\text{R}_3][(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{p'}\text{R}_3']$, или $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p\text{COOR}_3$, или $\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p\text{COOR}_3$, где p и p' независимо представляют собой целое число в диапазоне от 0 до около 5000, или их комбинацию; где R_3 и R_3' независимо представляют собой H; C_1 - C_8 алкил; C_2 - C_8 гетероалкил, алкилциклоалкил или гетероциклоалкил; C_3 - C_8 арил, Ar -алкил, гетероцикл, карбоцикл, циклоалкил, гетероалкилциклоалкил, алкилкарбонил или гетероарил; или C_2 - C_8 сложные эфиры, простой эфир или амид; или 1~8 аминокислоты; или полиэтиленокси-единицу формулы $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p$ или $(\text{OCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3))_p$, где p представляет собой целое число от 0 до около 5000, или их комбинацию; или $(\text{Ak})_r$, где $r = 1$ -12 (от одного до 12 аминокислотных остатков), который состоит из остатков природных или неприродных аминокислот, или одинаковых или различных последовательностей единицы дипептида, трипептида, тетрапептида, пентапептида, гексапептида, гептапептида, октапептида, нонапептида, декапептида, ундекапептида или додекапептида; термин «способный к отделению линкер» относится к линкеру, который содержит по меньшей мере одну связь, которая может быть разорвана в физиологических условиях: pH-лабильную, кислотно-лабильную, основно-лабильную, окислительно-лабильную, метаболически лабильную, биохимически лабильную или ферментативно-лабильную связь;

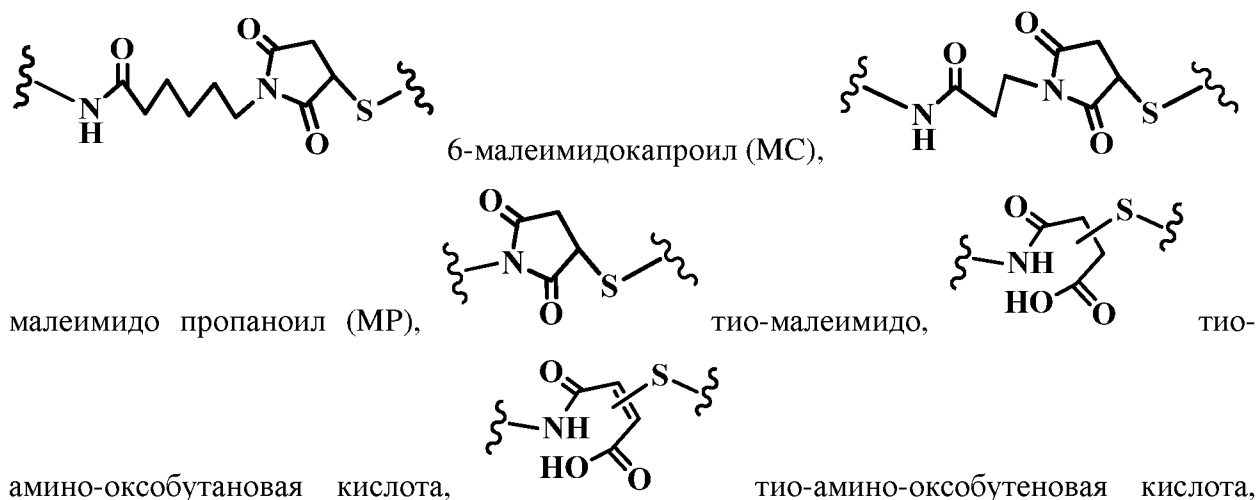
R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_1' , R_2' , R_3' и R_4' являются одинаковыми или различными и независимо выбраны из группы, включающей -H, замещенный линейный, разветвленный или циклический алкил, алкенил или алкинил, имеющий от 1 до 10 атомов углерода, $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_t\text{R}_5$ (остаток полиэтиленгликоля), галоген, $\text{NH}(\text{C}=\text{NH})\text{NH}_2$ (гуанидиний), $-\text{OR}_5$, $-\text{NR}_5\text{R}_5'$, $-\text{NO}_2$, $-\text{NCO}$, $-\text{NR}_5\text{COR}_5'$, $-\text{SR}_5$, $-\text{SOR}_5$ (сульфоксид), $-\text{SO}_2\text{R}_5$ (сульфон), $-\text{SO}_3^-\text{M}^+$ или $-\text{SO}_3\text{H}$ (сульфонат), $-\text{OSO}_3^-\text{M}^+$ или OSO_3H (сульфат), $-\text{SO}_2\text{NR}_5\text{R}_5'$ (сульфонамид), CN (циано), N_3 (азидо), $-\text{COR}_5$, $-\text{OCOR}_5$, $-\text{OCONR}_5\text{R}_5'$, CF_3 , OR_5 , арил, гетероцикл или $\text{P}(\text{O})\text{R}_5\text{R}_5'\text{R}_5''$;

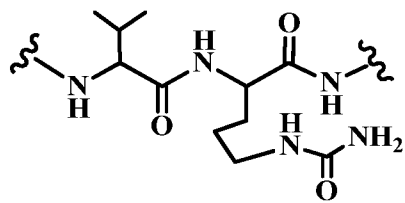
R_5 , R_5' и R_5'' независимо выбраны из H, C_1 - C_8 алкила, алкенила, алкинила, гетероалкила, арила, арилалкила, карбонила или фармацевтических солей;

Кроме того, R_1 и R_2 соединены вместе, или R_1' и R_2' соединены вместе с образованием $=\text{O}$ (кетона), $=\text{S}$, $=\text{NR}$, $-\text{C}(=\text{O})\text{R}$ или группы, содержащей двойную связь $=\text{CR}_5\text{R}_5'$; и R_1 и R_2 соединены вместе, или R_1' и R_2' соединены вместе, или R_3 и R_4 соединены вместе, или R_3' и R_4' соединены вместе с образованием C_3 - C_{12} ароматического, гетероциклического, карбоциклического или гетероарильного кольца;

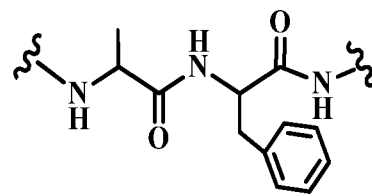
Q представляет собой молекулу, связывающуюся с клетками (СВА), или функциональную группу, которая позволяет реакцию с агентом, связывающимся с клетками, или функциональную группу, способную реагировать с линкером, присоединенным к агенту, связывающемуся с клетками. Указанная функциональная группа выбрана из тиола, амина, гидразина, алкоксиламино, дисульфидного заместителя, малеимида, галогенацетильной группы, *N*-гидроксисукцинимидного эфира, кетона, сложного эфира, альдегида, алкинила, алкенила, защищенного тиола или дисульфидной группы, SAc, SSR₁ или SSAr, где Ar представляет собой ароматическую группу или гетероароматическую группу. Связывающийся с клеткой агент/молекула выбраны из группы, состоящей из антитела, одноцепочечного антитела, фрагмента антитела, который связывается с клеткой-мишенью, моноклонального антитела, одноцепочечного моноклонального антитела, фрагмента моноклонального антитела, который связывается с клеткой-мишенью, химерного антитела, фрагмента химерного антитела, который связывается с клеткой-мишенью, доменного антитела, фрагмента доменного антитела, который связывается с клеткой-мишенью, аднектина, который имитирует антитело, белков DARP, лимфокина, гормона, витамина, фактора роста, колониестимулирующего фактора, переносящей питательные вещества молекулы (трансферрина), связывающего пептида, белка, малой молекулы, прикрепленной к альбумину, полимеру, дендримеру, липосоме, наночастице, везикуле или (вирусному) капсиду;

Кроме того, U, U', L₁, L₂, L', E₁ или E₂ могут независимо состоять из одного или более следующих компонентов, приведенных ниже:

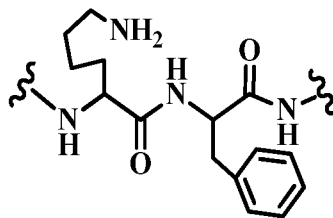




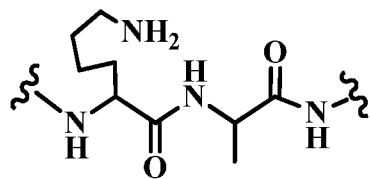
валин-цитруллин (val-cit),



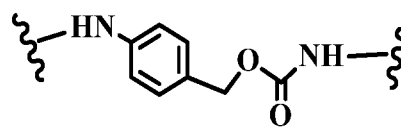
лизин-фенилаланин (lys-phe),



аланин-фенилаланин (ala-phe),

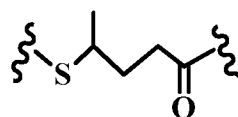


лизин-аланин (lys-ala),

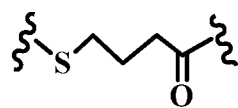


пара-

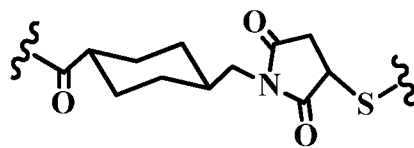
аминобензилоксикарбонил (PAB),



4-тио-пентаноат (SPP),

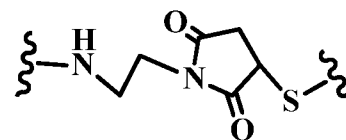


4-тио-бутират (SPDB),

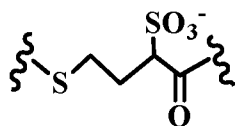


4-(N-

малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилат (MCC),



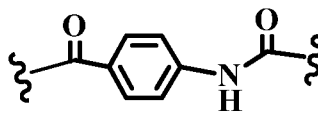
малеимидоэтил (ME),



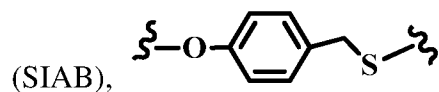
4-тио-2-гидроксисульфонил-бутират (2-Sulfo-



арил-тиол (PySS),

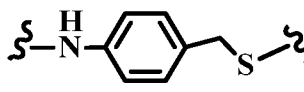


(4-ацетил)аминобензоат

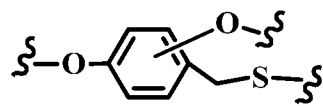


(SIAB),

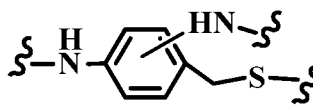
, оксилбензилтио,



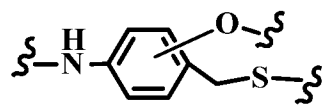
аминобензилтио,



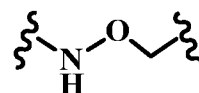
диоксилбензилтио,



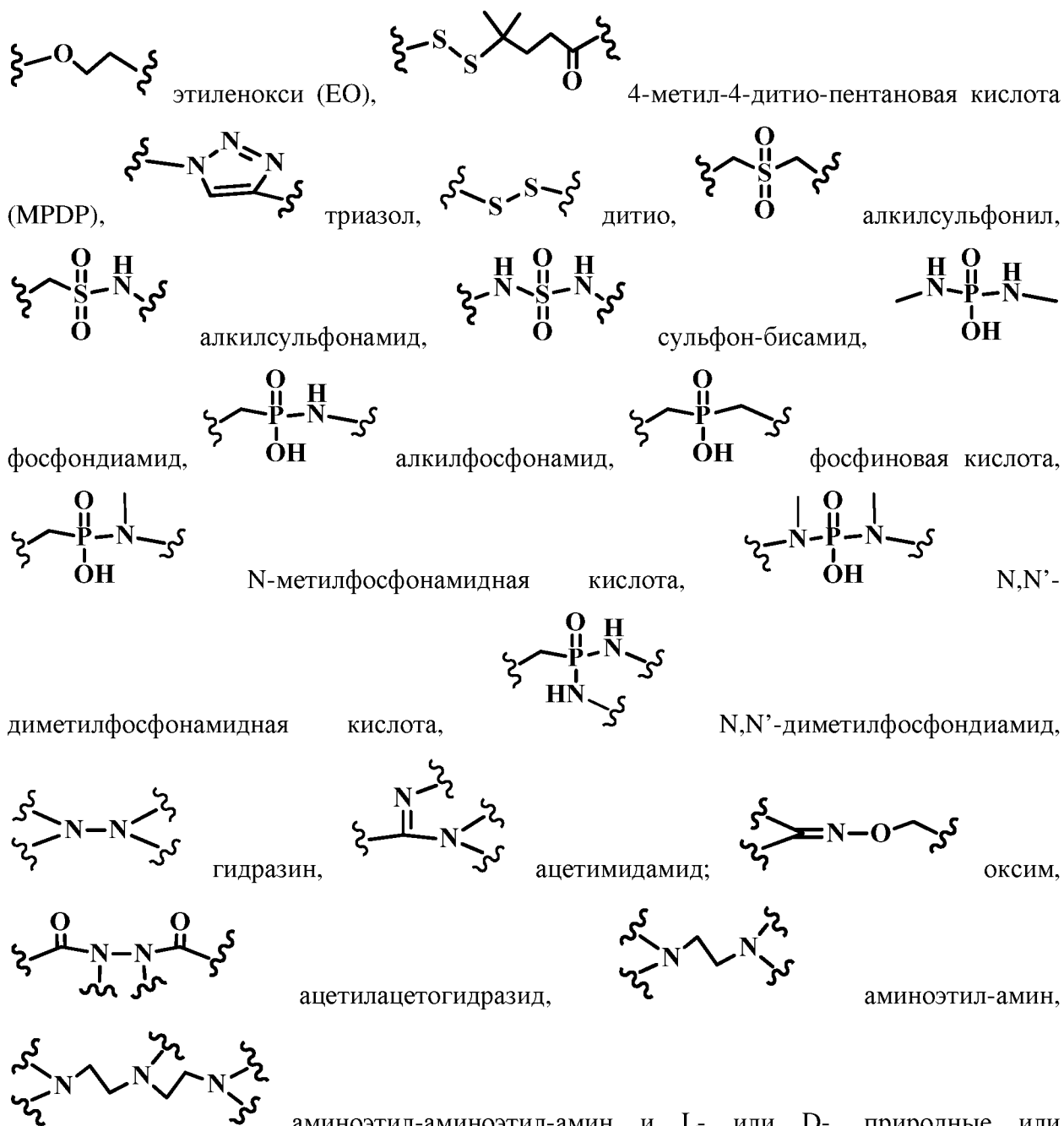
диаминобензилтио,



амино-оксилбензилтио,



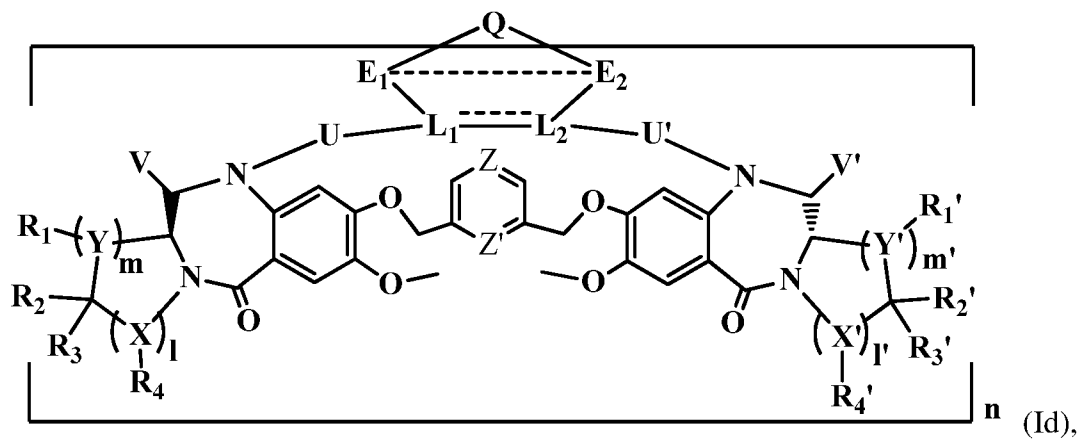
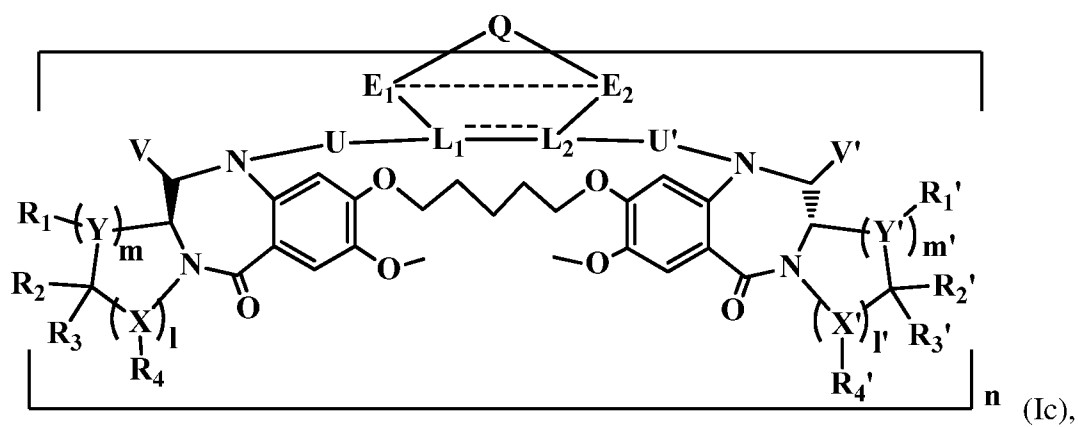
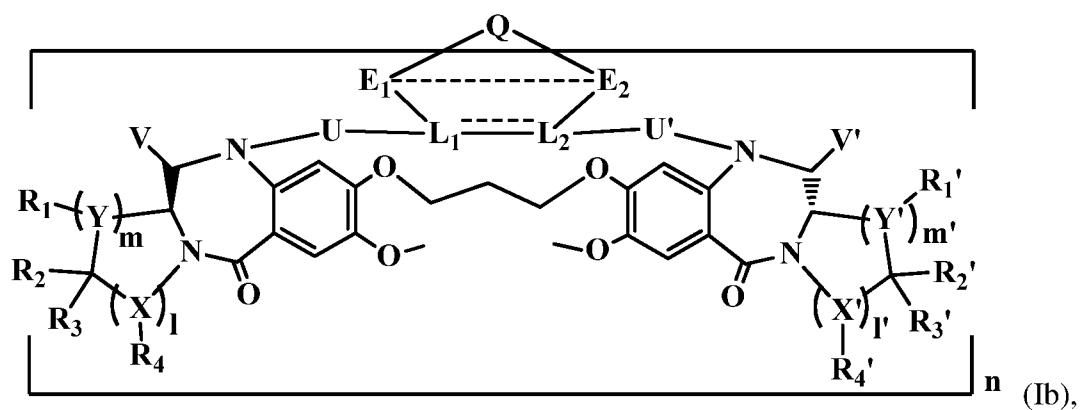
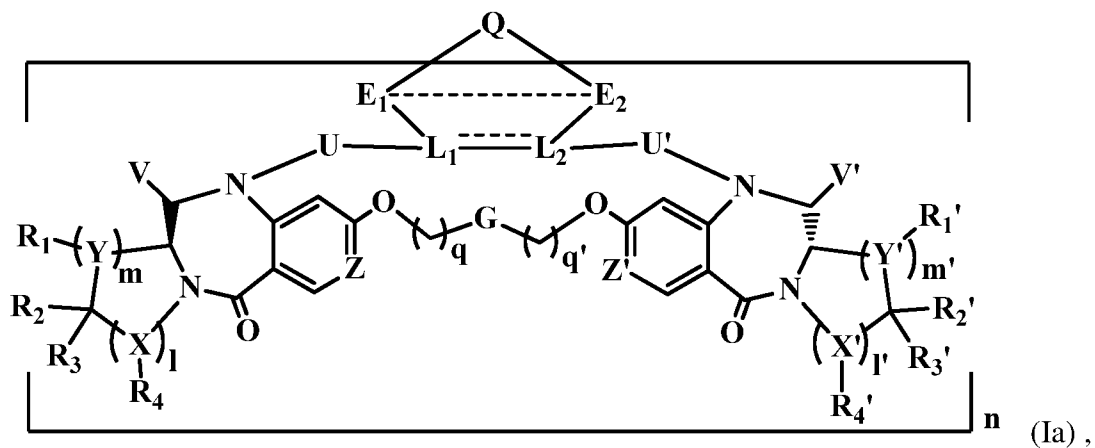
алкокси amino (AOA),

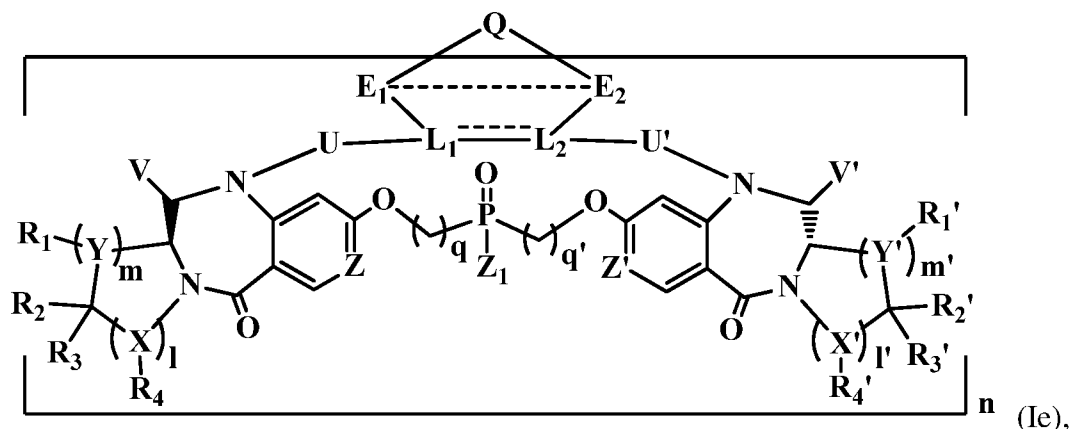


неприродные пептиды, содержащие 1-20 одинаковых или различных аминокислот; где химическая связь посередине между двумя атомами означает, что она может связывать любые соседние два атома; волнистая линия представляет собой участок, в котором может быть присоединена другая связь;

В альтернативном варианте U, U', E₁ или E₂ независимо могут отсутствовать.

2. Сшитое производное димера PBD и его конъюгат по п. 1, имеющие Формулу (Ia), (Ib), (Ic) и (Ie):

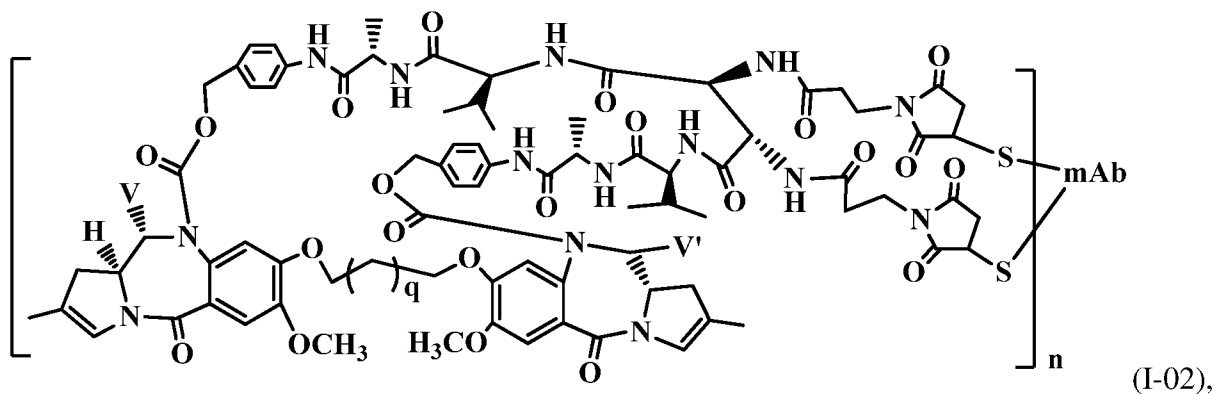
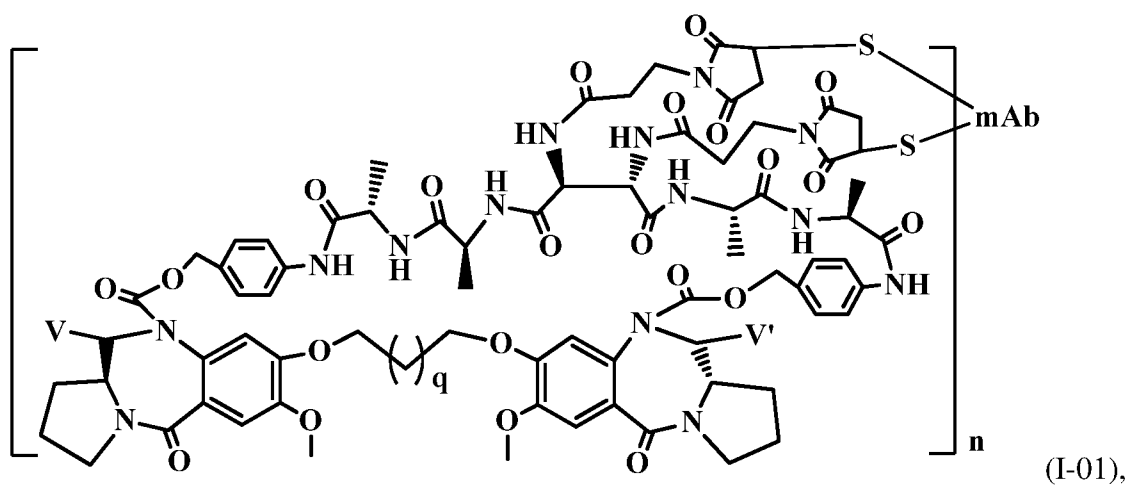


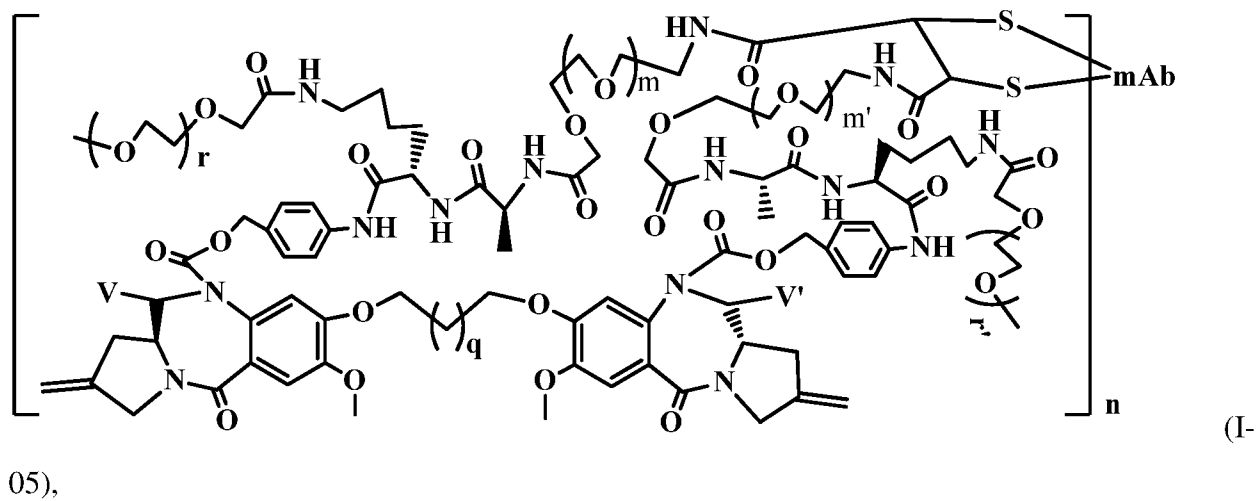
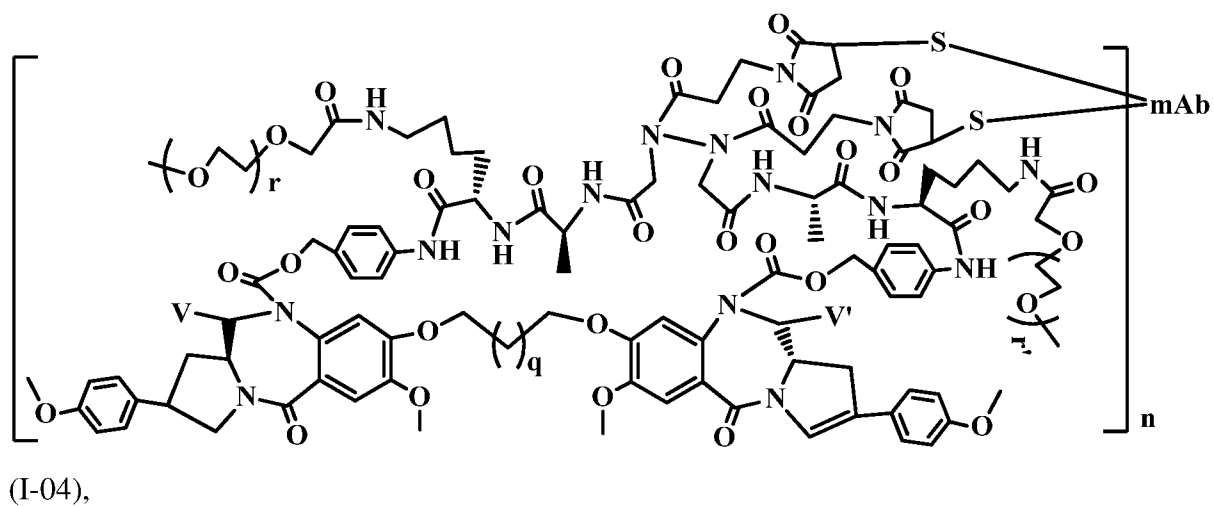
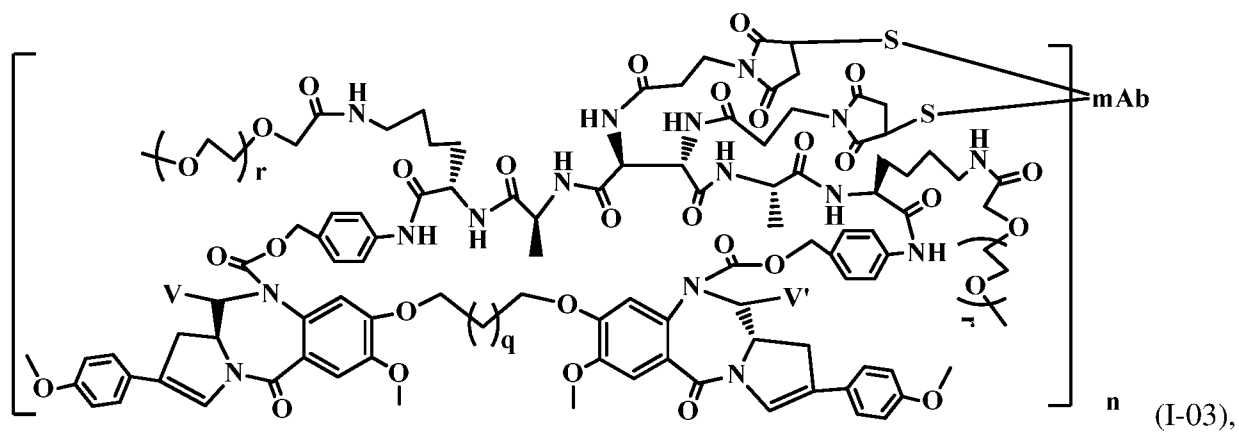


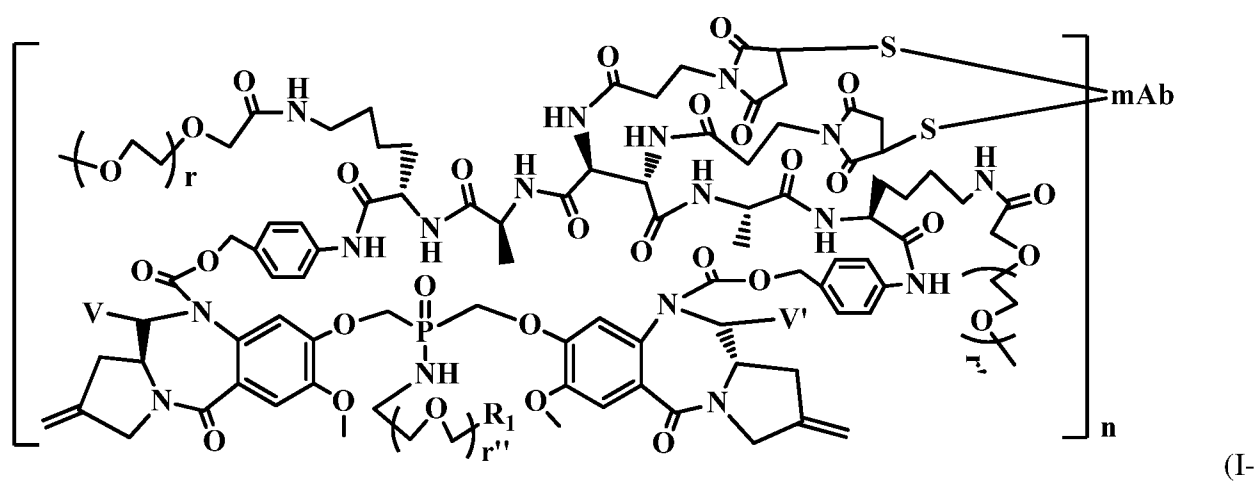
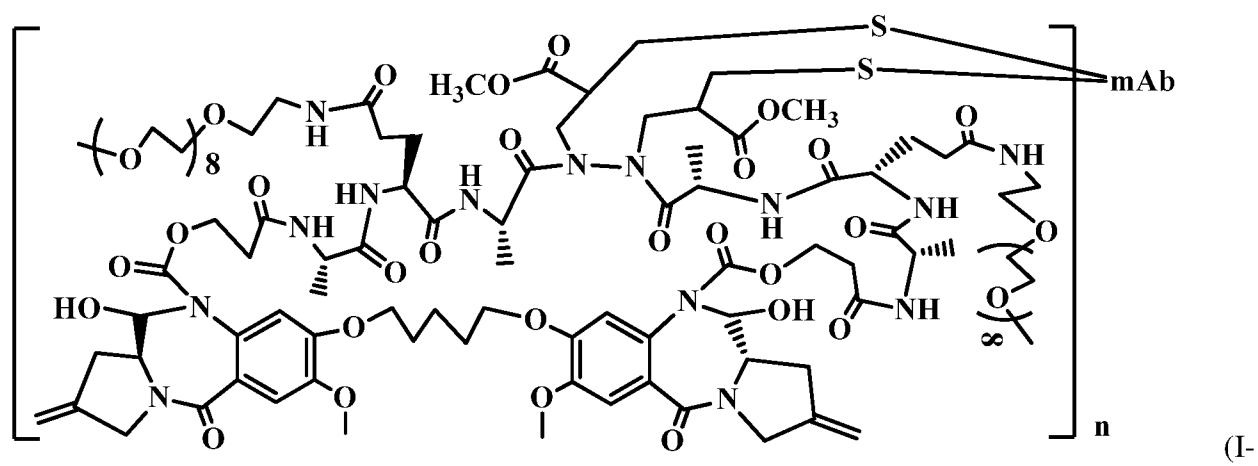
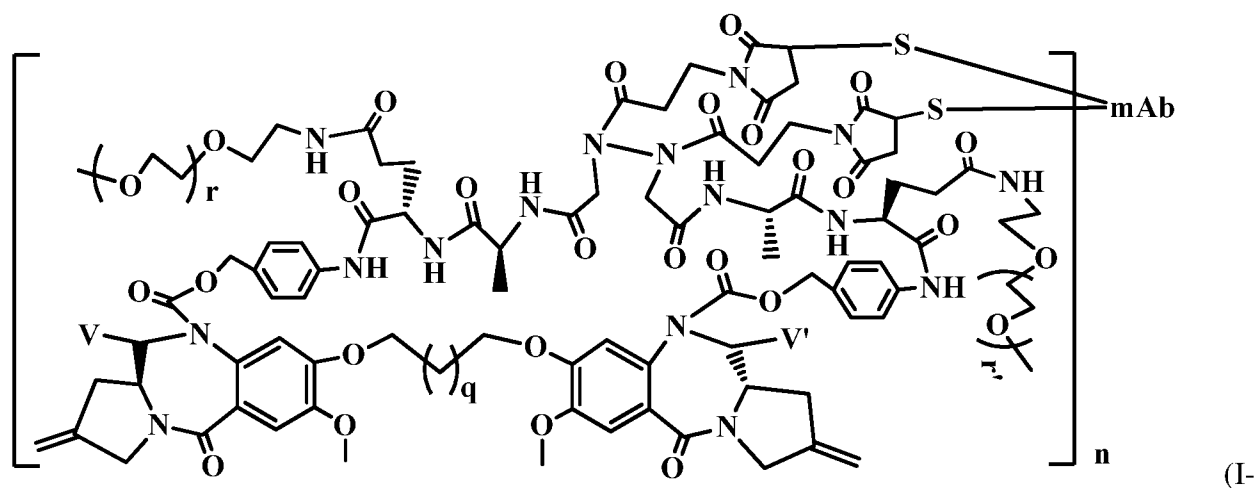
или их фармацевтически приемлемые соли, гидраты или гидратированные соли, или полиморфные кристаллические структуры данных соединений или их оптические изомеры, рацематы, диастереомеры или энантиомеры;

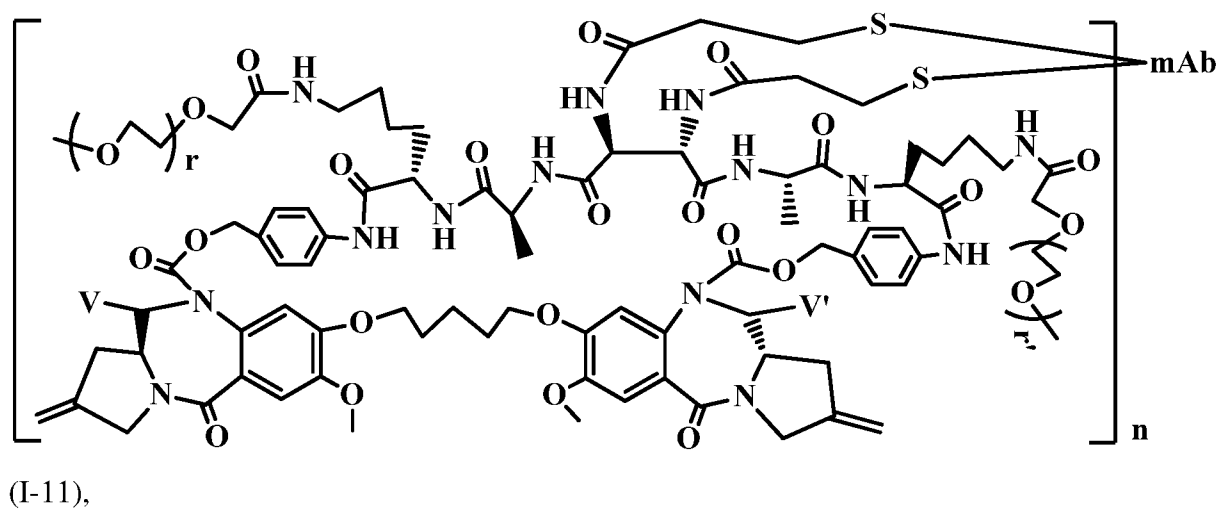
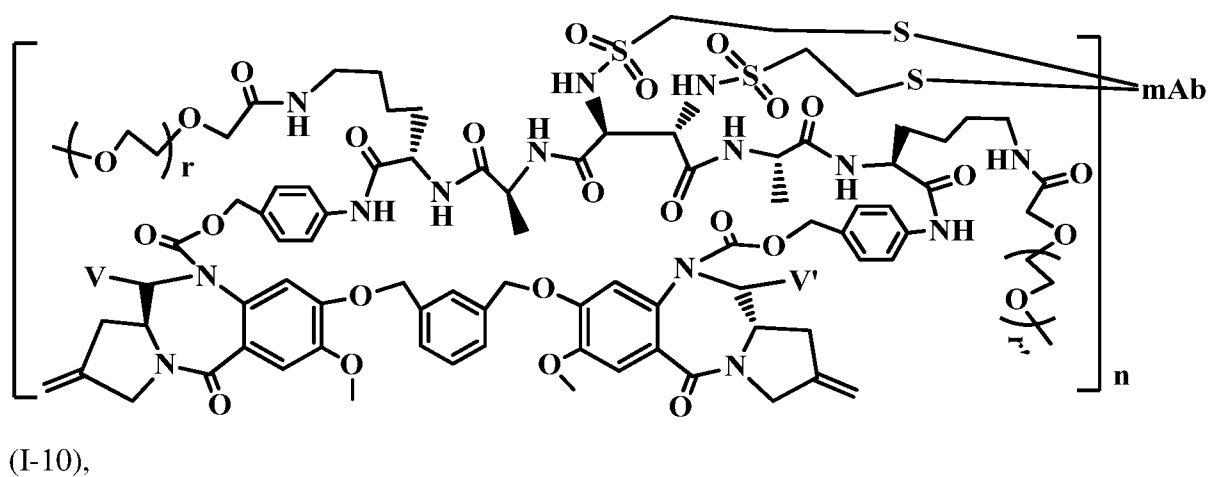
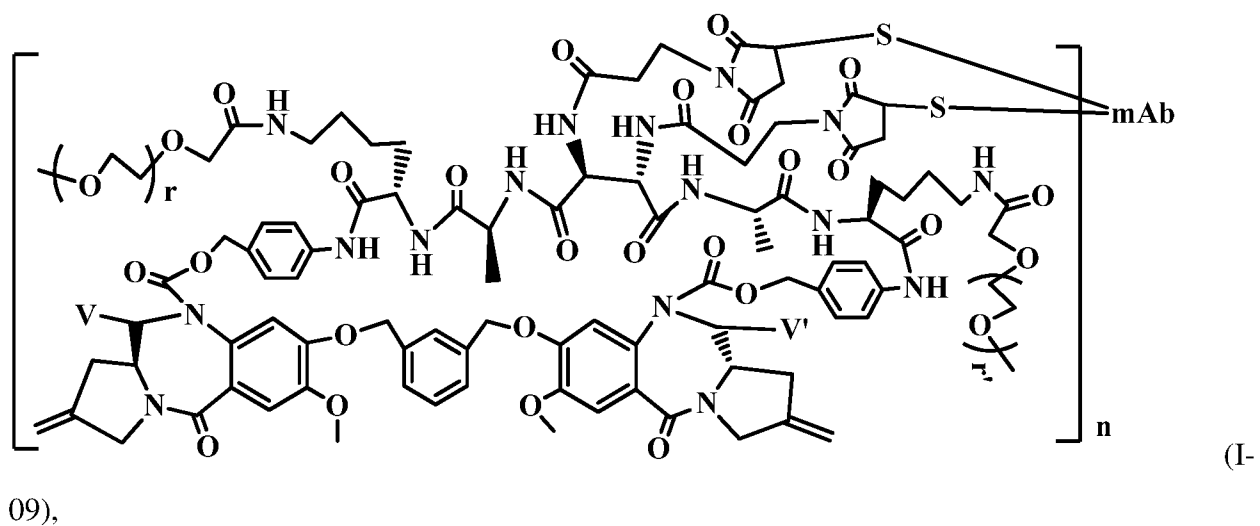
где Z_1 представляет собой OH , NH_2 , OR_1 , NHR_1 , NR_1R_2 , SR_1 , $NHR_1COX_1R_1$, $OR_1COX_1R_1$, или $N(R_2)R_1COX_1R_1$; $=====$, $-----$, X , X' , Y , Y' , Z , Z' , l , l' , m , m' , n , q , q' , R_1 , R_1' , R_2 , R_2' , R_3 , R_3' , R_4 , R_4' , V , V' , U , U' , L_1 , L_2 , E_1 , E_2 и Q определены так же, как в п. 1.

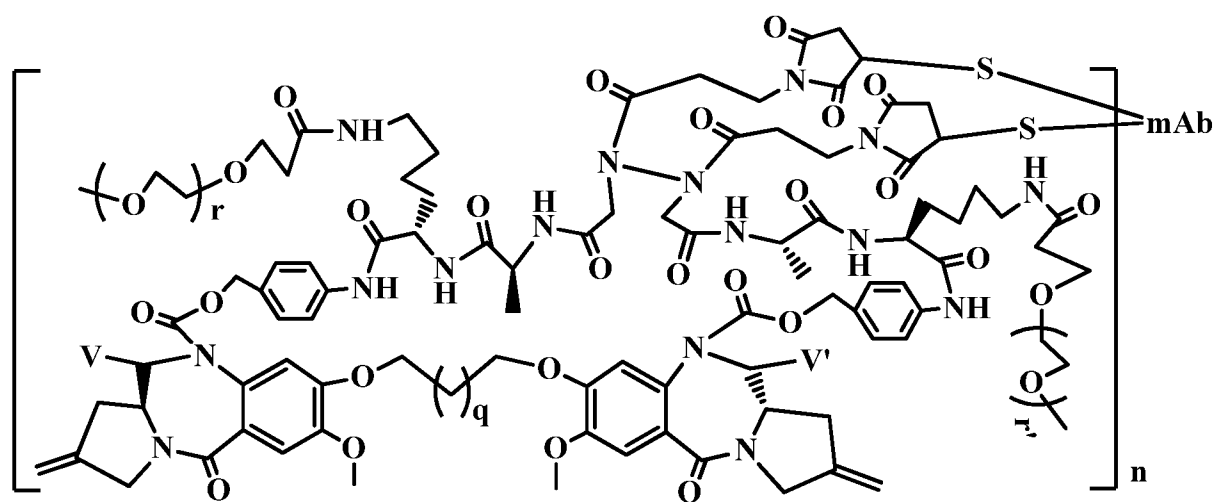
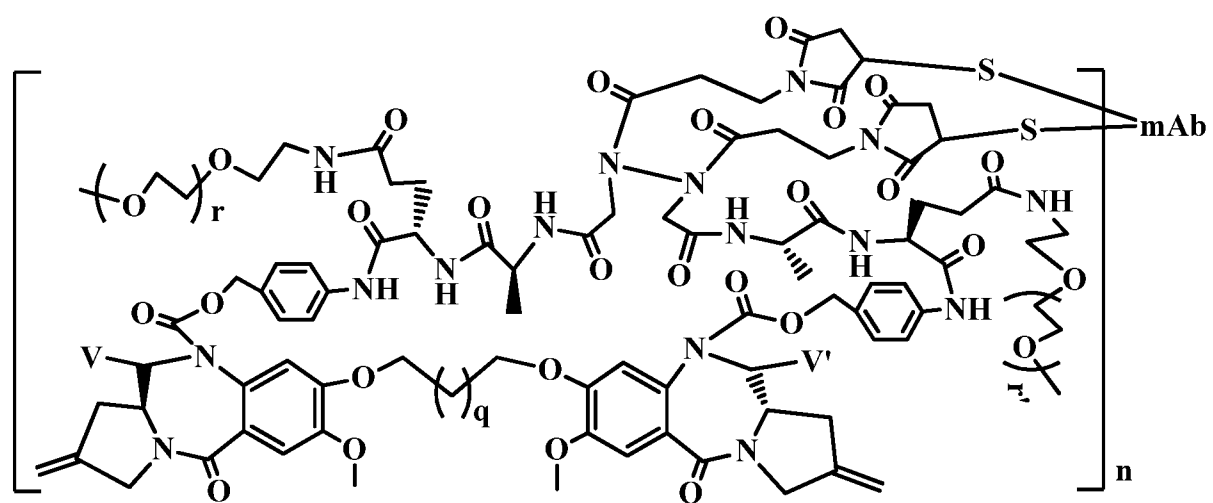
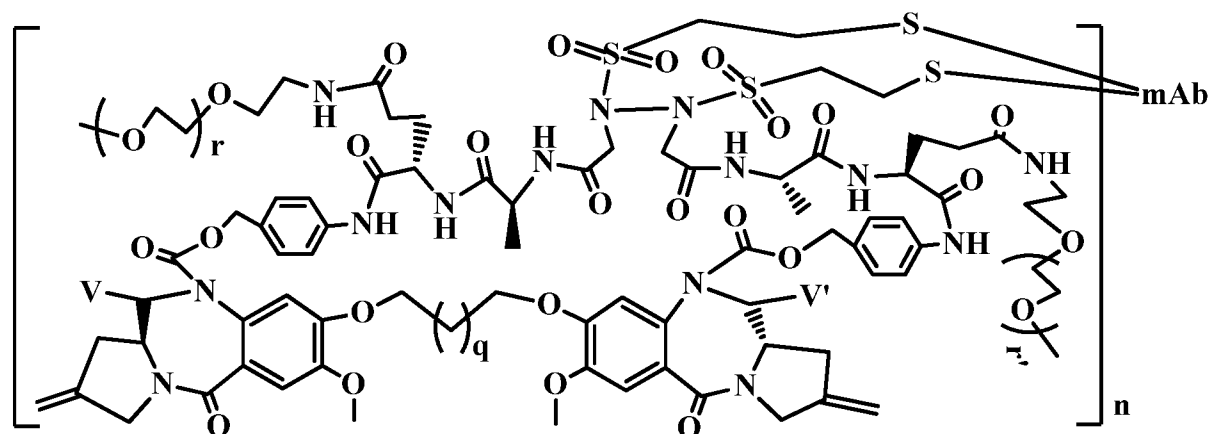
3. Конъюгат сшитого производного димера PBD с молекулой, связывающейся с клетками, по п. 1, имеющий Формулу (I-01) ~ (I-19) ниже:

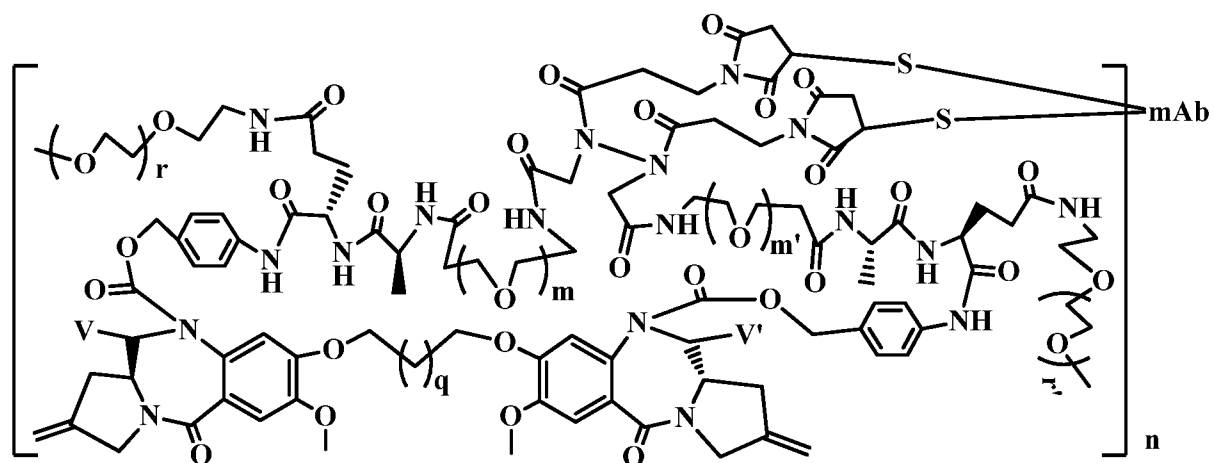




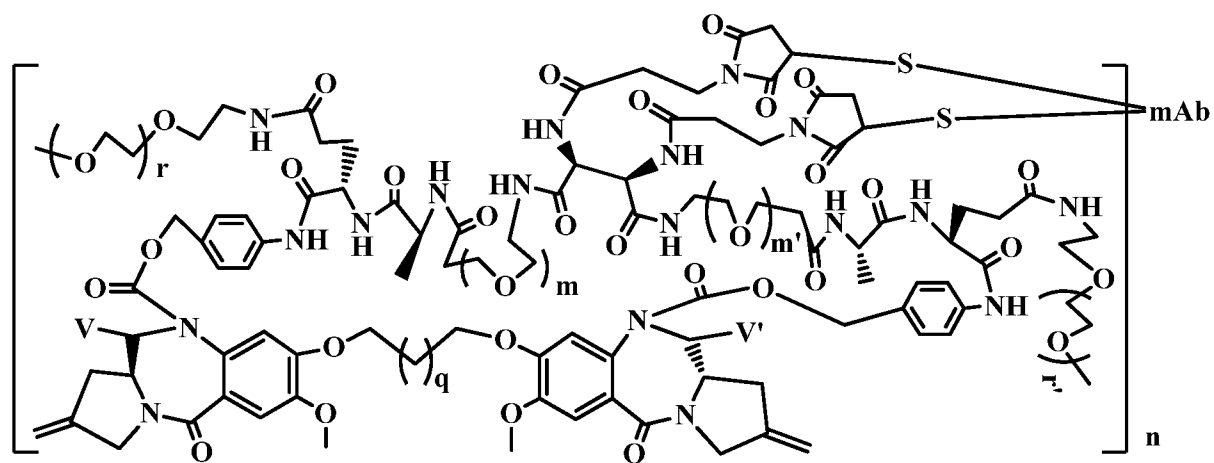




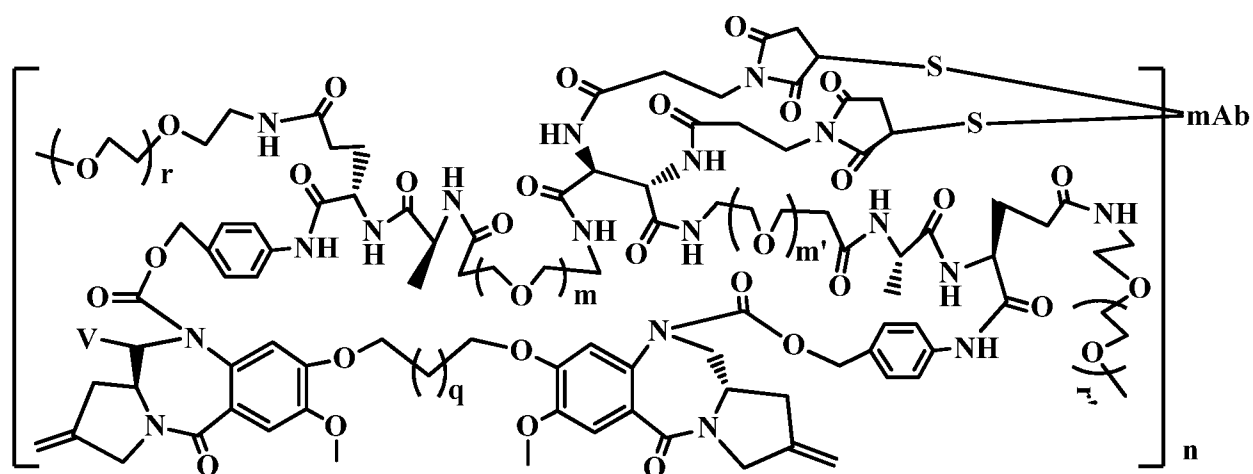




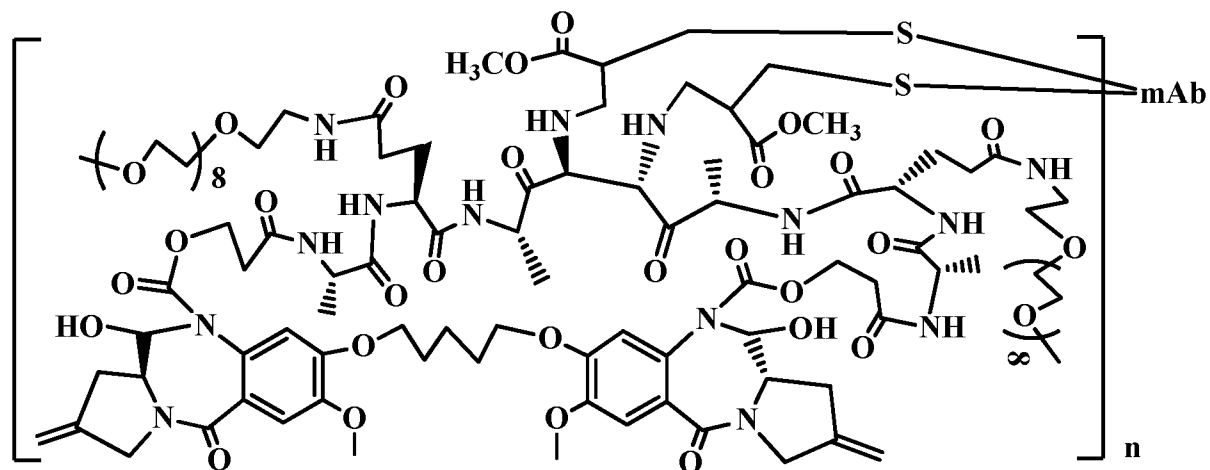
(I-15),



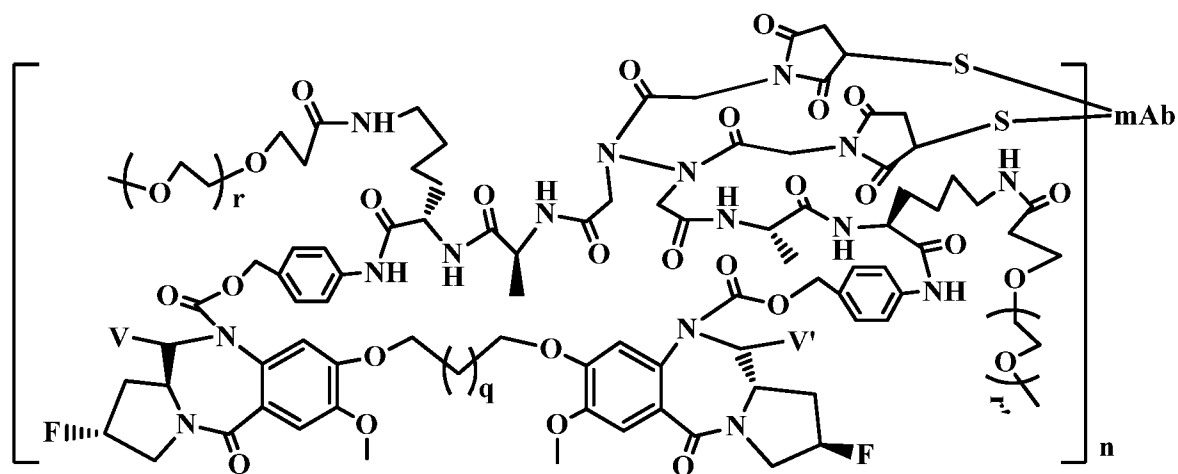
(I-16),



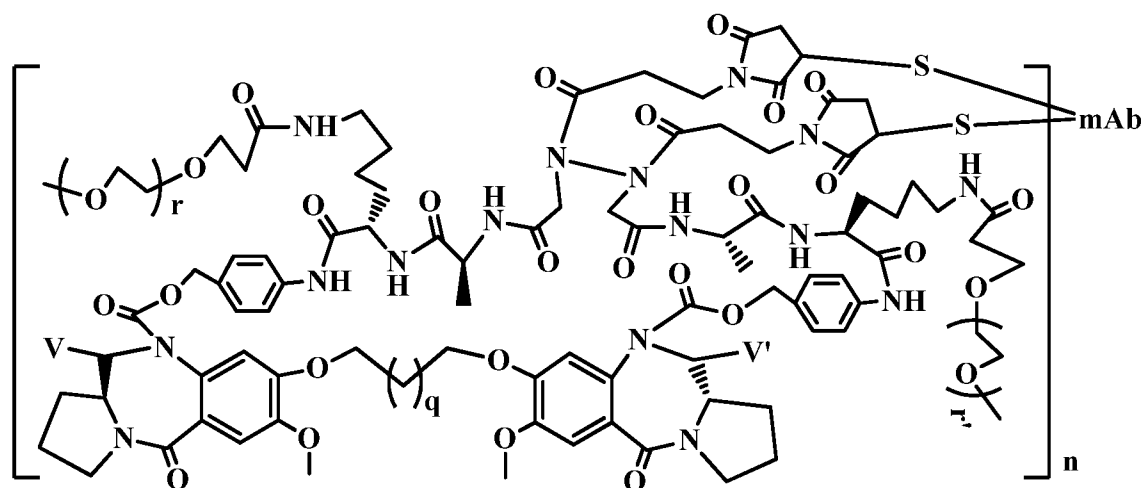
(I-17),



(I-18),



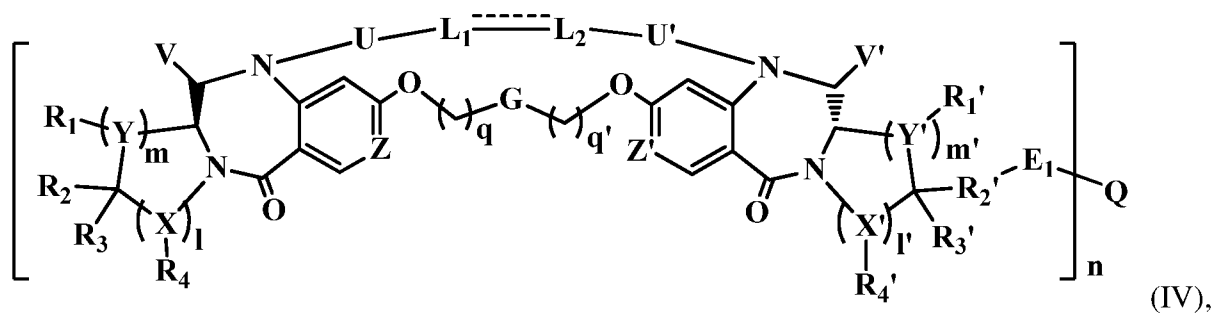
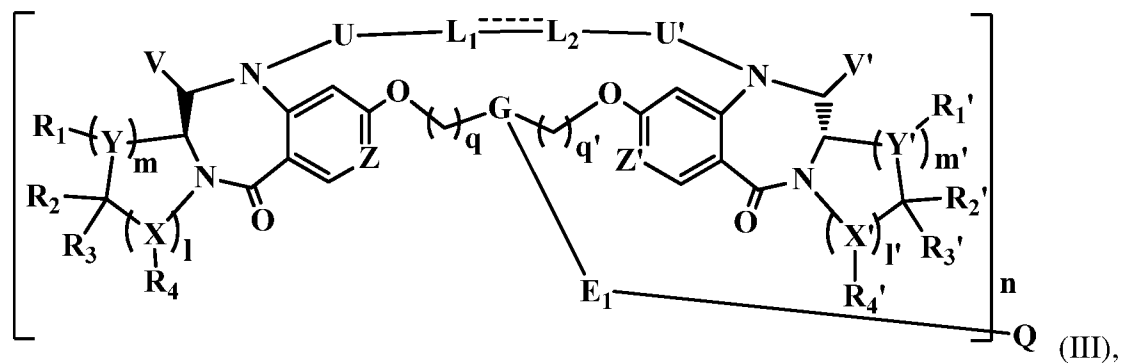
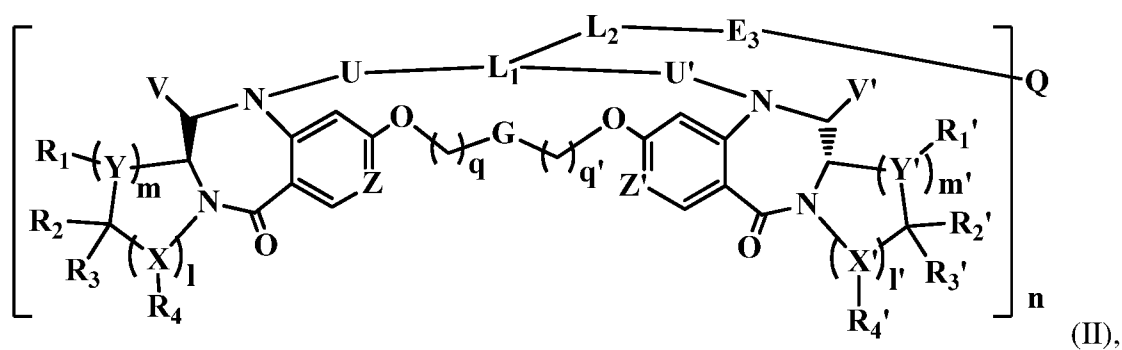
(I-19),



(I-20),

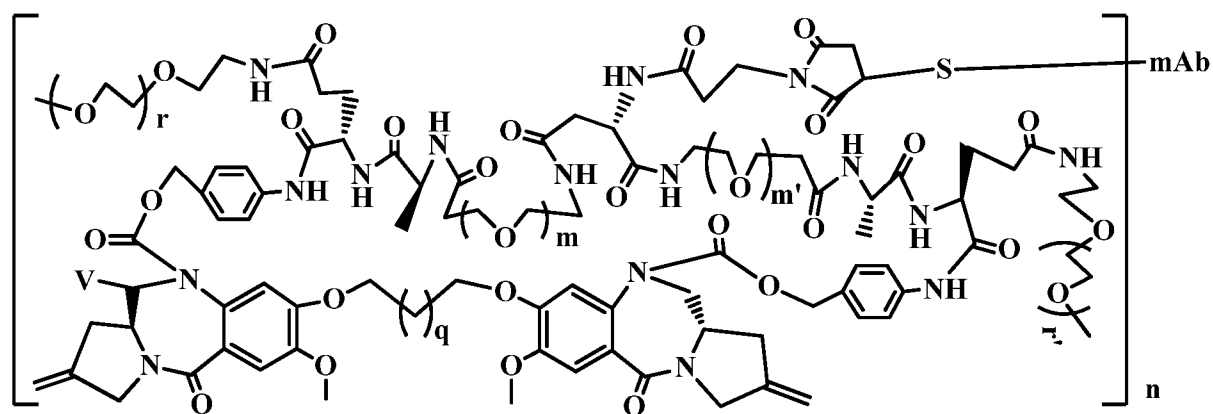
где V, V', n и q определены так же, как в п. 1; mAb представляет собой молекулу, связывающуюся с клетками; r, r' и r'' независимо равны 0-200.

4. Сшитое производное димера PBD и его конъюгат с молекулой, связывающейся с клетками, имеющие структуру Формулы (II), (III) и (IV):

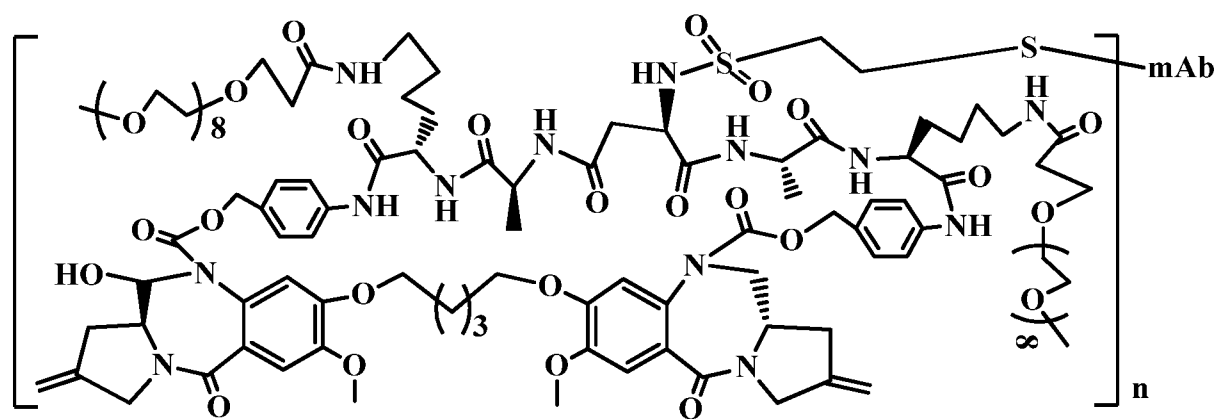
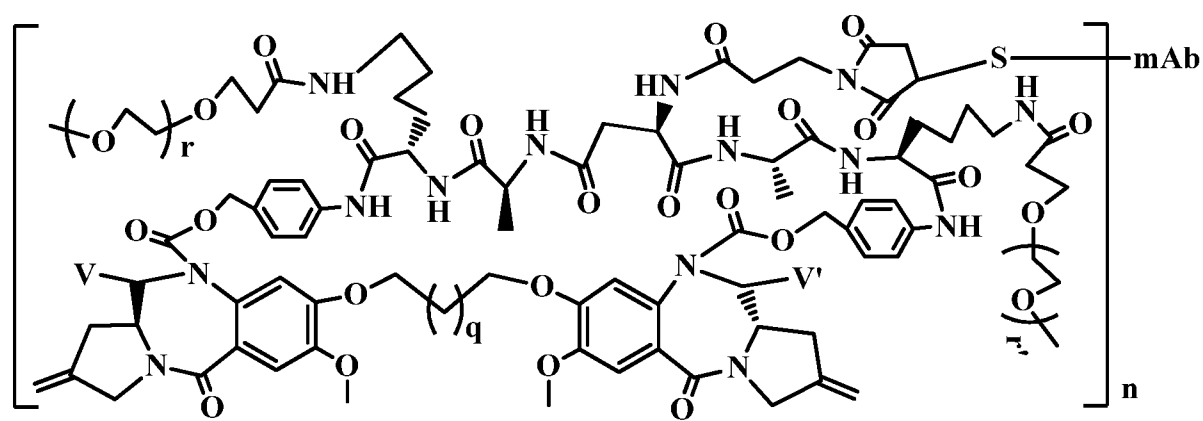
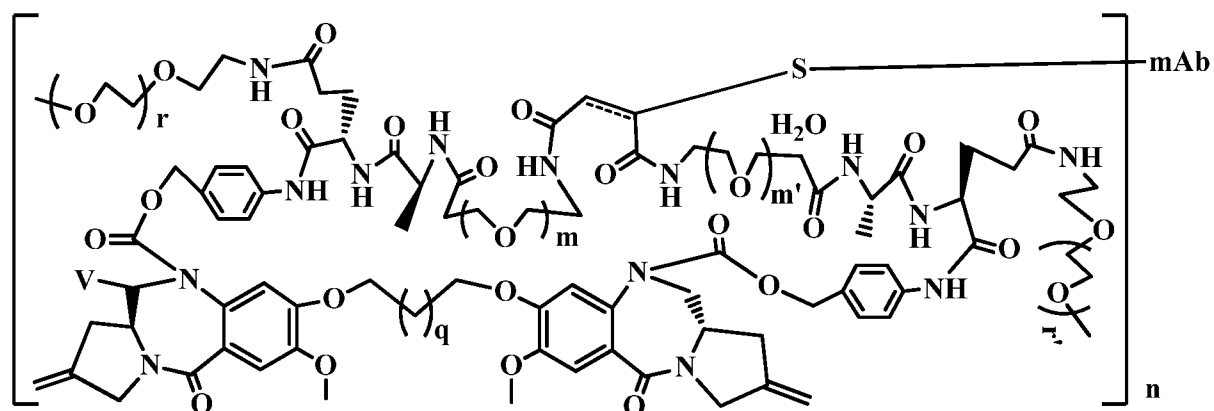


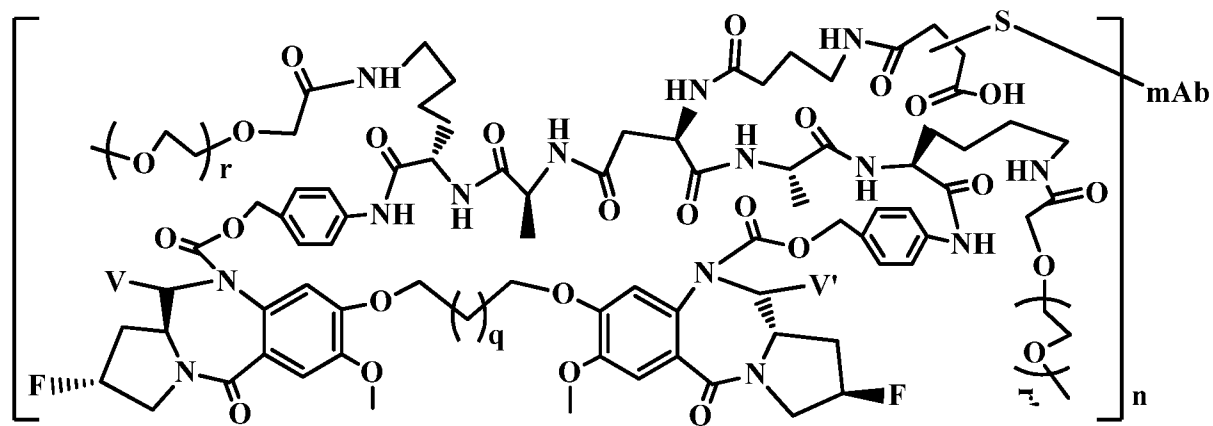
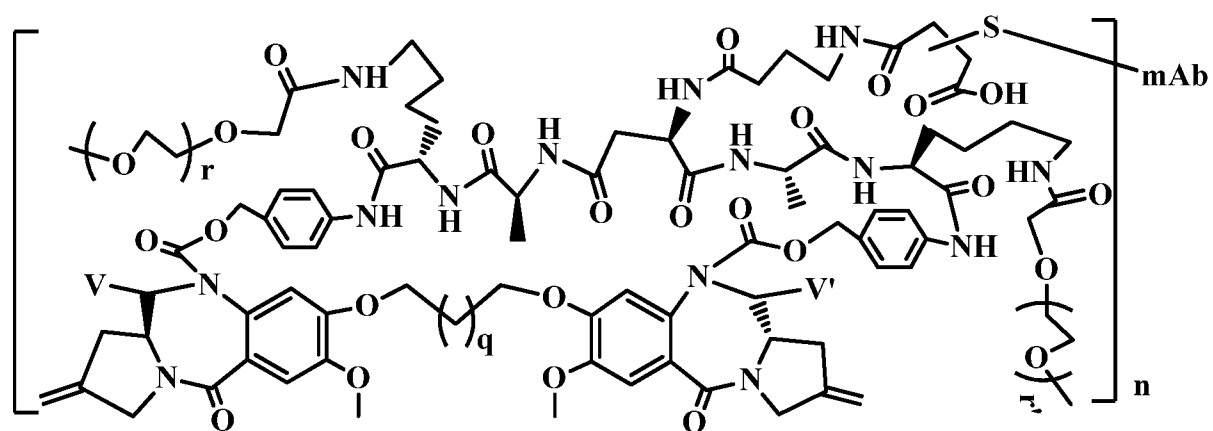
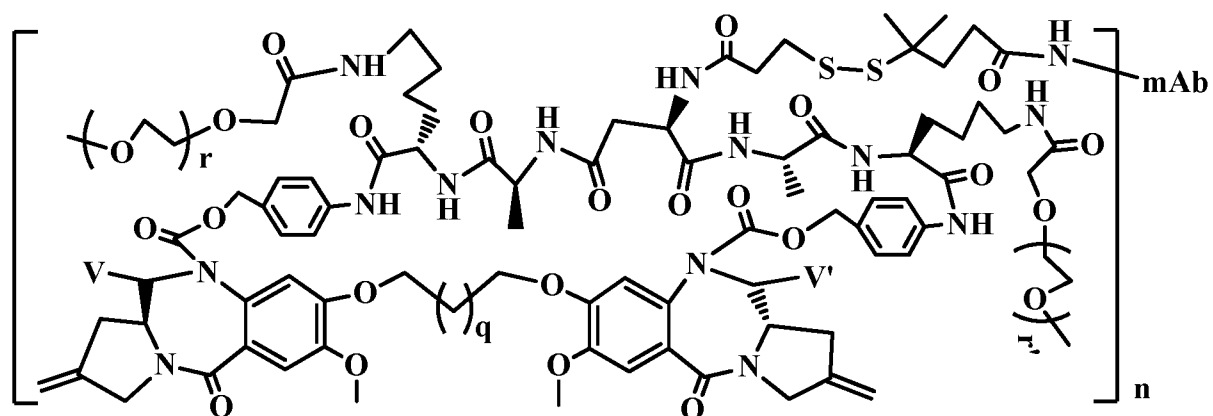
где $\overline{\text{---}}$, --- , $X, X', Y, Y', Z, Z', l, l', m, m', n, q, q', R_1, R_1', R_2, R_2', R_3, R_3', R_4, R_4', V, V', U, U', L_1, L_2, G, Q, E_1$ и E_2 определены так же, как в п. 1.

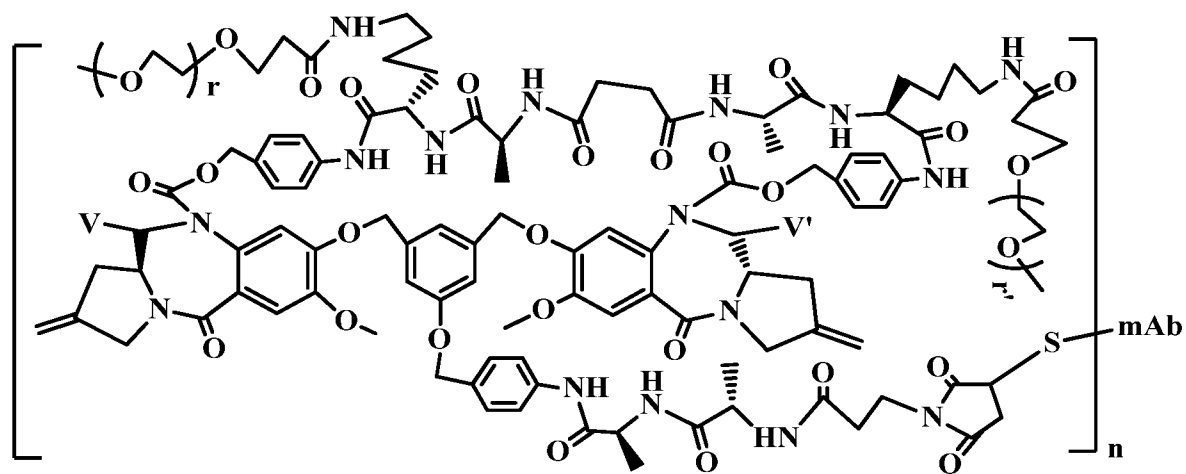
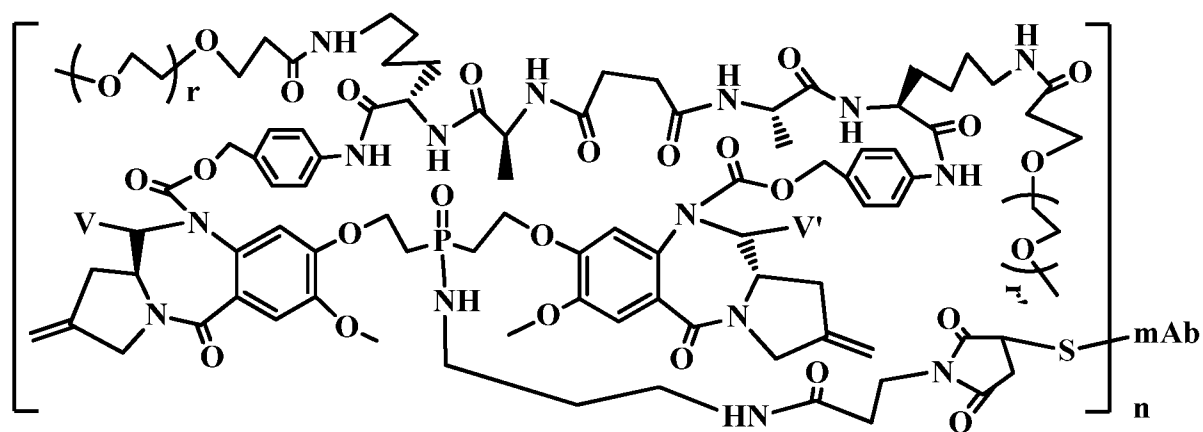
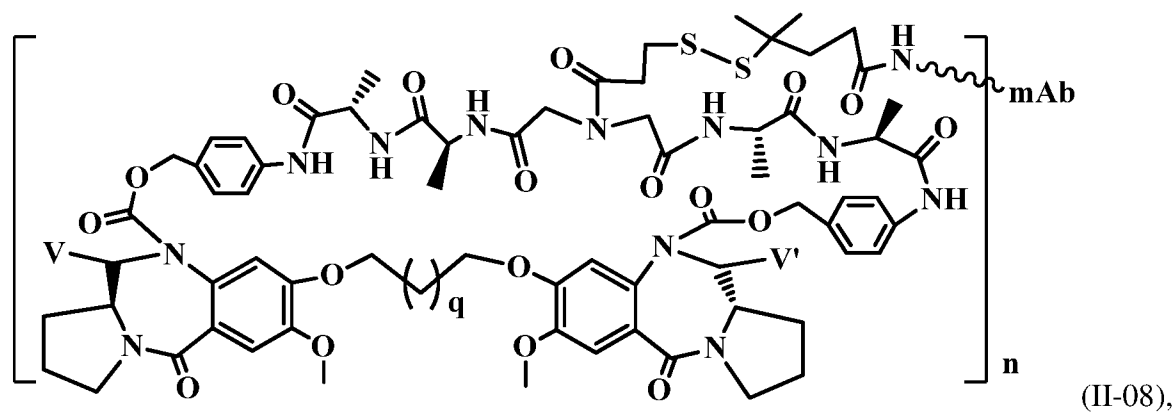
5. Конъюгат сшитого производного димера PBD с молекулой, связывающейся с клетками, по п. 4, имеющий Формулу (II-01) ~ (II-08), (III-01) ~ (III-05) и (IV-01)~(IV-11) ниже:

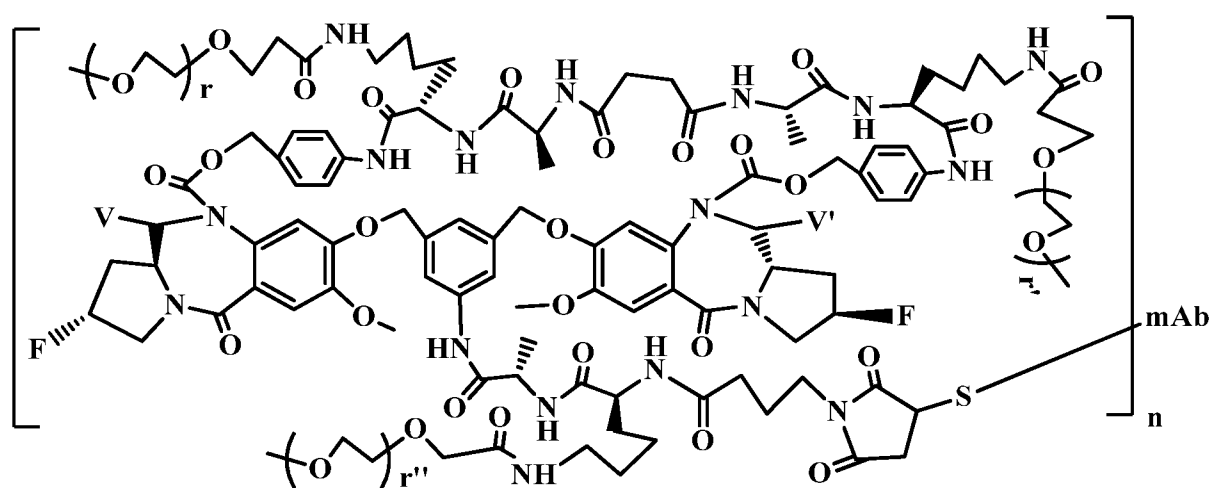
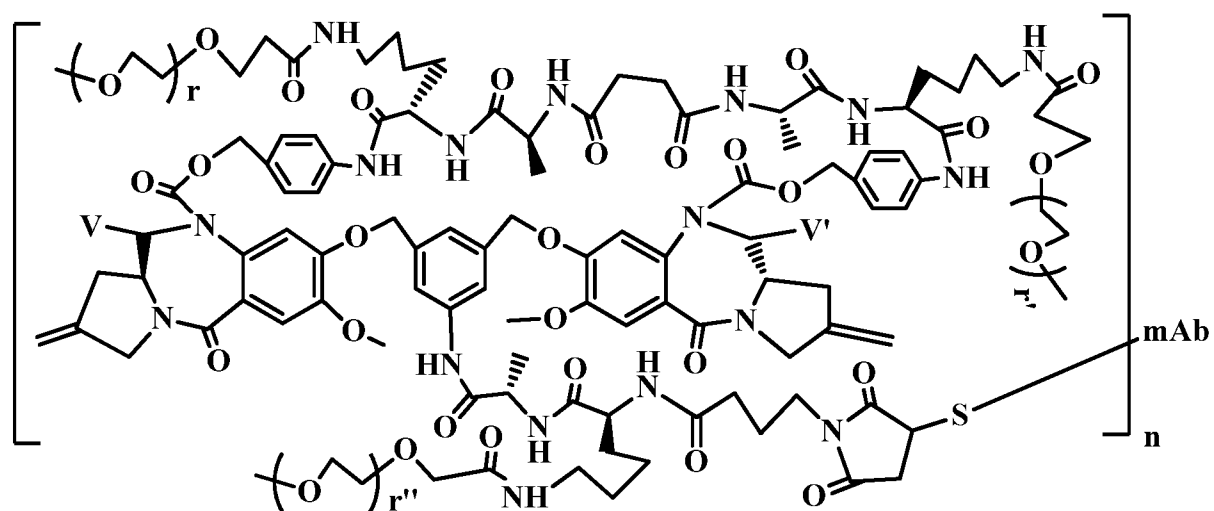
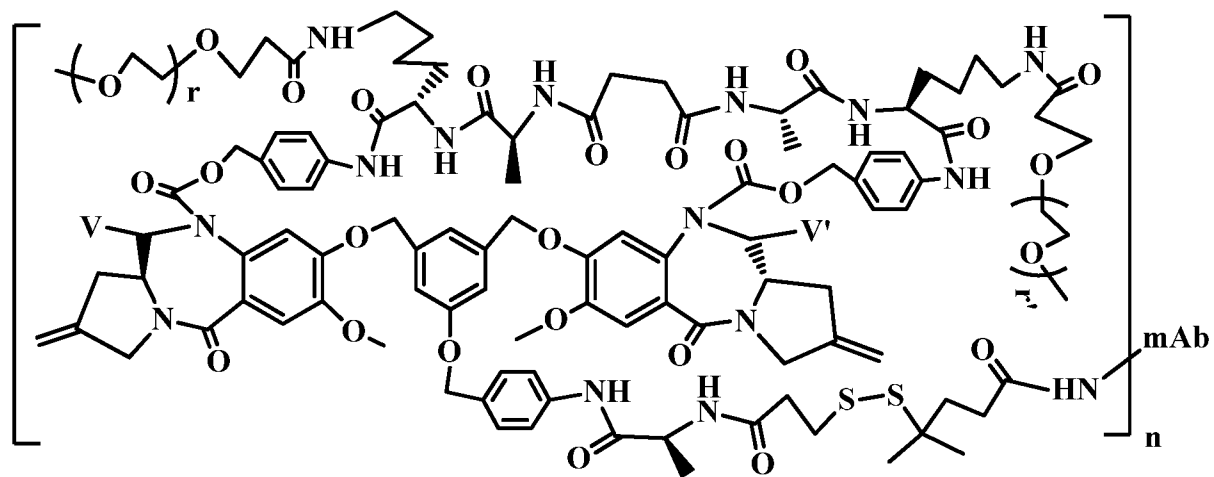


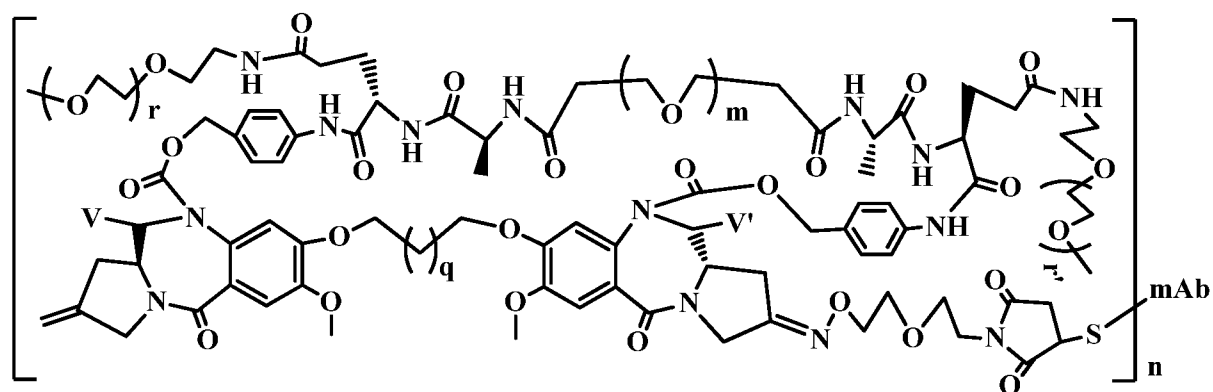
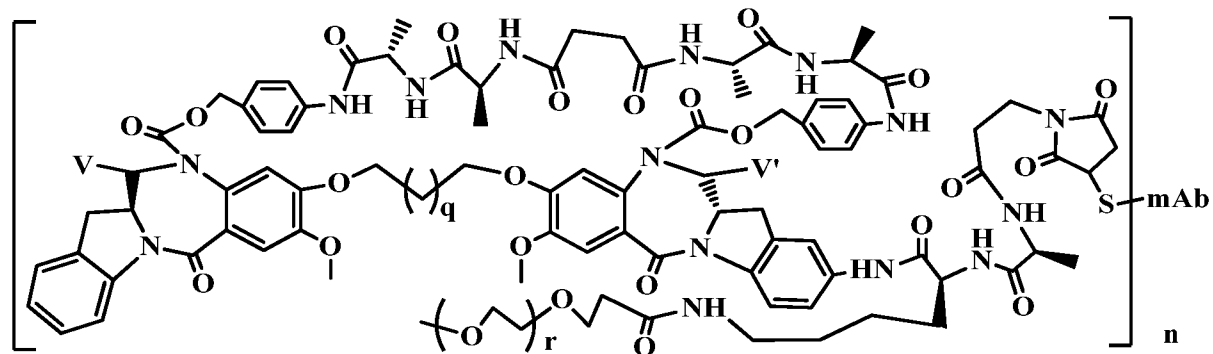
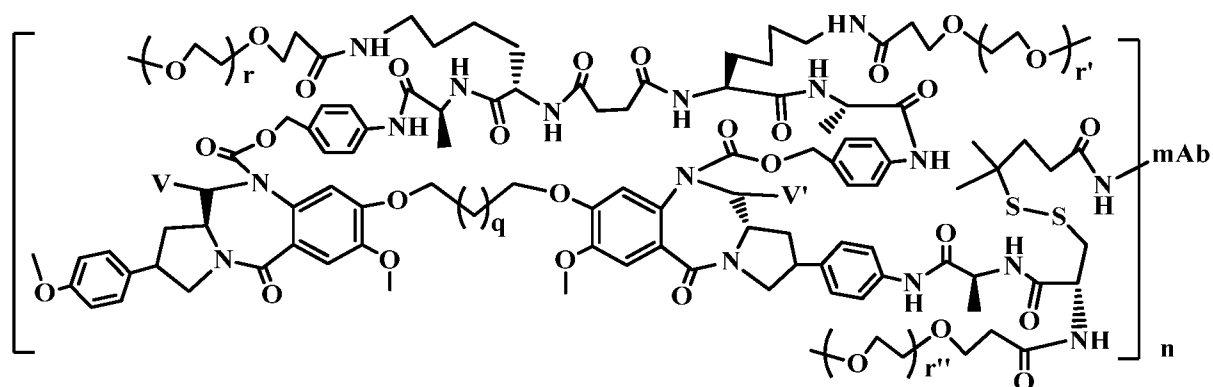
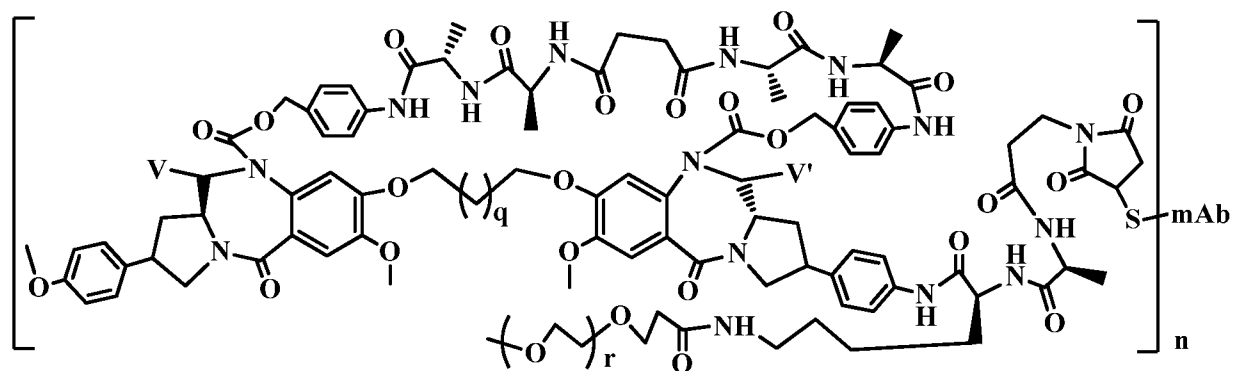
(II-01),

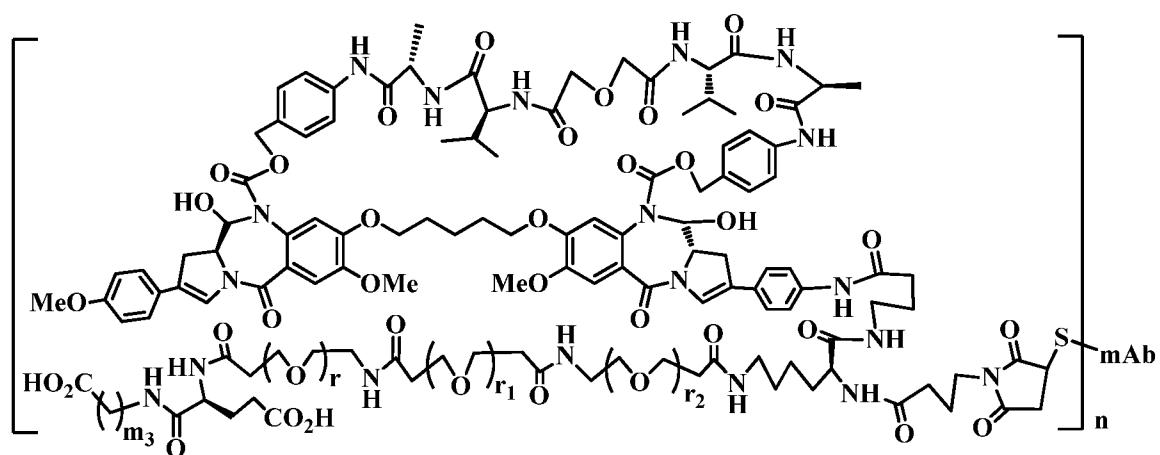
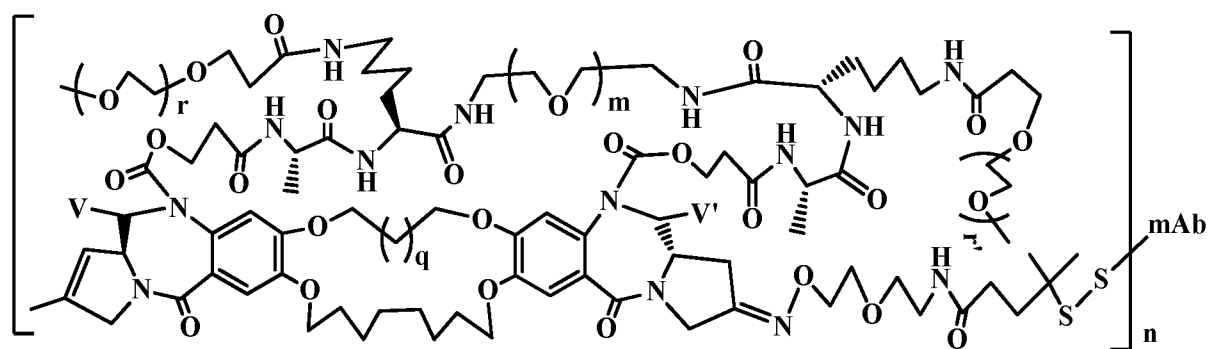
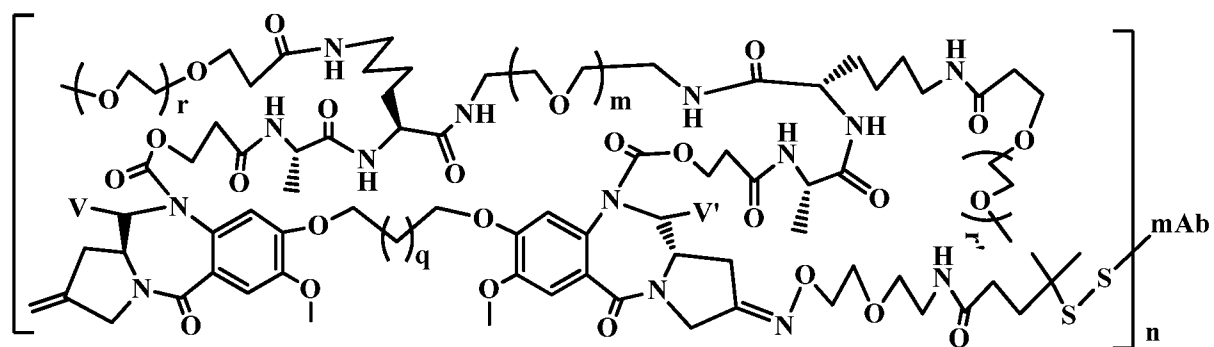


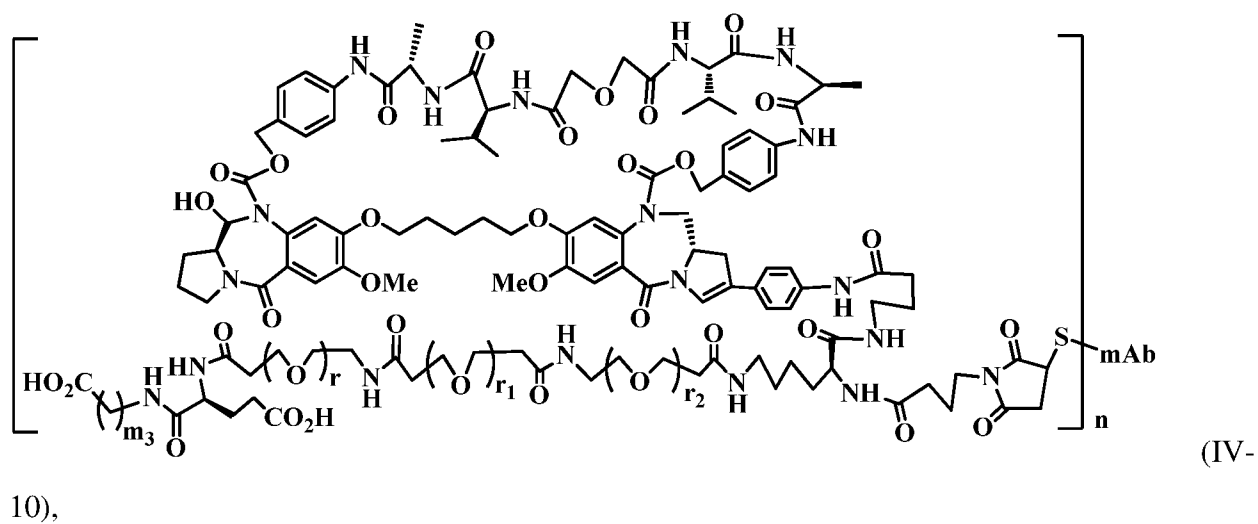
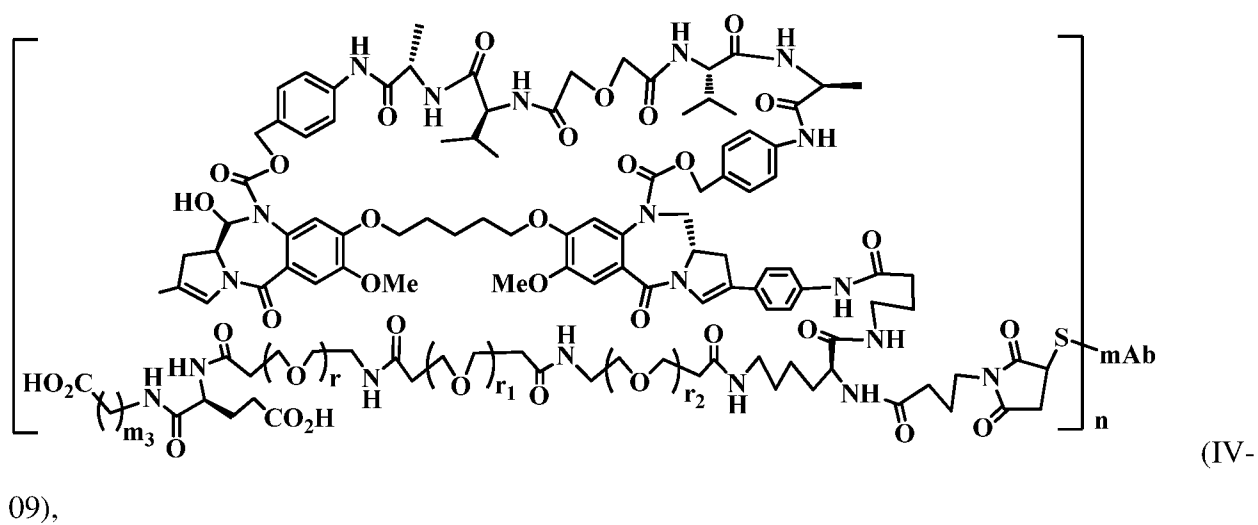
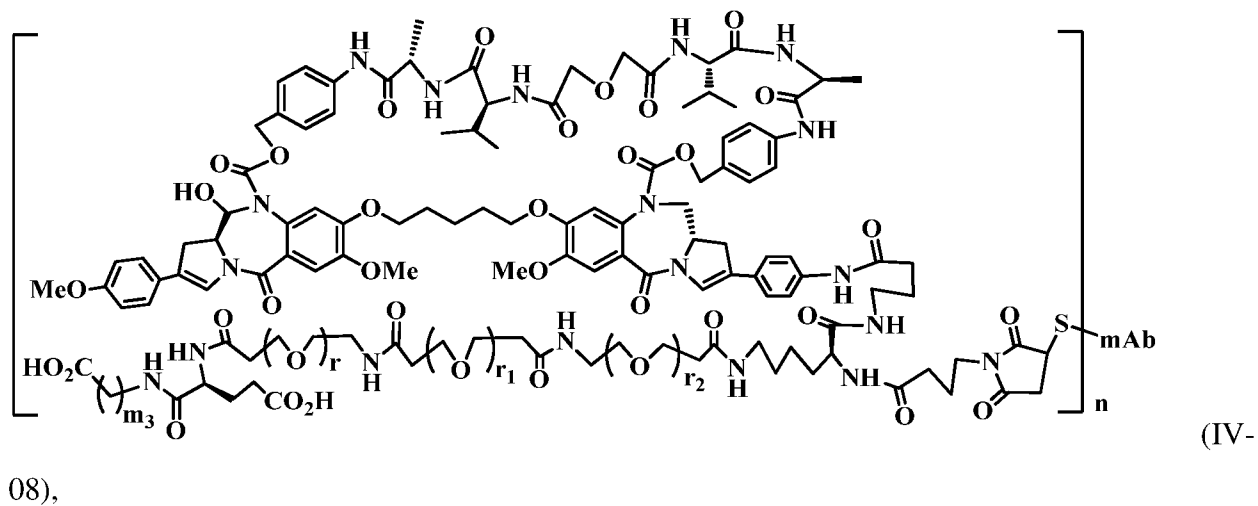


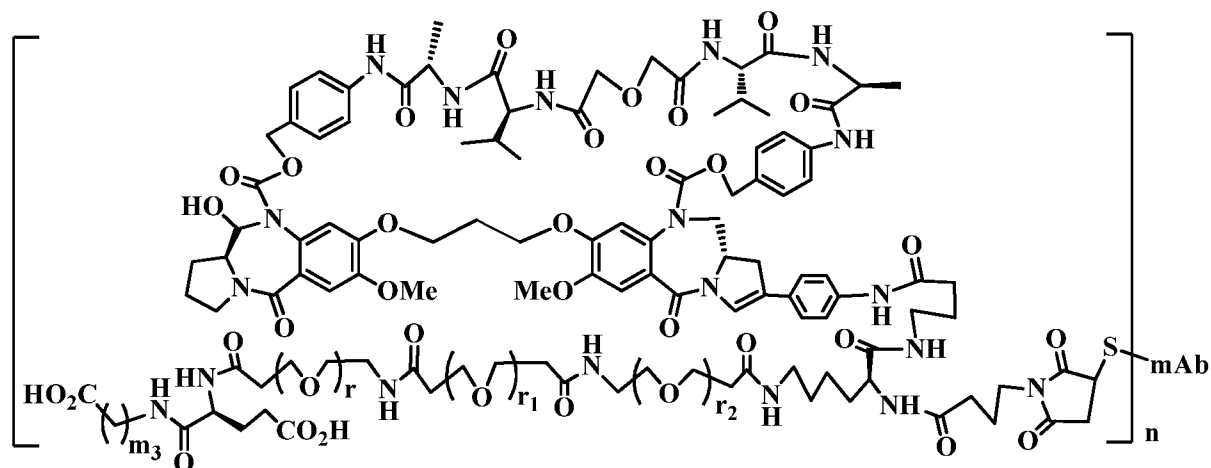








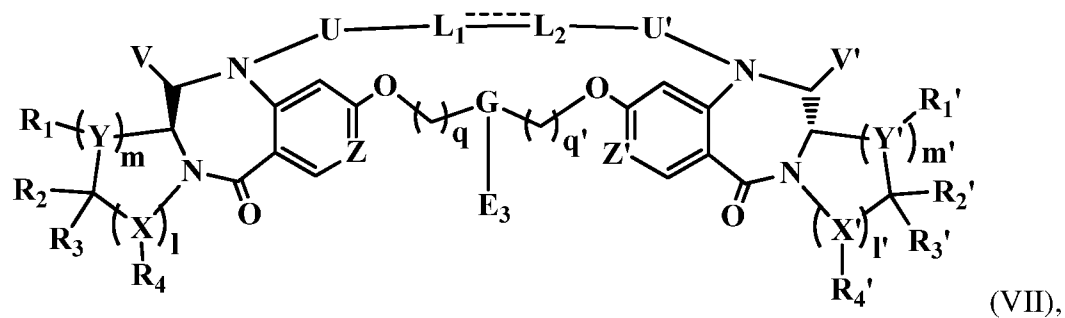
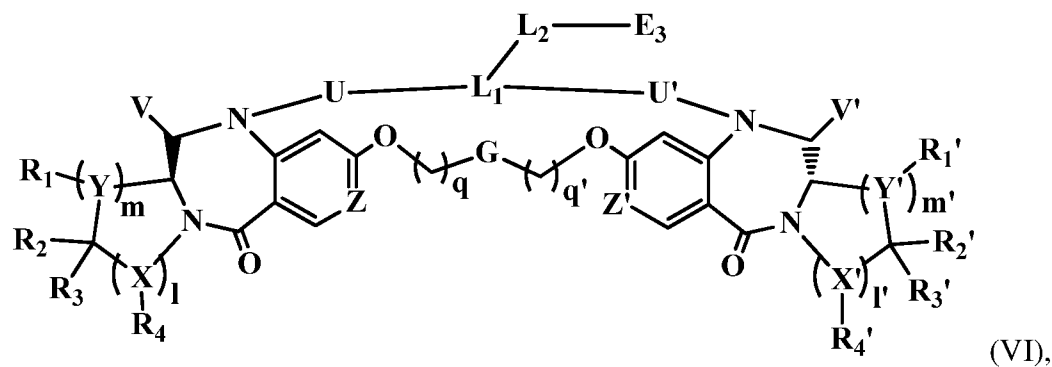
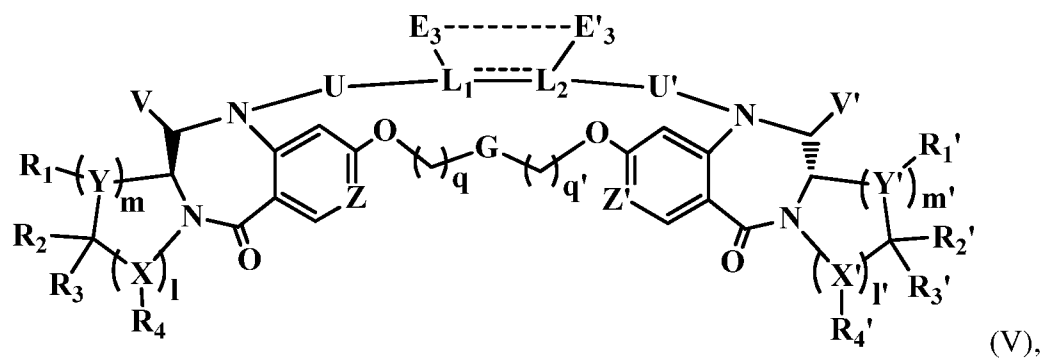




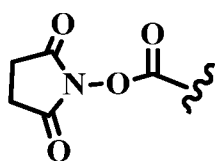
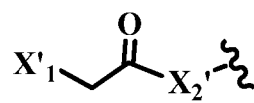
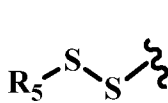
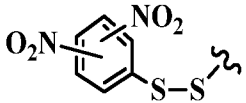
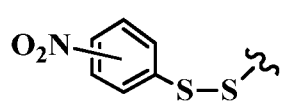
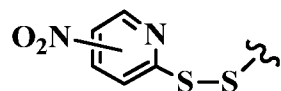
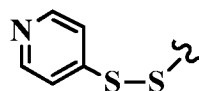
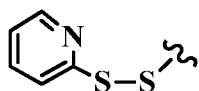
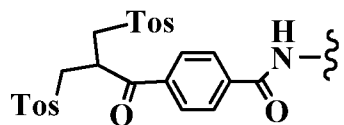
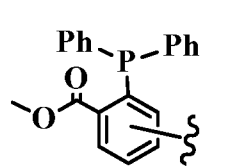
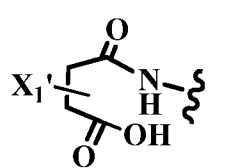
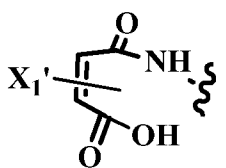
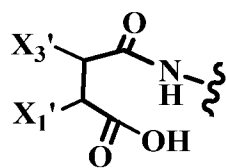
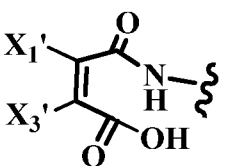
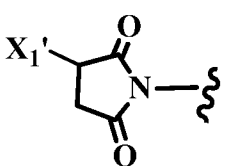
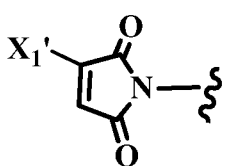
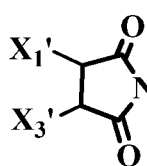
(IV-11),

где --- , --- , m , m' , n , q и q' определены так же, как в п. 1; r , r' и r'' независимо равны 0-200, m_3 равно 0-30.

6. Сшитое производное димера PBD и его конъюгат с молекулой, связывающейся с клетками, имеющие Формулу (V) (VI), (VII) и (VIII):

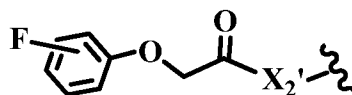


где E_3 и E'_3 независимо выбраны из:

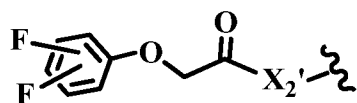
O=C1C=CC(=O)N1*
$$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{X}_1' - \text{C} - \text{N} - \text{---} \\ \parallel \\ \text{O} \\ \text{X}_3' - \text{C} \end{array}$$

$$\text{X}_1' - \text{C}(=\text{O}) - \zeta$$
$$\text{=S(=O)}_2\text{-X}_2'\text{-}$$
$$\text{---} \text{C} \text{---} \text{C}(=\text{O}) \text{---} \text{X}_2 \text{---} \text{---}$$
$$\text{Ts}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{X}_2'-\text{Z}$$
$$\text{Ms}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{X}_2'-\text{}$$
O=[N+]([O-])c1ccc(OCC(=O)X2')cc1O=[N+]([O-])c1ccc(OC(=O)X2')cc1[N+](=O)[O-]

2-

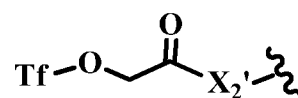
(динитрофенокси)ацетила;



2-(фторфенокси)ацетила;

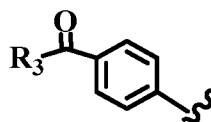


2-(дифторфенокси)ацетила;

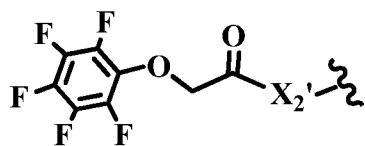


2-

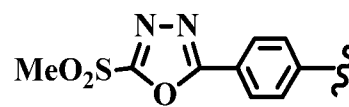
(((трифторметил)сульфонил)окси)ацетила;



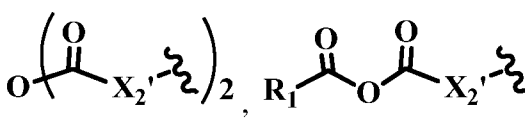
кетона или альдегида,



2-(пентафторфенокси)ацетила;

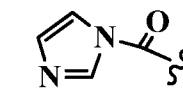
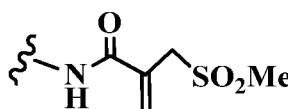
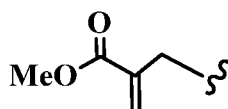


метилсульфонфенилоксадиазола (ODA);

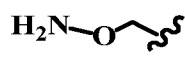


ангидрида

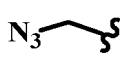
кислоты,



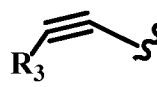
карбонилимидазола,



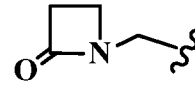
алкилоксиамино;



азидо,



алкинила,

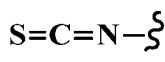


β-

лактама или



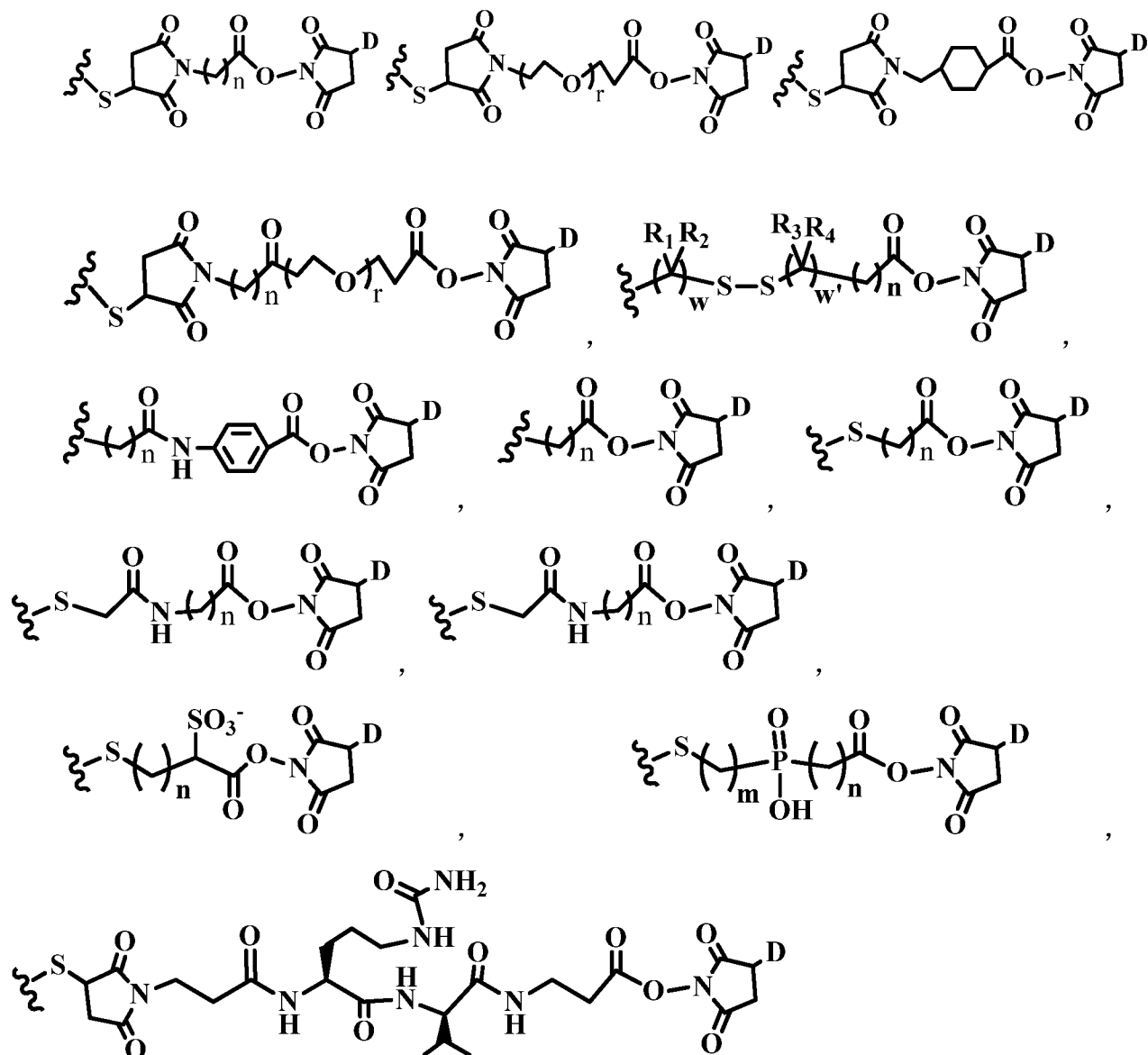
гидразида,



изотиоцианато; где X1' и X3' независимо

представляют собой F, Cl, Br, I или Lv3; X2' представляет собой O, NH, N(R1) или CH2; R3 и R5 независимо представляют собой H, R1, ароматическую, гетероароматическую или ароматическую группу, где один или более атомов H независимо заменены на -R1, -галоген, -OR1, -SR1, -NR1R2, -NO2, -S(O)R1, -S(O)2R1 или -COOR1; Lv3 представляет собой уходящую группу, выбранную из метансульфонил (мезила), толуолсульфонил (тозила), трифторметилсульфонил (трифлата), трифторметилсульфоната, нитрофеноксила; N-гидроксисукцинимидила (NHS); феноксила; динитрофеноксила; пентафторфеноксила, тетрафторфеноксила, трифторфеноксила, дифторфеноксила, монофторфеноксила, пентахлорфеноксила, 1H-имидазол-1-ила, хлорфеноксила, дихлорфеноксила, тетрахлорфеноксила, N-(бензотриазолил)оксила, 2-этил-5-фенилизоксазолий-ила, фенилоксадиазолила (ODA), оксадиазолила или промежуточной молекулы, полученной с помощью реагента конденсации для реакций Мицунобу, где R1 и R2 определены выше.

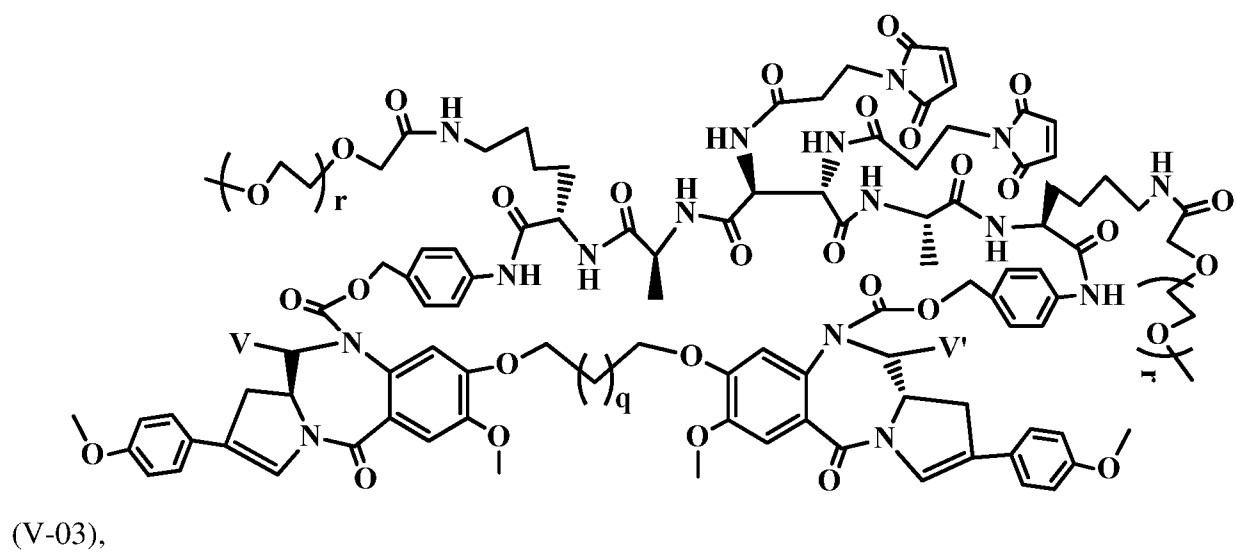
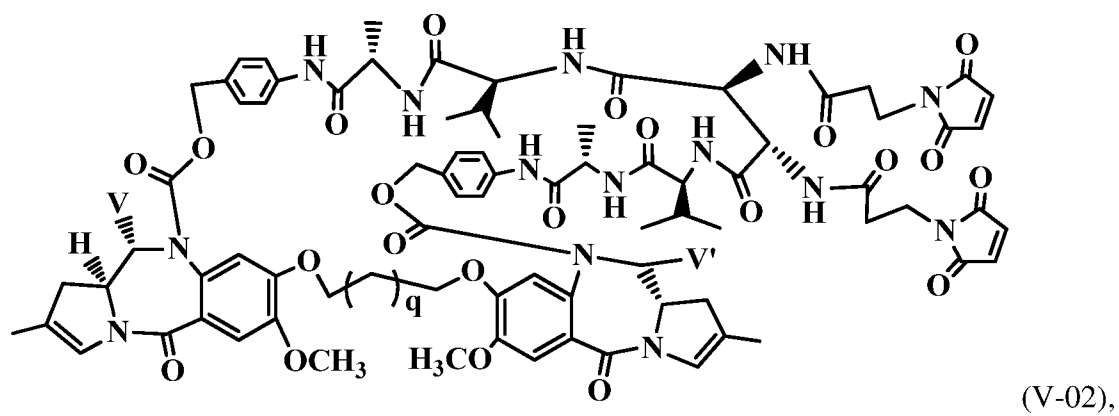
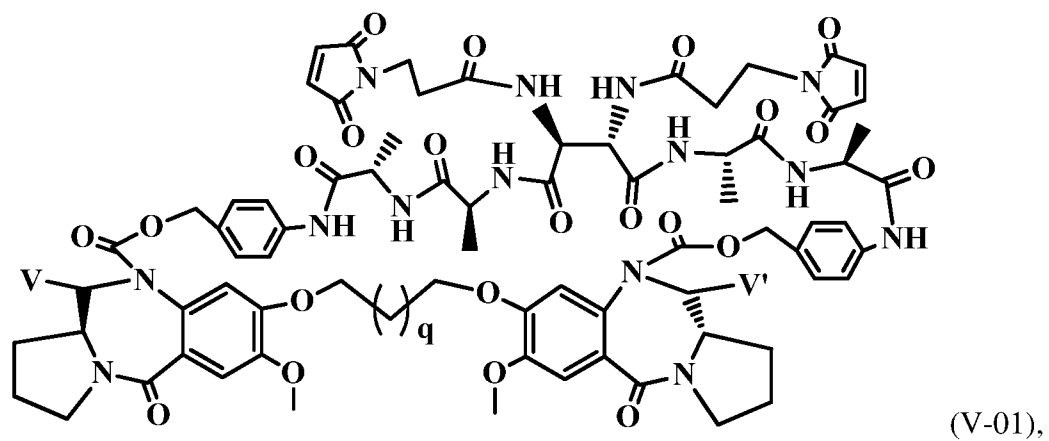
Кроме того, E3 и E'3 независимо выбраны из -SH, -S-SCH3, -S-SAc, -S-S-пиридина, -S-S-Ar(-NO2), -S-агента, связывающегося с клетками, или любой из следующих формул:

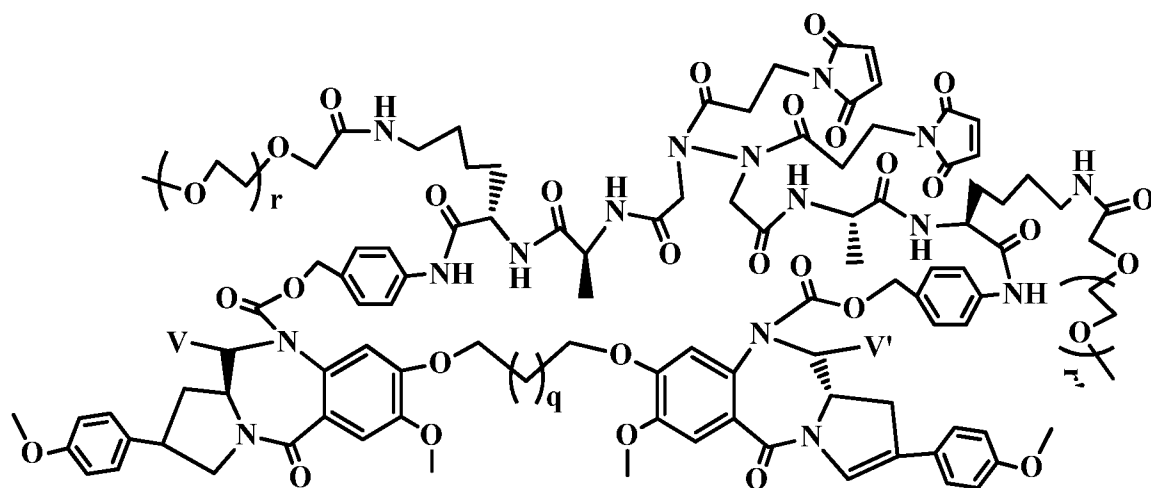


где D представляет собой H, -NO₂, SO₃H или F; где R₁, R₂, R₃, R₄, r, m и n определены выше; w и w' независимо равны 0, 1 или 2;

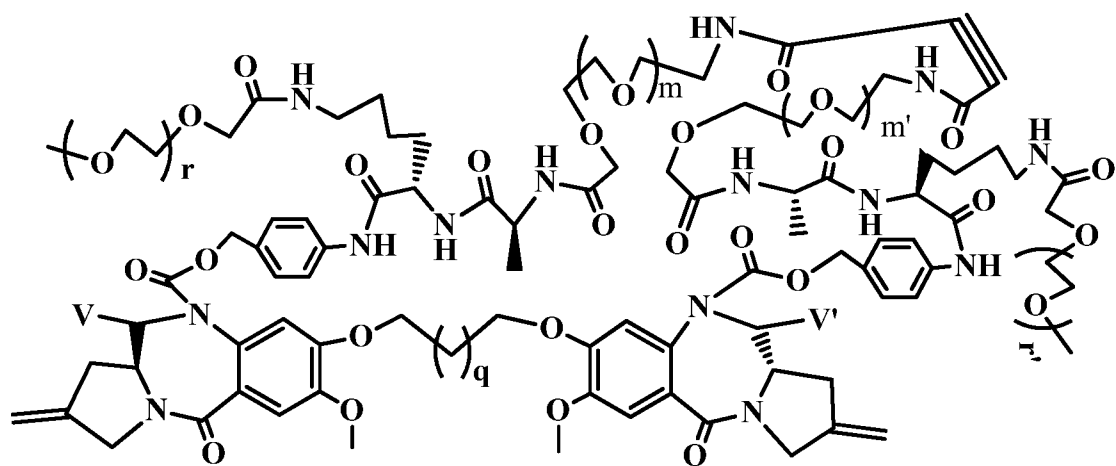
где R₅ и R₅' независимо выбраны из C₁~C₆ алкила, арила, цикла, гетероцикла, H или M, где M представляет собой Na, K, Ca, аммоний или другую фармацевтически приемлемую соль.

7. Производное димера PBD по п. 6, имеющее Формулу (V-01)~(V-20), (VI-01) ~ (VI-12), (VII-01)~ (VII-06), (VIII-01) ~(VIII-06) ниже:



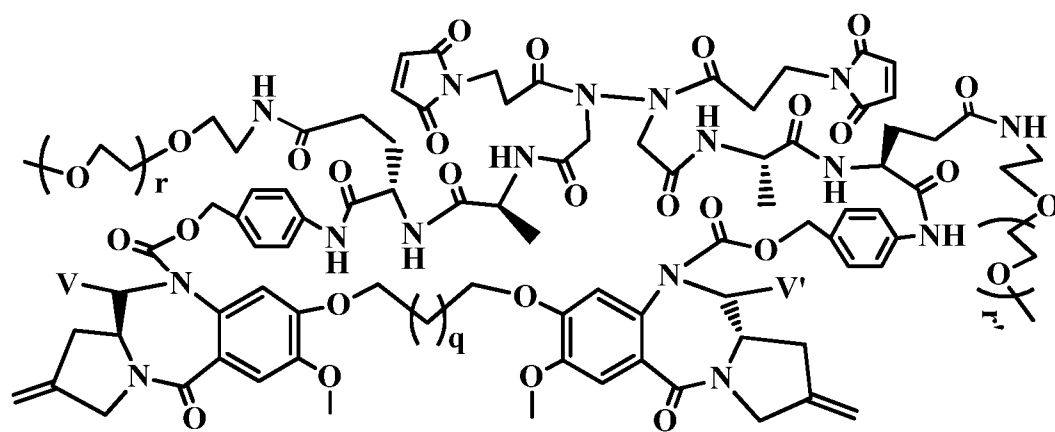


(V-04),

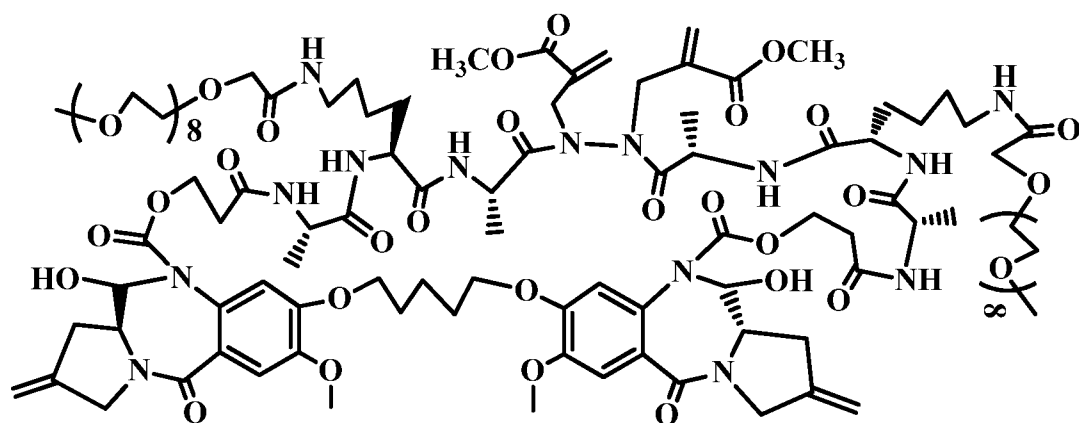


(V-

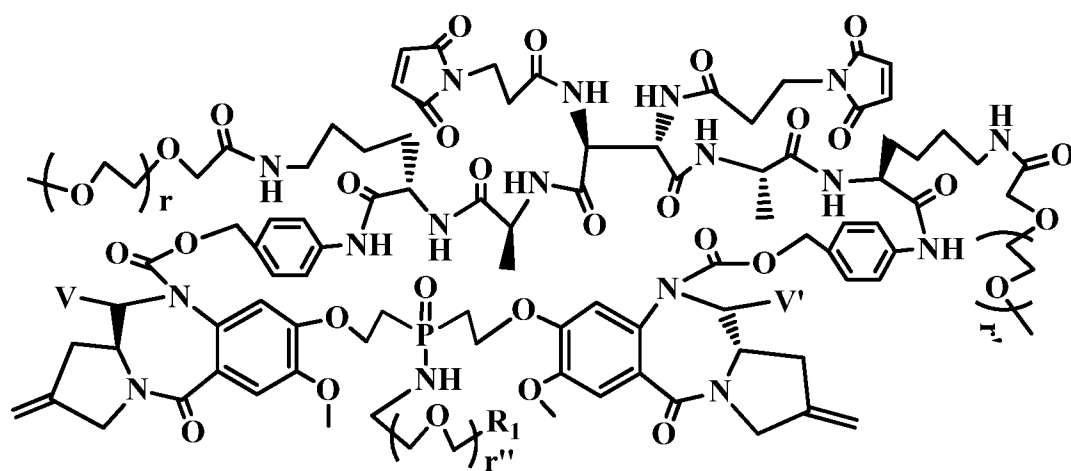
05),



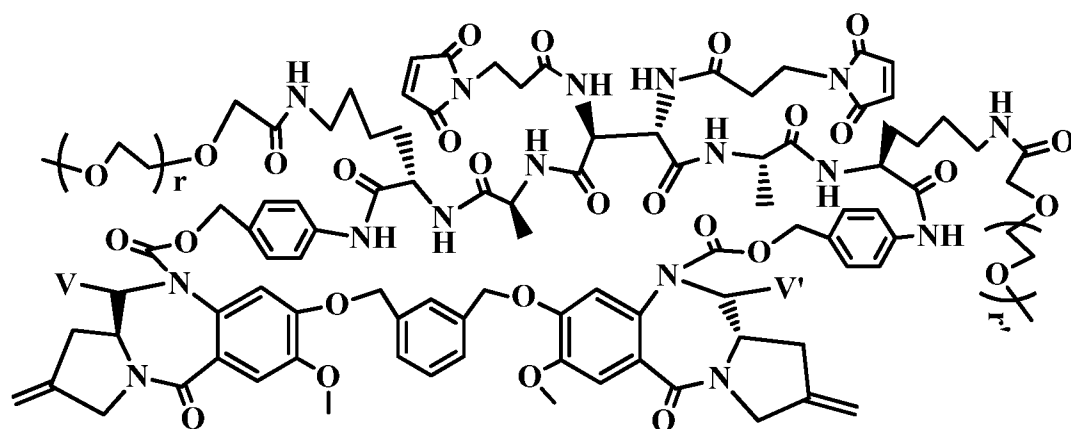
(V-06),



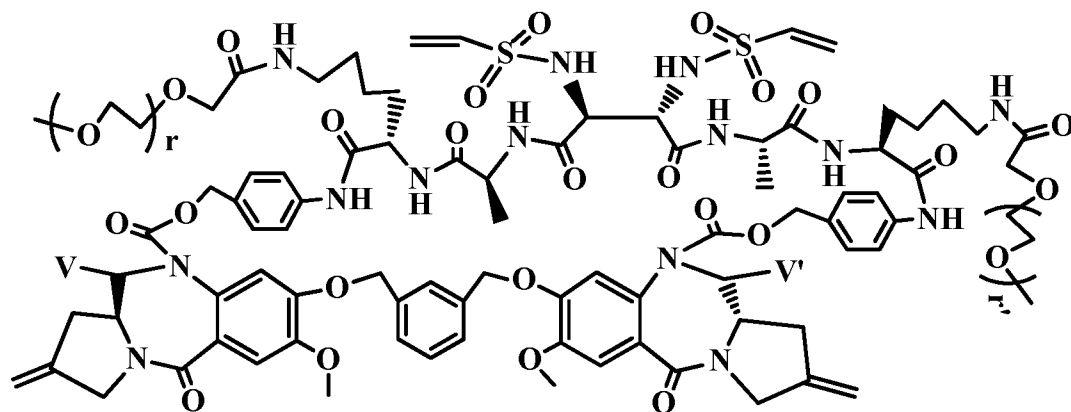
(V-07),



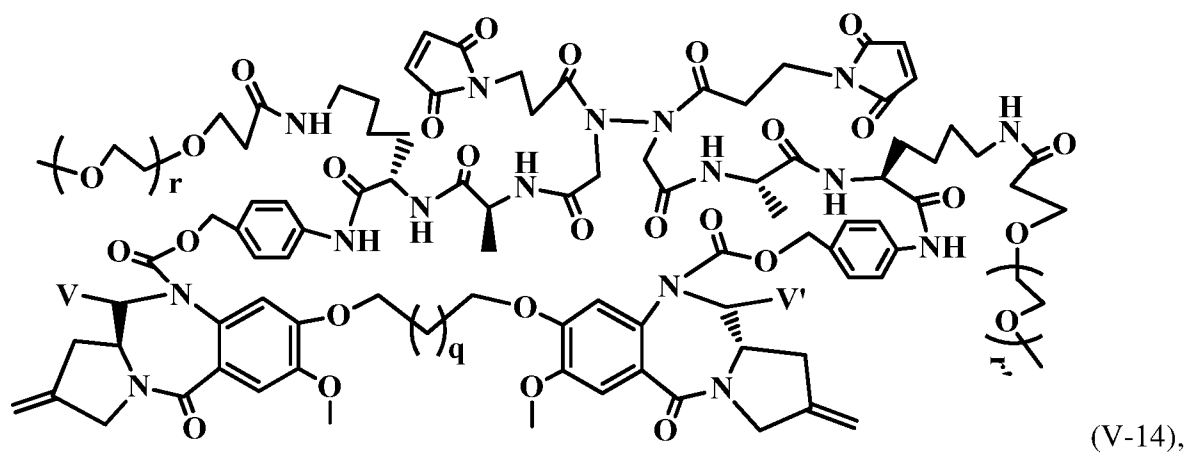
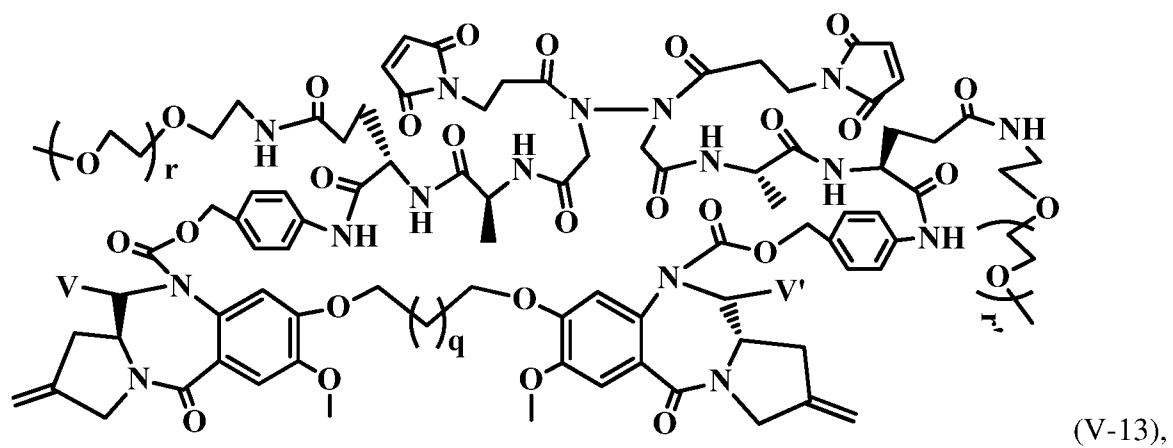
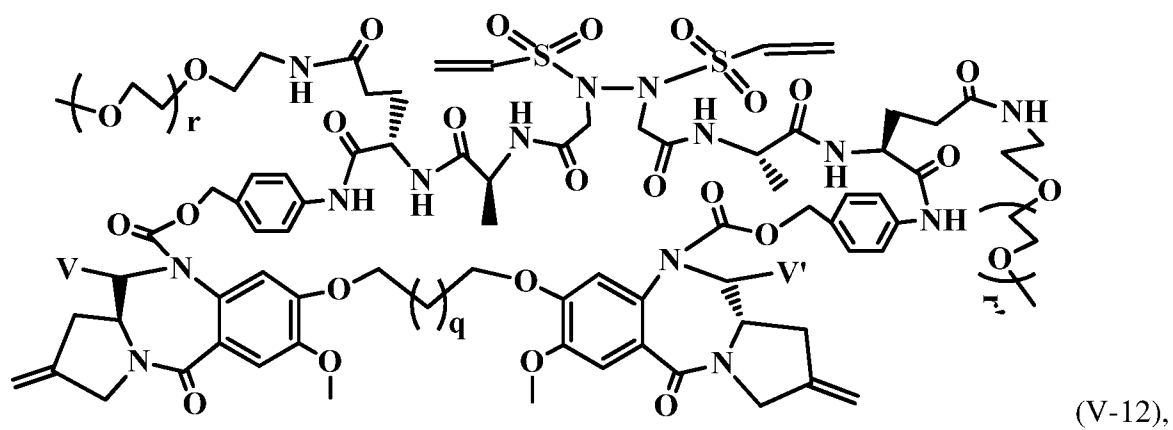
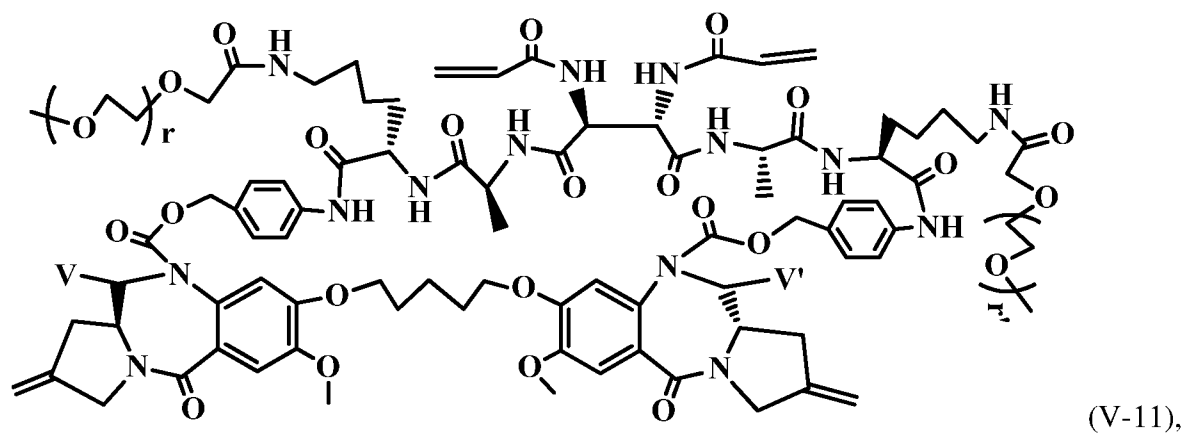
(V-08),

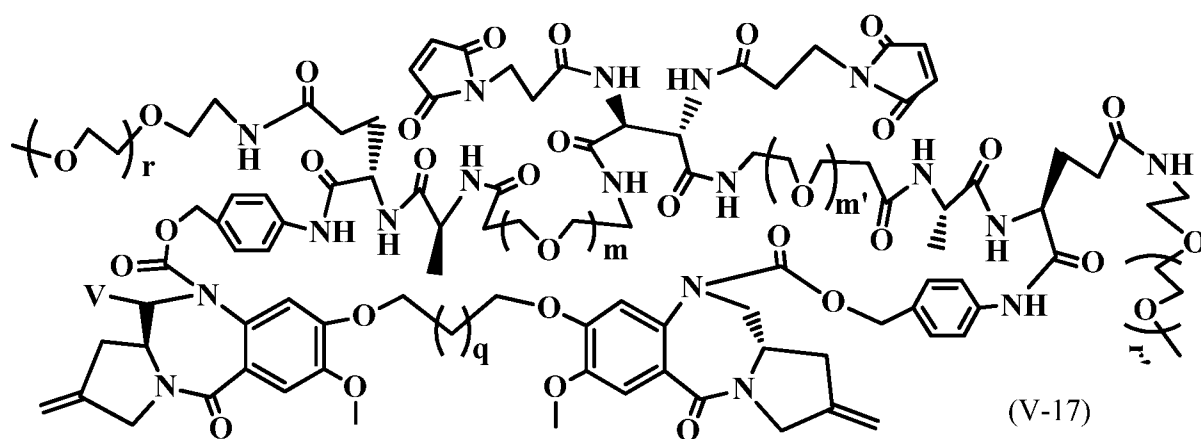
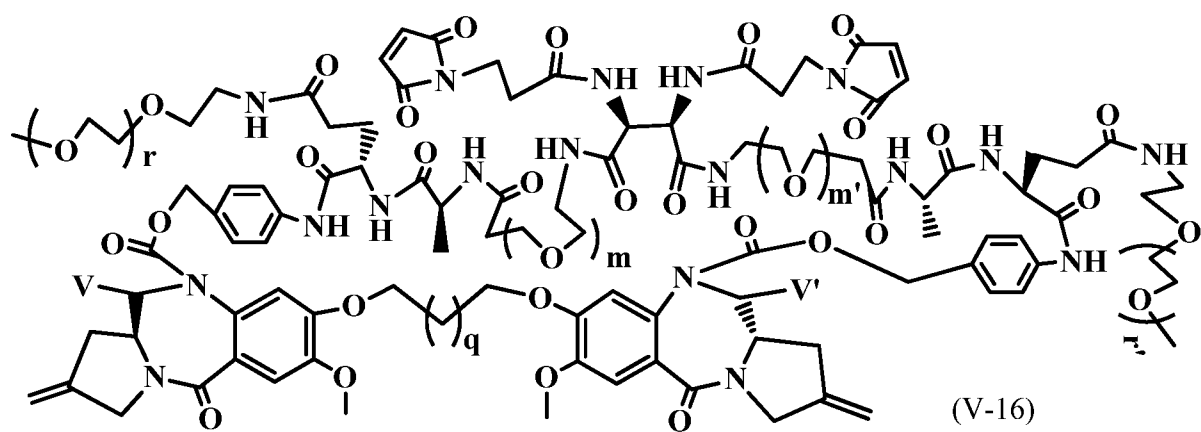
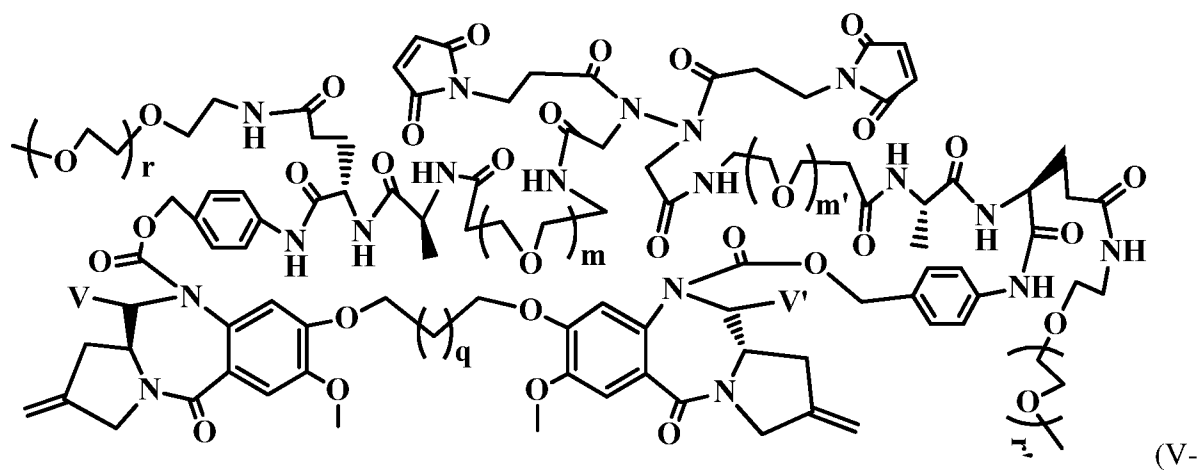


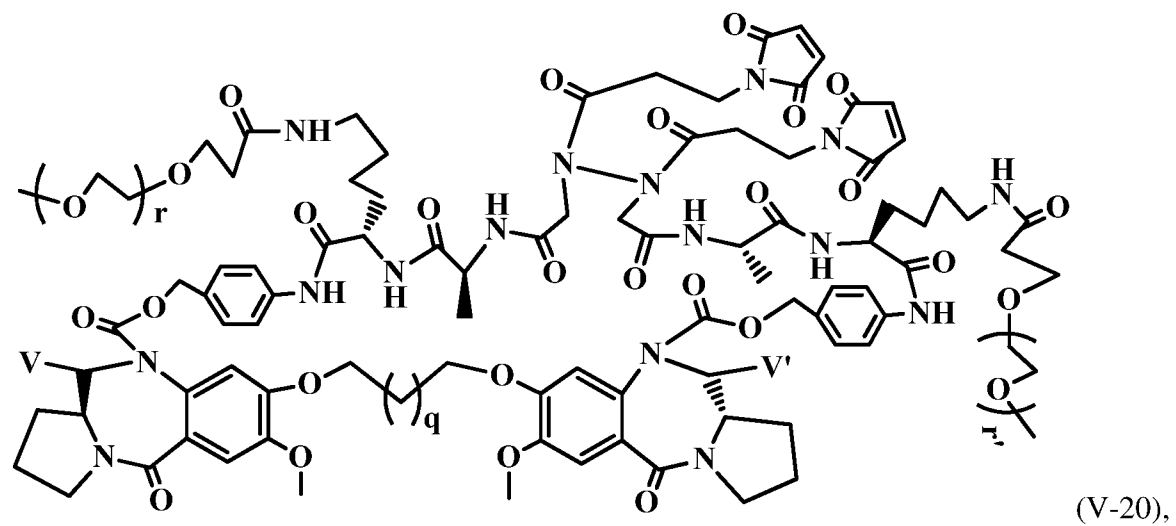
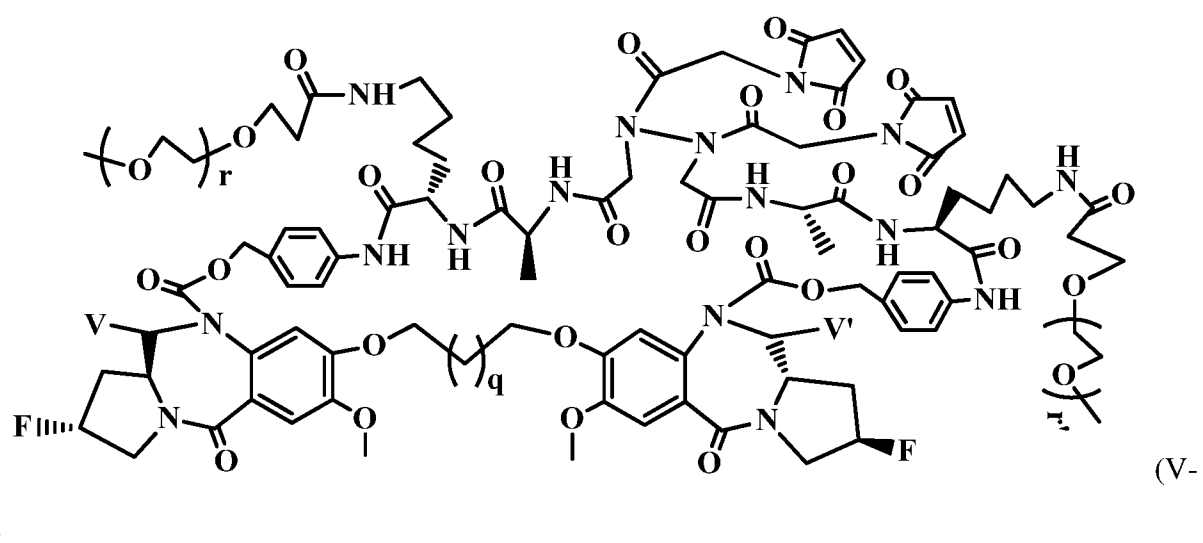
(V-09),

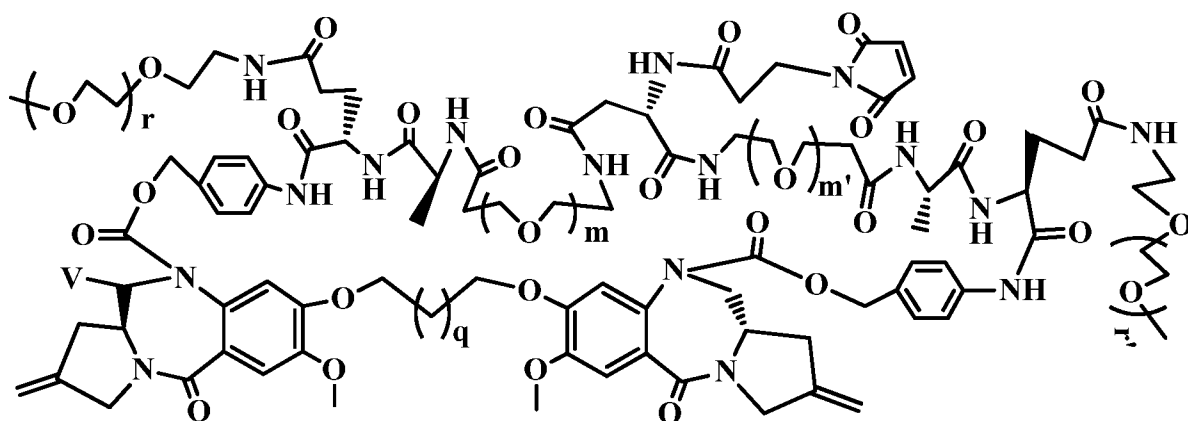


(V-10),

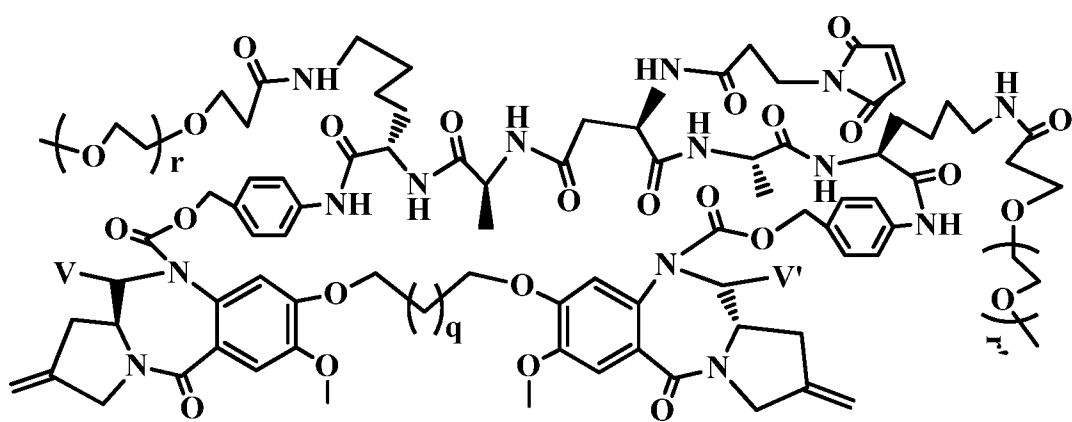




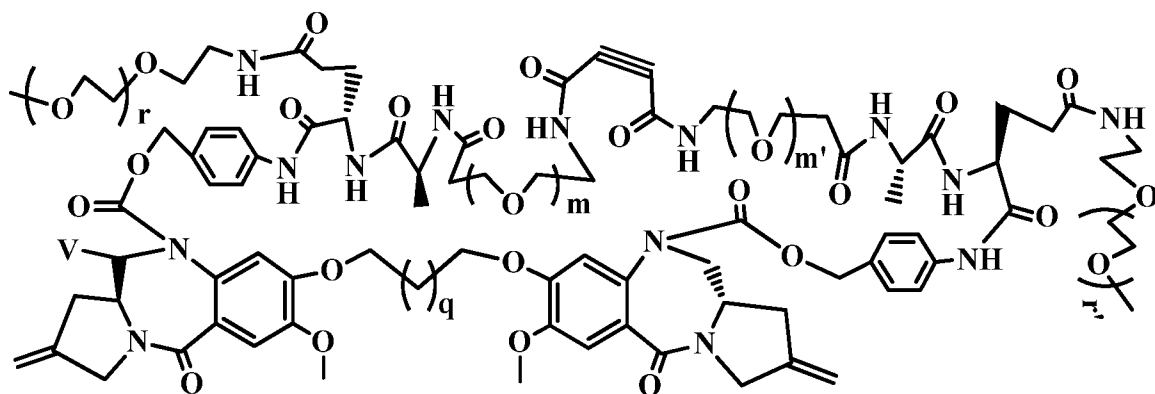




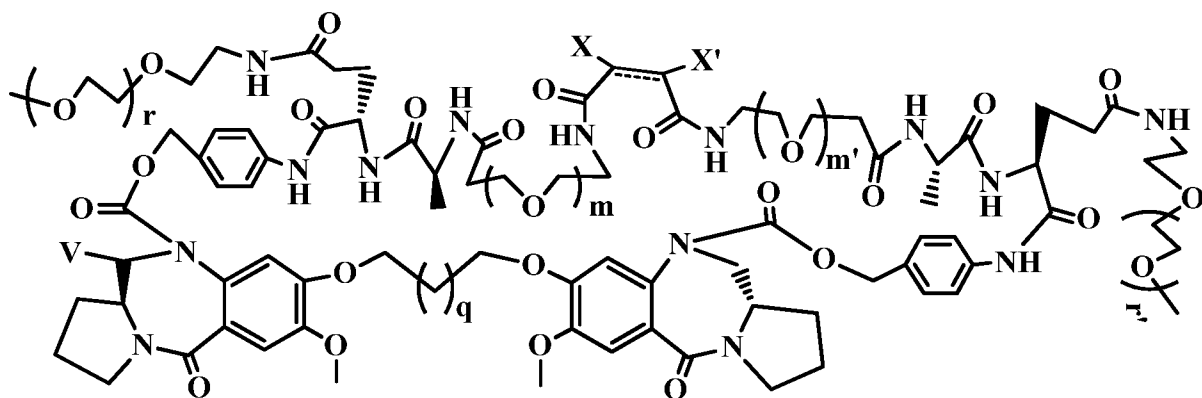
(VI-01),



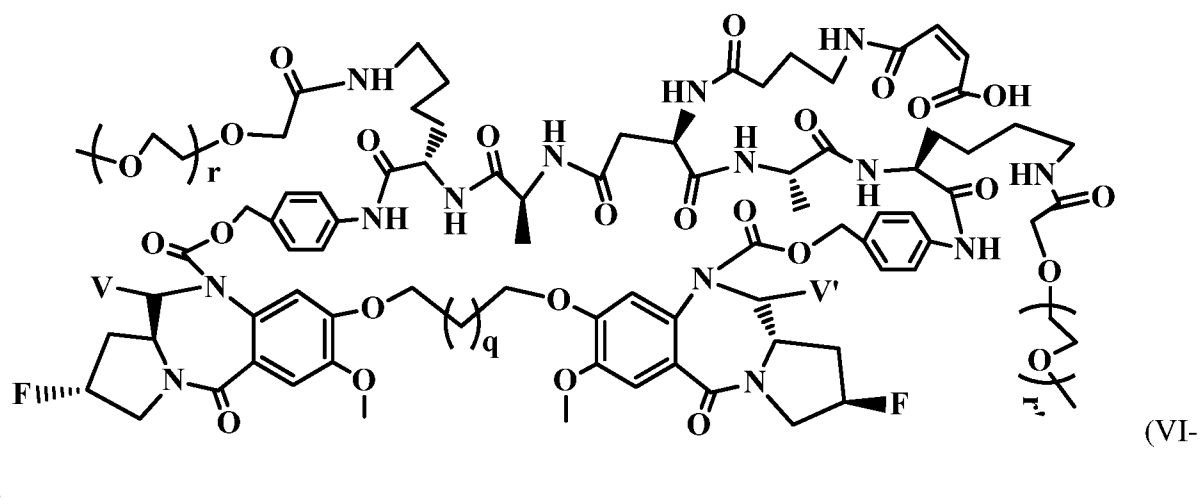
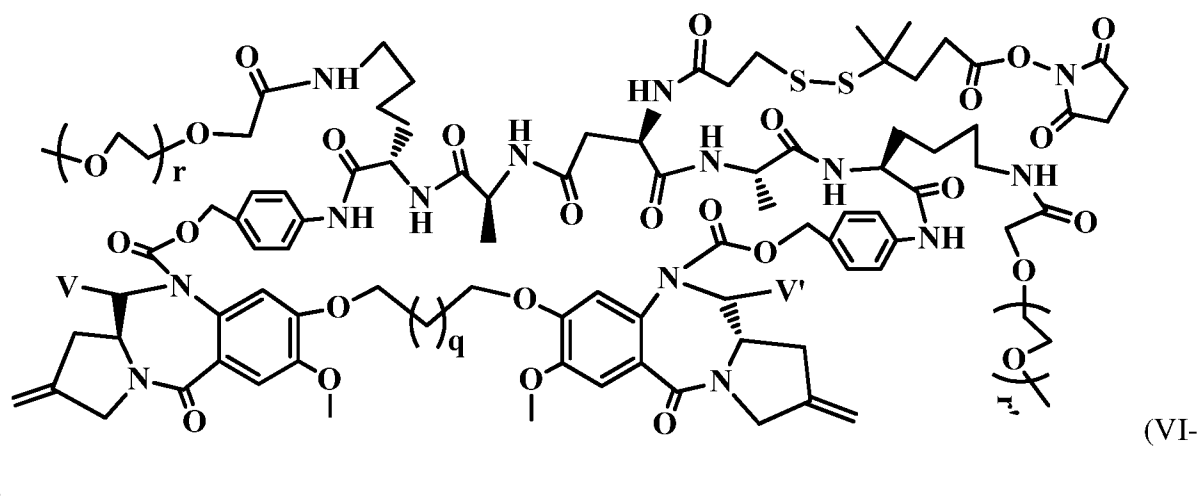
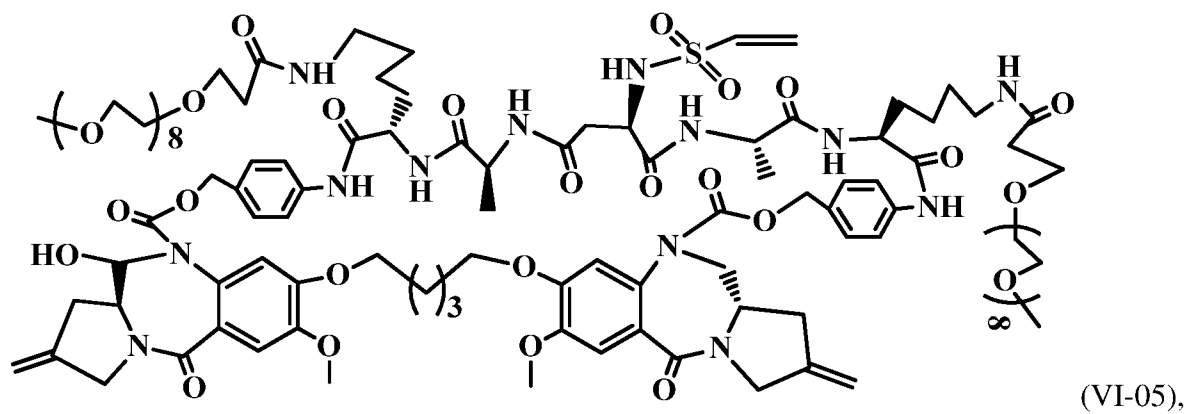
(VI-02),

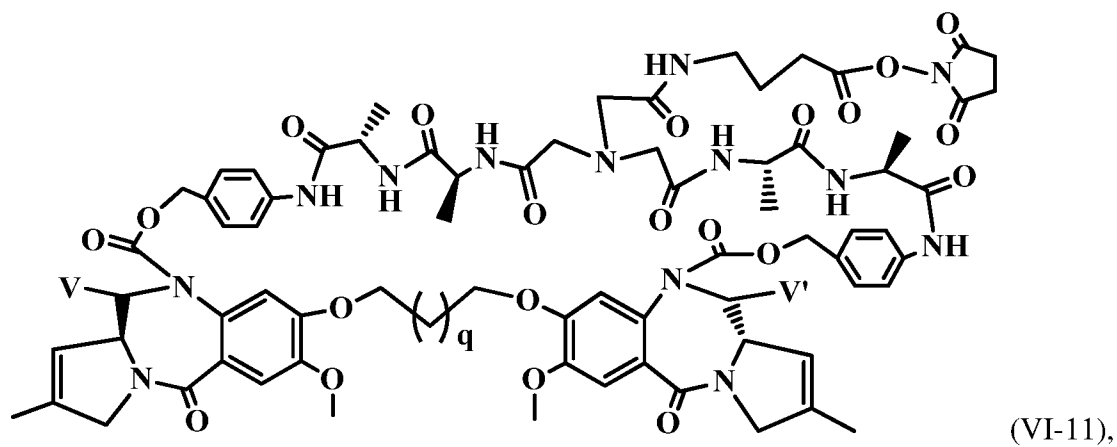
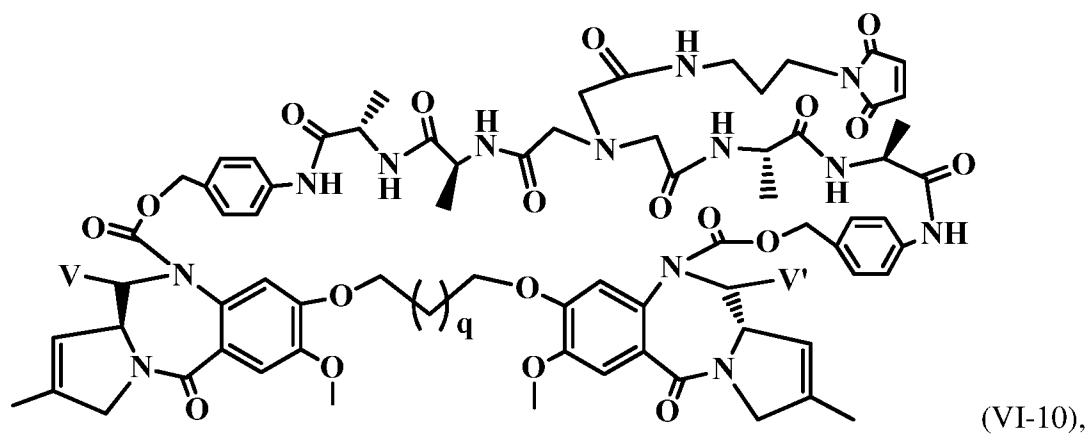
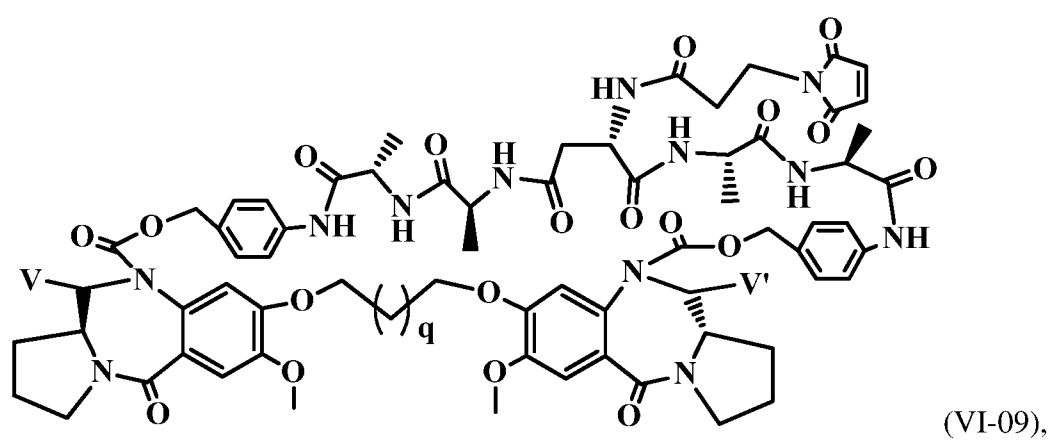
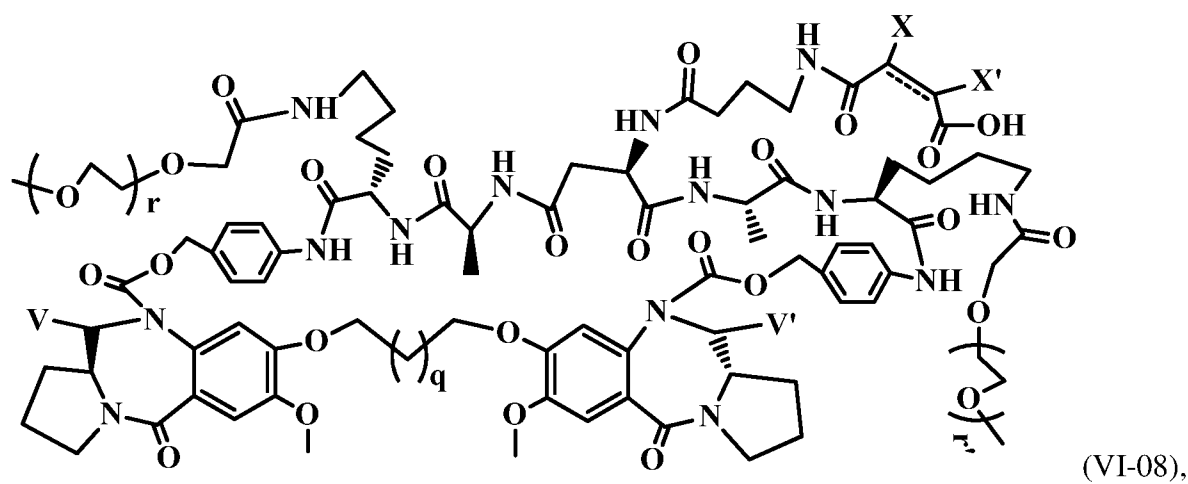


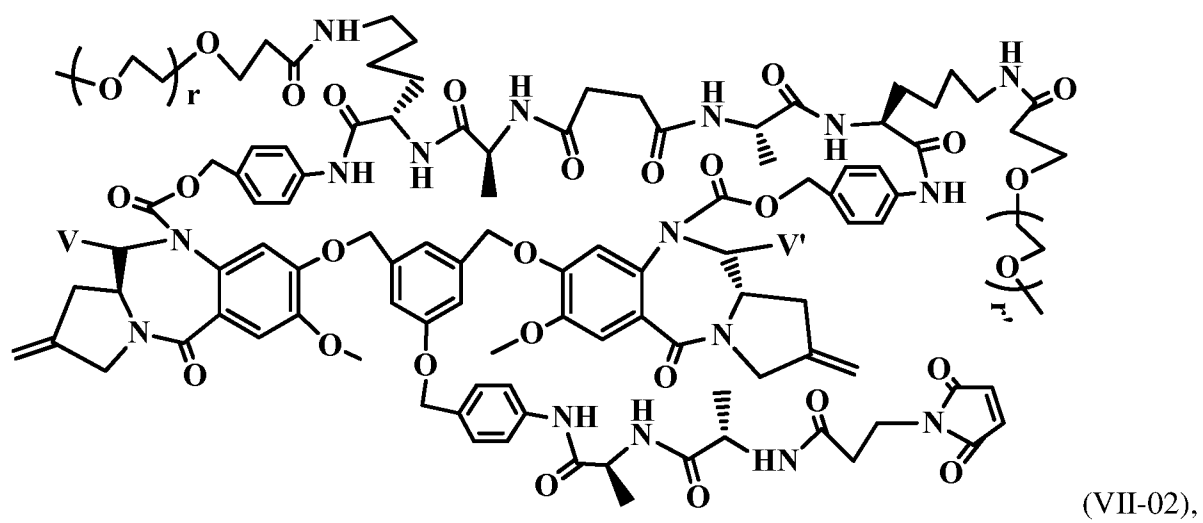
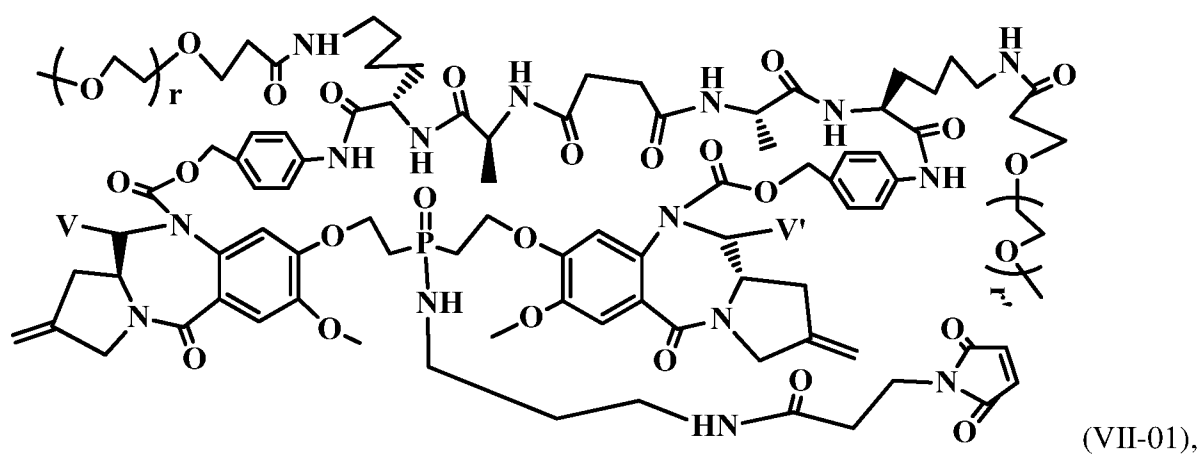
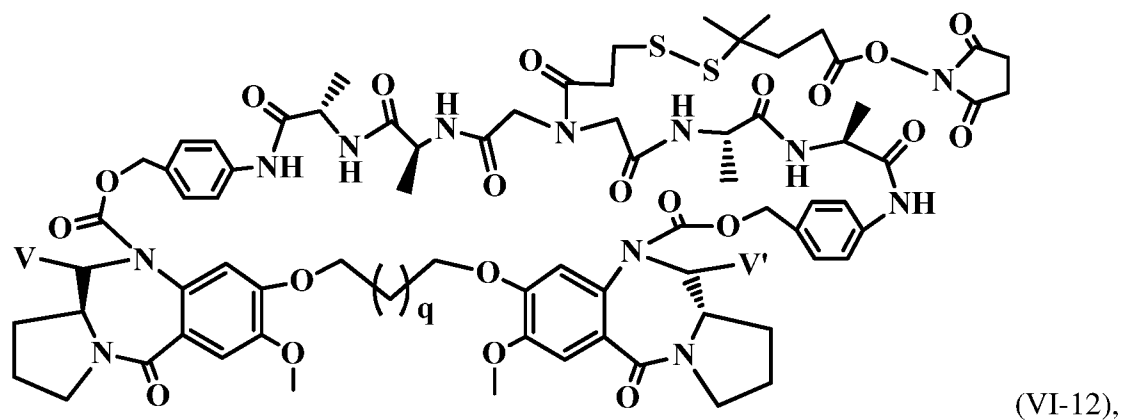
(VI-03),

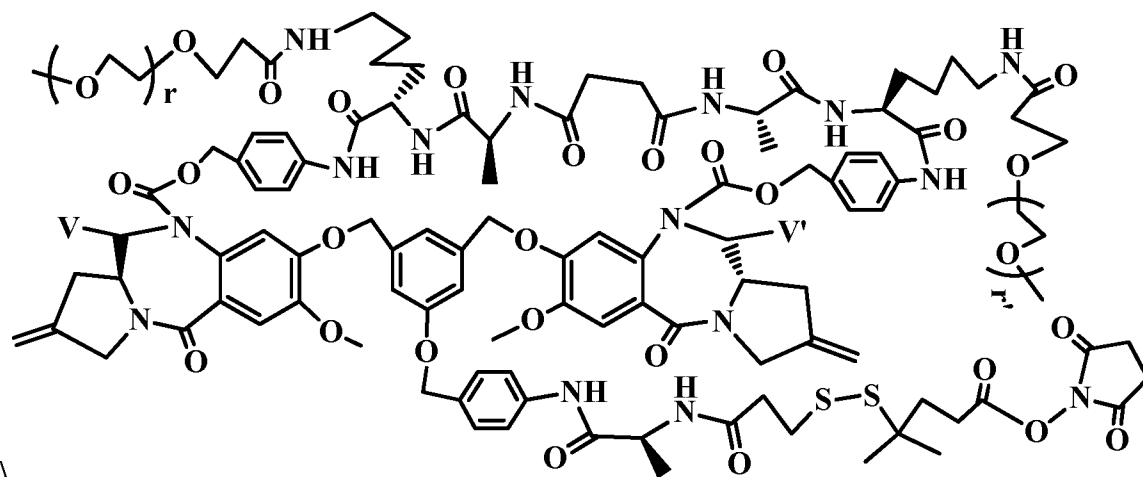


(VI-04),

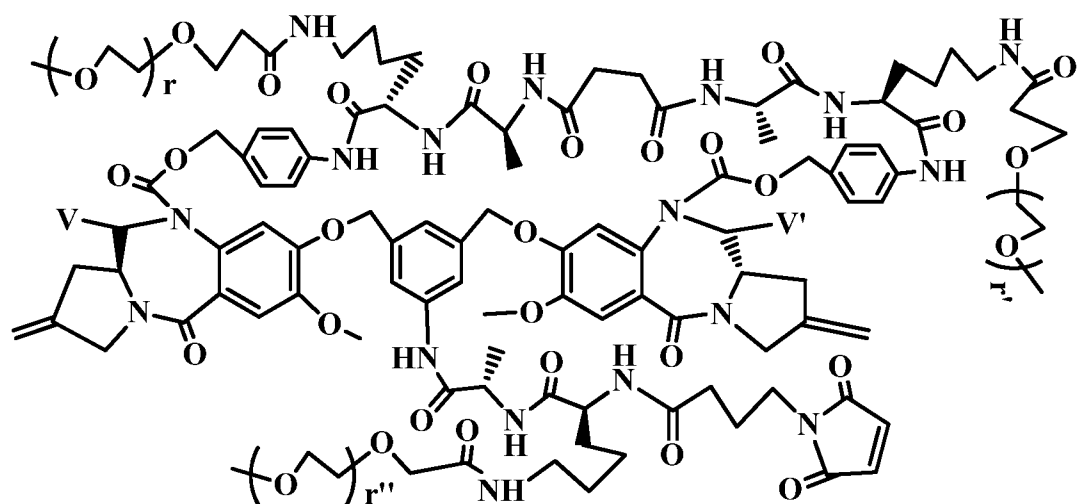




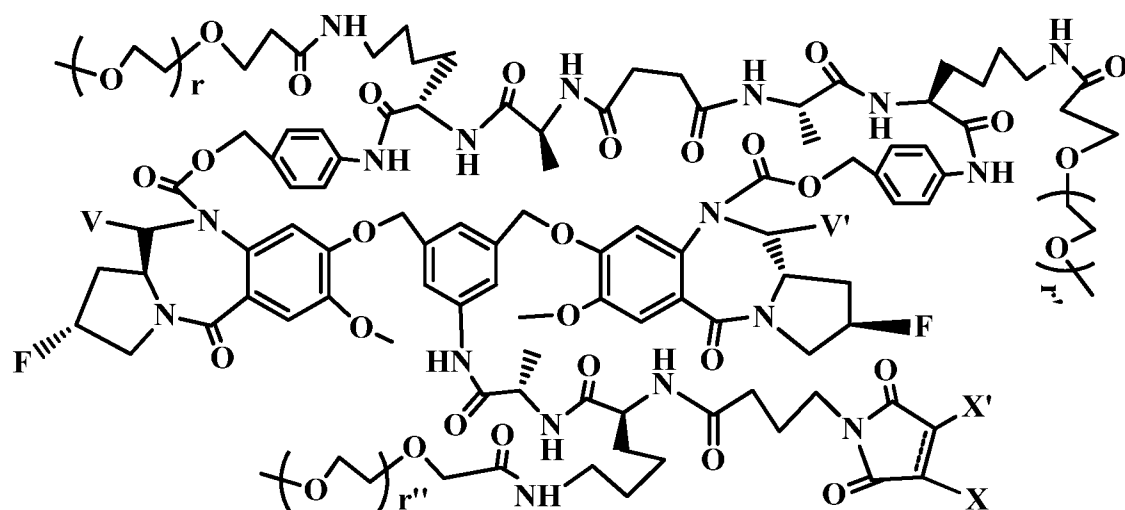




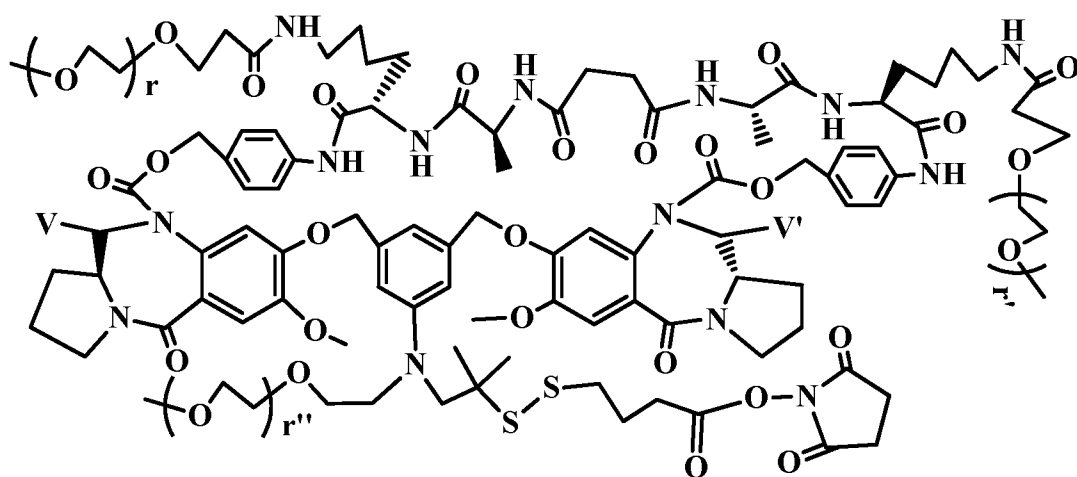
(VII-03)



(VII-04),

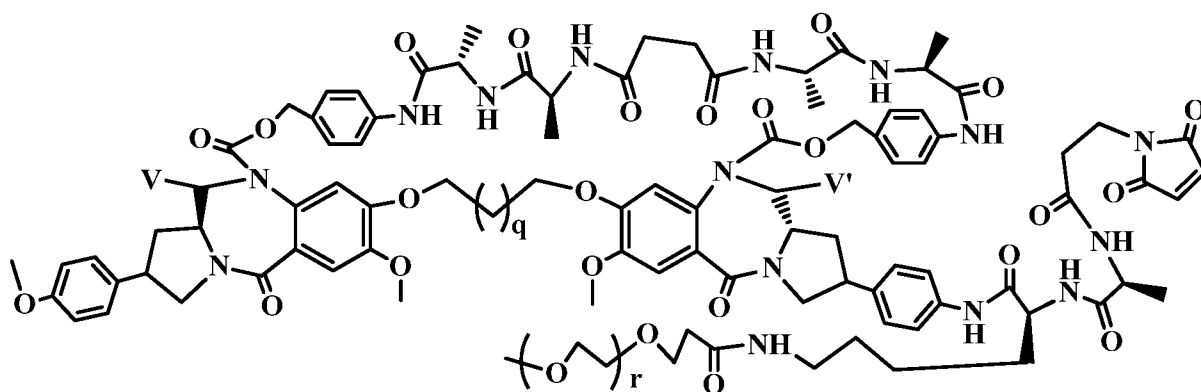


(VII-05),

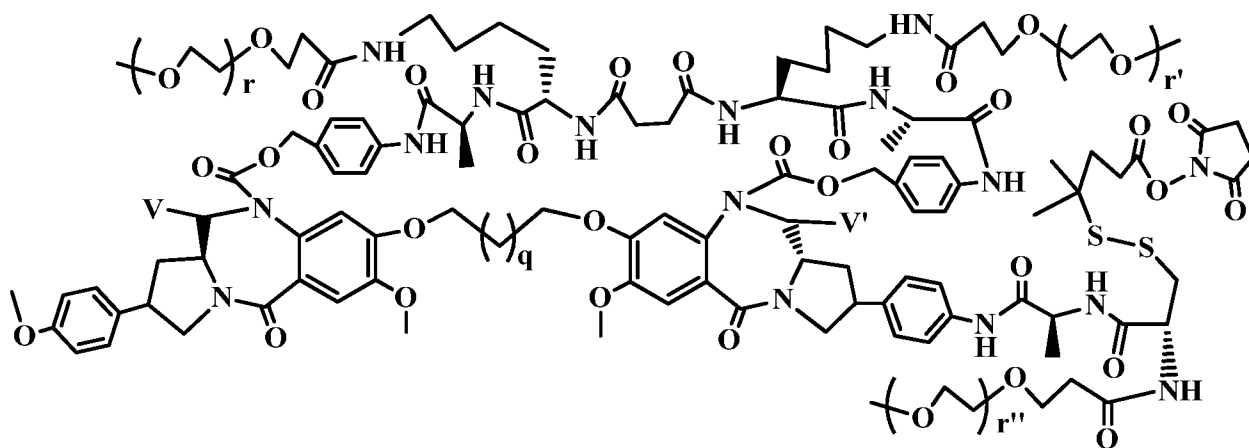


(VII-

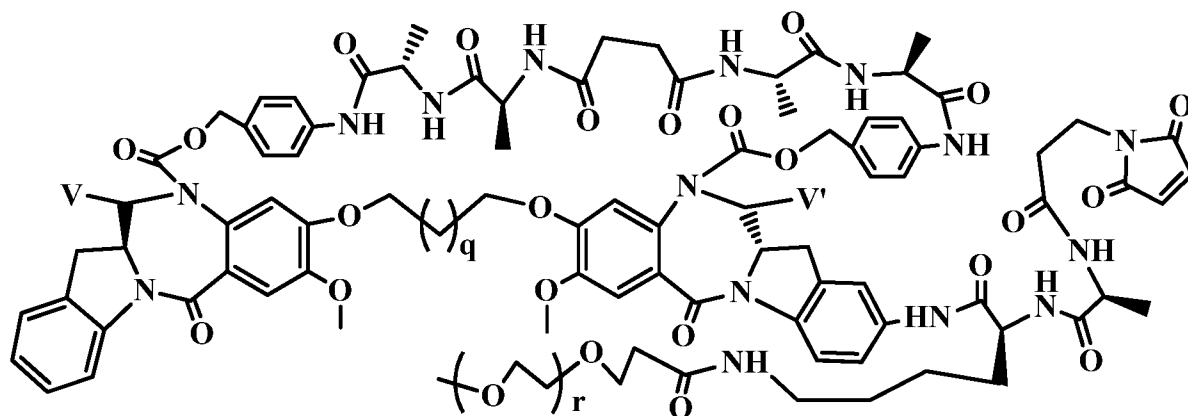
06),



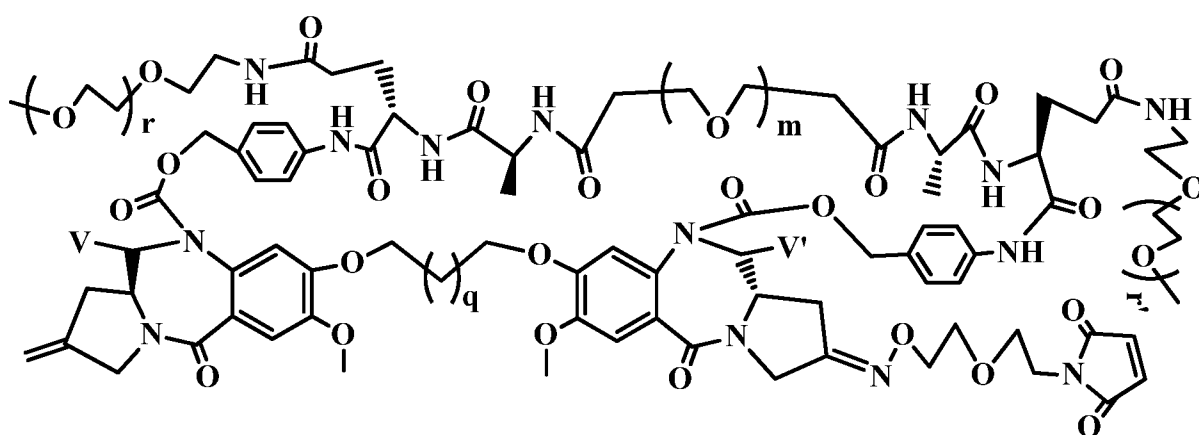
(VIII-01),



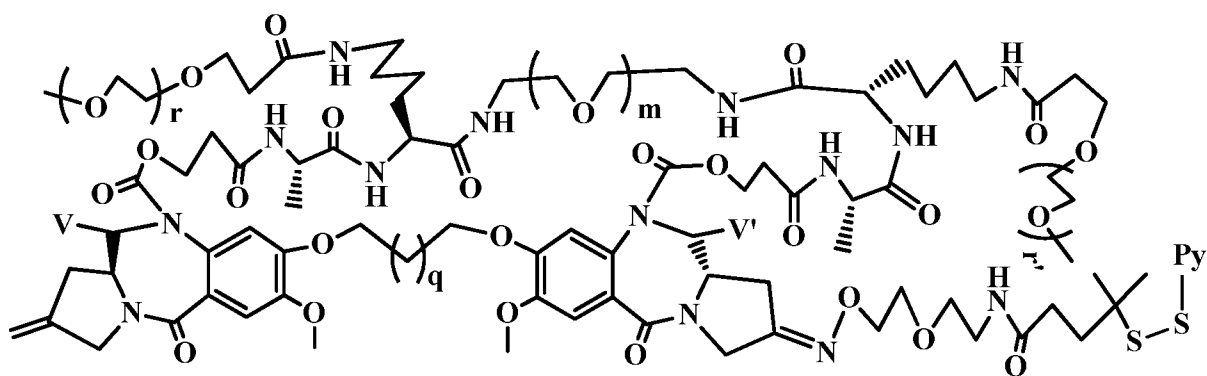
(VIII-02),



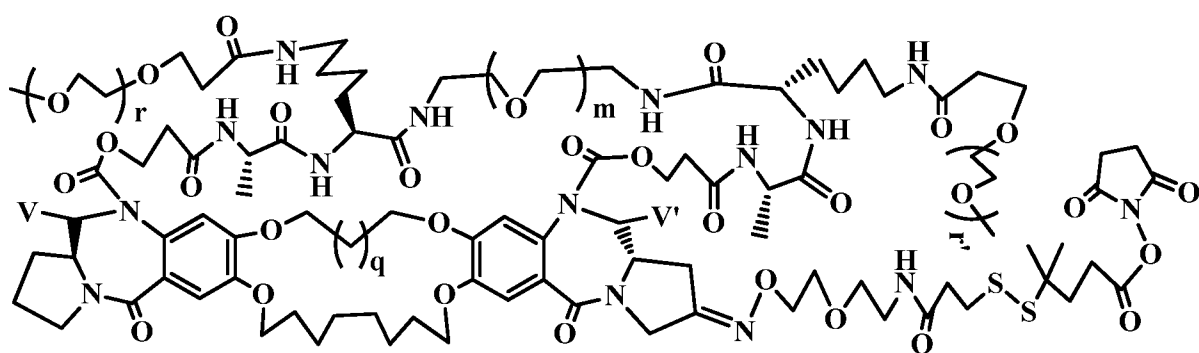
(VIII-03),



(VIII-04),



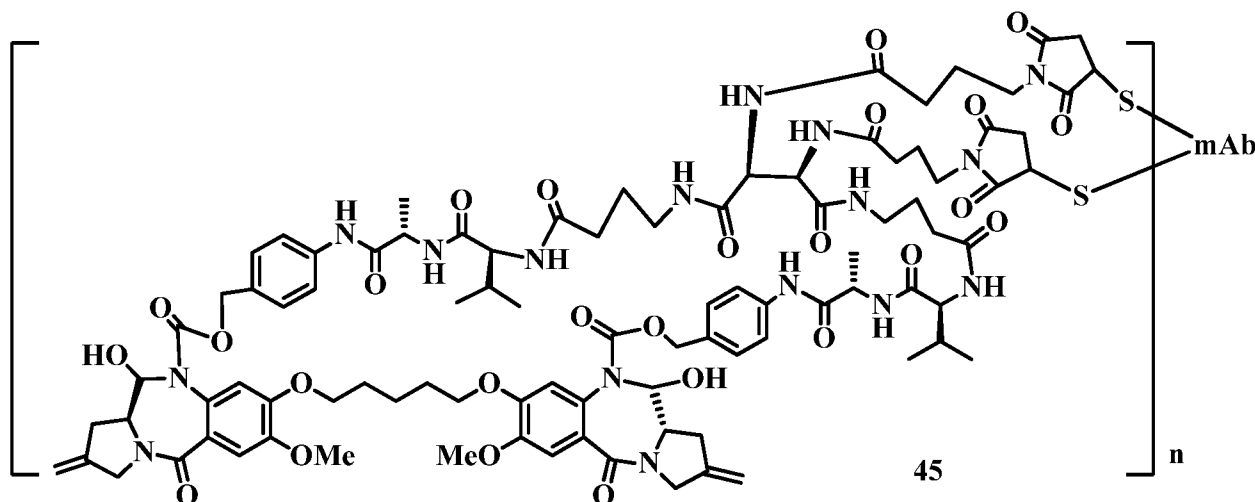
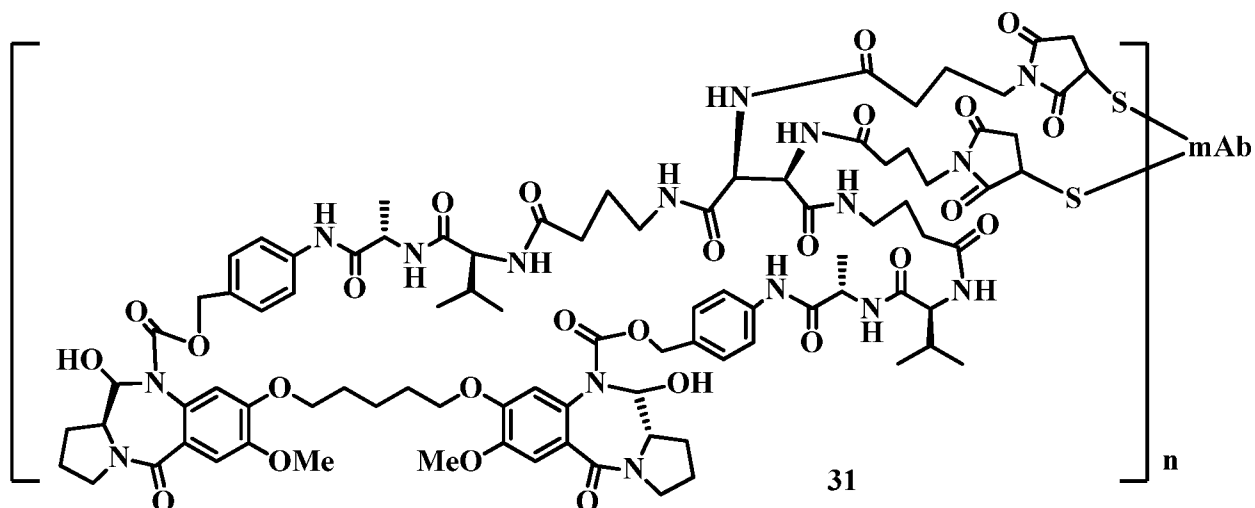
(VIII-05),

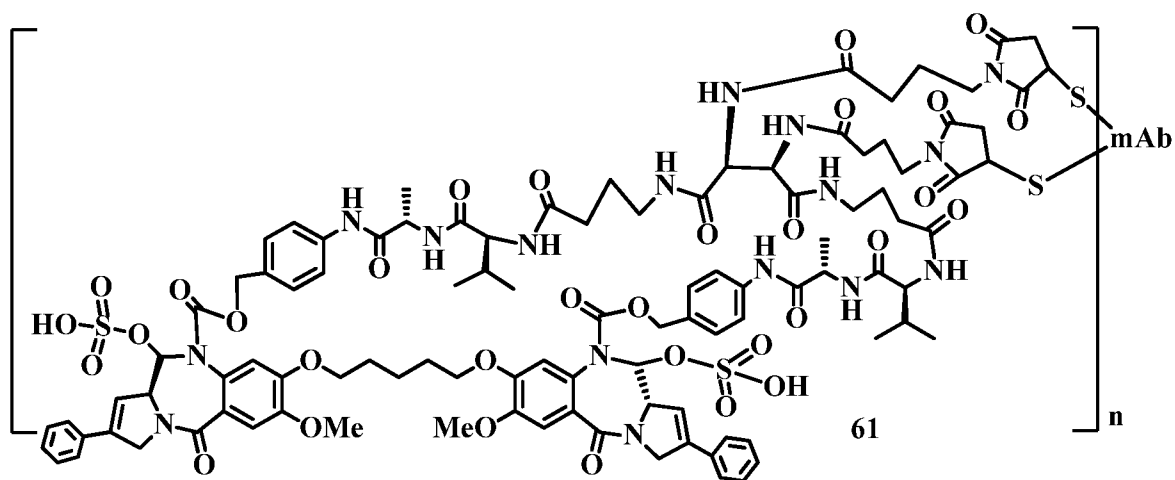
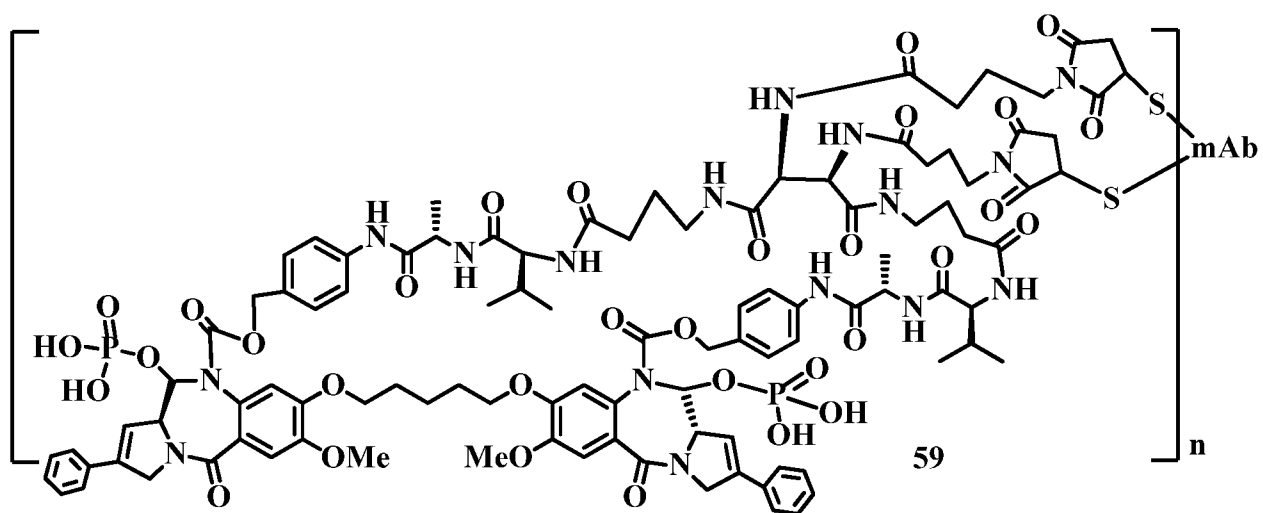


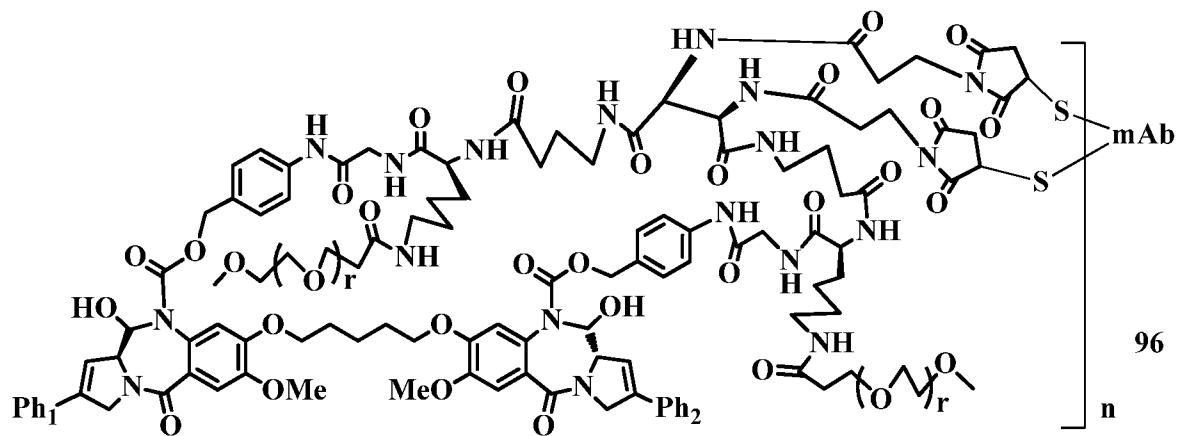
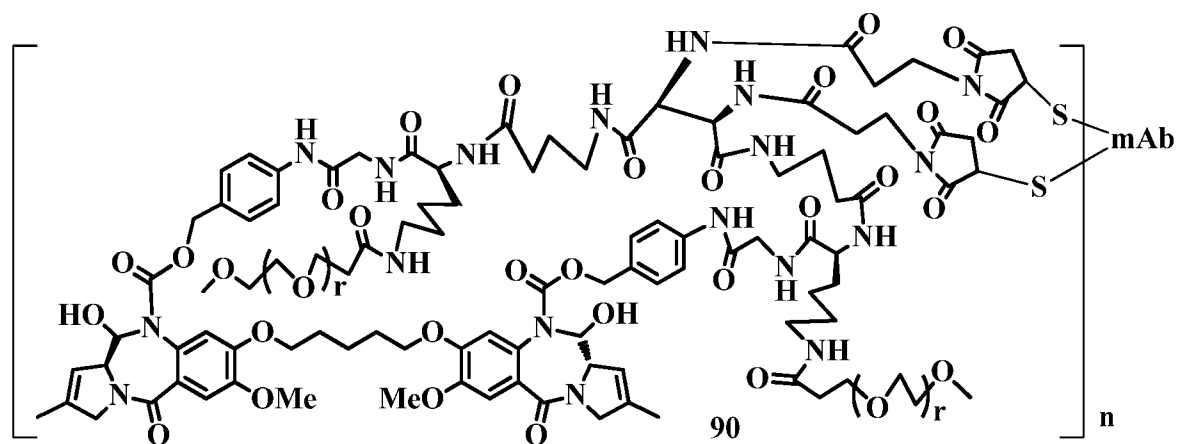
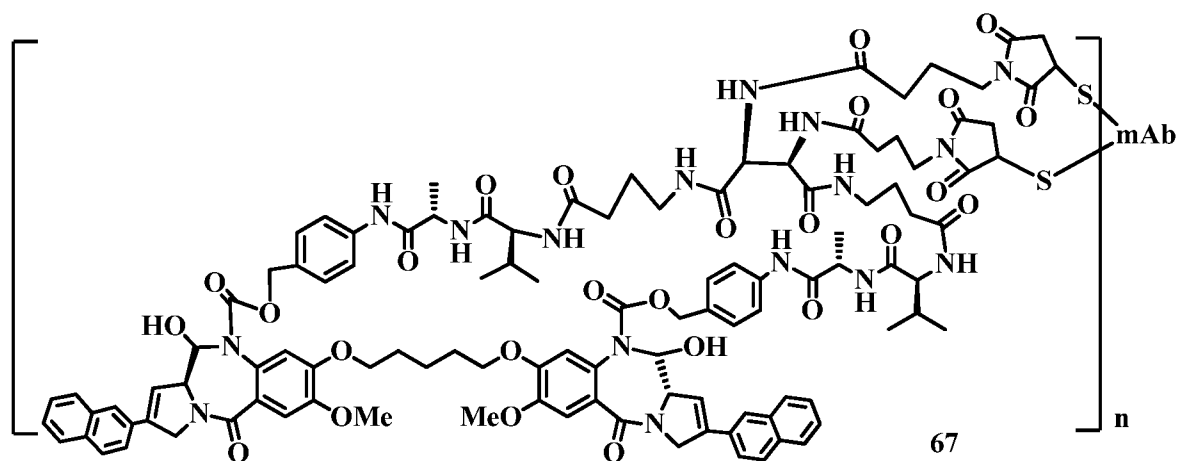
(VIII-06)

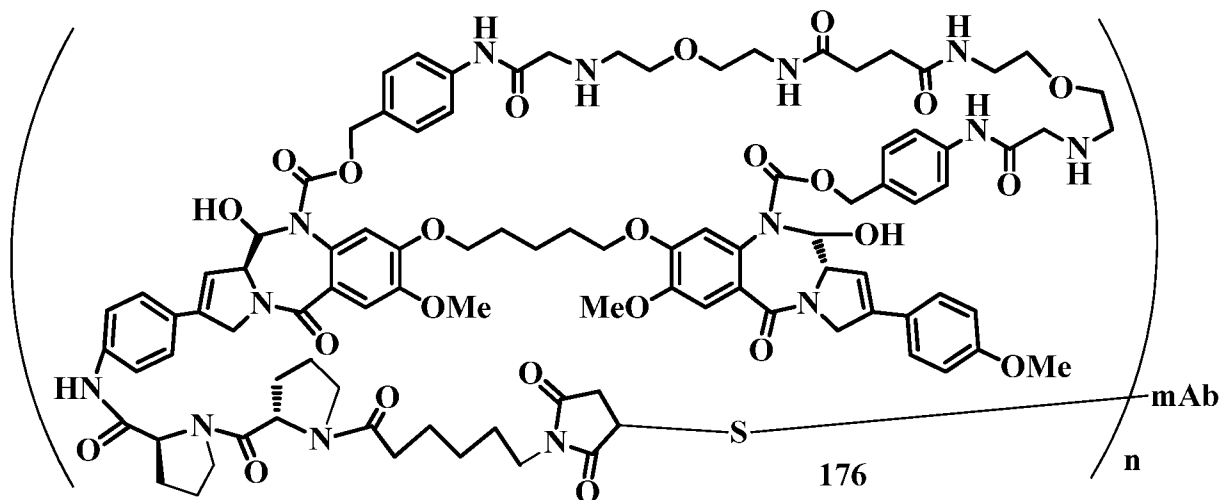
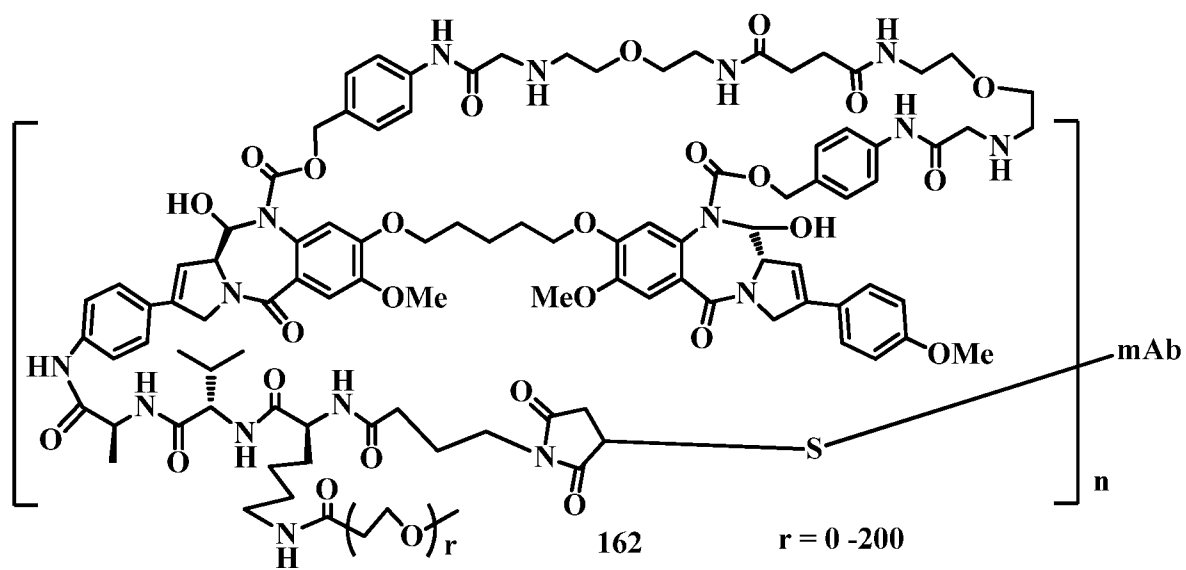
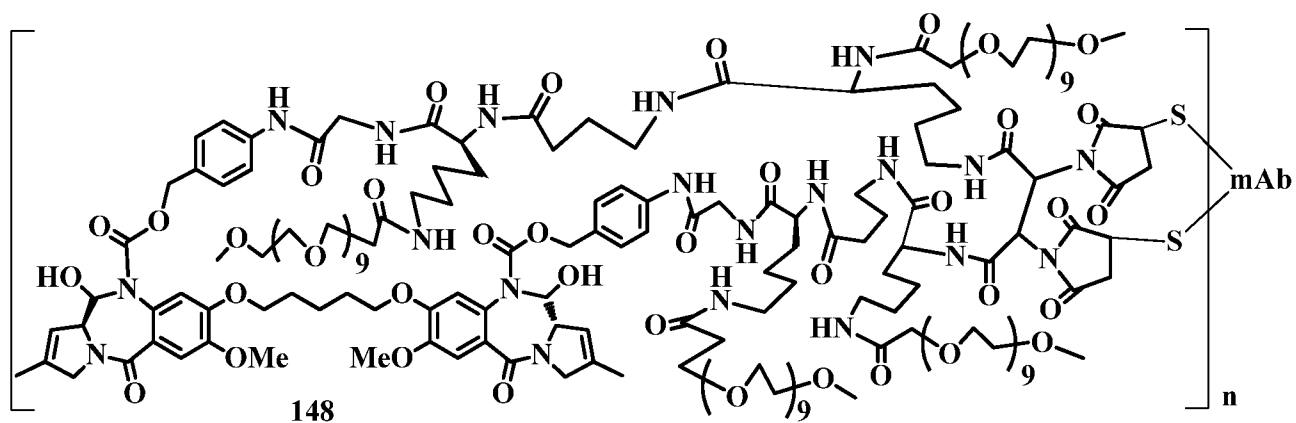
где U, U', V, V', n, n', X, X' и L определены так же, как в п. 1; R₆ и R₆' независимо выбраны из C₁~C₆ алкила, арила, цикла, гетероцикла, галогена, галогеналкила, алкокси, галогеналкокси, алкиламино, -NO₂, -CN или H; r, r₁, r₂ и r' независимо равны 0~200.

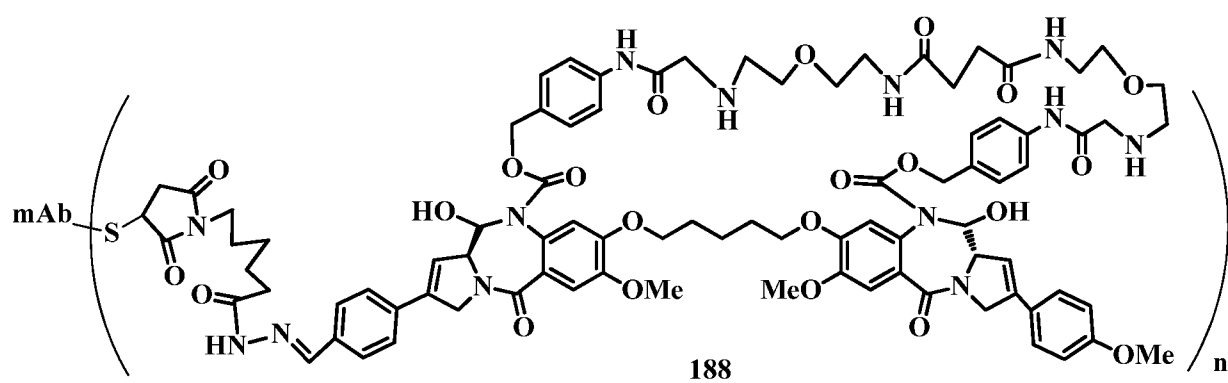
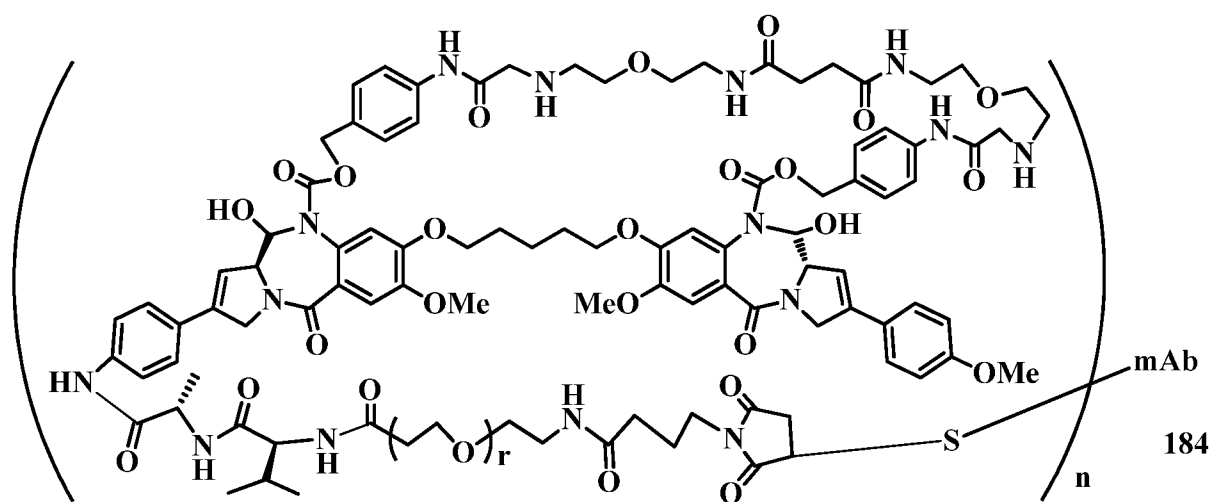
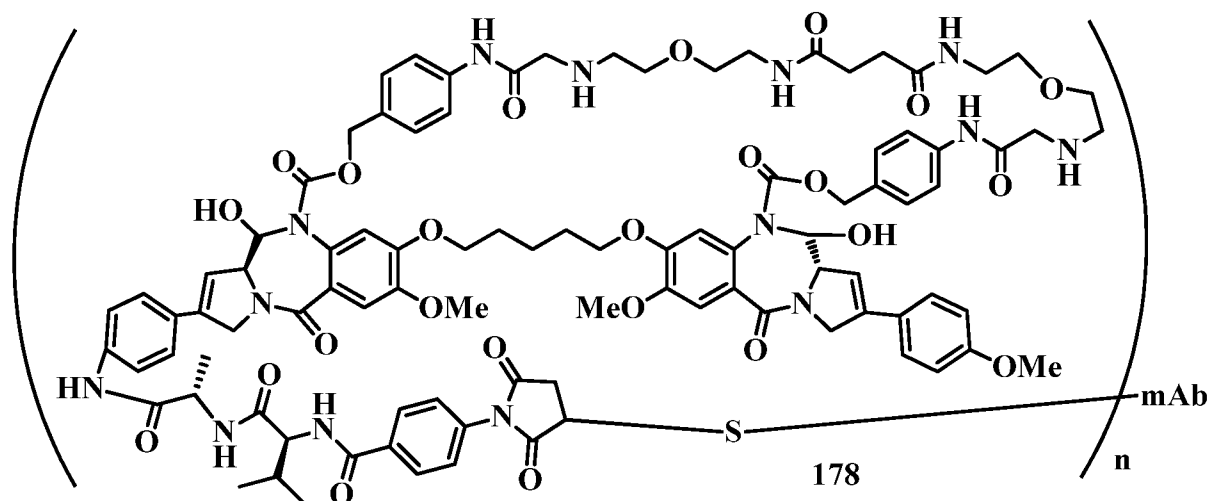
8. Конъюгат сшитого производного димера PBD с молекулой, связывающейся с клетками, по п. 1, имеющий Формулы 31, 45, 57, 59, 61, 67, 90, 96, 148, 162, 176, 178, 184, 188, 209, 214, 224, 232, 255, 268, 271, CC-3, CC-4, CC-5, CC-6, CC-7, CC-8, CC-10, CC-11, CC-12, CC-14, CC-15, CC-17, CC-18, CC-20, CC-21, CC-27, CC-29, приведенные ниже:

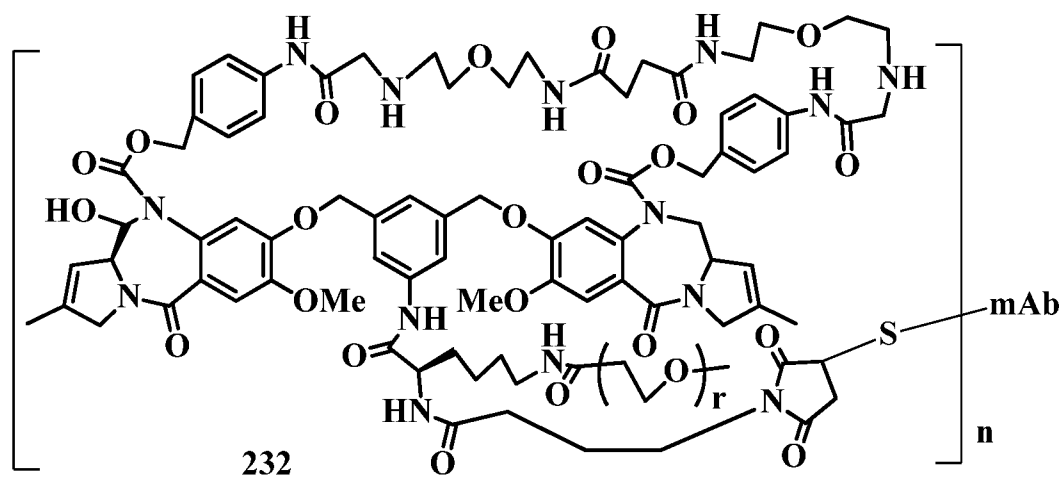
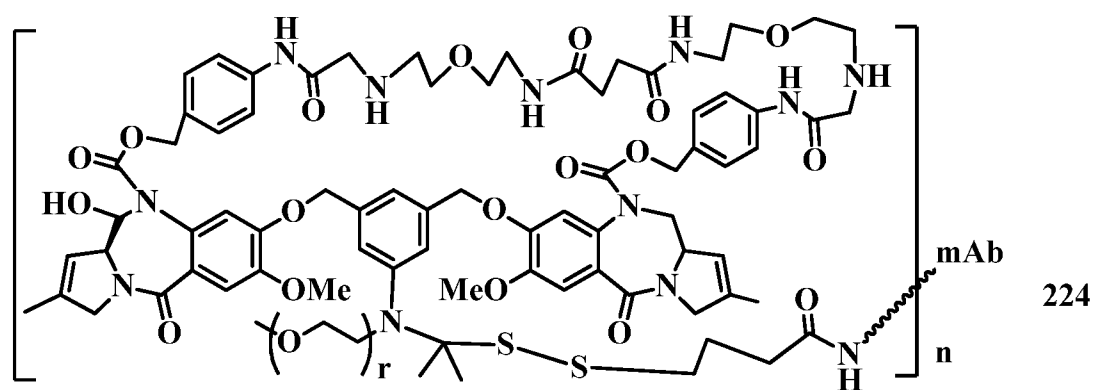
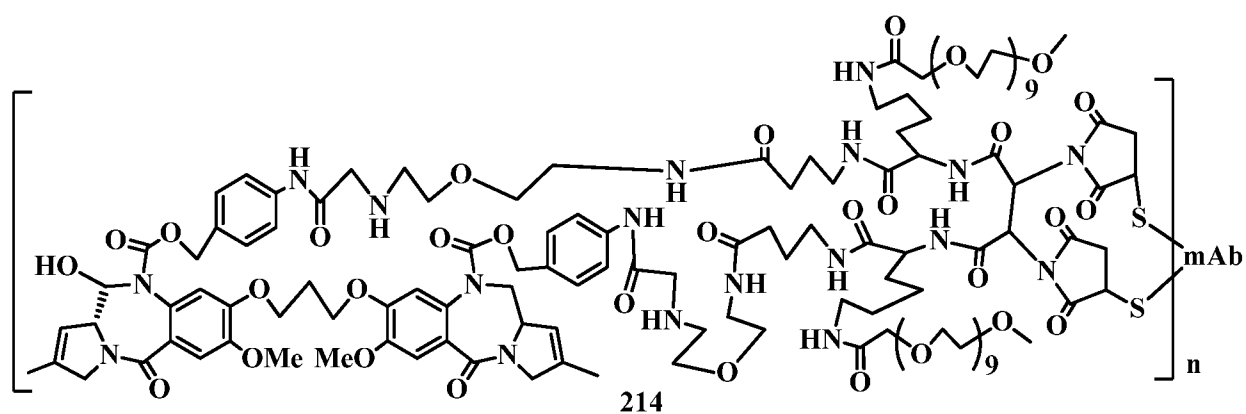


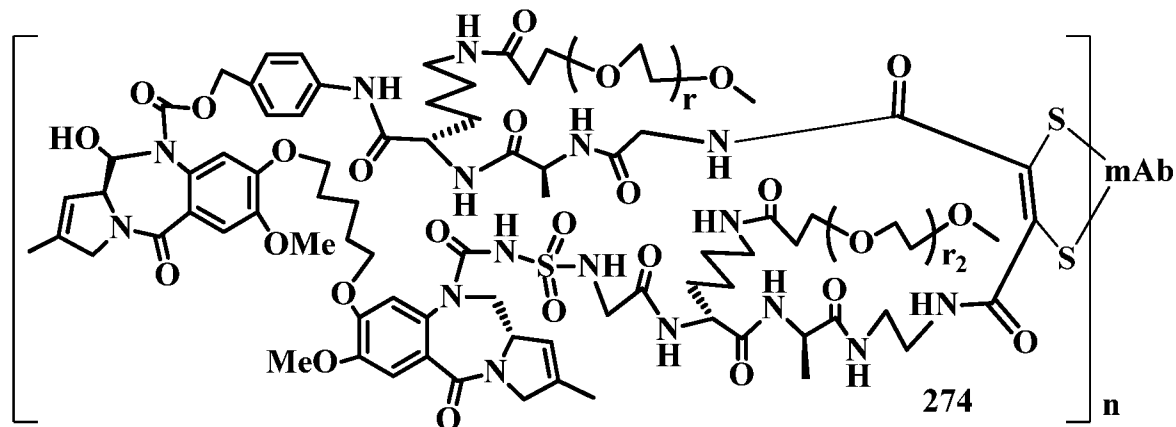
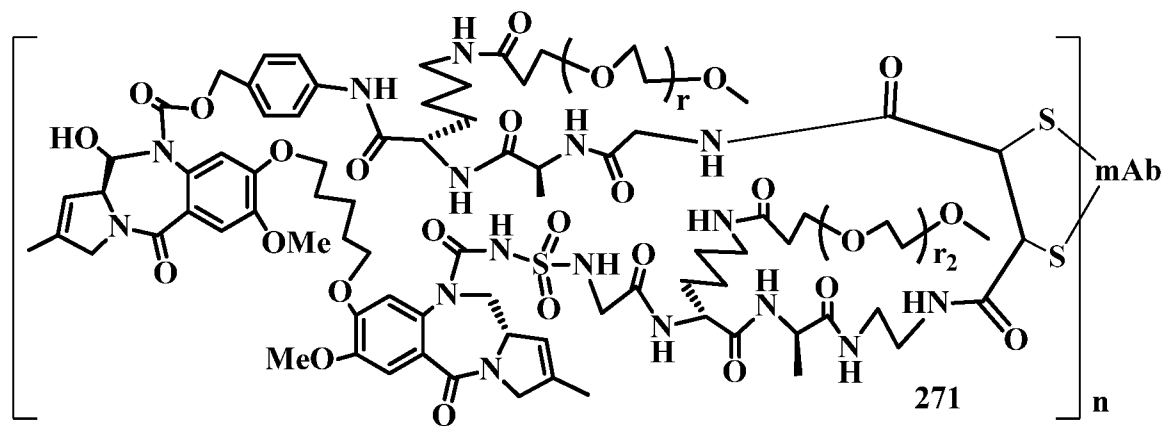
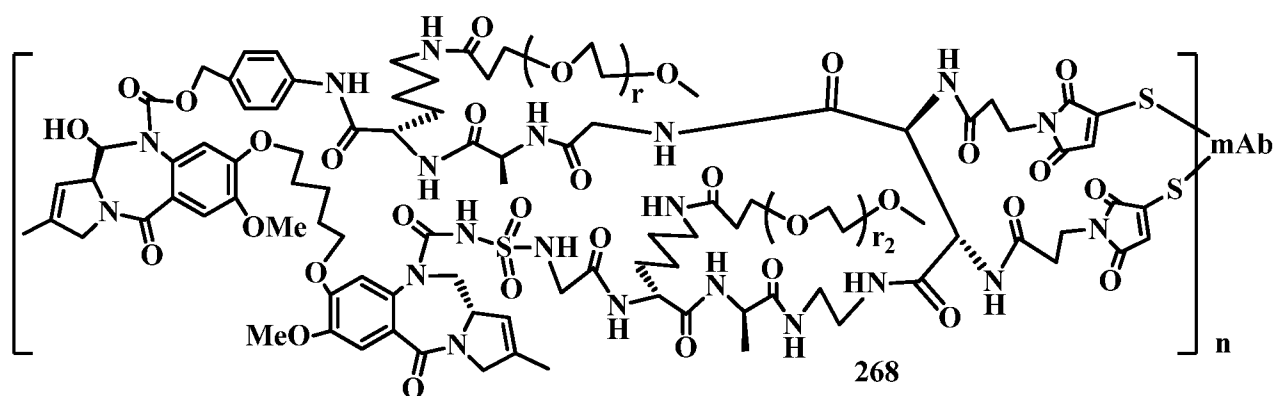
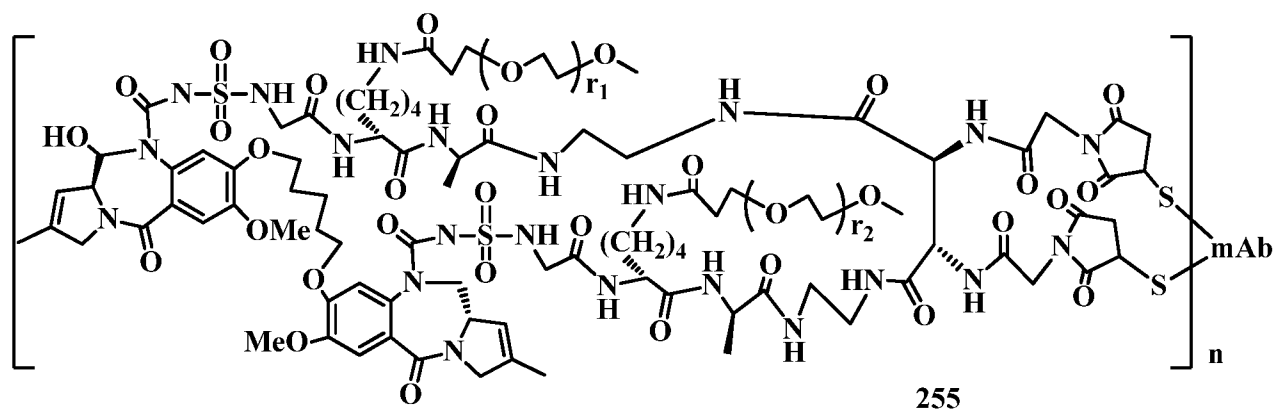


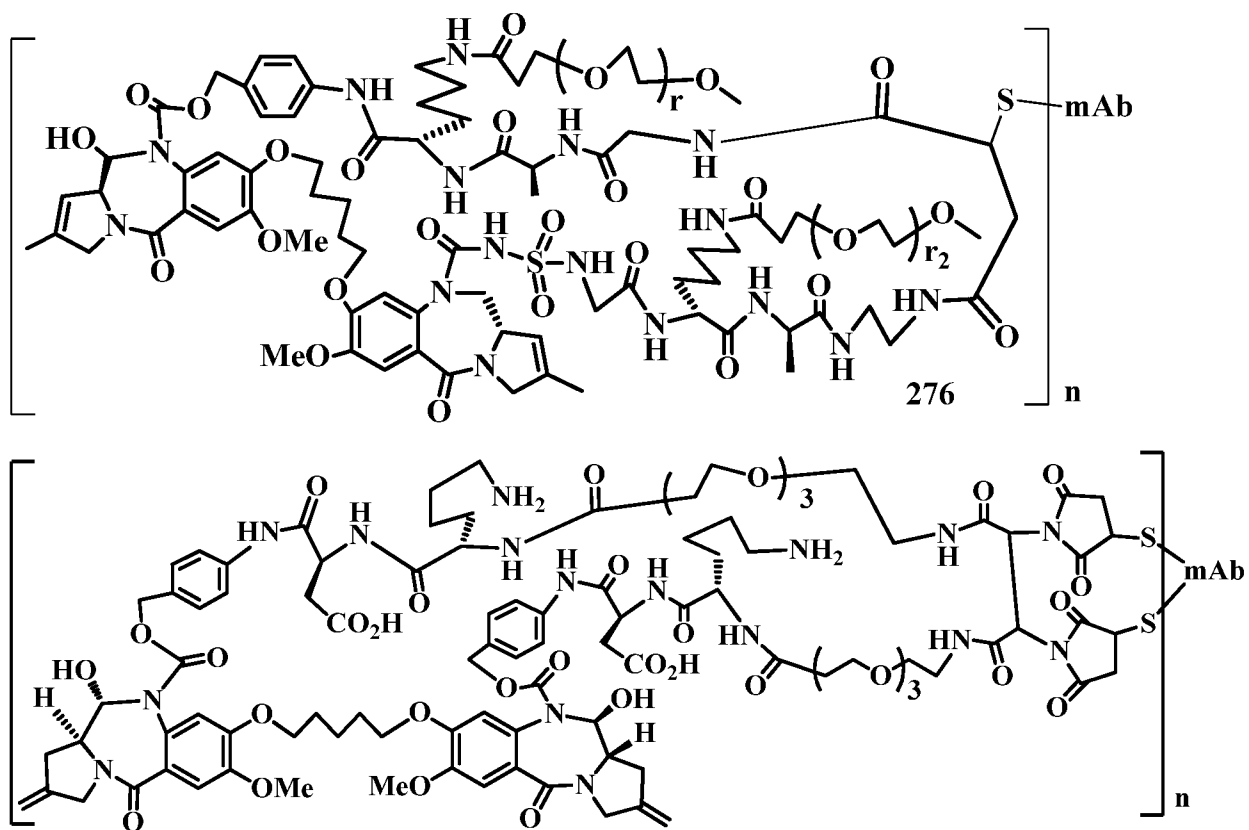




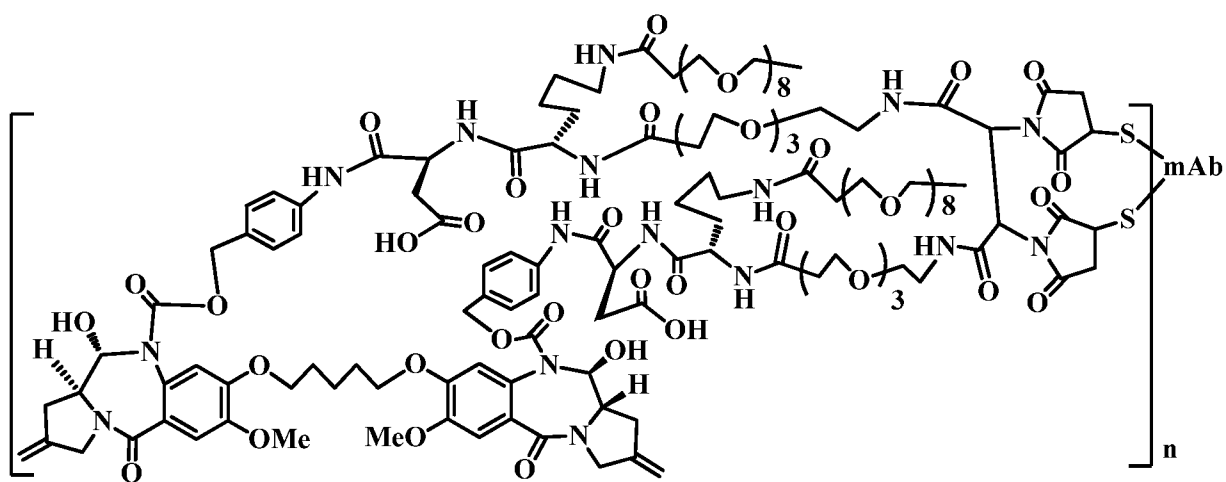




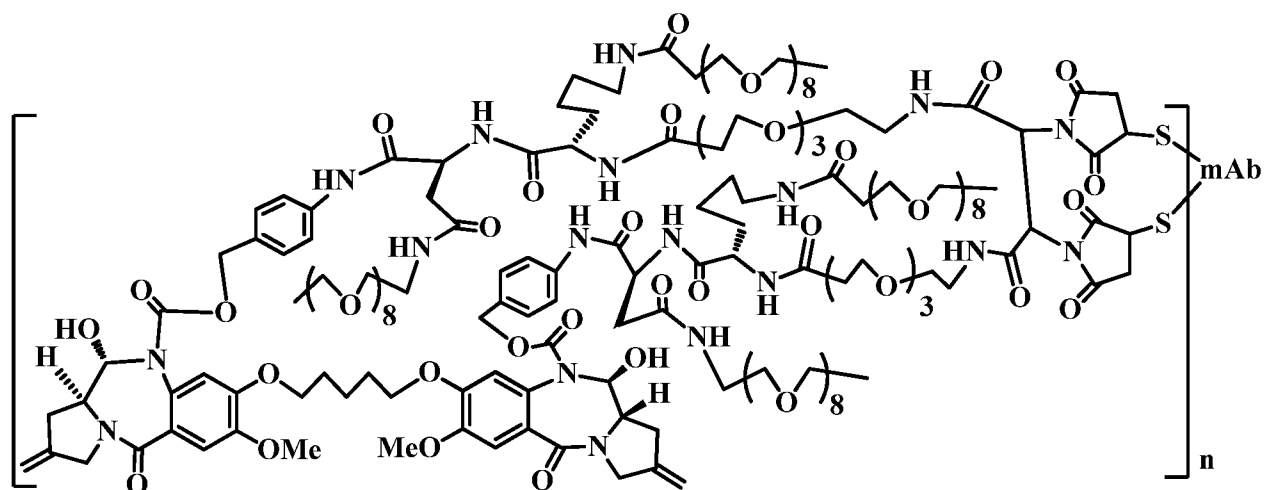




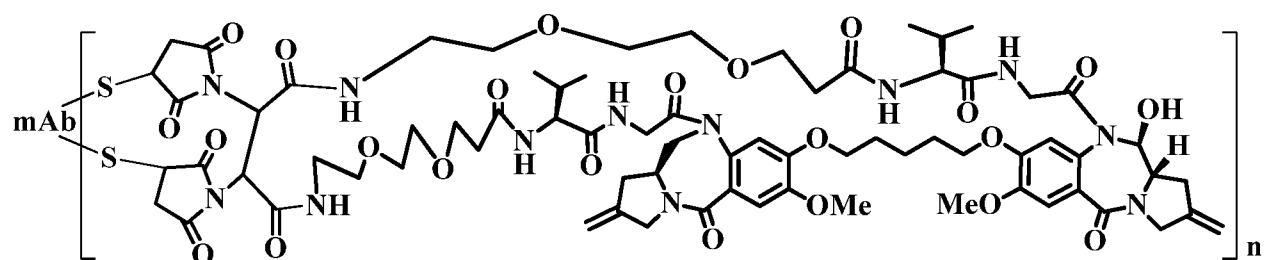
CC-3,



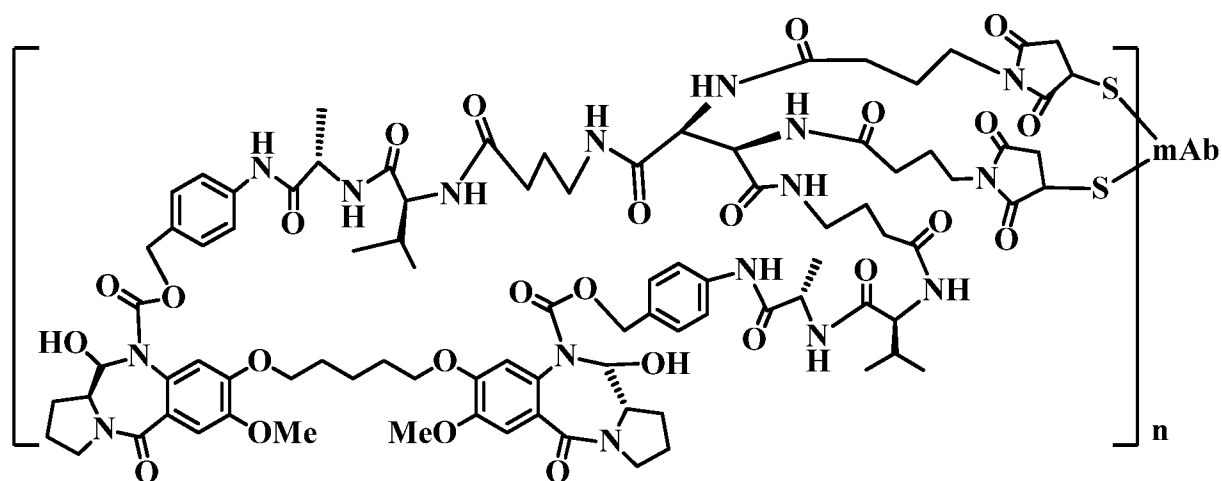
CC-4,



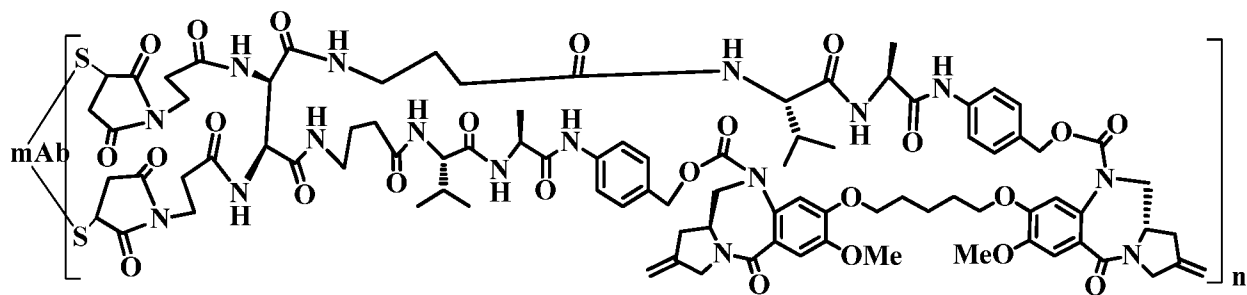
CC-5,



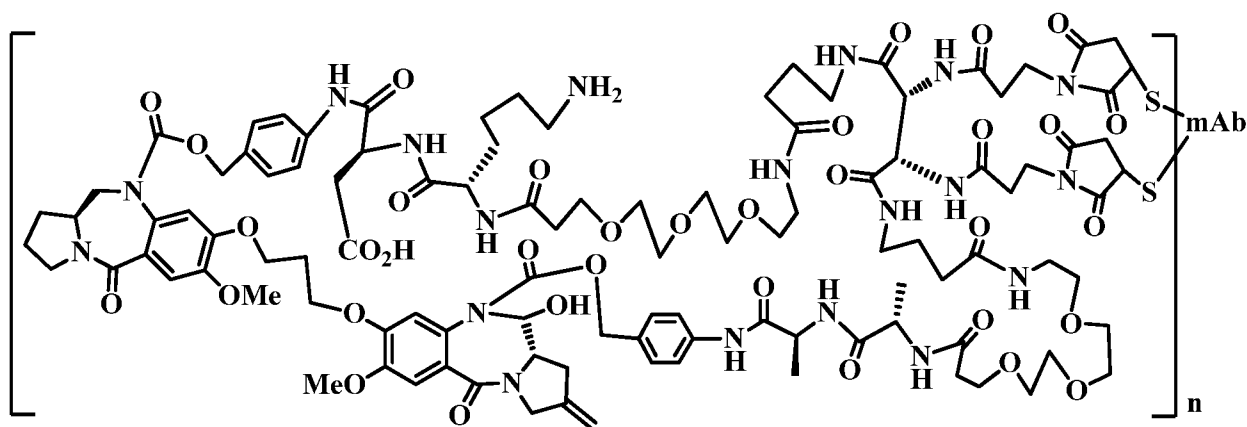
CC-6,



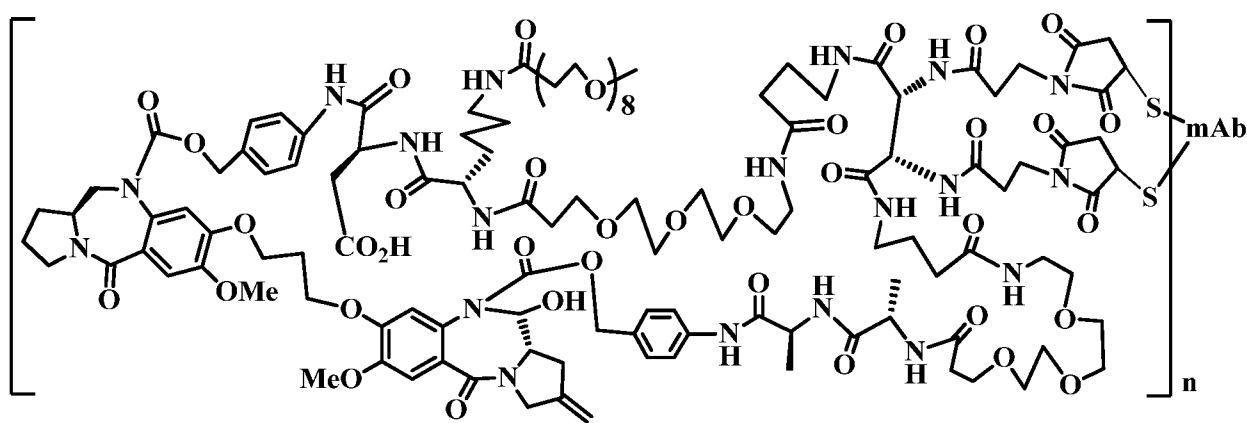
CC-7,



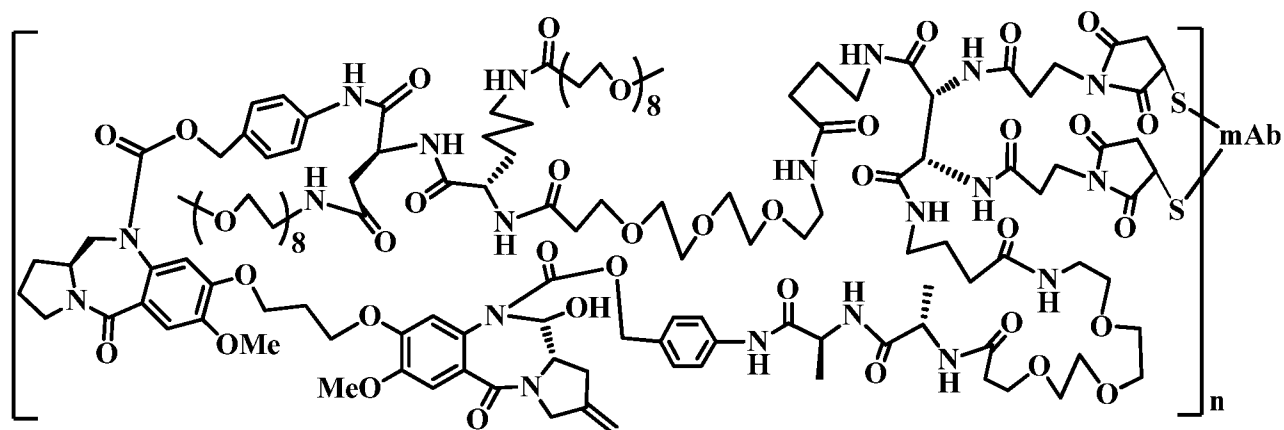
CC-8,



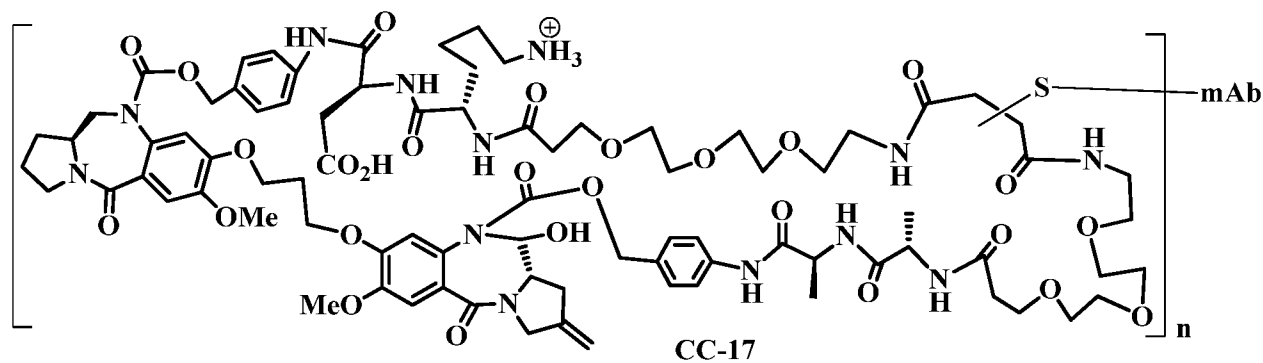
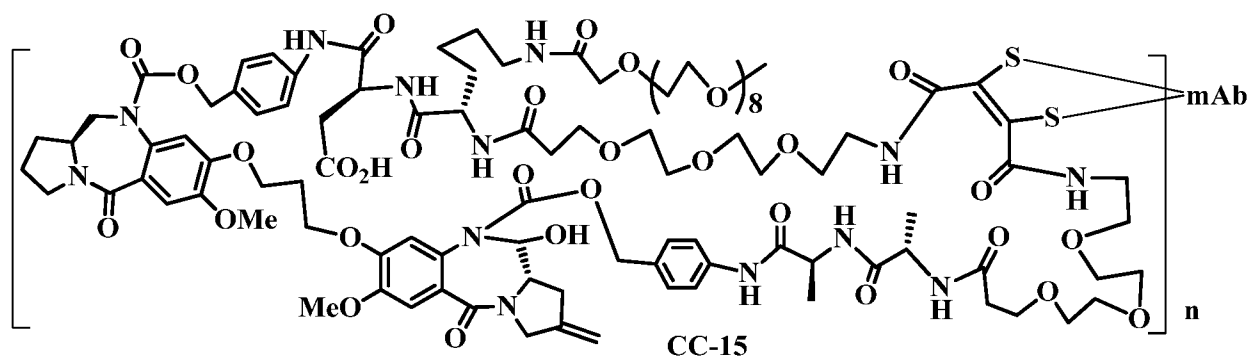
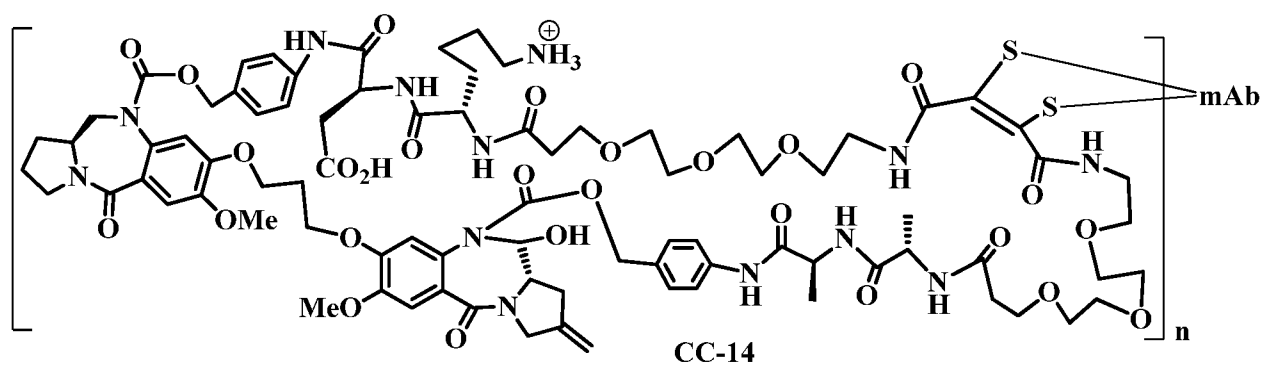
CC-10,

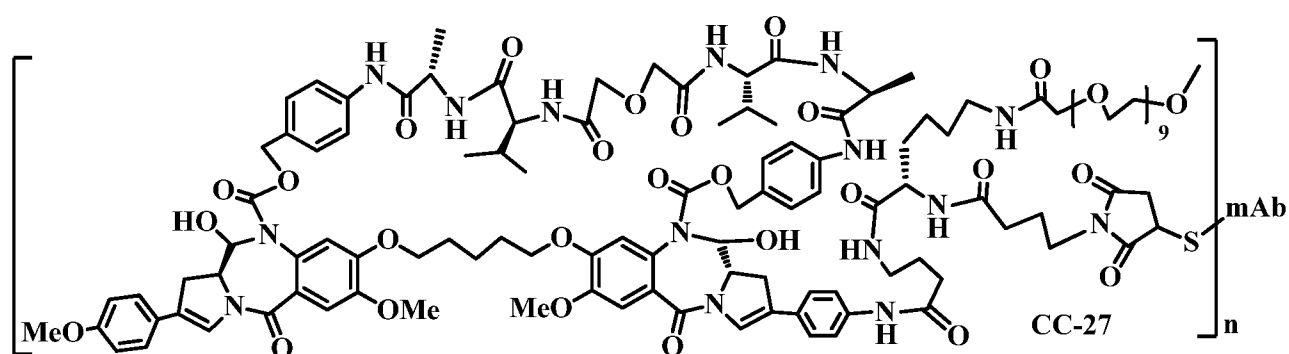
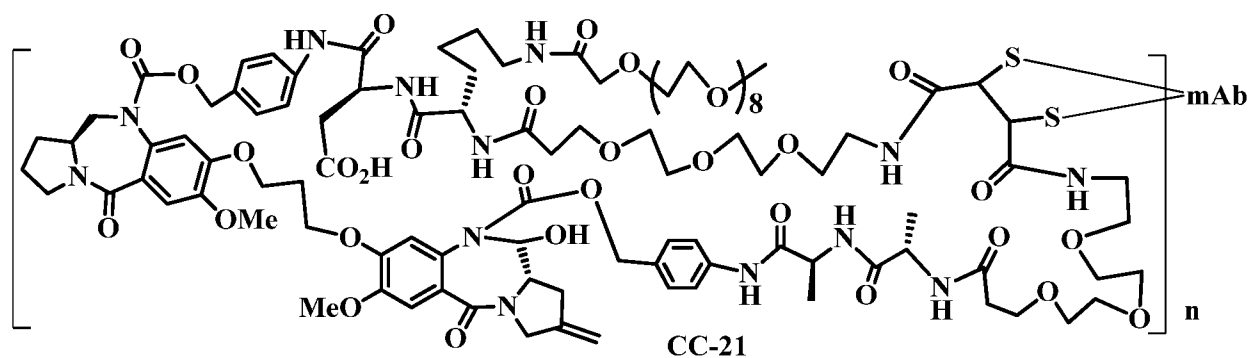
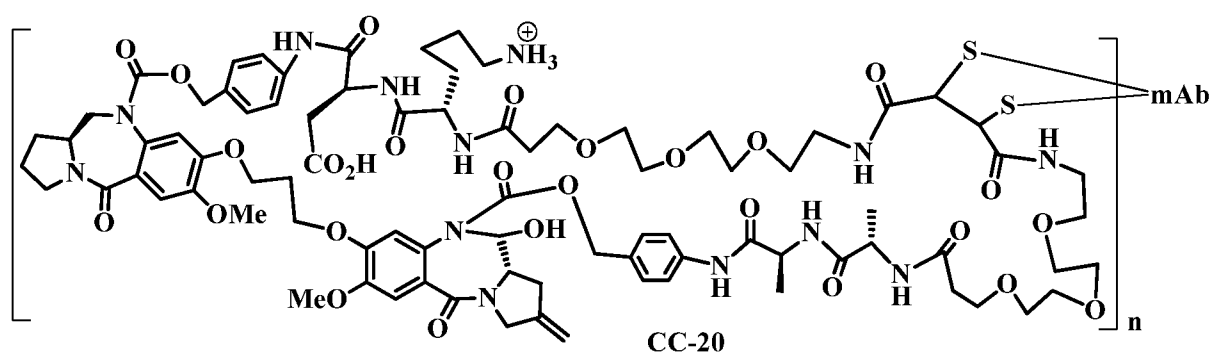
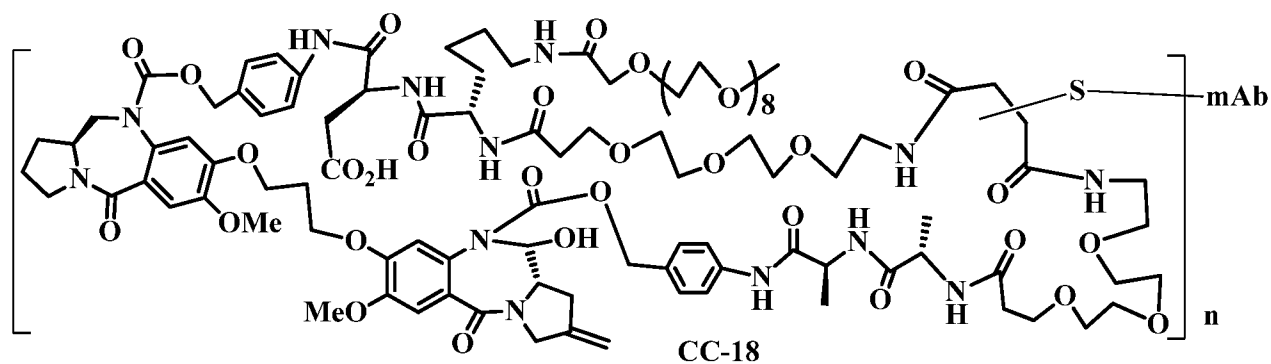


CC-11,



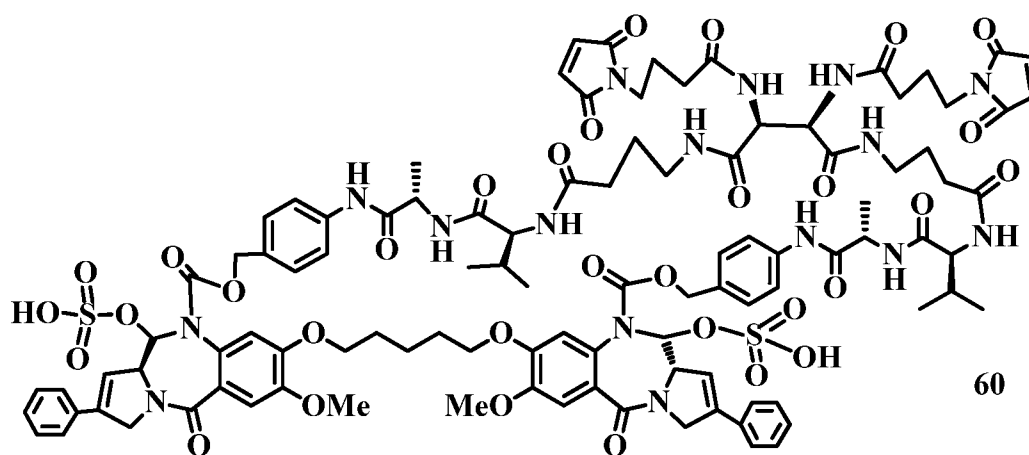
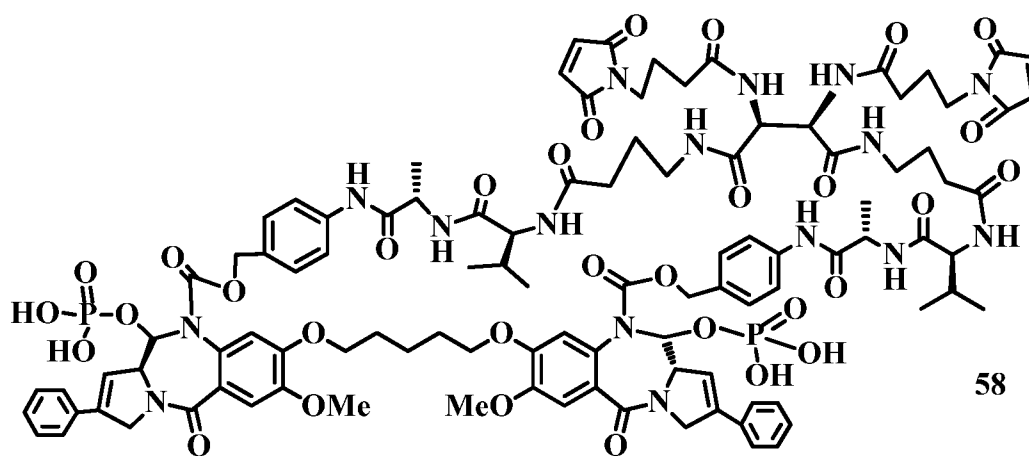
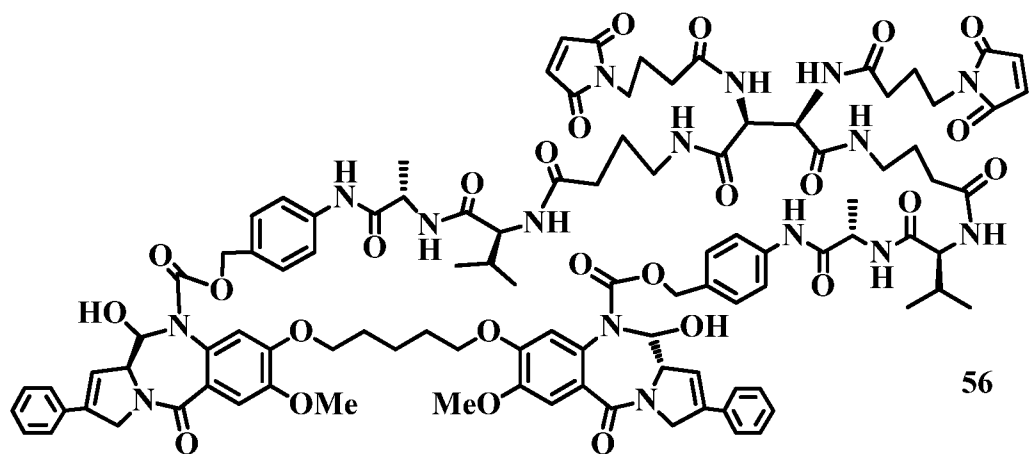
CC-12,

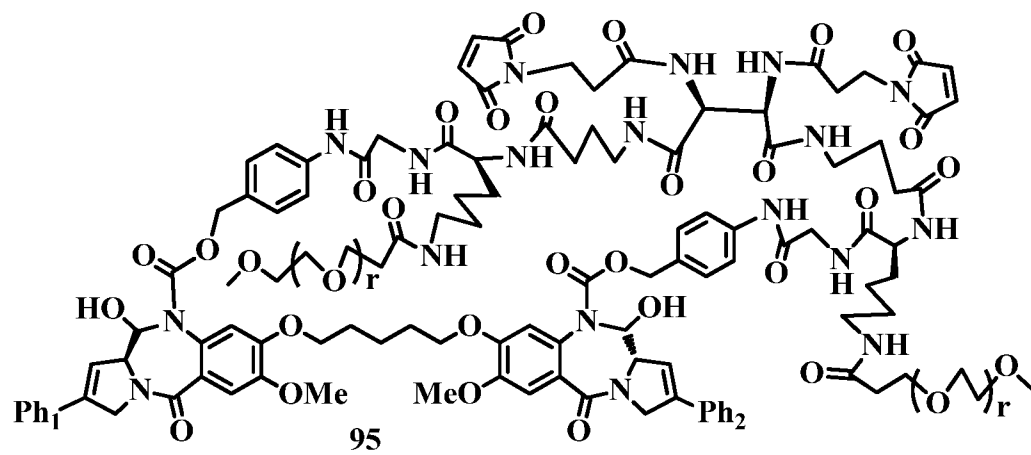
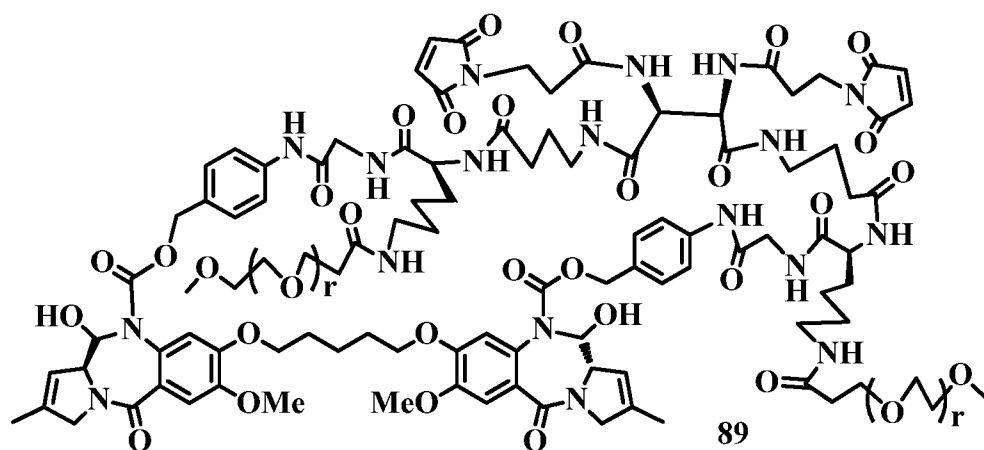
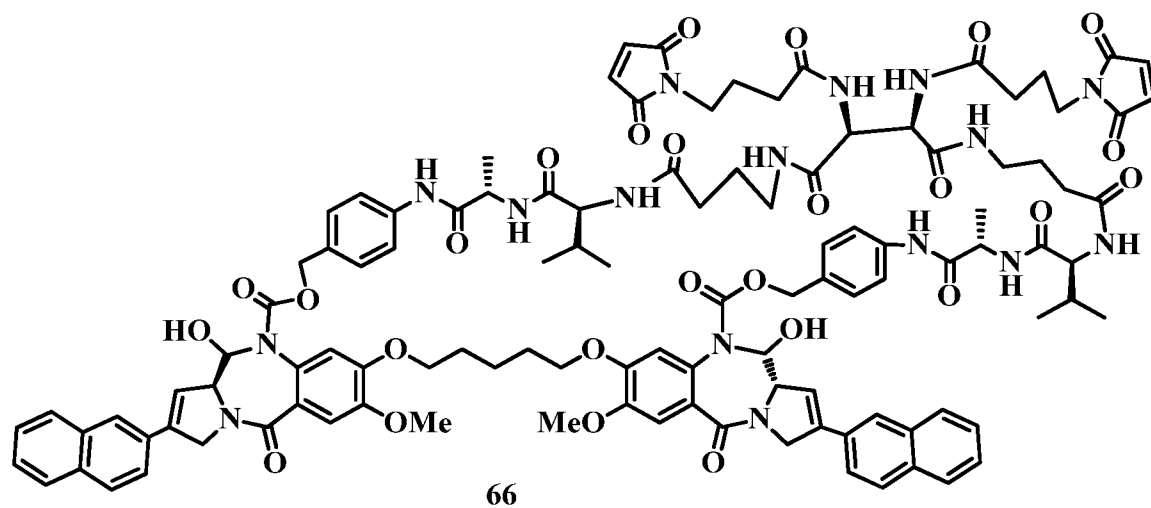


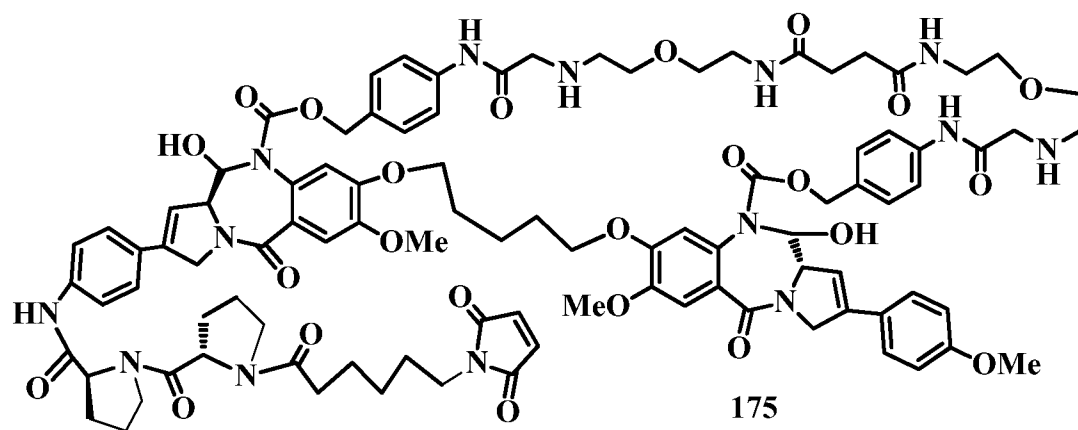
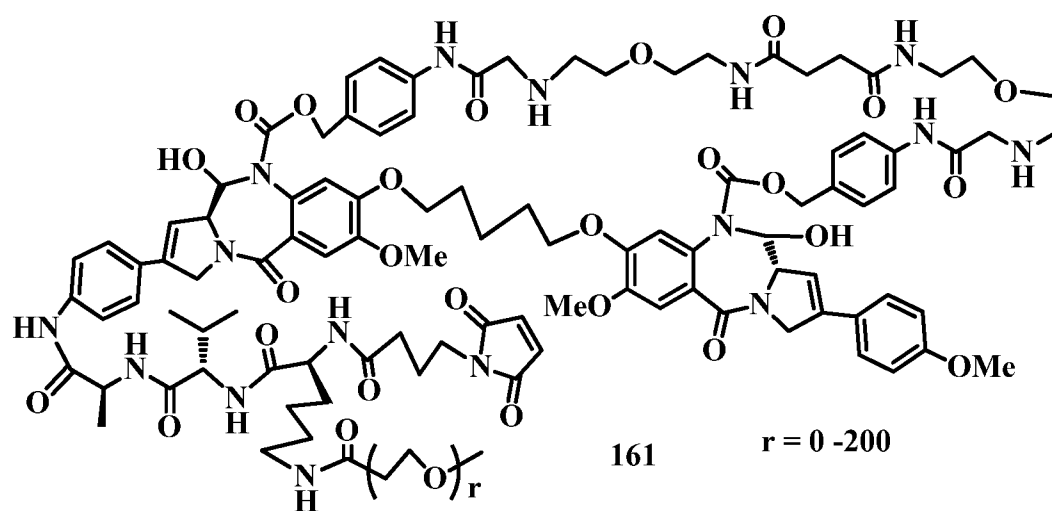
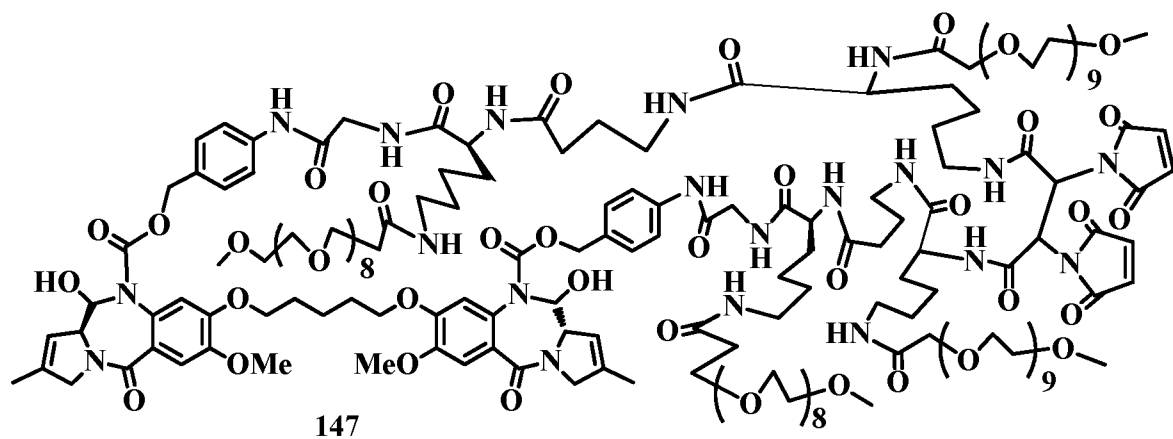


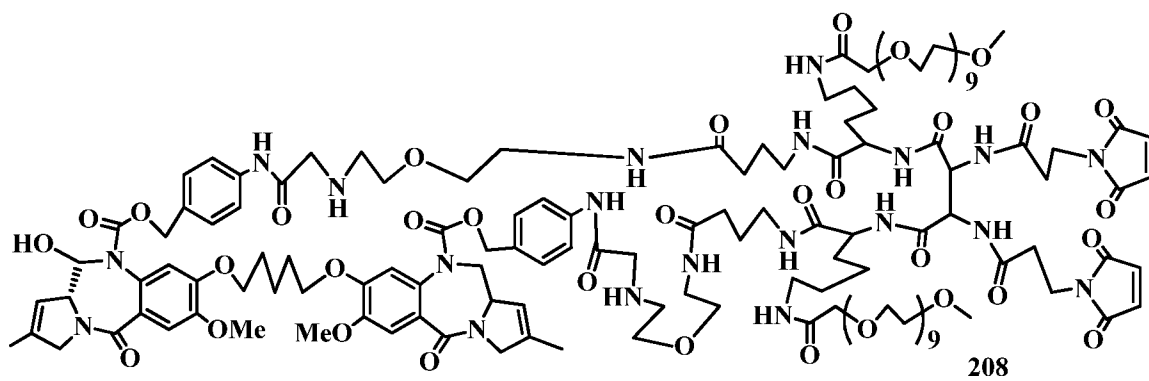
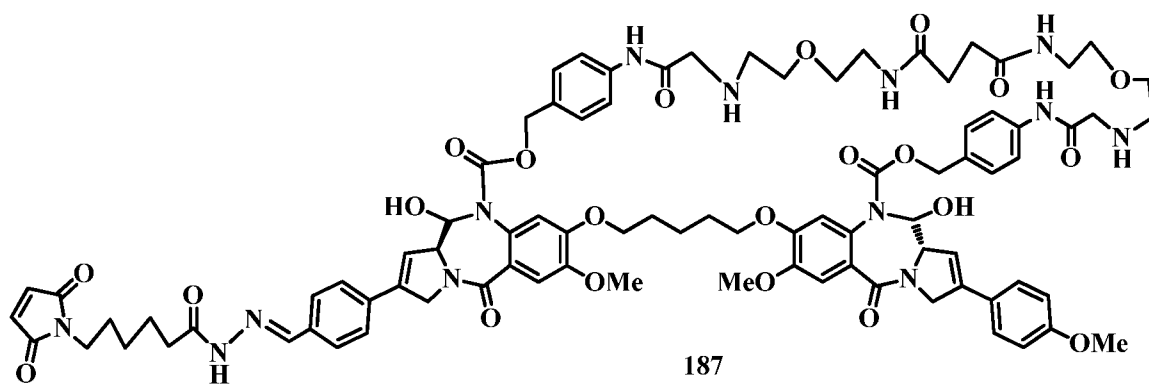
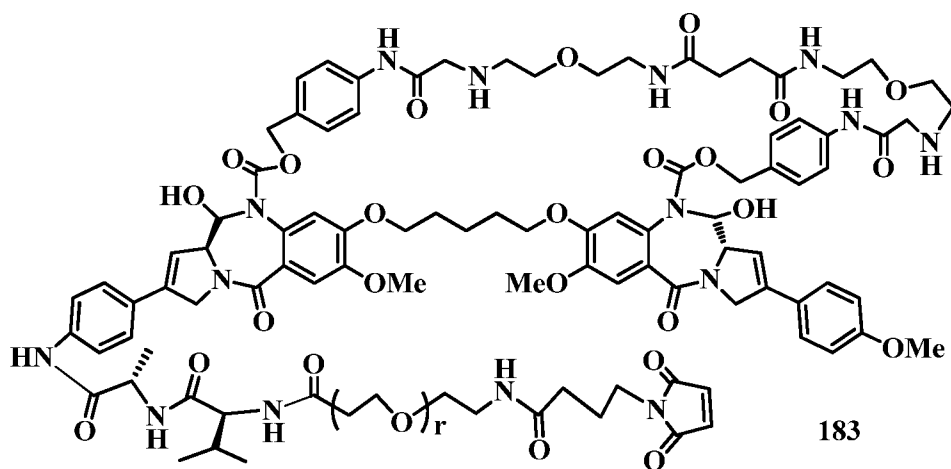
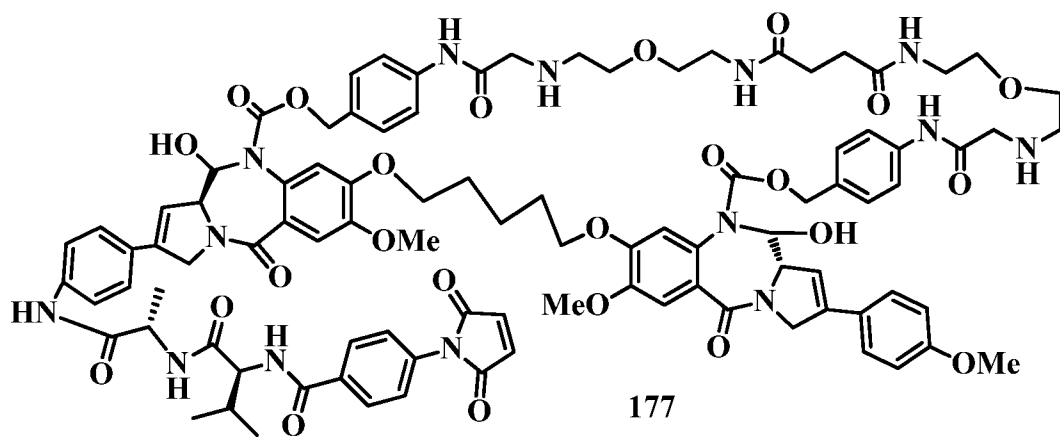
где r , r_1 , r_2 и r' независимо равны 0~200; n равно 1~30.

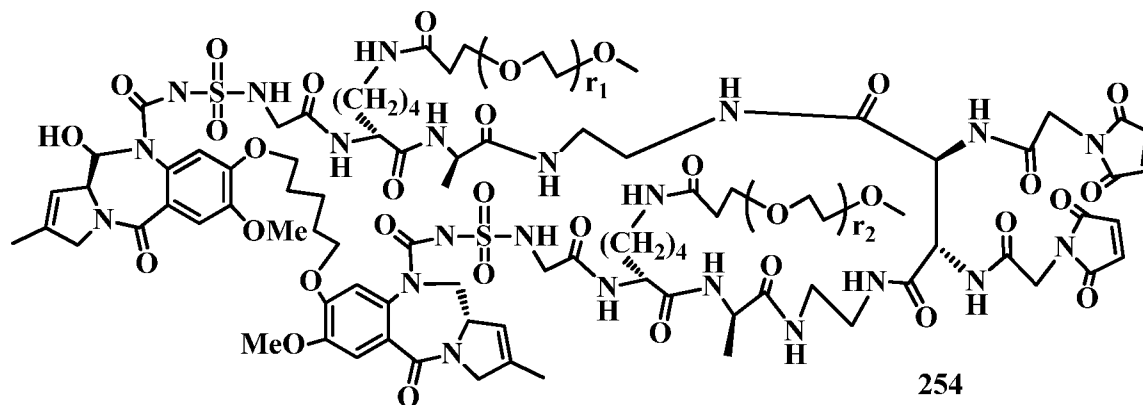
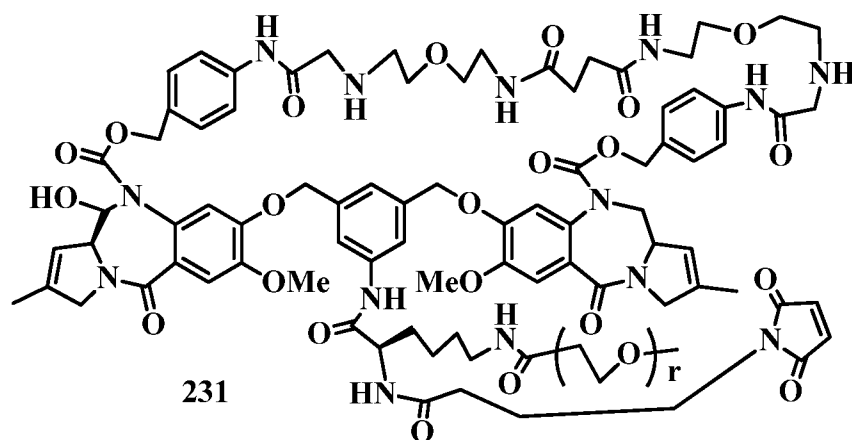
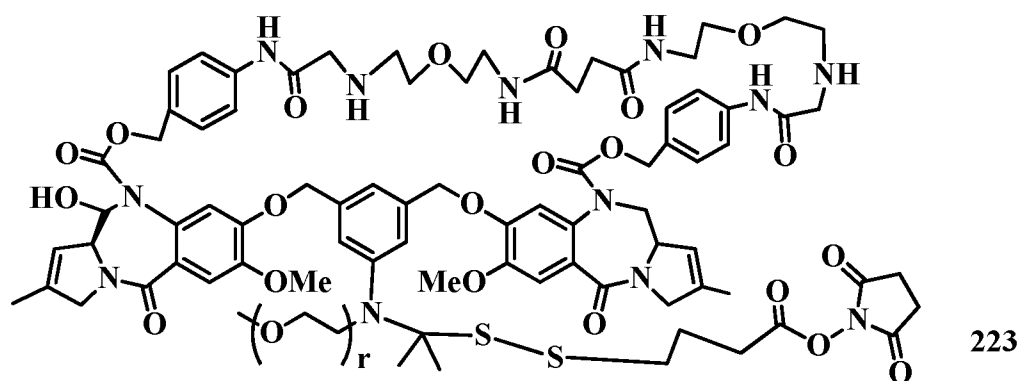
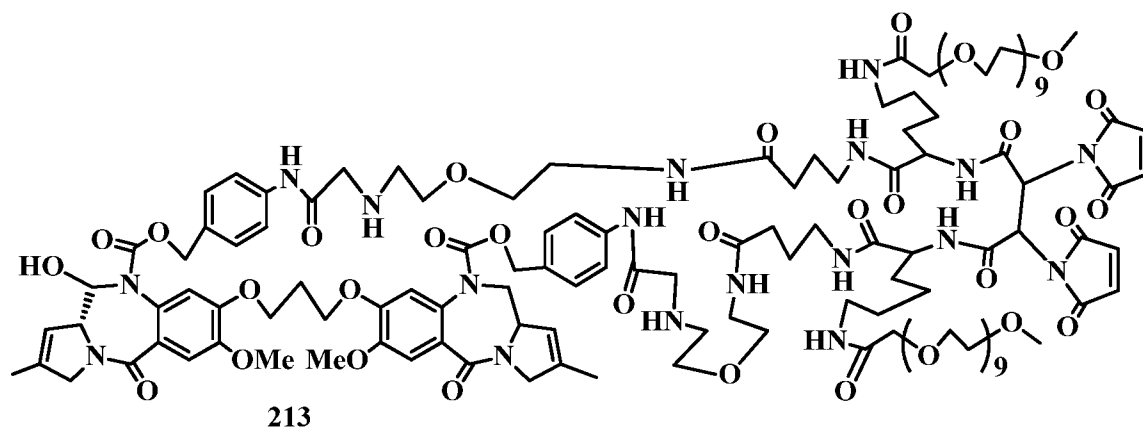
[illegible]

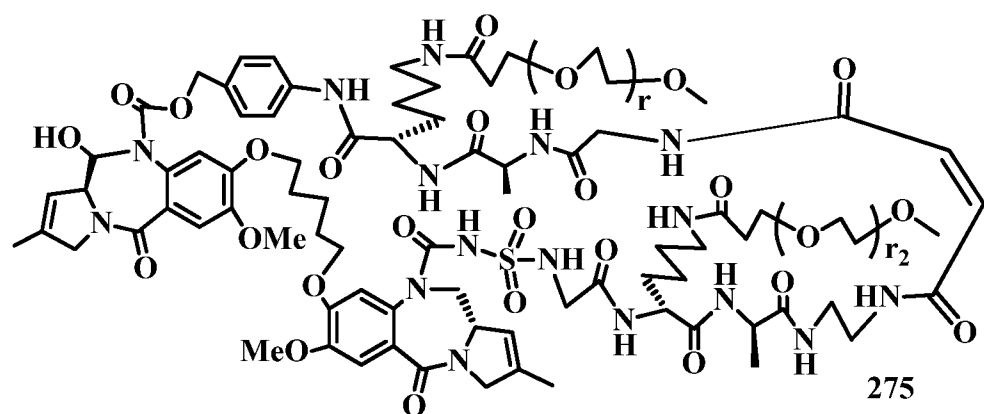
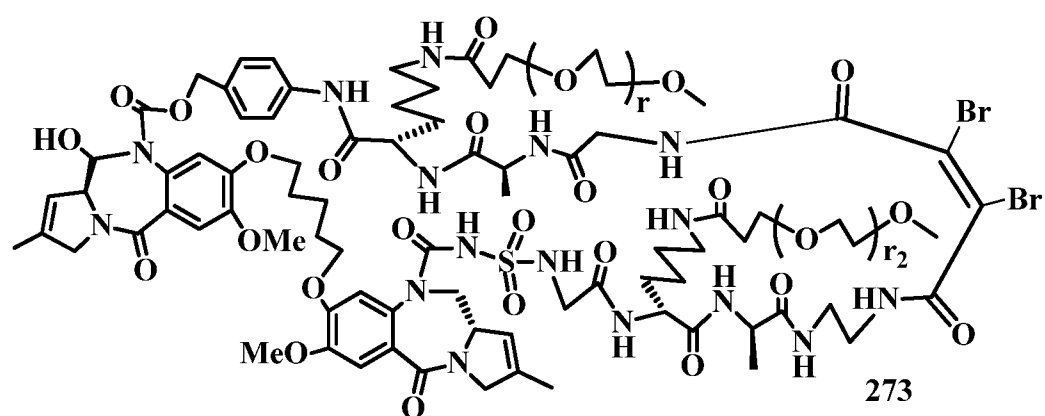
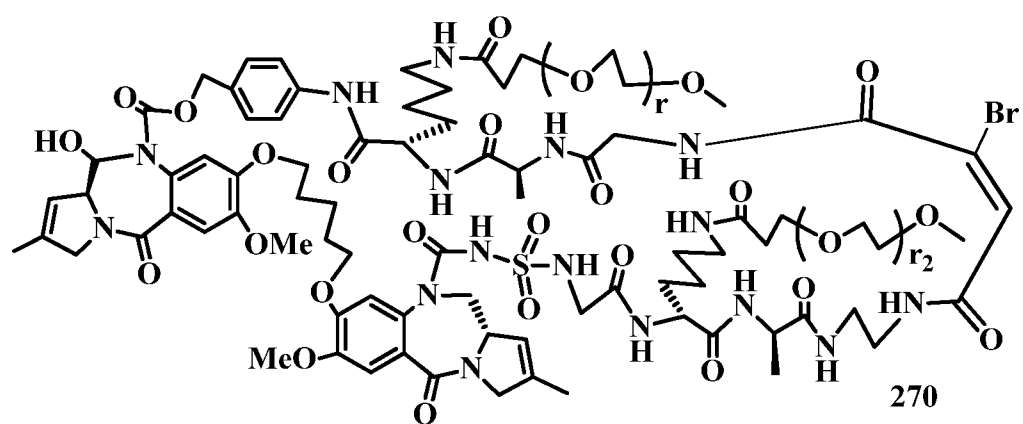
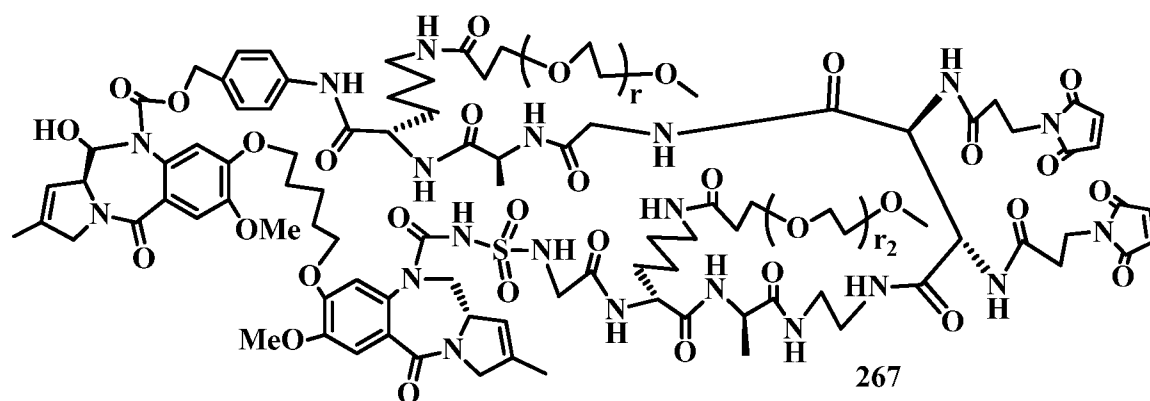


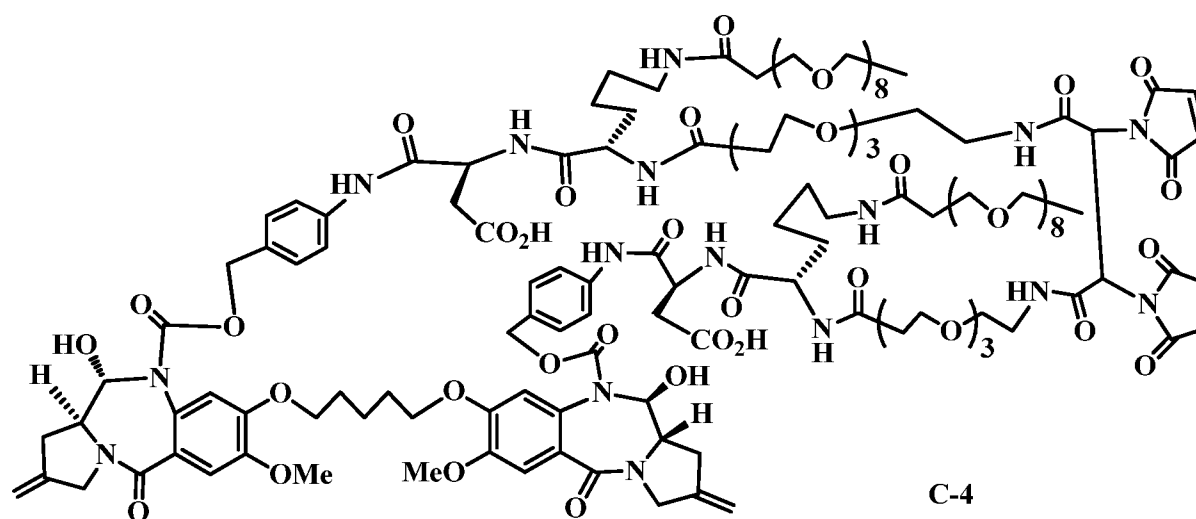
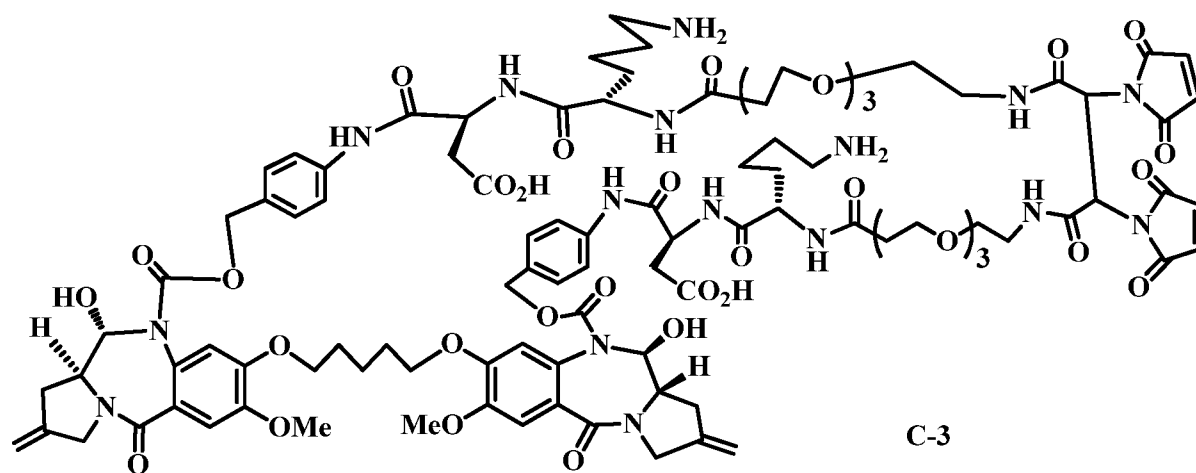


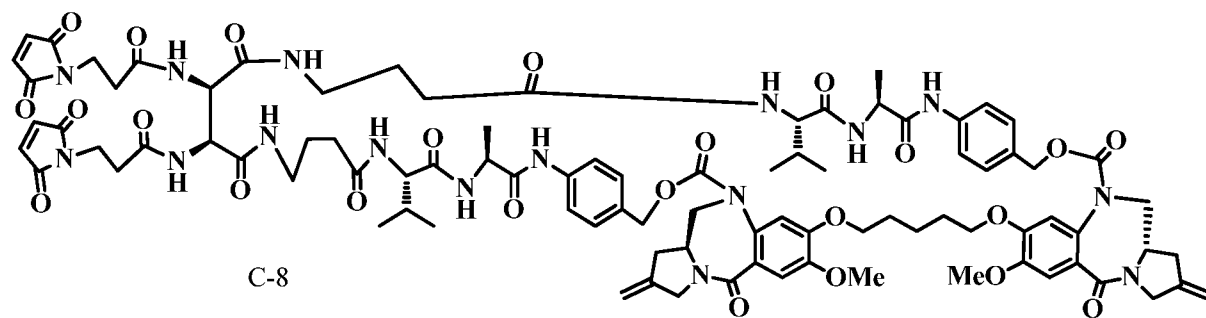
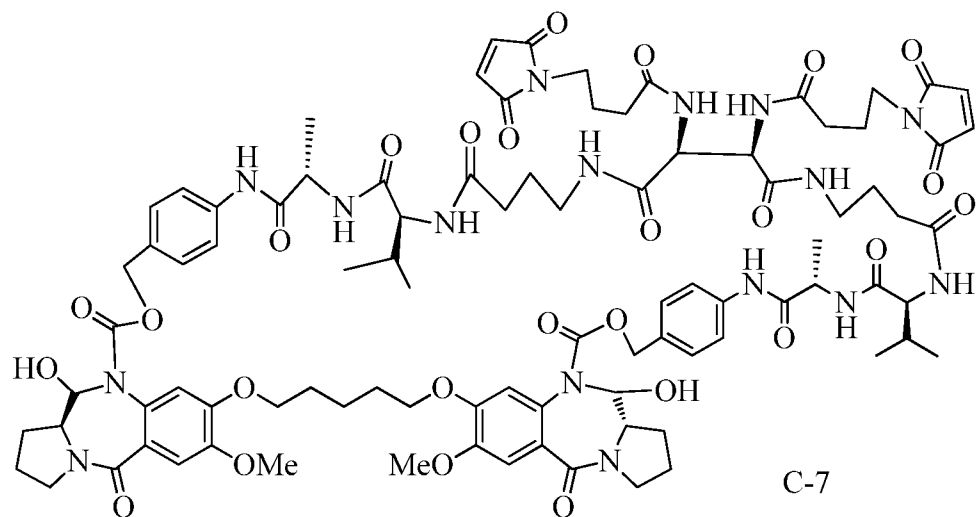
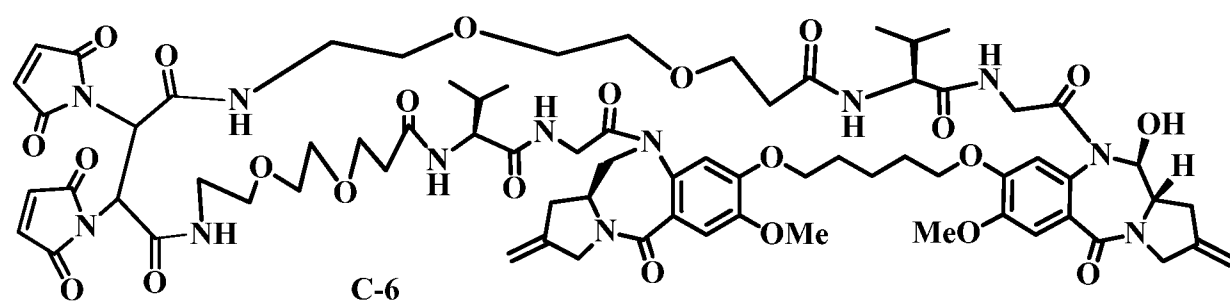
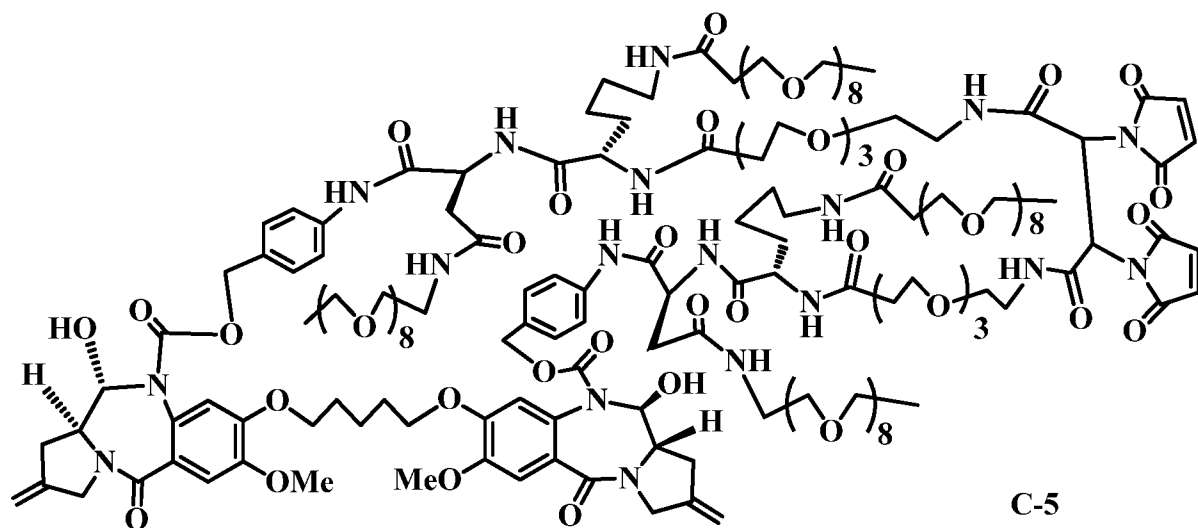


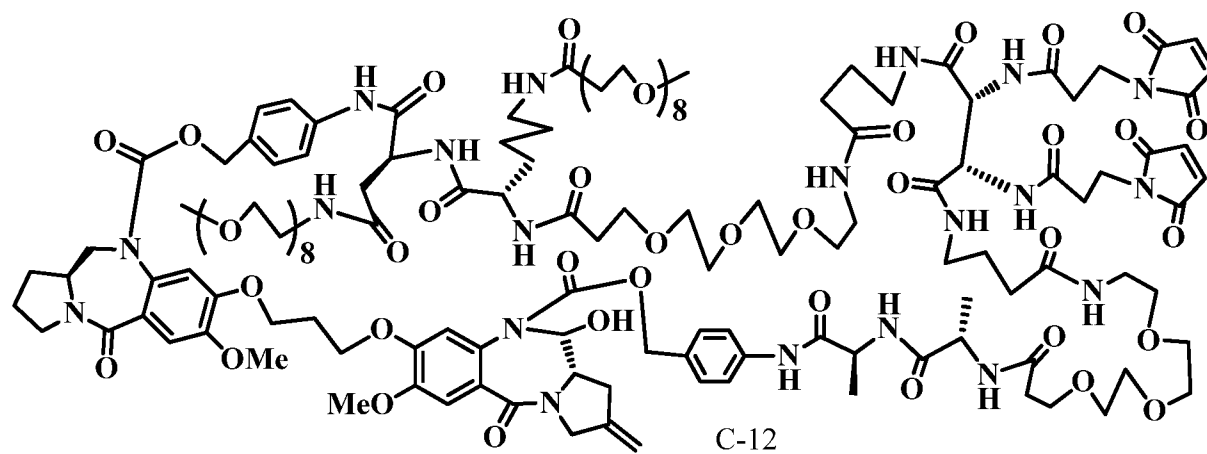
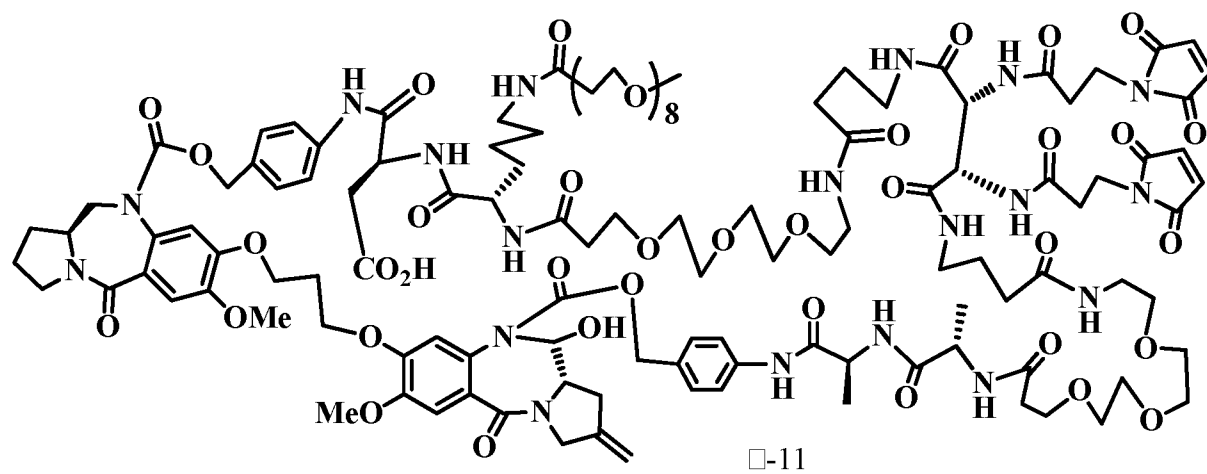
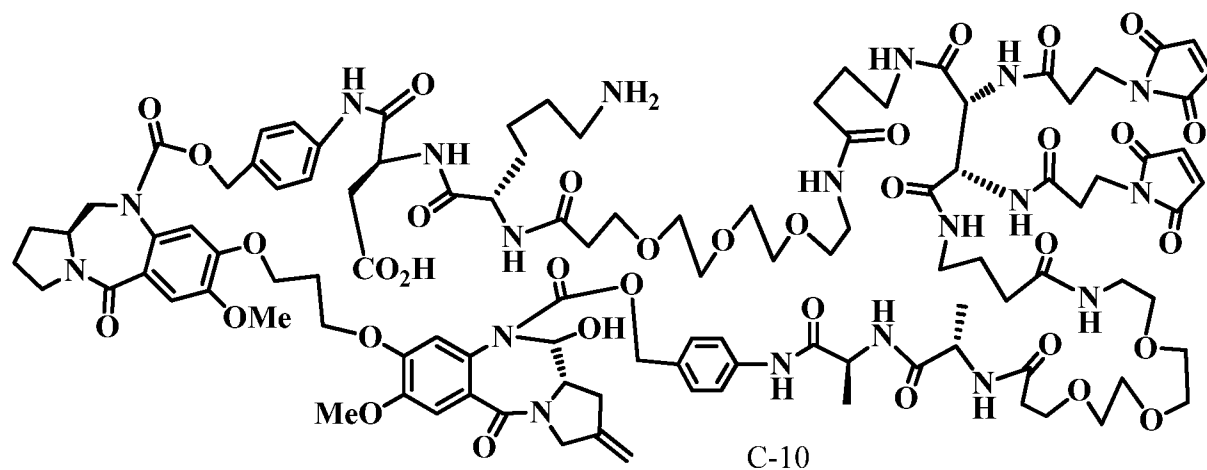


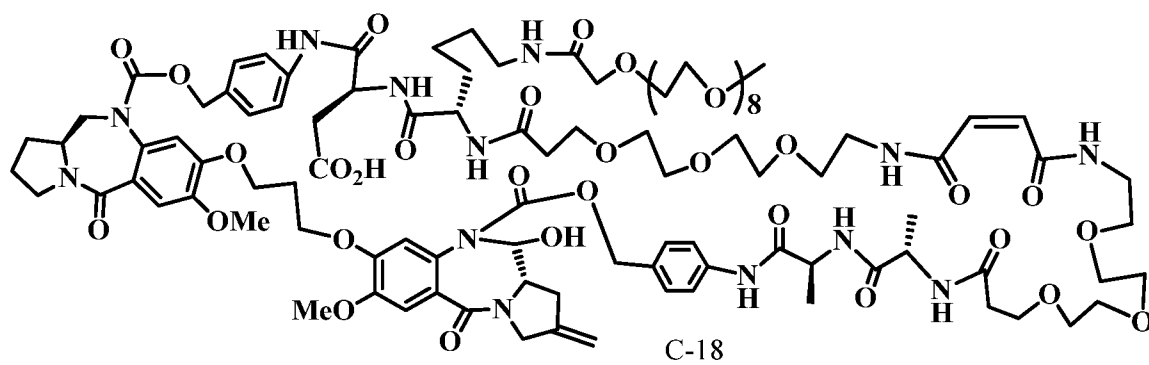
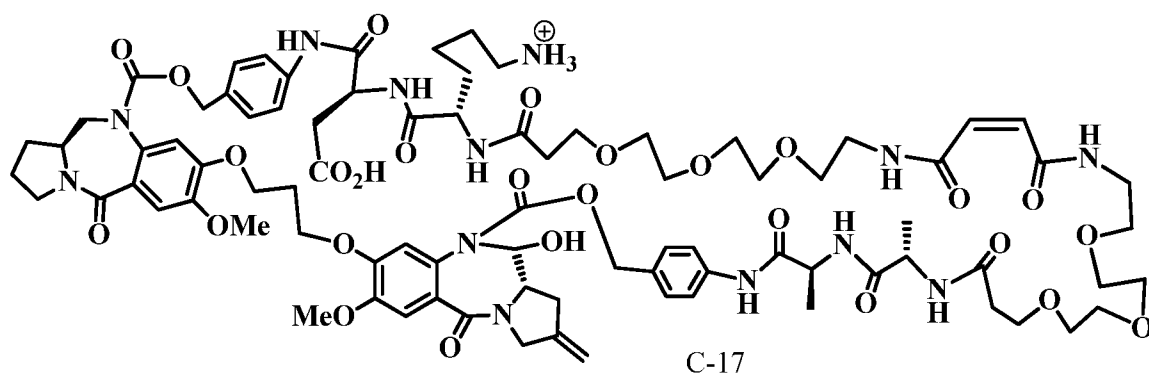
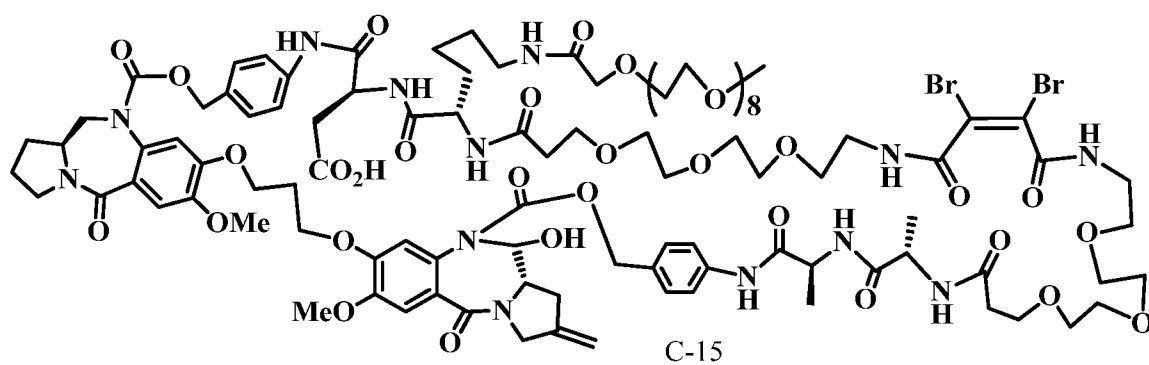
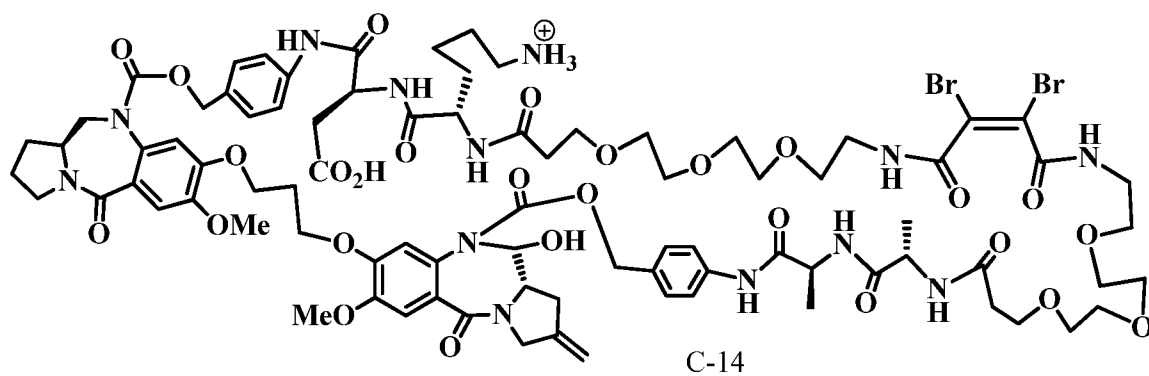


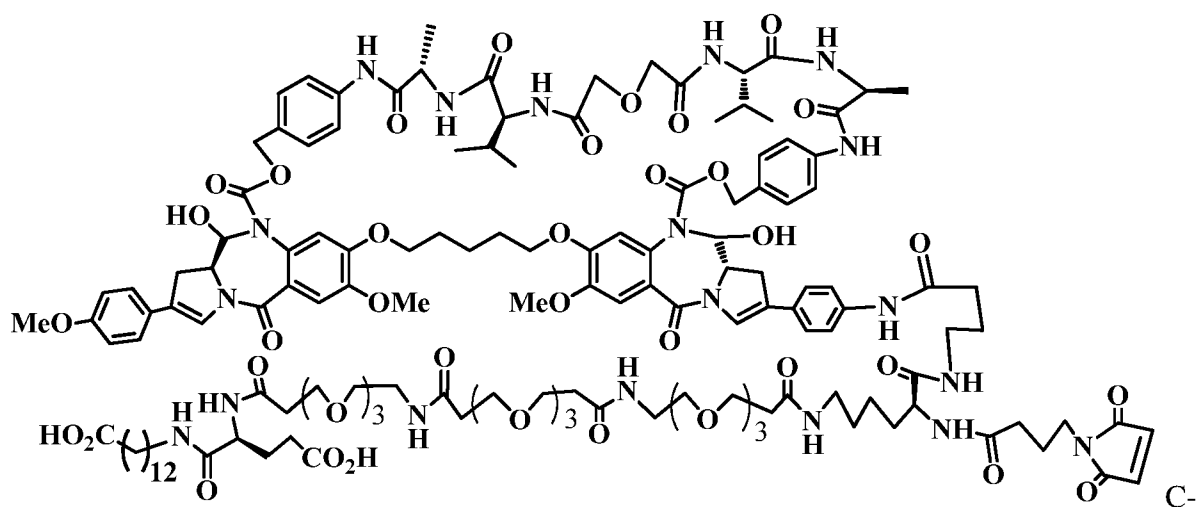
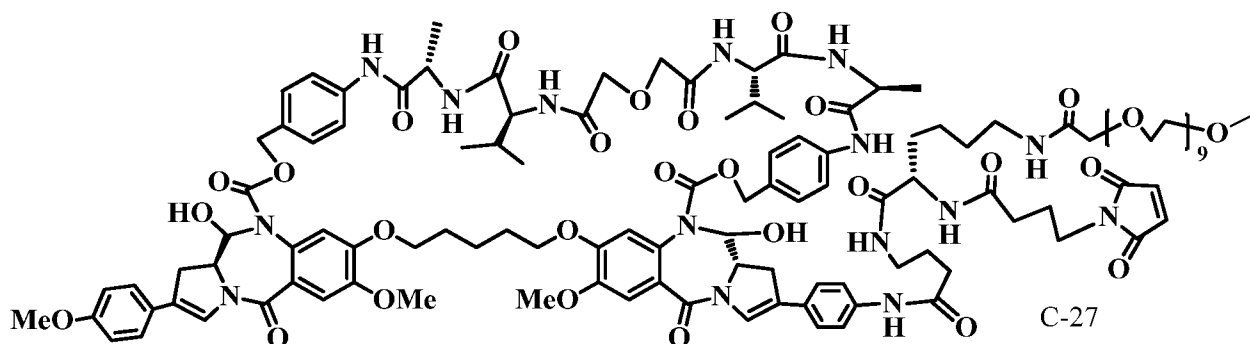
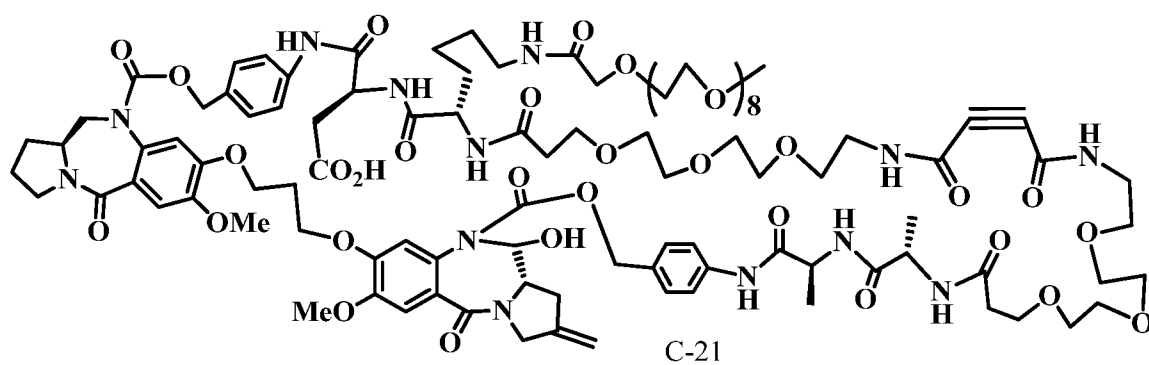
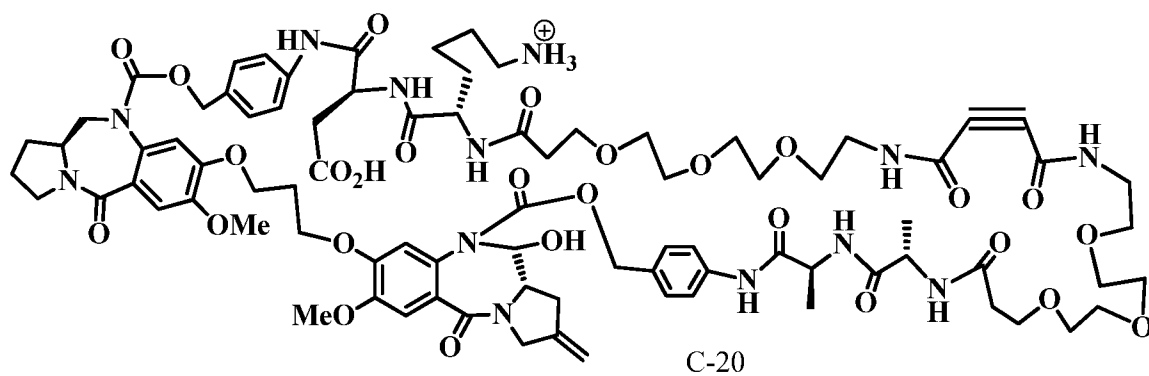












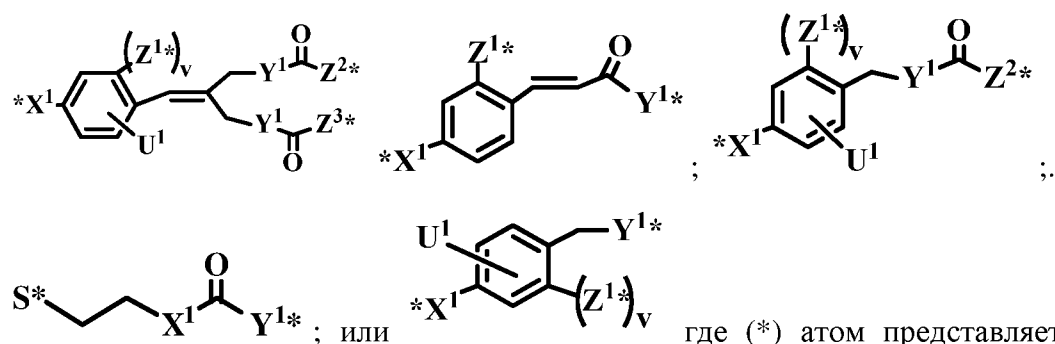
29,

где r , r_1 , r_2 и r' независимо равны 0~200; n равно 1~30.

10. L_1 и L_2 по пп. **1, 2, 4** или **6** могут независимо состоять из:

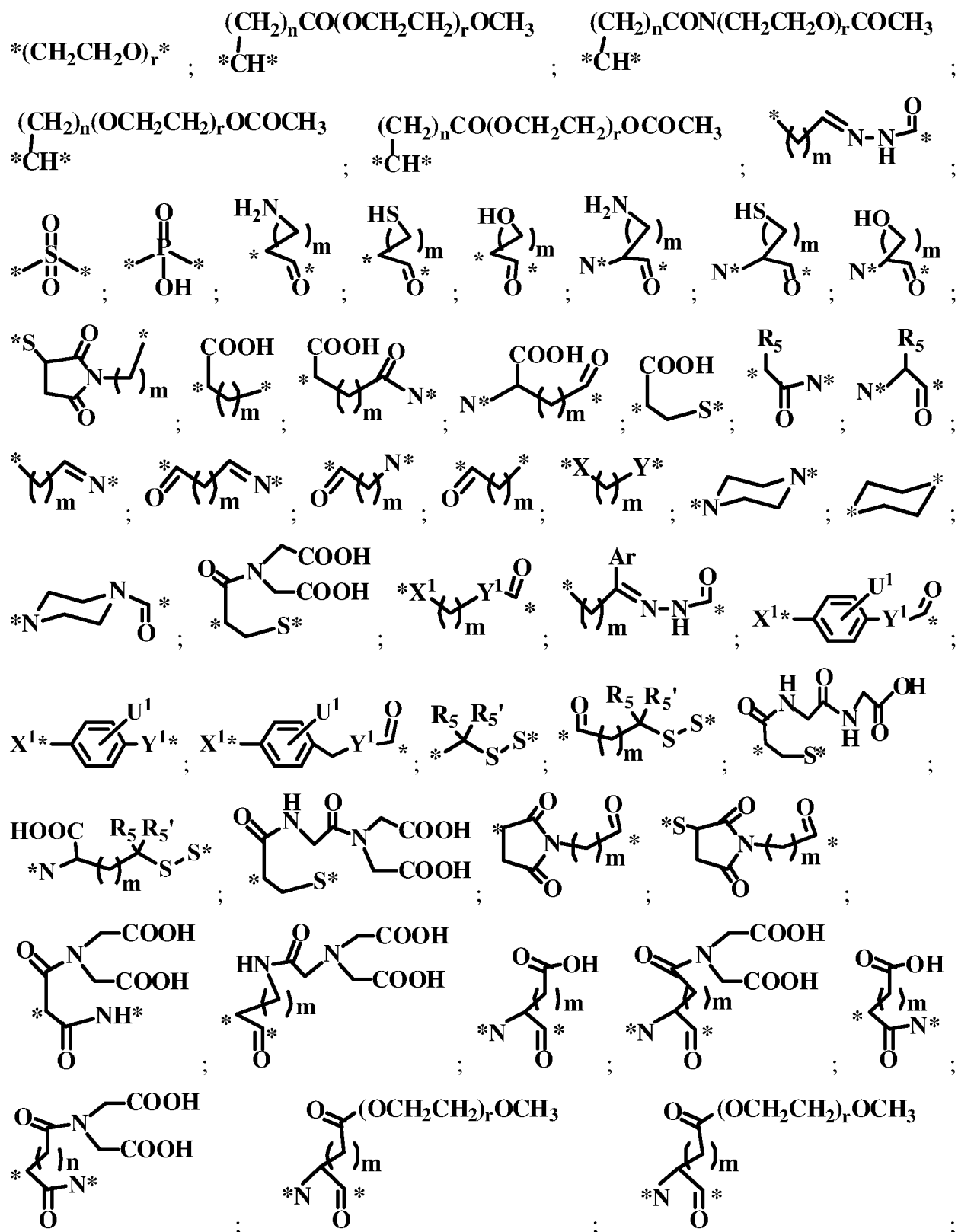
(А): одного или более компонентов из группы, включающей 6-малеимидакапроил («МС»), малеимидопропаноил («МР»), валин-цитруллин («val-cit» или «vc»), аланин-фенилаланин («ala-phe» или «af»), пара-аминобензилоксикарбонил («РАВ»), 4-тиопентаноат («SPP»), 4-(N-малеимидометил)-циклогексан-1 карбоксилат («МСС»), (4-ацетил)амино-бензоат («SIAB»), этиленокси ($--CH_2CH_2O--$) в качестве одной или более повторяющихся единиц («ОЭ» или «ПОЭ»), 4-тио-бутират (SPDB), 4-тио-2-гидроксисульфонил-бутират (2-сульфо-SPDB), или природные или неприродные пептиды, содержащие 1~12 одинаковых или различных последовательностей остатков природных или неприродных аминокислот;

(В): одного или более из саморасщепляющегося компонента, пептидной единицы, гидразоновой связи, дисульфида, сложного эфира, оксима, амида или тиоэфирной связи. Саморасщепляющийся фрагмент включает ароматические соединения, которые сходны по электронной конфигурации с пара-аминобензилкарбамоильными (РАВ) группами, производными 2-аминоимидазол-5-метанола, гетероциклическими аналогами РАВ, бета-глюкуронидом, орто- или пара-аминобензилацеталями;



где (*) атом представляет собой точку присоединения другого компонента; X^1 , Y^1 , Z^2 и Z^3 независимо представляют собой NH, O или S; Z^1 независимо представляет собой H, NHR_1 , OR_1 , SR_1 , COX_1R_1 , где X_1 и R_1 определены выше; v равно 0 или 1; U^1 независимо представляет собой H, OH, $C_1\text{--}C_6$ алкил, $(OCH_2CH_2)_n$, F, Cl, Br, I, OR_5 , SR_5 , NR_5R_5' , $N=NR_5$, $N=R_5$, NR_5R_5' , NO_2 , SOR_5R_5' , SO_2R_5 , SO_3R_5 , OSO_3R_5 , PR_5R_5' , POR_5R_5' , $PO_2R_5R_5'$, $OPO(OR_5)(OR_5')$ или $OCH_2PO(OR_5)(OR_5')$, где R_5 и R_5' независимо выбраны из H, $C_1\text{--}C_8$ алкила; $C_2\text{--}C_8$ алкенила, алкинила, гетероалкила или аминокислоты; $C_3\text{--}C_8$ арила, гетероциклила, карбоциклила, циклоалкила, гетероциклоалкила, гетероаралкила, алкилкарбонила или гликозида; или фармацевтических катионных солей;

(С): одного или более несаморасщепляющихся линкерных компонентов, включающих одну из следующих структур:



(D): одного или более способных к отделению компонентов, в которых по меньшей мере одна связь может быть разорвана в физиологических условиях: рН-лабильная, кислотно-лабильная, основно-лабильная, окислительно лабильная, метаболически лабильная, биохимически лабильная или ферментативно-лабильная связь, которая имеет одну из следующих структур:

$$-(\text{CR}_5\text{R}_6)_m(\text{Ak})_t(\text{CR}_7\text{R}_8)_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_r-$$

$$, \quad -(\text{CR}_5\text{R}_6)_m(\text{CR}_7\text{R}_8)_n(\text{Ak})_t(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_r-, \quad -(\text{Ak})_t-(\text{CR}_5\text{R}_6)_m(\text{CR}_7\text{R}_8)_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_r-$$

$$, \quad -(\text{CR}_5\text{R}_6)_m(\text{CR}_7\text{R}_8)_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_r(\text{Ak})_t-, \quad -(\text{CR}_5\text{R}_6)_m-(\text{CR}_7=\text{CR}_8)(\text{CR}_9\text{R}_{10})_n(\text{Ak})_t(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_r-,$$

$$-(\text{CR}_5\text{R}_6)_m(\text{NR}_{11}\text{CO})(\text{Ak})_t(\text{CR}_9\text{R}_{10})_n-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_r-,$$

$$-(\text{CR}_5\text{R}_6)_m(\text{Ak})_t(\text{NR}_{11}\text{CO})(\text{CR}_9\text{R}_{10})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_r-, -(\text{CR}_5\text{R}_6)_m(\text{OCO})(\text{Ak})_t(\text{CR}_9\text{R}_{10})_n-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_r-,$$

$$-(\text{CR}_5\text{R}_6)_m(\text{OCNR}_7)(\text{Ak})_t(\text{CR}_9\text{R}_{10})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_r-, -(\text{CR}_5\text{R}_6)_m(\text{CO})(\text{Ak})_t-(\text{CR}_9\text{R}_{10})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_r-,$$

$$-(\text{CR}_5\text{R}_6)_m(\text{NR}_{11}\text{CO})(\text{Ak})_t(\text{CR}_9\text{R}_{10})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_r-, -(\text{CR}_5\text{R}_6)_m-(\text{OCO})(\text{Ak})_t(\text{CR}_9\text{R}_{10})_n-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_r-,$$

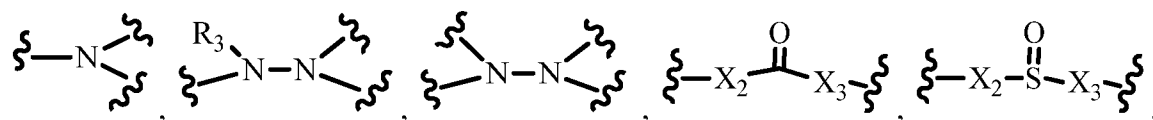
$$-(\text{CR}_5\text{R}_6)_m(\text{OCNR}_7)(\text{Ak})_t(\text{CR}_9\text{R}_{10})_n(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_r-, -(\text{CR}_5\text{R}_6)_m(\text{CO})(\text{Ak})_t(\text{CR}_9\text{R}_{10})_n-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_r-,$$

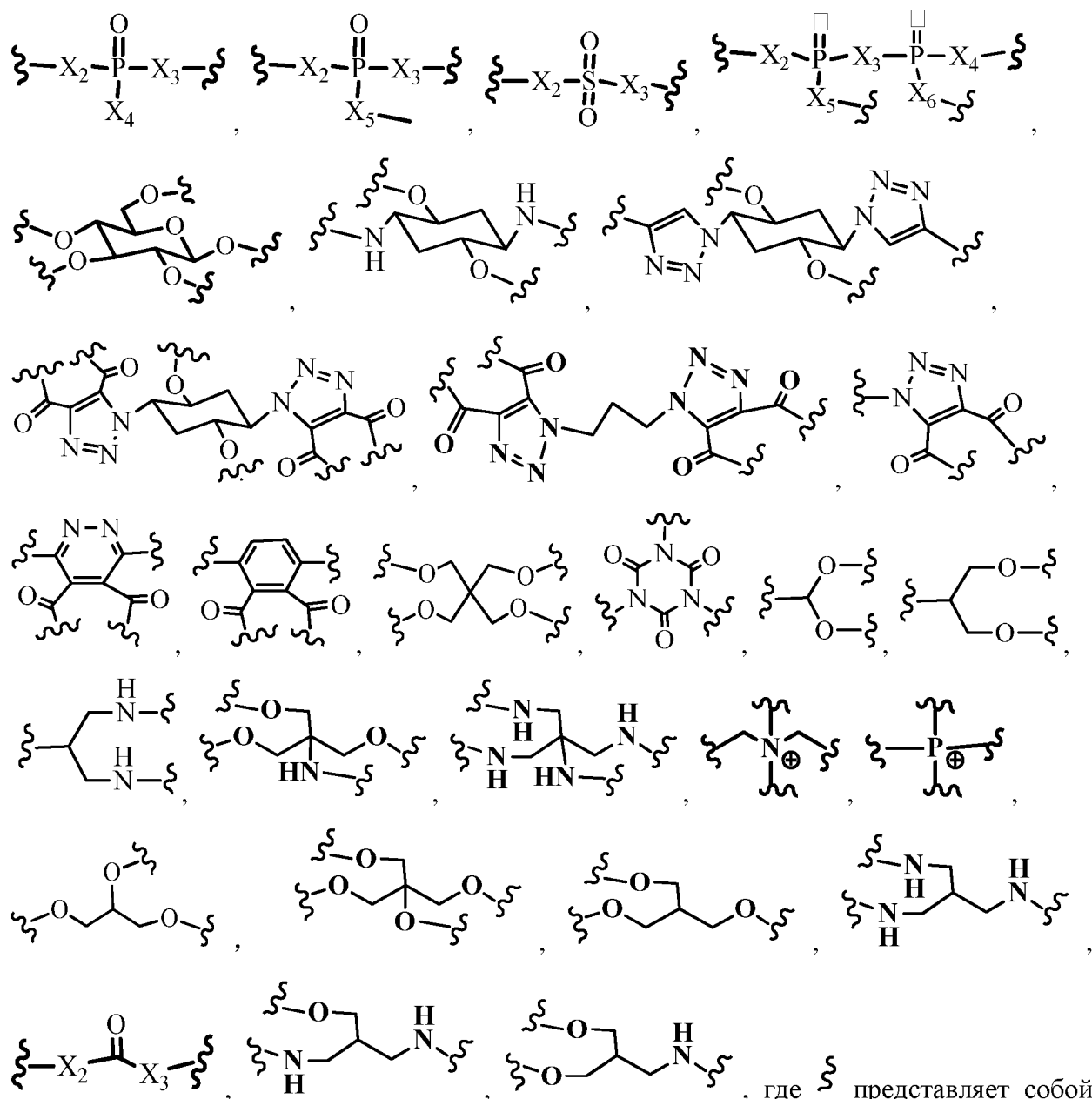
$$-(\text{CR}_5\text{R}_6)_m\text{-фенил-CO}(\text{Ak})_t(\text{CR}_7\text{R}_8)_n-, \quad -(\text{CR}_5\text{R}_6)_m\text{-фурил-CO}(\text{Ak})_t(\text{CR}_7\text{R}_8)_n-, \quad -(\text{CR}_5\text{R}_6)_m\text{-оксазолил-CO}(\text{Ak})_t(\text{CR}_7\text{R}_8)_n-,$$

$$-(\text{CR}_5\text{R}_6)_m\text{-тиазолил-CO}(\text{Ak})_t(\text{CCR}_7\text{R}_8)_n-, \quad -(\text{CR}_5\text{R}_6)_t-$$

тиенил-CO(CR₇R₈)_n-, -(CR₅R₆)_t-имидазолил-CO-(CR₇R₈)_n-, -(CR₅R₆)_t-морфолино-CO(Ак)_t-(CR₇R₈)_n-, -(CR₅R₆)_t-пиперазино-CO(Ак)_t-(CR₇R₈)_n-, -(CR₅R₆)_t-N-метилпиперазин-CO(Ак)_t-(CR₇R₈)_n-, -(CR₅R₆)_m-(Ак)_t-фенил-, -(CR₅R₆)_m-(Ак)_t-фурил-, -(CR₅R₆)_m-оксазолил(Ак)_t-, -(CR₅R₆)_m-тиазолил(Ак)_t-, -(CR₅R₆)_m-тиенил-(Ак)_t-, -(CR₅R₆)_m-имидазолил(Ак)_t-, -(CR₅R₆)_m-морфолино-(Ак)_t-, -(CR₅R₆)_m-пиперазино-(Ак)_t-, -(CR₅R₆)_m-N-метилпиперазино-(Ак)_t-, -K(CR₅R₆)_m(Ак)_t(CR₇R₈)_n(OCH₂CH₂)_t-, -K(CR₅R₆)_m-(CR₇R₈)_n-(Ак)_t(OCH₂CH₂)_t-, -K(Ак)_t-(CR₅R₆)_m(CR₇R₈)_n(OCH₂CH₂)_t-, -K(CR₅R₆)_m(CR₇R₈)_n-(OCH₂CH₂)_t(Ак)_t-, -K(CR₅R₆)_m(CR₇=CR₈)(CR₉R₁₀)_n(Ак)_t(OCH₂CH₂)_t-, -K(CR₅R₆)_m-(NR₁₁CO)(Ак)_t(CR₉R₁₀)_n(OCH₂CH₂)_t-, -K(CR₅R₆)_m(Ак)_t(NR₁₁CO)-(CR₉R₁₀)_n(OCH₂CH₂)_t-, -K(CR₅R₆)_m(OCO)(Ак)_t(CR₉R₁₀)_n(OCH₂CH₂)_t-, -K(CR₅R₆)_m(OCNR₇)(Ак)_t(CR₉R₁₀)_n(OCH₂CH₂)_t-, -K(CR₅R₆)_m(CO)(Ак)_t-(CR₉R₁₀)_n(OCH₂CH₂)_t-, -K(CR₅R₆)_m(NR₁₁CO)(Ак)_t-(CR₉R₁₀)_n(OCH₂CH₂)_t-, -K(CR₅R₆)_m-(OCO)(Ак)_t(CR₉R₁₀)_n(OCH₂CH₂)_t-, -K(CR₅R₆)_m-(OCNR₇)(Ак)_t(CR₉R₁₀)_n(OCH₂CH₂)_t-, -K-(CR₅R₆)_m(CO)(Ак)_t(CR₉R₁₀)_n(OCH₂CH₂)_t-, -K(CR₅R₆)_m-фенил-CO(Ак)_t(CR₇R₈)_n-, -K-(CR₅R₆)_m-фурил-CO(Ак)_t(CR₇R₈)_n-, -K(CR₅R₆)_m-оксазолил-CO(Ак)_t(CR₇R₈)_n-, -K(CR₅R₆)_m-тиазолил-CO(Ак)_t(CR₇R₈)_n-, -K(CR₅R₆)_t-тиенил-CO(CR₇R₈)_n-, -K(CR₅R₆)_t-имидазолил-CO-(CR₇R₈)_n-, -K(CR₅R₆)_t-морфолино-CO(Ак)_t(CR₇R₈)_n-, -K(CR₅R₆)_t-пиперазино-CO(Ак)_t(CR₇R₈)_n-, -K(CR₅R₆)_t-N-метилпиперазин-CO(Ак)_t(CR₇R₈)_n-, -K(CR₅R₆)_m-(Ак)_t-фенил-, -K-(CR₅R₆)_m-(Ак)_t-фурил-, -K(CR₅R₆)_m-оксазолил(Ак)_t-, -K(CR₅R₆)_m-тиазолил(Ак)_t-, -K(CR₅R₆)_m-тиенил-(Ак)_t-, -K(CR₅R₆)_m-имидазолил(Ак)_t-, -K(CR₅R₆)_m-морфолино(Ак)_t-, -K(CR₅R₆)_m-пиперазино-(Ак)_tG, -K(CR₅R₆)_m-N-метилпиперазино(Ак)_t-, где m, Ак, m и n описаны выше; t и г независимо представляют собой 0 – 100; R₃, R₄, R₅, R₆, R₇ и R₈ независимо выбраны из H; галогенида; C₁~C₈ алкила; C₂~C₈ арила, алкенила, алкинила, простого эфира, сложного эфира, амина или амида, которые необязательно заменены одним или более галогенидом, CN, NR₁R₂, CF₃, OR₁, арилом, гетероциклом, S(O)R₁, SO₂R₁, -CO₂H, -SO₃H, -OR₁, -CO₂R₁, -CONR₁, -PO₂R₁R₂, -PO₃H или P(O)R₁R₂R₃; К представляет собой NR₁, -SS-, -C(=O)-, -C(=O)NH-, -C(=O)O-, -C=NH-O-, -C=N-NH-, -C(=O)NH-NH-, O, S, Se, B, Het (гетероциклическое или гетероароматическое кольцо, имеющее C₃-C₈) или пептиды, содержащие 1-20 аминокислот;

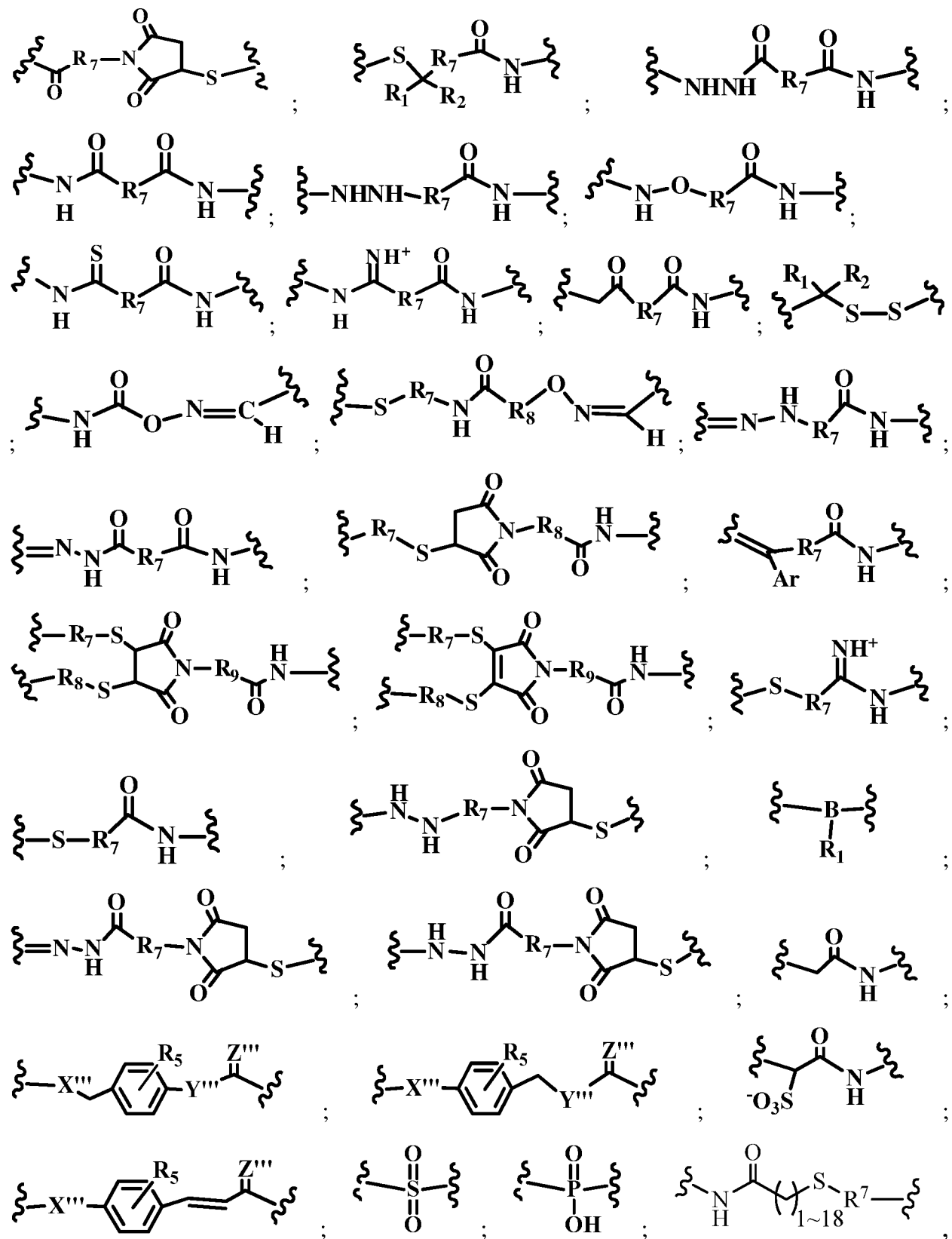
(Е):одной или более из следующих гидрофильных структур:

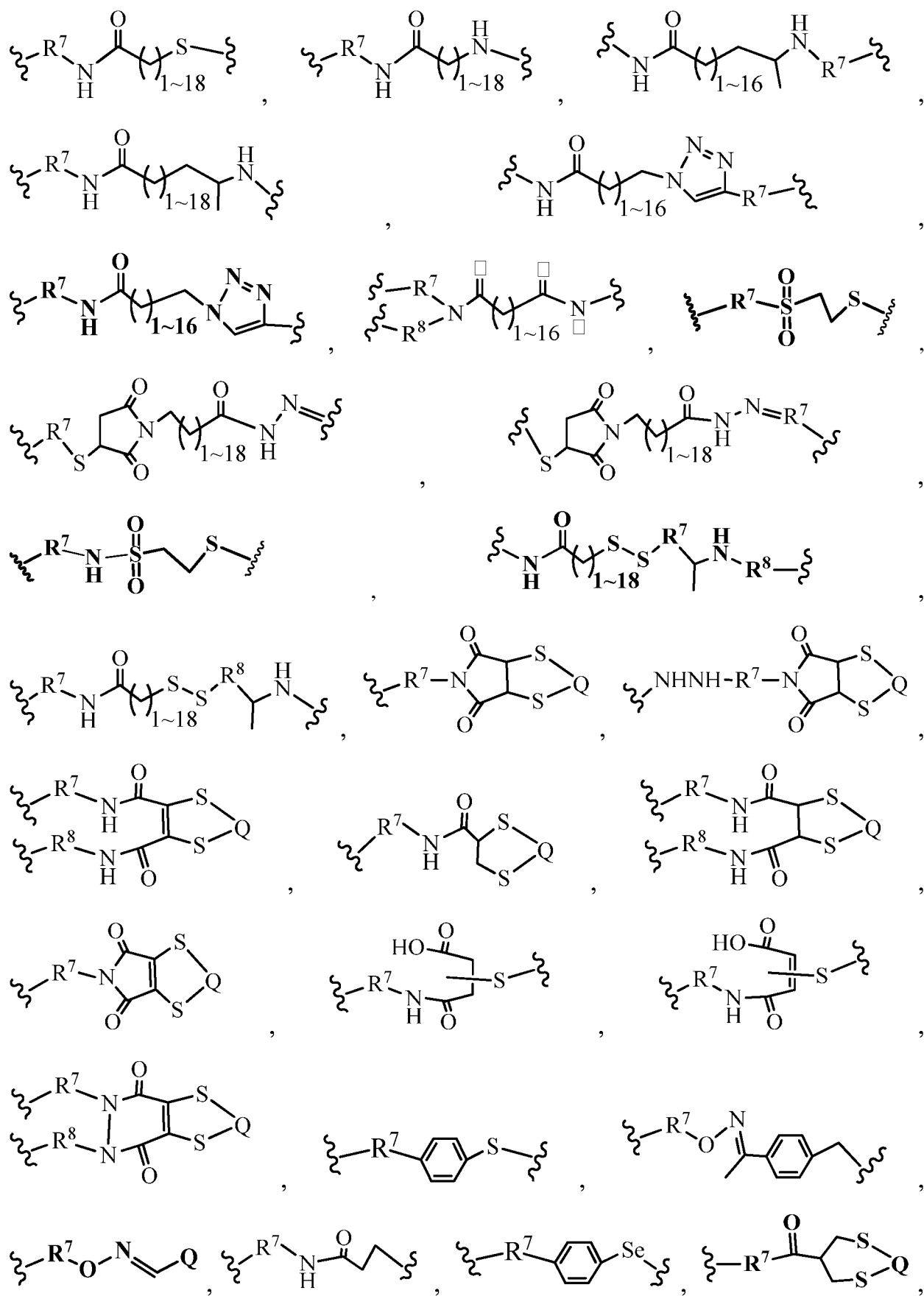




где ζ представляет собой участок связывания; X_2 , X_3 , X_4 , X_5 , или X_6 , независимо выбраны из NH; NHNH; $N(R_3)$; $N(R_3)N(R_3')$; O; S; C_1 - C_6 алкила; C_2 - C_6 гетероалкила, алкилциклоалкила или гетероциклоалкила; C_3 - C_8 арила, Ar-алкила, гетероцикла, карбоцикла, циклоалкила, гетероалкилциклоалкила, алкилкарбонила или гетероарила; или 1-8 одинаковых или различных аминокислот; где R_3 и R_3' независимо представляют собой H; C_1 - C_8 алкил; C_2 - C_8 гетероалкил, алкилциклоалкил или гетероциклоалкил; C_3 - C_8 арил, Ar-алкил, гетероцикл, карбоцикл, циклоалкил, гетероалкилциклоалкил, алкилкарбонил или гетероарил; или C_2 - C_8 сложные эфиры, простой эфир или амид; или полиэтиленокси-единицу, имеющую формулу $(OCH_2CH_2)_p$ или $(OCH_2CH(CH_3))_p$, где p представляет собой целое число от 0 до около 5000, или комбинации вышеперечисленного;

(F). одного или более следующих компонентов, связанных с E₁ и/или E₂, Формулы (I), (Ia), (Ib), (Ic), (Ie): (III), (II), (III) или (IV); или когда Q непосредственно связан с L₁ и/или L₂ Формулы (I), (Ia), (Ib), (Ic), (Ie): (III), (II), (III) или (IV), где V₁, и/или V₂, независимо отсутствуют:





11.Агент/молекула, связывающиеся с клетками, по пп. 1, 2, 3, 4, 5, 6, или 8, выбранные из:

(В): группы, включающей антителоподобный белок, полноразмерное антитело (поликлональное антитело, моноклональное антитело, димер антитела, мультимер антитела), полиспецифическое антитело (выбранное из, биспецифического антитела, триспецифического антитела или тетраспецифического антитела); однопочечное

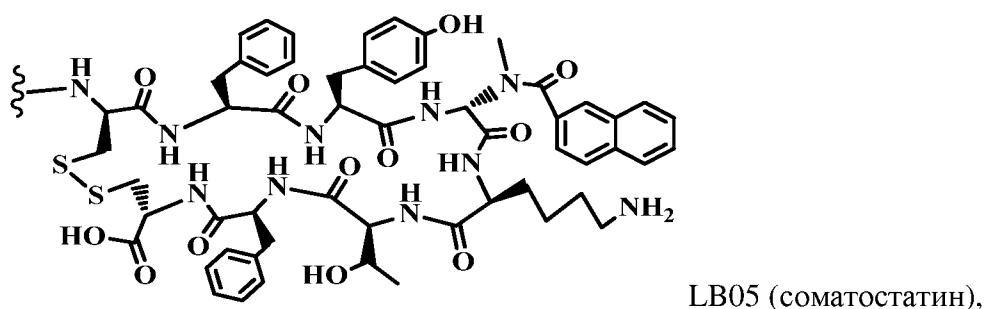
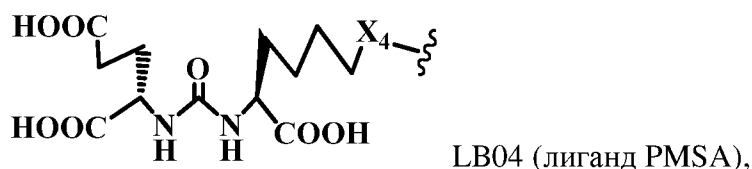
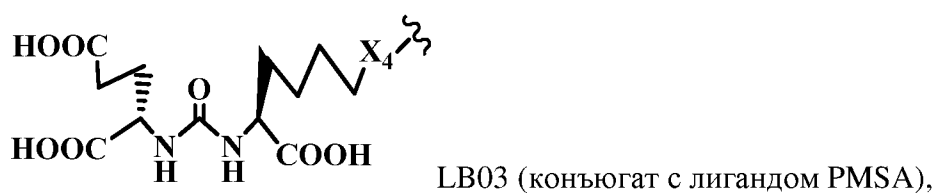
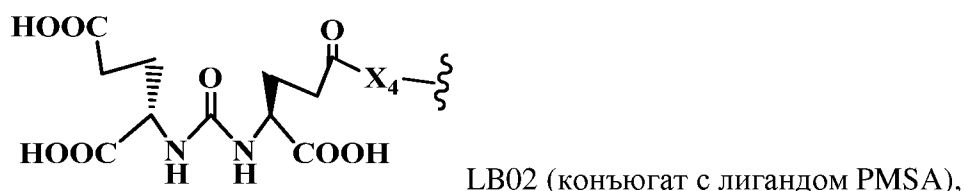
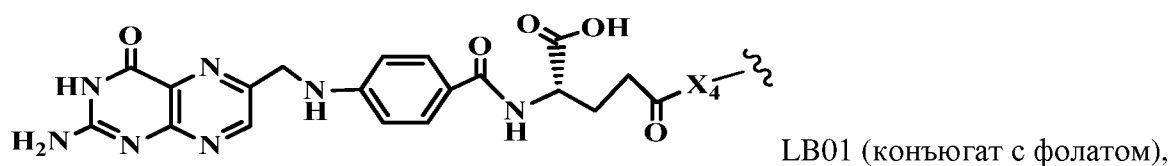
антитело, фрагмент антитела, который связывается с клеткой-мишенью, моноклональное антитело, одноцепочечное моноклональное антитело, фрагмент моноклонального антитела, который связывается с клеткой-мишенью, химерное антитело, фрагмент химерного антитела, который связывается с клеткой-мишенью, доменное антитело, фрагмент доменного антитела, который связывается с клеткой-мишенью, антитело с измененной поверхностью, одноцепочечное антитело с измененной поверхностью или фрагмент антитела с измененной поверхностью, который связывается с клеткой-мишенью, гуманизированное антитело или антитело с измененной поверхностью, гуманизированное одноцепочечное антитело или фрагмент гуманизированного антитела, который связывается с клеткой-мишенью, антиидиотипические (анти-Id) антитела, CDR, диатело, триатело, тетратело, миниантитело, проантитело, фрагмент проантитела, малые иммунные белки (SIP), лимфокин, гормон, витамин, фактор роста, колониестимулирующий фактор, молекулу-переносчик питательных веществ, белки с высокой молекулярной массой, слитые белки, ингибиторы киназы, агенты нацеленные на ген, наночастицы или полимеры, модифицированные антителами или белками с высокой молекулярной массой;

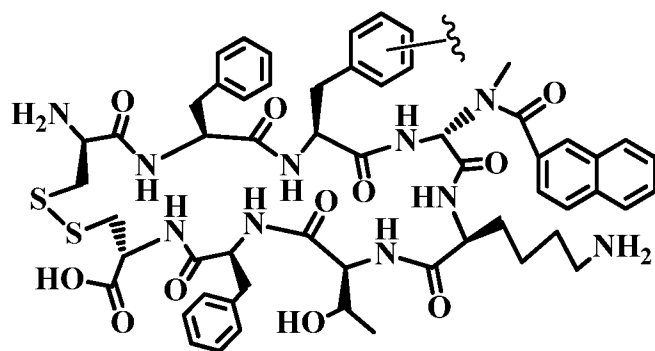
(C): молекулы, связывающейся с клетками, или агониста рецептора, выбранных из: производных фолата; мочевиновых производных глутаминовой кислоты; соматостатина и его аналогов (выбранных из группы, состоящей из октреотида (сандостатин) и ланреотида (соматулин); ароматических сульфонамидов; пептидов, активирующих аденилатциклазу гипофиза (PACAP) (PAC1); вазоактивных кишечных пептидов (VIP/PACAP) (VPAC1, VPAC2); меланоцит-стимулирующего гормона (α -MSH); агонистов холецистокининовых (CCK)/гастриновых рецепторов; бомбезинов (выбранных из группы, состоящей из Pyl-Gln-Arg-Leu-Gly-Asn-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH₂)/гастрин-высвобождающего пептида (GRP); лигандов нейротензиновых рецепторов (NTR1, NTR2, NTR3); лигандов вещества P (NK1 рецептор); нейропептидов Y (Y1-Y6); хоминг-пептидов, включающих RGD (Arg-Gly-Asp), NGR (Asn-Gly-Arg), димерных и мультимерных циклических пептидов RGD (выбранных из cRGDfV), TAASGVRSMH и LTLRWVGLMS (лигандов рецепторов хондроитинсульфата протеогликана NG2) и F3-пептидов, проникающих в клетки (CPP); пептидных гормонов, выбранных из группы, состоящей из агонистов и антагонистов релизинг-фактор лютеинизирующего гормона (LHRH) и агониста гонадотропин-релизинг-гормона (GnRH), воздействующих на выработку фолликулостимулирующего гормона (FSH) и выработку лютеинизирующего гормона (LH), а также на выработку тестостерона, выбранных из группы, состоящей из бусерелина (Pyl-His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser(OtBu)-Leu-Arg-Pro-NHEt), гонадорелина (Pyl-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂), гозерелина (Pyl-

His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser(OtBu)-Leu-Arg-Pro-AzGly-NH₂), гистрелина (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-His(N-бензил)-Leu-Arg-Pro-NHET), лейпролида (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-Leu-Leu-Arg-Pro-NHET), нафарелина (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-2Nal-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂), трипторелина (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂), нафарелина, деслорелина, абареликса (Ac-D-2Nal-D-4-хлор Phe-D-3-(3-пиридил)Ala-Ser-(N-Me)Tyr-D-Asn-Leu-изопропилLys-Pro-DAla-NH₂), цетрореликса (Ac-D-2Nal-D-4-хлорPhe-D-3-(3- пиридил)Ala-Ser-Tyr-D-Cit-Leu-Arg-Pro-D-Ala-NH₂), дегареликса (Ac-D-2Nal-D-4-хлорPhe-D-3-(3- пиридил)Ala-Ser-4-аминоPhe(L- гидрооротил)-D-4-аминоPhe(карбамоил l)-Leu-изопропилLys-Pro-D-Ala-NH₂), ганиреликса (Ac-D-2Nal-D-4-хлорPhe-D-3-(3- пиридил Ala-Ser-Tyr-D-(N9, N10- диэтил)-гомоArg-Leu-(N9, N10- диэтил)-гомоArg-Pro-D-Ala-NH₂); рецепторов распознавания патернов (PRR), выбранных из группы, состоящей из Toll-подобных рецепторов (TLR), лектинов C-типа и Nod-подобных рецепторов (NLR); агонистов рецепторов кальцитонина; рецепторов интегрин и подтипов его рецепторов (выбранных из группы, состоящей из агонистов $\alpha\nu\beta_1$, $\alpha\nu\beta_3$, $\alpha\nu\beta_5$, $\alpha\nu\beta_6$, $\alpha_6\beta_4$, $\alpha_7\beta_1$, $\alpha_L\beta_2$, $\alpha_{IIb}\beta_3$) (выбранных из группы, состоящей из GRGDSPK, цикло(RGDfV) (L1) и его производных [цикло(-N(Me)R-GDfV), цикло(R-Sar-DfV), цикло(RG-N(Me)D-fV), цикло(RGD-N(Me)f-V), цикло(RGDf-N(Me)V-)(силенгитид)]; нанотела (производного VHH (Ig верблюдовых)); доменных антител (dAb, производное домена VH или VL); биспецифического рекрутера Т-клеток (BiTE, биспецифическое диатело); переориентирующегося антитела с двойной аффинностью (DART, биспецифическое диатело); четырехвалентных tandemных антител (TandAb, димеризованное биспецифичное диатело); антикалина (производного липокалинов); аднектинов (10th FN3 (фибронектин)); разработанных белков с анкириновым повтором (дарпинов); авимеров; рецепторов EGF или агонистов рецепторов VEGF;

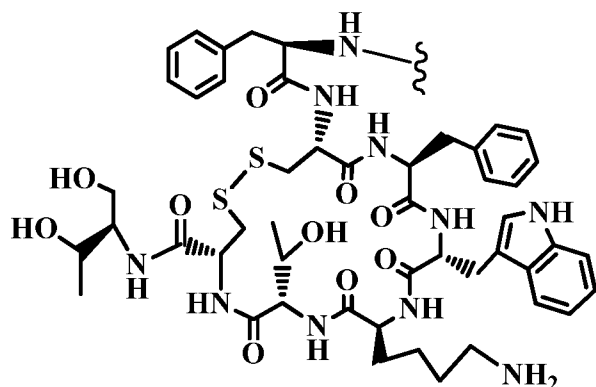
(D): малой молекулы из связывающейся с клеткой молекулы/лиганда или агониста клеточного рецептора, выбранных из следующего: LB01 (фолат), LB02 (лиганд PMSA), LB03 (лиганд PMSA), LB04 (лиганд PMSA), LB05 (соматостатин), LB06 (соматостатин), LB07 (октреотид, аналог соматостатина), LB08 (ланреотид, аналог соматостатина), LB09 (вапреотид (санвар), аналог соматостатина), LB10 (лиганд CAIX), LB11 (лиганд CAIX), LB12 (рецептор высвобождающего гастрин пептида (GRPr), MBA) LB13 (лиганд релизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) и GnRH), LB14 (лиганд релизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) и GnRH-лиганд), LB15 (антагонист GnRH, абареликс), LB16 (кобаламин, аналог витамина B12), LB17 (кобаламин, аналог витамина B12), LB18 (пентапептидный циклический RGD для рецептора интегрин $\alpha\nu\beta_3$), LB19 (гетеро-двухвалентный пептидный лиганд рецептора VEGF), LB20 (нейромедина B), LB21

(бомбезин для рецептора, сопряженного с G-белком), LB22 (TLR₂ для Toll-подобного рецептора), LB23 (для рецептора андрогена), LB24 (циленгитид/цикло(-RGDfV-) для рецептора интергрина α_v), LB23 (флудрокортизон), LB25 (аналог рифабутина), LB26 (аналог рифабутина), LB27 (аналог рифабутина), LB28 (флудрокортизон), LB29 (дексаметазон), LB30 (флутиказона пропионат), LB31 (беклометазона дипропионат), LB32 (триамцинолона ацетонид), LB33 (преднизон), LB34 (преднизолон), LB35 (метилпреднизолон), LB36 (бетаметазон), LB37 (аналог иринотекана), LB38 (аналог кризотиниба), LB39 (аналог бортезомиба), LB40 (аналог карфилзомиба), LB41 (аналог карфилзомиба), LB42 (аналог лейпролида), LB43 (аналог трипторелина), LB44 (клиндамицин), LB45 (аналог лираглутида), LB46 (аналог семаглутида), LB47 (аналог ретапамулина), LB48 (аналог инбулина), LB49 (аналог винбластина), LB50 (аналог ликсисенатида), LB51 (аналог осимертиниба), LB52 (аналог неуклеозида), LB53 (аналог эрлотиниба) или LB54 (аналог лапатиниба), которые представлены следующими структурами:

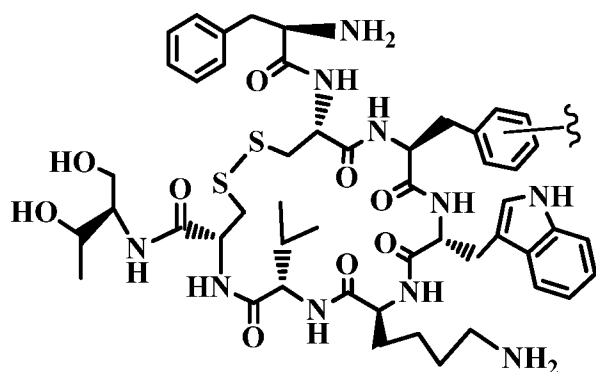




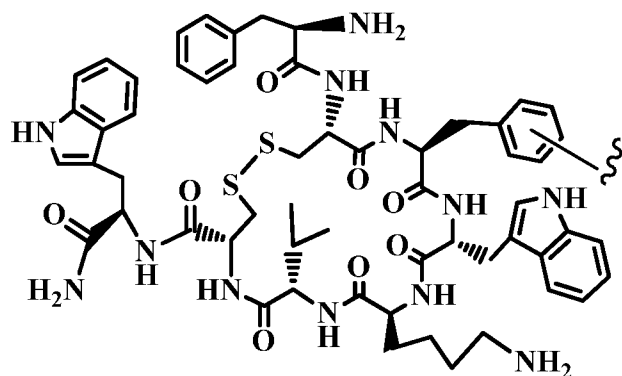
LB06 (соматостатин),



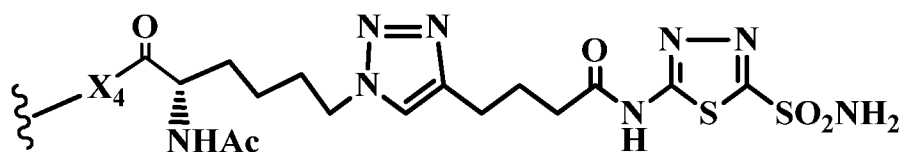
LB07 (октреотид, аналог соматостатина),



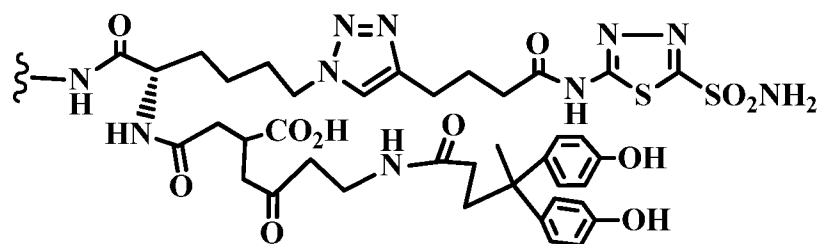
LB08 (ланреотид, аналог соматостатина),



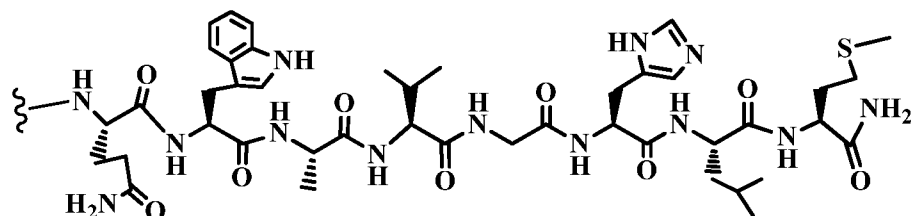
LB09 (вапреотид (санвар), аналог соматостатина),



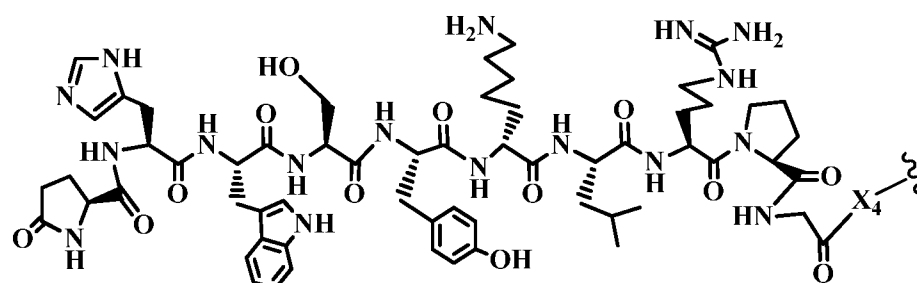
LB10 (лиганд CAIX),



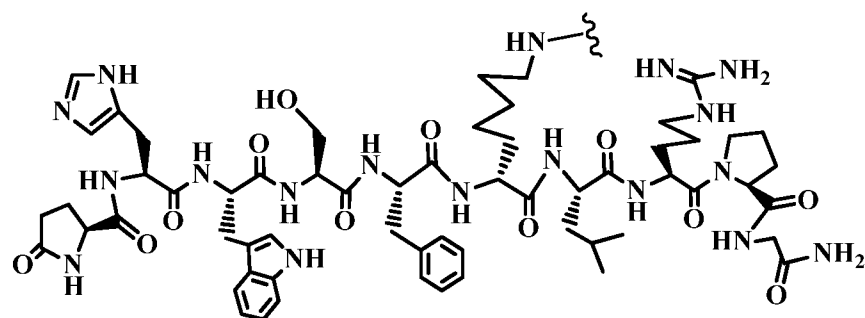
LB11 (лиганд CAIX),



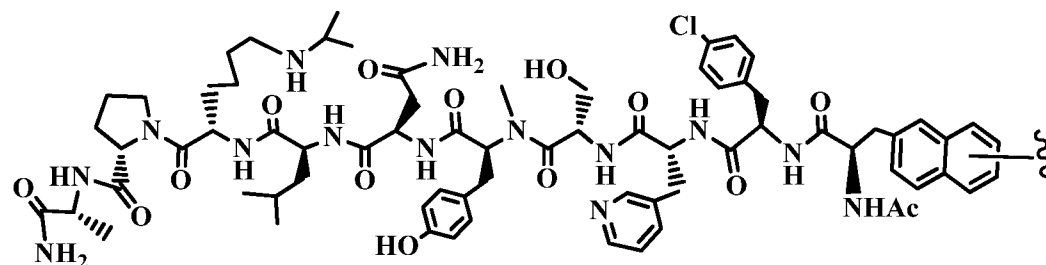
LB12 (рецептор высвобождающего гастрин пептида (GRPr), MBA),



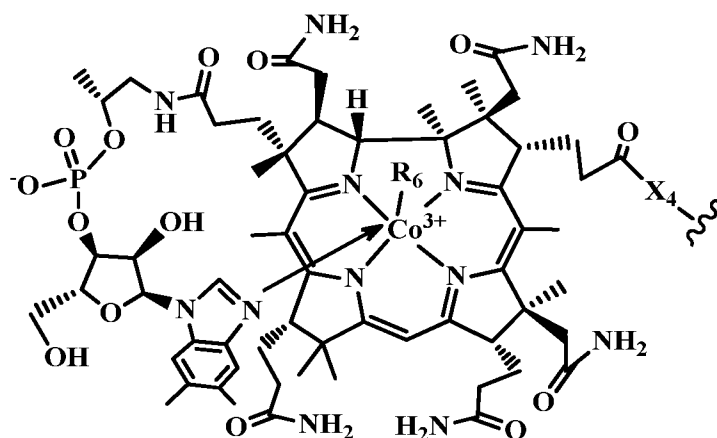
LB13 (лиганд релизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) и GnRH),



LB14 (лиганд релизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) и GnRH),

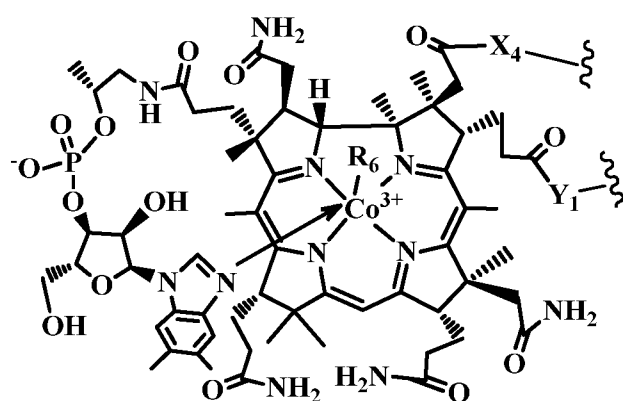


LB15 (GnRH антагонист, абареликс),

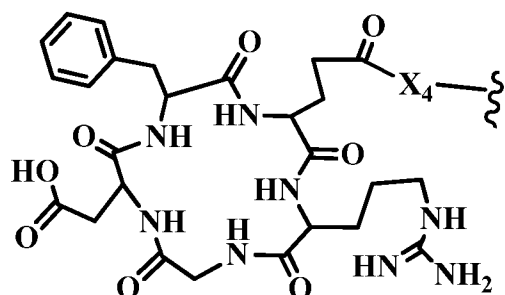
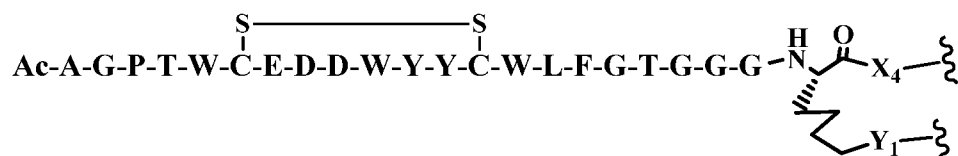


LB16 (кобаламин, аналога витамина

B12),



LB17 (кобаламин, аналога витамина B12),

LB18 (рецептор интегрин $\alpha_v\beta_3$, пентапептидный циклический RGD),

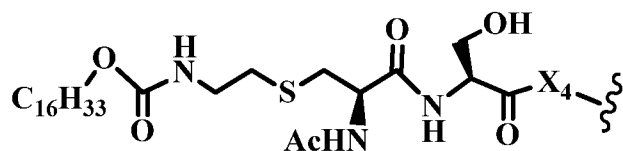
LB19 (конъюгат гетеро-двухвалентного пептидного лиганда рецептора VEGF),



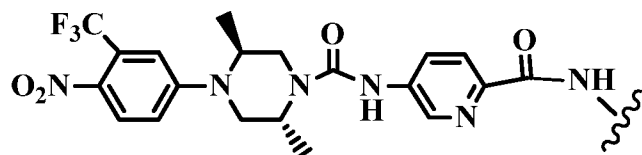
LB20 (нейромедин B),



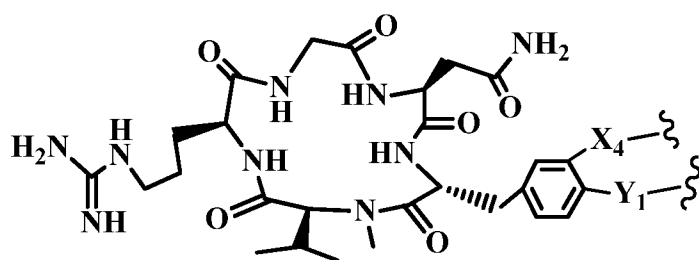
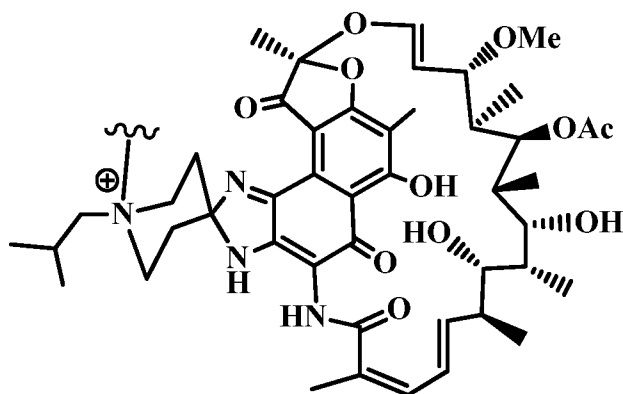
LB21 (конъюгат бомбезина для рецептора, сопряженного с G-белком),

LB22 (конъюгат TLR₂ для Toll-подобного

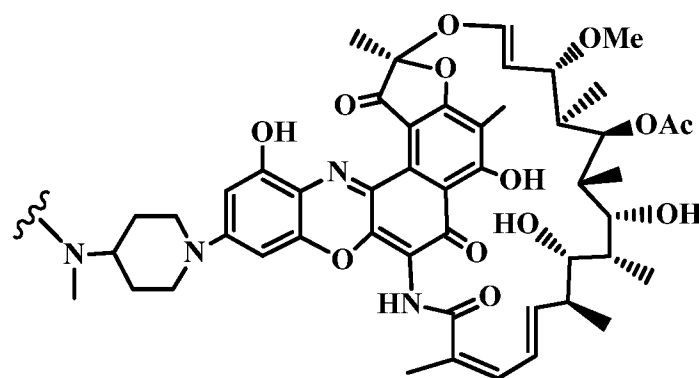
рецептора),



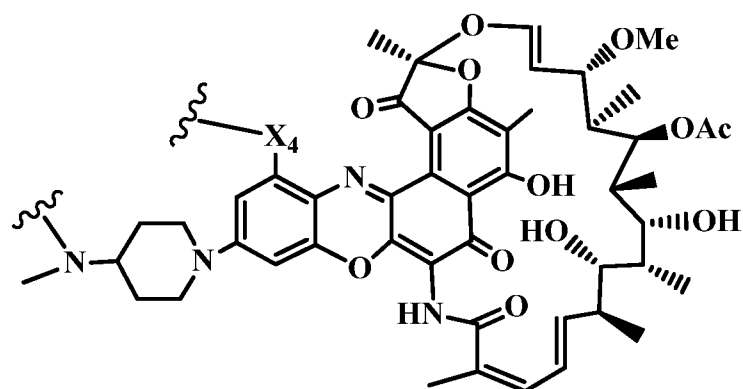
LB23 (рецептор андрогена),

LB24 (циленгитид/цикло(-RGDfV-) конъюгат для рецептора интегрина α_v),

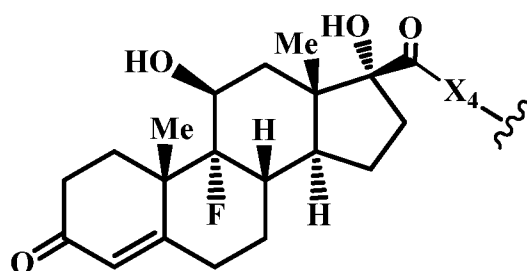
LB25 (аналог рифабутина),



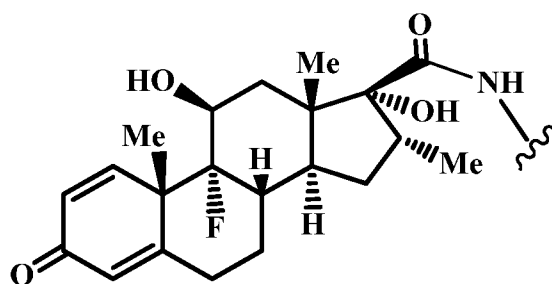
LB26 (аналог рифабутина),



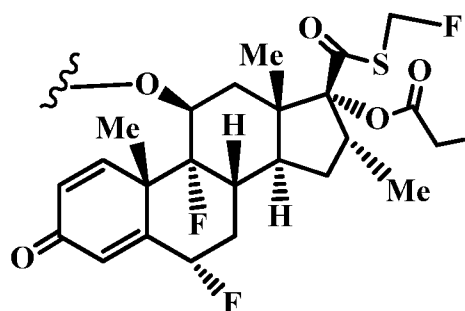
LB27 (аналог рифабутина),



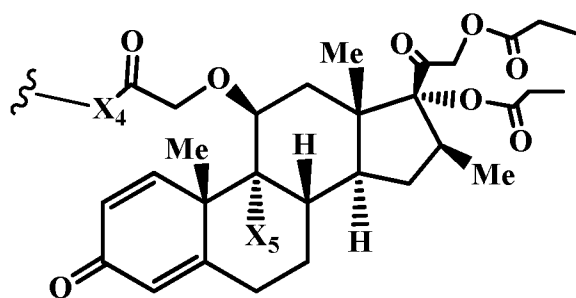
LB28 (флудрокортизон),



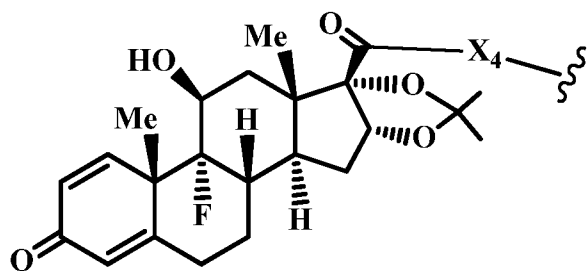
LB29 (дексаметазон),



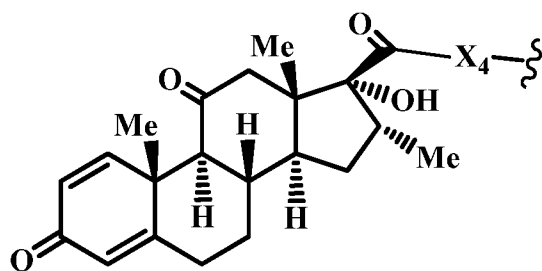
LB30 (флутиказона пропионат),



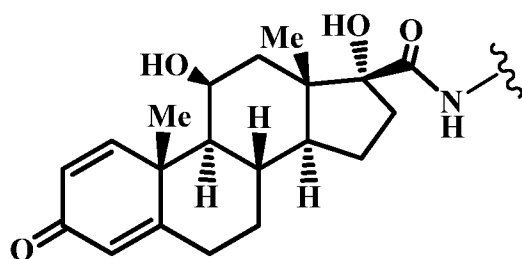
LB31 (беклометазона дипропионат),



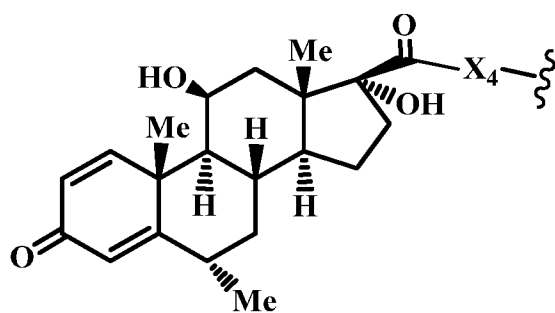
LB32 (триамцинолона ацетонид),



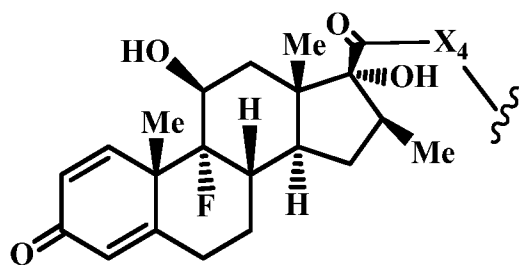
LB33 (преднизон),



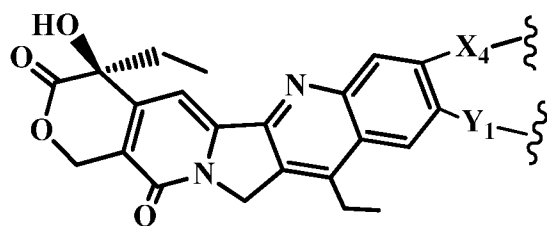
LB34 (преднизолон),



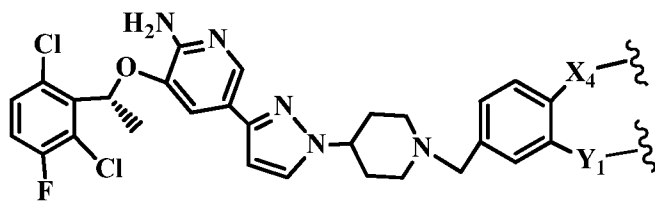
LB35 (метилпреднизолон),



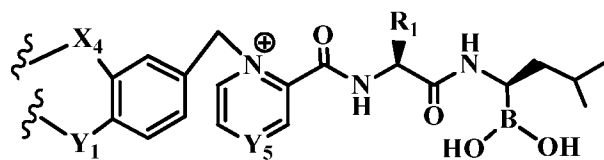
LB36 (бетаметазон),



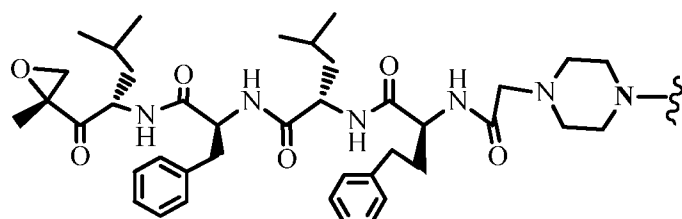
LB37 (аналог иринотекана),



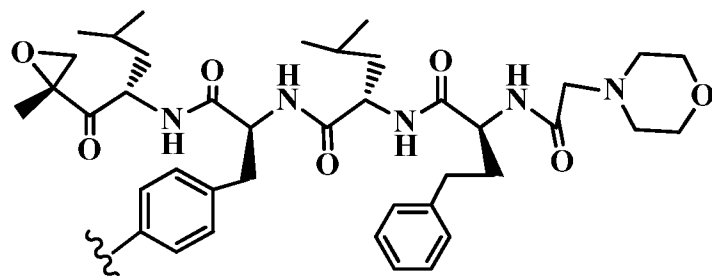
LB38 (аналог кризотиниба),

LB39 (аналог бортезомиба), где Y₅

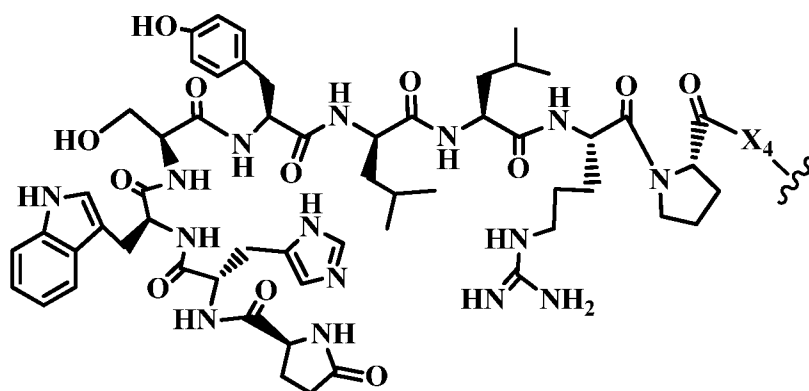
представляет собой N, CH, C(Cl), C(CH₃) или C(COOR₁); R₁ представляет собой H, C₁-C₆ алкил, C₃-C₈ Ar;



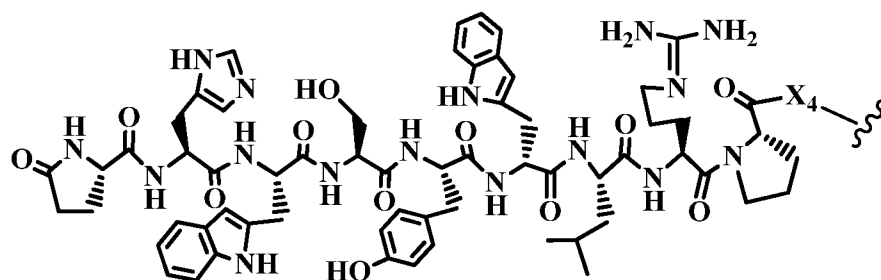
LB40 (аналог карфилзомиба),



LB41 (аналог карфилзомиба),

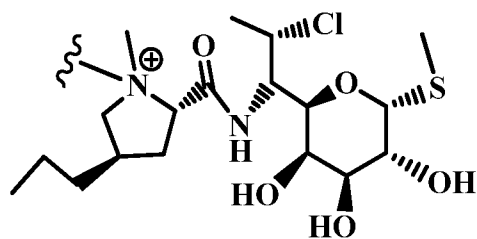


LB42 (аналог лейпролида),

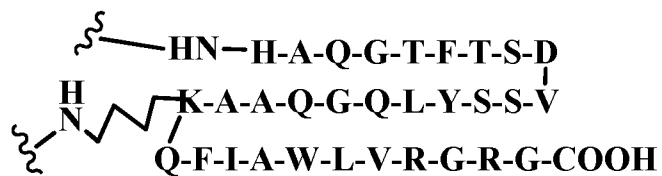


LB43 (аналог

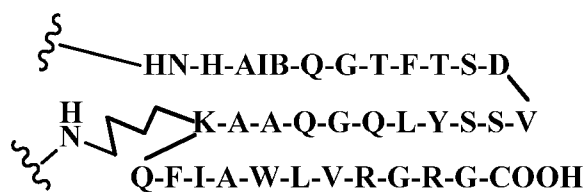
трипторелина),



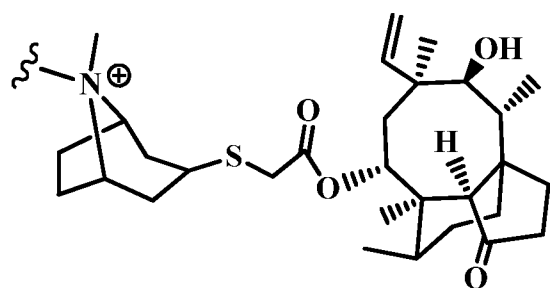
LB44 (клиндамицин),



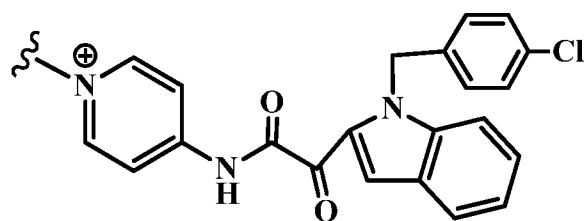
LB45 (аналог лираглутида),



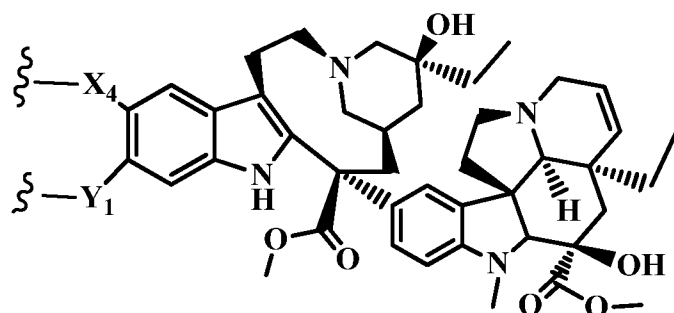
LB46 (аналог семаглутида),



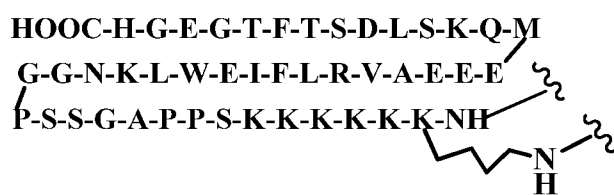
LB47 (аналог ретапамулина),



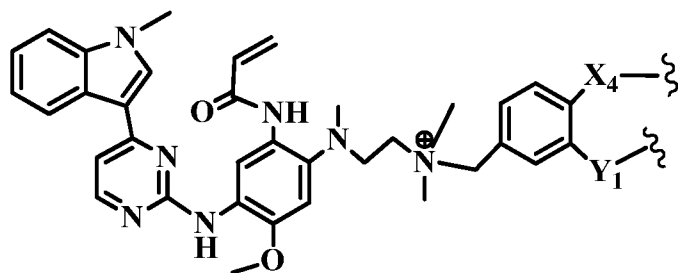
LB48 (аналог инбулина),



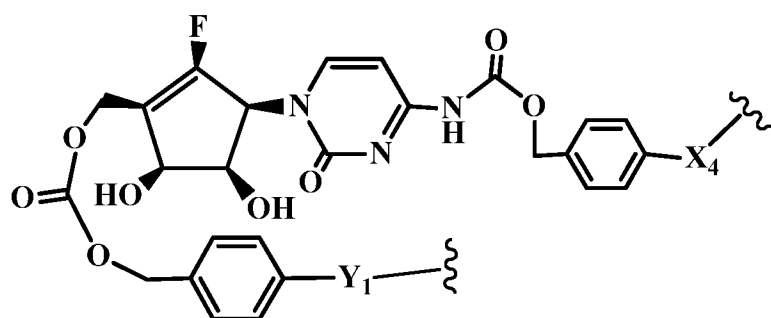
LB49 (аналог винбластина),



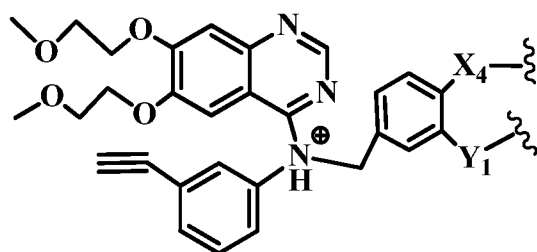
LB50 (аналог ликсисенатида),



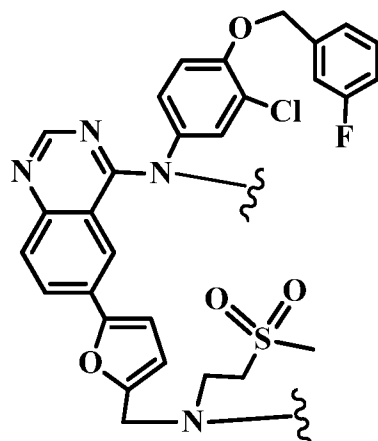
LB51 (аналог осимертиниба),



LB52 (аналог неуклеозида),



LB53 (аналог эрлотииниба),



LB54 (аналог эрлотииниба),

где «» представляет собой участок связывания производного димера PBD по данному изобретению посредством линкера L₁ или/и L₂; X₄ и Y₁ независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR₁, S, C(O)O, C(O)NH, OC(O)NH, OC(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)S, OC(O)N(R₁), N(R₁)C(O)N(R₁), CH₂, C(O)NHNHC(O) и C(O)NR₁; X₁ представляет собой H, CH₂, OH, O, C(O), C(O)NH, C(O)N(R₁), R₁, NHR₁, NR₁, C(O)R₁ или C(O)O; X₅ представляет собой H, CH₃, F или Cl; M₁ и M₂ независимо представляют собой H, Na, K, Ca, Mg, NH₄, N(R₁R₂R₃ R₄); R₁, R₂, R₃ и R₄ определены в п. 1.

12.Агент/молекула, связывающиеся с клетками, по пп. **1, 2, 3, 4, 5, 6, 8** или **10**, способные нацеливать на опухолевую клетку, клетку зараженную вирусом, клетку зараженную

микроорганизмом, клетку зараженную паразитом, клетку аутоиммунного заболевания, активированные опухолевые клетки, миелоидную клетку, активированную Т-клетку, пораженную В-клетку или меланоцит, или любые клетки, экспрессирующие любой из следующих антигенов или рецепторов: CD1, CD1a, CD1b, CD1c, CD1d, CD1e, CD2, CD3, CD3d, CD3e, CD3g, CD4, CD5, CD6, CD7, CD8, CD8a, CD8b, CD9, CD10, CD11a, CD11b, CD11c, CD11d, CD12w, CD14, CD15, CD16, CD16a, CD16b, CDw17, CD18, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD25, CD26, CD27, CD28, CD29, CD30, CD31, CD32, CD32a, CD32b, CD33, CD34, CD35, CD36, CD37, CD38, CD39, CD40, CD41, CD42, CD42a, CD42b, CD42c, CD42d, CD43, CD44, CD45, CD46, CD47, CD48, CD49b, CD49c, CD49d, CD49e, CD49f, CD50, CD51, CD52, CD53, CD54, CD55, CD56, CD57, CD58, CD59, CD60, CD60a, CD60b, CD60c, CD61, CD62E, CD62L, CD62P, CD63, CD64, CD65, CD65s, CD66, CD66a, CD66b, CD66c, CD66d, CD66e, CD66f, CD67, CD68, CD69, CD70, CD71, CD72, CD73, CD74, CD75, CD75s, CD76, CD77, CD78, CD79, CD79a, CD79b, CD80, CD81, CD82, CD83, CD84, CD85, CD85a, CD85b, CD85c, CD85d, CD85e, CD85f, CD85g, CD85h, CD85i, CD85j, CD85k, CD85m, CD86, CD87, CD88, CD89, CD90, CD91, CD92, CD93, CD94, CD95, CD96, CD97, CD98, CD99, CD100, CD101, CD102, CD103, CD104, CD105, CD106, CD107, CD107a, CD107b, CD108, CD109, CD110, CD111, CD112, CD113, CD114, CD115, CD116, CD117, CD118, CD119, CD120, CD120a, CD120b, CD121, CD121a, CD121b, CD122, CD123, CD123a, CD124, CD125, CD126, CD127, CD128, CD129, CD130, CD131, CD132, CD133, CD134, CD135, CD136, CD137, CD138, CD139, CD140, CD140a, CD140b, CD141, CD142, CD143, CD144, CD145, CDw145, CD146, CD147, CD148, CD149, CD150, CD151, CD152, CD153, CD154, CD155, CD156, CD156a, CD156b, CD156c, CD156d, CD157, CD158, CD158a, CD158b1, CD158b2, CD158c, CD158d, CD158e1, CD158e2, CD158f1, CD158f2, CD158g, CD158h, CD158i, CD158j, CD158k, CD159, CD159a, CD159b, CD159c, CD160, CD161, CD162, CD163, CD164, CD165, CD166, CD167, CD167a, CD167b, CD168, CD169, CD170, CD171, CD172, CD172a, CD172b, CD172g, CD173, CD174, CD175, CD175s, CD176, CD177, CD178, CD179, CD179a, CD179b, CD180, CD181, CD182, CD183, CD184, CD185, CD186, CDw186, CD187, CD188, CD189, CD190, CD191, CD192, CD193, CD194, CD195, CD196, CD197, CD198,

CD199, CDw198, CDw199, CD200, CD201, CD202, CD202 (a, b), CD203, CD203c, CD204, CD205, CD206, CD207, CD208, CD209, CD210, CDw210a, CDw210b, CD211, CD212, CD213, CD213a1, CD213a2, CD214, CD215, CD216, CD217, CD218, CD218a, CD218, CD21b9, CD220, CD221, CD222, CD223, CD224, CD225, CD226, CD227, CD228, CD229, CD230, CD231, CD232, CD233, CD234, CD235, CD235a, CD235b, CD236, CD237, CD238, CD239, CD240, CD240ce, CD240d, CD241, CD242, CD243, CD244, CD245, CD246, CD247, CD248, CD249, CD250, CD251, CD252, CD253, CD254, CD255, CD256, CD257, CD258, CD259, CD260, CD261, CD262, CD263, CD264, CD265, CD266, CD267, CD268, CD269, CD270, CD271, CD272, CD273, CD274, CD275, CD276, CD277, CD278, CD279, CD281, CD282, CD283, CD284, CD285, CD286, CD287, CD288, CD289, CD290, CD291, CD292, CD293, CD294, CD295, CD296, CD297, CD298, CD299, CD300, CD300a, CD300b, CD300c, CD301, CD302, CD303, CD304, CD305, CD306, CD307, CD307a, CD307b, CD307c, CD307d, CD307e, CD307f, CD308, CD309, CD310, CD311, CD312, CD313, CD314, CD315, CD316, CD317, CD318, CD319, CD320, CD321, CD322, CD323, CD324, CD325, CD326, CD327, CD328, CD329, CD330, CD331, CD332, CD333, CD334, CD335, CD336, CD337, CD338, CD339, CD340, CD341, CD342, CD343, CD344, CD345, CD346, CD347, CD348, CD349, CD350, CD351, CD352, CD353, CD354, CD355, CD356, CD357, CD358, CD359, CD360, CD361, CD362, CD363, CD364, CD365, CD366, CD367, CD368, CD369, CD370, CD371, CD372, CD373, CD374, CD375, CD376, CD377, CD378, CD379, CD381, CD382, CD383, CD384, CD385, CD386, CD387, CD388, CD389, CRIPTO, CRIPTO, CR, CR1, CRGF, CRIPTO, CXCR5, LY64, TDGF1, 4-1BB, APO2, ASLG659, BMPR1B, 4-1BB, 5AC, 5T4 (гликопротеин трофобласта, TPBG, 5T4, Wnt-активируемый ингибиторный фактор 1 или WAIF1), аденокарциномный анантиген, AGS-5, AGS-22M6, активин-рецептор-подобная киназа 1, AFP, AKAP-4, ALK, альфа-интегрин, альфа v бетаб, аминок-пептидаза N, амилоид бета, рецептор андрогена, ангиопоэтин 2, ангиопоэтин 3, аннексин A1, защитный от токсина сибирской язвы антиген, рецептор анти-трансферрина, AOC3 (VAP-1), B7-H3, *Bacillus anthracisanthrax*, BAFF (фактор активации В-клеток), BCMA, клетка В-лимфомы, bcr-abl, бомбезин, BORIS, C5, C242 антиген, CA125 (углеводный антиген 125, MUC16), CA-IX (или CAIX, карбоангидраза 9), CALLA, CanAg, *Canis lupus familiaris* IL31,

карбоангидраза IX, сердечный миозин, CCL11(С-С-мотив хемокина 11), CCR4 (рецептор С-С хемокина типа 4), CCR5, CD3E (эпсилон), CEA (карциноэмбриональный антиген), CEACAM3, CEACAM5 (карциноэмбриональный антиген), CFD (фактор D), Ch4D5, холецистокинин 2 (CCK2R), CLDN18 (клаудин-18), агглютинирующий фактор А, cMet, CRIPTO, FCSF1R (рецептор колониестимулирующего фактора 1.), CSF2 (колониестимулирующий фактор 2, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF)), CSP4, CTLA4 (цитотоксический белок 4, ассоциированный с Т-лимфоцитами), опухолевый антиген CTAA16.88, CXCR4, С-Х-С хемокиновый рецептор типа 4, циклическая АДФ-рибоза гидролаза, циклин В1, CYP1B1, цитомегаловирус, цитомегаловирусный гликопротеин В, дабигатран, DLL3 (дельта-подобный лиганд 3), DLL4 (дельта-подобный лиганд 4), DPP4 (дипептидил-пептидаза 4), DR5 (рецептор смерти 5), шига-токсин типа 1 кишечной палочки *E. coli*, шига-токсин типа 2 *E. coli*, ED-B, EGFL7 (EGF-подобный белок, содержащий домен 7), EGFR, EGFRII, EGFRvIII, эндоглин, рецептор эндотелина В, эндотоксин, ЕpCAM (молекула адгезии эпителиальных клеток), EphA2, эпизиалин, ERBB2 (рецептор эпидермального фактора роста 2), ERBB3, ERG (ген слияния TMPRSS2 ETS), *Escherichia coli*, ETV6-AML, FAP (белок альфа активации фибробластов), FCGR1, альфа-фетопроtein, фибрин II, бета-цепь, дополнительный домен фибронектина-В, FOLR (фолатный рецептор), альфа-рецептор фолата, фолатгидролаза, Fos-ассоциированный антиген 1, белок F респираторно-синцитиального вируса, связанный с ожогом рецептор, фукозил GM1, GD2 ганглиозид, G-28 (антиген гликолипида клеточной поверхности), GD3 идиотип, GloboH, глипикан 3, N-гликолилнейраминная кислота, GM3, α-цепь рецептора GMCSF, фактор дифференцировки и роста 8, GP100, GPNMB (трансмембранный гликопротеин NMB), GUCY2C (гуанилатциклаза 2C, гуанилилциклаза C(GC-C), кишечная гуанилатциклаза, рецептор гуанилатциклазы C, рецептор термостабильного энтеротоксина (hSTAR)), белки теплового шока, гемагглютинин, поверхностный антиген гепатита В, вирус гепатита В, HER1 (рецептор 1 эпидермального фактора роста человека), HER2, HER2/neu, HER3 (ERBB-3), IgG4, HGF/SF (фактор роста гепатоцитов/фактор рассеяния), HNGFR, ВИЧ-1, комплекс гистонов, HLA-DR (антиген лейкоцитов человека), HLA-DR10, HLA-DRB, HMWMAA, хорионический гонадотропин человека, HNGF, рецепторная киназа рассеивающего фактора человека, HPV E6/E7, Hsp90, hTERT, ICAM-1 (молекула межклеточной адгезии 1), идиотип, IGF1R (IGF-1, рецептор инсулиноподобного фактора роста 1), IGHE, IFN-γ, гемагглютинин вируса гриппа, IgE, область Fc IgE, IGHE, интерлейкины (включая IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-6R, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17, IL-

17A, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-27 или IL-28), IL31RA, IGF2 (инсулиноподобный фактор роста 2), интегрины ($\alpha 4$, $\alpha \text{IIb}\beta 3$, $\alpha \nu \beta 3$, $\alpha 4\beta 7$, $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 6\beta 4$, $\alpha 7\beta 7$, $\alpha \text{II}\beta 3$, $\alpha 5\beta 5$, $\alpha \nu \beta 5$), интерферон гамма-индуцированный белок, ITGA2, ITGB2, KIR2D, каппа-Ig, LCK, Le, легумин, антиген Lewis-Y, LFA-1 (антиген 1, ассоциированный с функцией лимфоцитов, CD11a), LHRH, LINGO-1, липотейхоевая кислота, LIV1A, LMP2, LTA, MAD-CT-1, MAD-CT-2, MAGE-1, MAGE-2, MAGE-3, MAGE A1, MAGE A3, MAGE 4, MART1, MCP-1, MIF (фактор, ингибирующий миграцию макрофагов, или фактор, ингибирующий гликозилирование (GIF)), MS4A1 ((мембранного охвата 4-доменный член 1 подсемейства A), MSLN (мезотелин), MUC1(муцин 1, ассоциированный с клеточной поверхностью (MUC1) или полиморфный эпителиальный муцин (PEM)), MUC1-KLN, MUC16 (CA125), MCP1(хемотаксический белок 1 моноцитов), MelanA/MART1, ML-IAP, MPG, MS4A1 (белок мембранного охвата 4-доменный подсемейства A), MYCN, миелин-ассоциированный гликопротеин, миостатин, NA17, NARP-1, NCA-90 (гранулоцитарный антиген), нектин-4 (ASG-22ME), NGF, нейрональная апоптоз-регулируемая протеиназа 1, NOGO-A, Notch-рецептор, нуклеолин, онкогенный продукт Neu, NY-BR-1, NY-ESO-1, OX-40, OxLDL (окисленный липопротеин низкой плотности), OY-TES1, P21, не мутантный p53, P97, Page4, PAP, паратоп анти-(N-гликолилнейраминовой кислоты), PAX3, PAX5, PCSK9, PDCD1 (PD-1, белок запрограммированной гибели клетки 1), PDGF-R α (рецептор фактора роста тромбоцитов альфа-типа), PDGFR- β , PDL-1, PLAC1, PLAP-подобная щелочная фосфатаза яичка, тромбоцитарный рецептор фактора роста бета, фосфат-натриевый котранспортер, PMEL 17, полисиаловая кислота, протеиназа 3 (PR1), рак предстательной железы, PS (фосфатидилсерин), клетки карциномы предстательной железы, *Pseudomonas aeruginosa*, PSMA, PSA, PSCA, гликопротеин вируса бешенства, RHD (Rh полипептид 1 (RhPI)), резус-фактор, RANKL, RhoC, мутант Ras, RGS5, ROBO4, респираторно-синцитиальный вирус, RON, ROR1, точки инициации транслокации саркомы, SART3, склеростин, SLAMF7 (член семейства SLAM 7), селектин P, SDC1 (синдекан 1), sLe(a), соматомедин C, SIP (сфингозин-1-фосфат), соматостатин, белок 17 сперматозоидов, SSX2, STEAP1 (шести-трансмембранный эпителиальный антиген предстательной железы 1), STEAP2, STn, TAG-72 (ассоциированный с опухолью гликопротеин 72), сурвивин, T-клеточный рецептор, T-клеточный трансмембранный белок, TEM1 (опухолевый эндотелиальный маркер 1), TENB2, тенасцин C (TN-C), TGF- α , TGF- β (трансформирующий фактор роста бета), TGF- $\beta 1$, TGF- $\beta 2$ (трансформирующий фактор роста-бета 2), Tie (CD202b), Tie2, TIM-1 (CDX-014), Tn, TNF, TNF- α , TNFRSF8, TNFRSF10B (член суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли 10B), TNFRSF-13B (член

суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли 13В), TPBG (гликопротеин трофобласта), TRAIL-R1 (рецептор 1 лиганда индуцирующего некроз апоптоз опухоли), TRAILR2 (рецептор смерти 5 (DR5)), ассоциированный с опухолью трансдуктор кальциевого сигнала 2, специфичное для опухоли гликозилирование MUC1, рецептор TWEAK, TYRP1(гликопротеин 75), TRP-2, тирозиназа, VCAM-1, VEGF, VEGF-A, VEGF-2, VEGFR-1, VEGFR2, или виментин, WT1, XAGE 1, или клетки, экспрессирующие любые рецепторы инсулинового фактора роста или любые рецепторы эпидермального фактора роста.

13. Опухолевая клетка по п. **12**, выбранная из группы, состоящей из клеток лимфомы, клеток миеломы, клеток почек, клеток рака молочной железы, клеток рака предстательной железы, клеток рака яичников, клеток колоректального рака, клеток рака желудка, клеток плоскоклеточного рака, клеток мелкоклеточного рака легких, клеток немелкоклеточного рака легких, клеток рака яичек, злокачественных клеток или любых клеток, которые растут и делятся в нерегулируемым, ускоренным образом, приводя к злокачественному новообразованию.

14. Фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество конъюгата соединений по любому одному из пп. **1, 2, 3, 4, 5** или **8**, и его фармацевтически приемлемую соль, носитель, разбавитель или вспомогательное вещество, или комбинацию конъюгатов для лечения или профилактики онкологического заболевания, или аутоиммунного заболевания, или инфекционного заболевания.

15. Фармацевтическая композиция в жидком составе или в составе лиофилизированного твердого вещества по п. **14**, содержащая по массе: 0,01 %–99 % одного или более конъюгатов по любому одному из пп. **1, 2, 3, 4, 5** или **8**; 0,0 %–20,0 % одного или более полиолов; 0,0 %–2,0 % одного или более поверхностно-активных веществ; 0,0 %–5,0 % одного или более консервантов; 0,0 %–30 % одной или более аминокислот; 0,0 %–5,0 % одного или более антиоксидантов; 0,0 %–0,3 % одного или более металлохелатирующих агентов; 0,0 %–30,0 % одной или более буферных солей для коррекции уровня pH состава до pH 4,5–8,5; и 0,0 %–30,0 % одного или более изотонических агентов для коррекции осмотического давления до около 250–350 мОсм при восстановлении для введения пациенту;

причем полиол выбран из фруктозы, маннозы, мальтозы, лактозы, арабинозы, ксилозы, рибозы, рамнозы, галактозы, глюкозы, сахарозы, трегалозы, сорбозы, мелезитозы, рафинозы, маннита, ксилита, эритрита, мальтита, лактита, эритрита, треита, сорбита, глицерина или L-глюконата и его солей металлов;

при этом поверхностно-активное вещество выбрано из полисорбата 20, полисорбата 40, полисорбата 65, полисорбата 80, полисорбата 81 или полисорбата 85, поллоксамера, поли(этиленоксида)-поли(пропиленоксида), полиэтилена-полипропилена, тритона; додецилсульфата натрия (ДСН); октилгликозида натрия; лаурил-, миристил-, линолеил- или стеарилсульфобетаина; лаурил-, миристил-, линолеил- или стеарилсаркозина; линолеил-, миристил- или цетил-бетаина; лауроамидопропил-, кокамидопропил-, линолеамидопропил-, миристамидопропил-, пальмидопропил- или изостеарамидопропилбетаина (лауроамидопропила); миристамидопропил-, пальмидопропил- или изостеарамидопропилдиметиламина; метилкокоил- или динатрийметилолеилтаурата натрия; додецилбетаина, додецилдиметиламинооксида, кокамидопропилбетаина и кокоамфо глицината; или изостеарилэтилимидония этосульфата; полиэтилгликоля, полипропилгликоля и сополимеров этилена и пропиленгликоля;

при этом консервант выбран из бензилового спирта, октадецилдиметилбензиламмонийхлорида, гексаметонийхлорида, хлорида бензалкония, хлорида бензетония, фенола, бутилового и бензилового спирта, алкилпарабенов, метил или пропилпарабена, катехола, резорцина, циклогексанола, 3-пентанола или м-крезола;

при этом аминокислота выбрана из аргинина, цистина, глицина, лизина, гистидина, орнитина, изолейцина, лейцина, аланина, глицина, глутаминовой кислоты или аспарагиновой кислоты;

при этом антиоксидант выбран из аскорбиновой кислоты, глутатиона, цистина или метионина;

при этом хелатообразующий агент выбран из ЭДТА или ЭГТА;

при этом буферная соль выбрана из натриевых, калиевых, аммониевых или тригидроксиэтиламино солей лимонной кислоты, аскорбиновой кислоты, глюконовой кислоты, угольной кислоты, винной кислоты, янтарной кислоты, уксусной кислоты или фталевой кислоты; трис, трометамин гидрохлорида, фосфата или сульфата; аргинина, глицина, глицилглицина или гистидина с анионными ацетатными, хлоридными, фосфатными, сульфатными или сукцинатными солями;

при этом агент, регулирующий тоничность, выбран из маннита, сорбита, ацетата натрия, хлорида калия, фосфата натрия, фосфата калия, тринатрийцитрата или хлорида натрия.

16. Фармацевтическая композиция по п. **14** или **15**, упакованная во флаконе, бутылке, предварительно заполненном шприце или предварительно заполненном шприце с автоинжектором, в виде раствора или лиофилизированного порошка/твердого вещества.

17. Конъюгат по пп. **1, 2, 3, 4, 5** или **8** или в виде фармацевтической композиции по п. **14** или **15**, обладающий активностью уничтожения клетки *in vitro*, *in vivo* или *ex vivo*.

18. Фармацевтическая композиция по п. **14** или **15**, вводимая одновременно с химиотерапевтическим агентом, лучевой терапией, иммунотерапевтическим агентом, агентом против аутоиммунного расстройства, антиинфекционными агентами или другими конъюгатами для синергетически эффективного лечения или профилактики рака, или аутоиммунного заболевания, или инфекционного заболевания.

19. Химиотерапевтический агент по п. **18**, выбранный из:

(1). а). алкилирующих агентов, выбранных из азотистых ипритов: хлорамбуцила, хлорнафазина, циклофосфамида, дакарбазина, эстрамустина, ифосфамида, мехлоретамин, мехлорэтаминоксид гидрохлорида, манномустина, митобронитола, мелфалана, митолактола, пипобромана, новембихина, фенестерина, преднимустина, тиотепы, трофосфамида, урацильного иприта; CC-1065 и адозелезина, карзелезина, бизелезина или их синтетических аналогов; дуокармицина и его синтетических аналогов, димеров KW-2189, CBI-TMI или CBI; димеров бензодиазепина или димеров пирролобензодиазепина (PBD), димеров томаймицина, димеров индолинобензодиазепина, димеров имидазобензотиадизепина или димеров оксазолидинобензодиазепина; нитрозомочевины: включая кармустин, ломустин, хлорозотоцин, фотемустин, нимустин, ранимустин; алкилсульфонатов: включая бусульфан, тресульфан, импросульфан и пипосульфан; триазенов или дакарбазинов; платиносодержащих соединений: включая карбоплатин, цисплатин, оксалиплатин; азиридинов, бензодопы, карбоквона, метуредопы и уредопы; этилениминов и метиламеламинов, включая алтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилентифосфорамид и триметилломеламин];

б). растительных алкалоидов: выбранных из группы, состоящей из алкалоидов барвинка: включая винкрестин, винбластин, виндезин, винорелбин, навелбин; таксоидов: включая паклитаксел, доцетаксол и их аналоги, майтанзиноидов, включая DM1, DM2, DM3, DM4, DM5, DM6, DM7, майтанзина, ансамитоцинов и их аналогов, криптофицинов (в частности, криптофицин 1 и криптофицин 8); эпотилона, элеутеробина, дискодермолида, бриостатинов, долостатинов, ауристатинов, тубулизинов, цефалостатинов; панкратистатина; саркодиктина; спонгистатина;

с). ингибиторов ДНК-топоизомеразы: выбранных из группы эпиподофиллинов: включая 9-аминокамптотецин, камптотецин, криснатол, дауномицин, этопозид, этопозид фосфат, иринотекан, митоксантрон, новантрон, ретиновые кислоты (или ретинолы), тенипозид, топотекан, 9-нитрокамптотецин или RFS 2000; и митомицины, и их аналоги;

д). анти-метаболитов: выбранных из группы, состоящей из {[анти-фолатов: (ингибиторы DHFR: включая метотрексат, триметрексат, деноптерин, птероптерин, аминоптерин (4-аминоптероевая кислота) или других аналогов фолиевой кислоты); ингибиторов IMP-дегидрогеназы: (включая микофеноловую кислоту, тиазофуридин, рибавирин, EICAR); ингибиторов рибонуклеотидредуктазы: (включая гидроксимочевину, дефероксамин)]; [аналогов пиримидина: аналогов урацила: (включая анцитабин, азациитидин, 6-азауридин, капецитабин, кармофур, цитарабин, дидезоксуридин, доксифлуридин, эноцитабин, 5-фторурацил, флоксуридин, ратитрексед); аналогов цитозина: (включая цитарабин, цитозинарабинозид, флударабин); аналогов пурина: (включая азатиоприн, флударабин, меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин)]; пополнителей запаса фолиевой кислоты, фролиновой кислоты)];

е). гормональной терапии: выбранной из антагонистов рецепторов: [антиэстрогенов: (включая мегестрол, ралоксифен, тамоксифен); агонисты LHRH: (включая гозерелин, лейпролид ацетат); антиандрогенов: (включая бикалутамид, флутамид, калустерон, дромостанолон пропионат, эпитиостанол, гозерелин, лейпролид, мепитиостан, нилутамид, тестолактон, трилостан и другие ингибиторы андрогенов)]; ретиноидов/дельтоидов: [аналогов витамина D3: (включая CB 1093, EB 1089 KN 1060, холекальциферол, эргокальциферол); фотодинамической терапии: (включая вертепорфин, фталоцианин, фотосенсибилизатор Pc4, деметоксигипокреллин A); цитокинов: (включая интерферон-альфа, интерферон-гамма, фактор некроза опухолей (TNF), белки человека, содержащие домен TNF)]];

ф). ингибитора киназы, выбранного из группы состоящей из BIBW 2992 (анти-EGFR/Erb2), иматиниба, гефитиниба, пегатиниба, сорафениба, дазатиниба, сунитиниба, эрлотиниба, нилотиниба, лапатиниба, акситиниба, пазопаниба, вандетаниба, E7080 (анти-VEGFR2), мумбритиниба, понатиниба, бафетиниба, бозутиниба, кабозантиниба, висмодегиба, инипариба, руксолитиниба, CYT387, акситиниба, тивозаниба, сорафениба, бевацизумаба, цетуксимаба, трастузумаба, ранибизумаба, панитумумаба, испинесиба;

г). ингибиторов поли(АДФ-рибозо)полимеразы (PARP), выбранных из группы состоящей из олапариба, нирапариба, инипариба, талазопариба, велипариба, велипариба, CEP 9722 (Cephalon), E7016 (Eisai), BGB-290 (BeiGene), 3-аминобензамида;

h). антибиотиков, выбранных из группы, состоящей из энедииновых антибиотиков (выбранных из группы, состоящей из калихеамицина, калихеамицина $\gamma 1$, $\delta 1$, $\alpha 1$ или $\beta 1$; динемиина, включая динемиин А и дезоксидинемиин; эсперамицина, кедарцидина, С-1027, мадурупептина или неокарциностатинового хромофора и родственных хромопротеиновых хромофоров энедииновых антибиотиков), аклациномизинов, актиномицинов, аутрамицинов, азасеринов, блеомицинов, кактиномицинов, карабицинов, карминомицинов, карцинофилинов; хромомицинов, дактиномицинов, даунорубицинов, деторубицинов, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцина, доксорубицина, морфолино-доксорубицина, цианоморфолино-доксорубицина, 2-пирролинодоксорубицина и дезоксидоксорубицина, эпирубицина, эзорубицина, идарубицина, марцелломицина, нитомицинов, микофенолокислоты, ногаламицина, оливомицинов, пепломицина, потфиромицина, пуромицина, келамицина, родорубицина, стрептонигрина, стрептозоцина, туберцидина, убенимекса, зиностатиона, зорубицина;

i). поликетиды (ацетогенины), булатацина и булатацинона; гемцитабина, эпоксомиицинов и карфилзомиба, бортезомиба, талидомида, леналидомида, помалидомида, тозедостата, зибрестата, PLX4032, STA-9090, стимувакса, алловектина-7, ксегевы, провенжа, ервоя, ингибиторов изопренилирования и ловастатины, допаминергических нейротоксинов и 1-метил-4-фенилпиридиниевого иона, ингибиторов клеточного цикла (включая стауроспорин), актиномицинов (включая актиномицин D, дактиномицин), амантинов, блеомицинов (включая блеомицин A2, блеомицин B2, пепломицин), антрациклинов (включая даунорубицин, доксорубицин (адриамицин), идарубицина, эпирубицина, пирарубицина, зорубицина, метоксантрона, ингибиторов MDR или верапамила, ингибиторов Ca^{2+} -АТФазы или тапсигаргина, ингибиторов гистондеацетилазы (включая вориностат, ромидеписин, панобиностат, вальпроевую кислоту, моцетинонат (MGCD0103), белинонат, PCI-24781, энтинонат, SB939, ресминонат, гивинонат, AR-42, CUDC-101, сульфорафан, трихостатин А); тапсигаргина, целекоксиба, глитазонов, эпигаллокатехина галлата, дисульфирама, салиноспорамида А; антиадренальных средств, выбранных из группы, состоящей из аминоклутетимида, митотана, трилостана; ацеглатона; альдофосфамидного гликозида; аминоклевулиновой кислоты; амсакина; арабинозида, бестрабуцила; бизантрена; эдатраксата; дефофамина; демеколцина; диазиквона; эфлорнитина (DFMO), элфомитина; эллиптиния ацетата, этоглуцида; нитрата галлия; гацитозина, гидроксимочевина; ибандроната, лентинана; лонидамина; митогуазона; митоксантрона; мопидамола; нитракрина; пентостатина; фенамета; пирарубицина; подофиллиновой кислоты; 2-этилгидразида; прокарбазина; PSK®; разоксана; ризоксина;

сизофирана; спирогермания; тенуазоновой кислоты; триазиквона; 2,2',2''-трихлортриэтиламина; трихотеценов (включая группу, состоящую из токсина Т-2, веррукарина А, рорицина А и ангуидина); уретана, миРНК, антисмысловых лекарственных средств;

(2). агента против аутоиммунных заболеваний: циклоспорина, циклоспорина А, аминокaproновой кислоты, азатиоприна, бромокриптина, хлорамбуцила, хлорохина, циклофосфамида, кортикостероидов (включая группу, состоящую из амцинонида, бетаметазона, будесонида, гидрокортизона, флунизотида, флутиказона пропионата, флуоокртолона даназола, дексаметазона, триамцинолона ацетонида, беклометазона дипропионата), ДНЕС, энанерцепта, гидроксихлорохина, инфликсимаба, мелоксикама, метотрексата, мофетила, микофенилата, преднизона, сиролимуса, такролимуса.

(3). Агентов против инфекционного заболевания, включающих:

а). аминогликозиды: амикацин, астромицин, гентамицин (нетилмицин, сизомицин, изепамицин), гигромицин В, канамицин (амикацин, арбекацин, беканамицин, дибекацин, тобрамицин), неомицин (фрамицетин, паромомицин, рибостамицин), нетилмицин, спектиномицин, стрептомицин, тобрамицин, вердамицин;

б). амфениколы: азидамфеникол, хлорамфеникол, флорфеникол, тиамфеникол;

с). ансамицины: гелданамицин, гербимицин;

д). карбапенемы: биापеном, дорипеном, эртапеном, имипеном/циластатин, меропеном, панипеном;

е). цефемы: карбацефем (лоракарбеф), цефаксетрил, цефаклор, цефрадин, цефадроксил, цефалониум, цефалоридин, цефалотин или цефалосин, цефалексин, цефалоглицин, цефамандол, цефапирин, цефатризин, цефазафлур, цефазедон, цефазолин, цефбуперазон, цефкапен, цефальдоксим, цефепим, цефминокс, цефокситин, цефпрозил, цефроксадин, цефтезол, цефуроксим, цефиксим, цефдинир, цефдиторен, цефепим, цефетамет, цефменоксим, цефодизим, цефоницид, цефоперазон, цефоранид, цефотаксим, цефотиам, цефозопран, цефалексин, цефпимизол, цефпирамид, цефпиром, цефподоксим, цефпрозил, цефхином, цефсулодин, цефтазидим, цефтерам, цефтибутен, цефтиолен, цефтизоксим, цефтобипрол, цефтриаксон, цефутоксим, цефузонам, цефамицин (включая цефокситин, цефотетан, цефметазол), оксацефем (фломоксеф, латамоксеф);

ф). гликопептиды: блеомицин, ванкомицин (включая оритаванцин, телаванцин), тейкопланин (далбаванцин), рамопланин;

г). глицилциклины: тигециклин;

h). ингибиторы лактамазы: пенам (сульбактам, тазобактам), клавам (клавулановая кислота);

i). линкозамиды: клиндамицин, линкомицин;

j). липопептиды: даптомицин, A54145, кальций-зависимые антибиотики (CDA);

k). макролиды: азитромицин, цетромицин, кларитромицин, диритромицин, эритромицин, флуэритромицин, джозамицин, кетолид (телитромицин, цетромицин), мидекамицин, миокамицин, олеандомицин, рифамицин (рифампицин, рифампин, рифабутин, рифапентин), рокитамицин, рокситромицин, спектиномицин, спирамицин, такролимус (FK506), тролеандомицин, телитромицин;

l). монобактамы: азтреонам, тигемонам;

m). оксазолидиноны: линезолид;

n). пенициллины: амоксициллин, ампициллин (пивампицилин, гетациклин, бакампенициллин, метампициллин, талампициллин), азидоциллин, азлоциллин, бензилпенициллин, бензатин бензилпенициллин, бензатин феноксиметил-пенициллин, клометоциллин, прокаин бензилпенициллин, карбенициллин (кариндациллин), флуклоксациллин, диклоксациллин, эпициллин, флуклоксациллин, мециллинам (пивмециллинам), мезлоциллин, метициллин, нафциллин, оксациллин, пенамециллин, пенициллин, фенетилциллин, феноксиметилпенициллин, пиперациллин, пропициллин, сульбенициллин, темоциллин, тикарциллин;

o). полипептиды: бацитрацин, колистин, полимиксин В;

p). хинолоны: алатрофлоксацин, балофлоксацин, цiproфлоксацин, клинафлоксацин, данофлоксацин, дифлоксацин, эноксацин, энрофлоксацин, флоксин, гареноксацин, гатифлоксацин, гемифлоксацин, грепафлоксацин, кано тровафлоксацин, левофлоксацин, ломефлоксацин, марбофлоксацин, моксифлоксацин, надифлоксацин, норфлоксацин, орбифлоксацин, офлоксацин, пефлоксацин, тровафлоксацин, грепафлоксацин, ситафлоксацин, спарфлоксацин, темафлоксацин, тосуфлоксацин, тровафлоксацин;

q). стрептограмины: пристинамицин, хинупристин/дальфопристин;

r). сульфонамиды: мафенид, пронтозил, сульфацетамид, сульфаметизол, сульфанилид, сульфасалазин, сульфизоксазол, триметоприм, триметоприм-сульфаметоксазол (котримоксазол);

s). стероидные антибактериальные средства: выбранные из фузидовой кислоты;

t). тетрациклины: доксициклин, хлортетрациклин, клемоциклин, демеклоциклин, лимециклин, меклоциклин, метациклин, миноциклин, окситетрациклин, пенимециклин, ролитетрациклин, тетрациклин, глицилциклины (включая тигециклин);

и). другие типы антибиотиков: аннонацин, арсфенамин, ингибиторы бактопренола (бацитрацин), ингибиторы DADAL/AR (циклосерин), диктиостатин, дискодермолид, элейтеробин, эпотилон, этамбутол, этопозид, фаропенем, фузидиевая кислота, фуразолидон, изониазид, лаулималид, метронидазол, мупироцин, миколактон, ингибиторы синтеза NAM (фосфомицин), нитрофурантоин, паклитаксел, платенсимицин, пиразинамид, квинупристин/дальфопристин, рифампицин (рифампин), тазобактам тинидазол, уварицин.

(4). Противовирусных лекарственных средств, включающих:

а). ингибиторы входа/слияния: аплавирок, маравирок, викривирок, *gp41* (энфувиртид), PRO 140, CD4 (ибализумаб);

б). ингибиторы интегразы: ралтегравир, элвитегравир, глобоиднан А;

с). ингибиторы созревания: бевиримат, вивекон;

д). ингибиторы нейраминидазы : осельтамивир, занамивир, перамивир;

е). нуклеозиды и нуклеотиды: абакавир, ацикловир, адефовир, амдоксовир, априцитабин, бривудин, цидофовир, клевудин, дексельвучитабин, диданозин (ddI), элвучитабин, эмтрицитабин (FTC), энтекавир, фамцикловир, фторурацил (5-FU), 3'-фтор-замещенные 2',3'-дидезоксинуклеозидные аналоги (включая группу состоящую из 3'-фтор-2',3'-дидезокситимидин (FLT) и 3'-фтор-2',3'-дидезоксигуанозин (FLG), фомивирсен, ганцикловир, идоксуридин, ламивудин (ЗТС), 1-нуклеозиды (включая группу состоящую из β -1-тимидин и β -1-2'-дезокситидин), пенцикловир, рацивир, рибавирин, стампидин, ставудин (d4T), тарибавирин (вирамидин), телбивудин, тенофовир, трифлуридин, валацикловир, валганцикловир, зальцитабин (ddC), зидовудин (AZT);

ф). ненуклеозиды: амантадин, атевиридин, каправирин, диарилпиримидины (этравирин, рилпивирин), делавирдин, докозанол, эмивирин, эфавиренц, фоскарнет (фосфономуравьиная кислота), имиквимод, интерферон-альфа, ловирид, лоденозин, метизазон, невирапин, NOV-205, пэгинтерферон альфа подофиллотоксин, рифампицин, римантадин, ресиквимод (R-848), тромантадин;

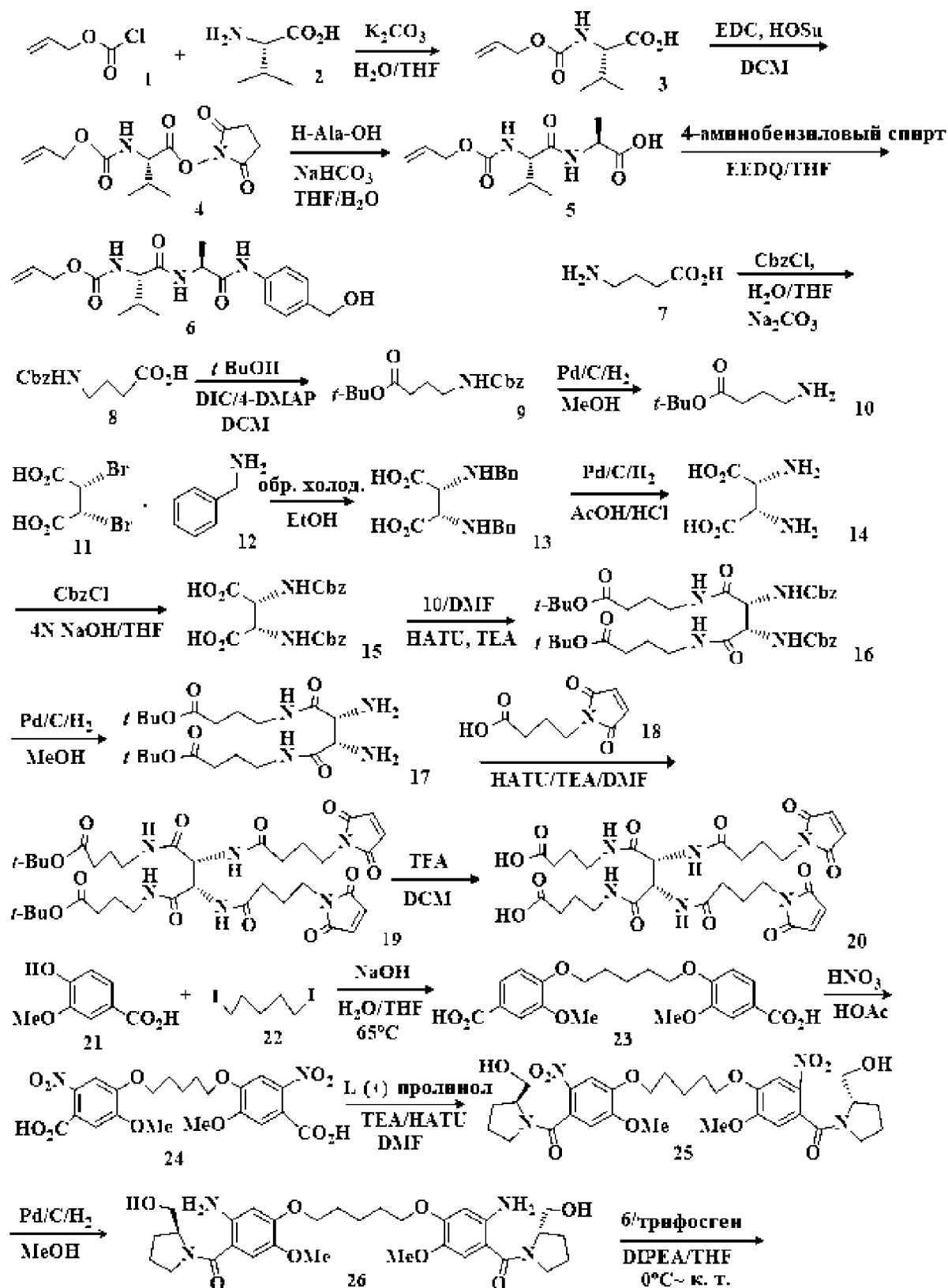
г). ингибиторы протеазы: ампренавир, атазанавир, боцепревир, дарунавир, фосампренавир, индинавир, лопинавир, нелфинавир, плеконарил, ритонавир, саквинавир, телапревир (VX-950), типранавир;

и). другие типы противовирусных лекарственных средств: абзим, арбидол, каланолид А, церагенин, циановирин-н, диарилпиримидины, эпигаллокатехин галлат (EGCG), фоскарнет, гриффитсин, тарибавирин (вирамидин), гидроксимочевина, КР-1461, милтефозин, плеконарил, комбинированные гибридные ингибиторы рибавирин, селицилиб.

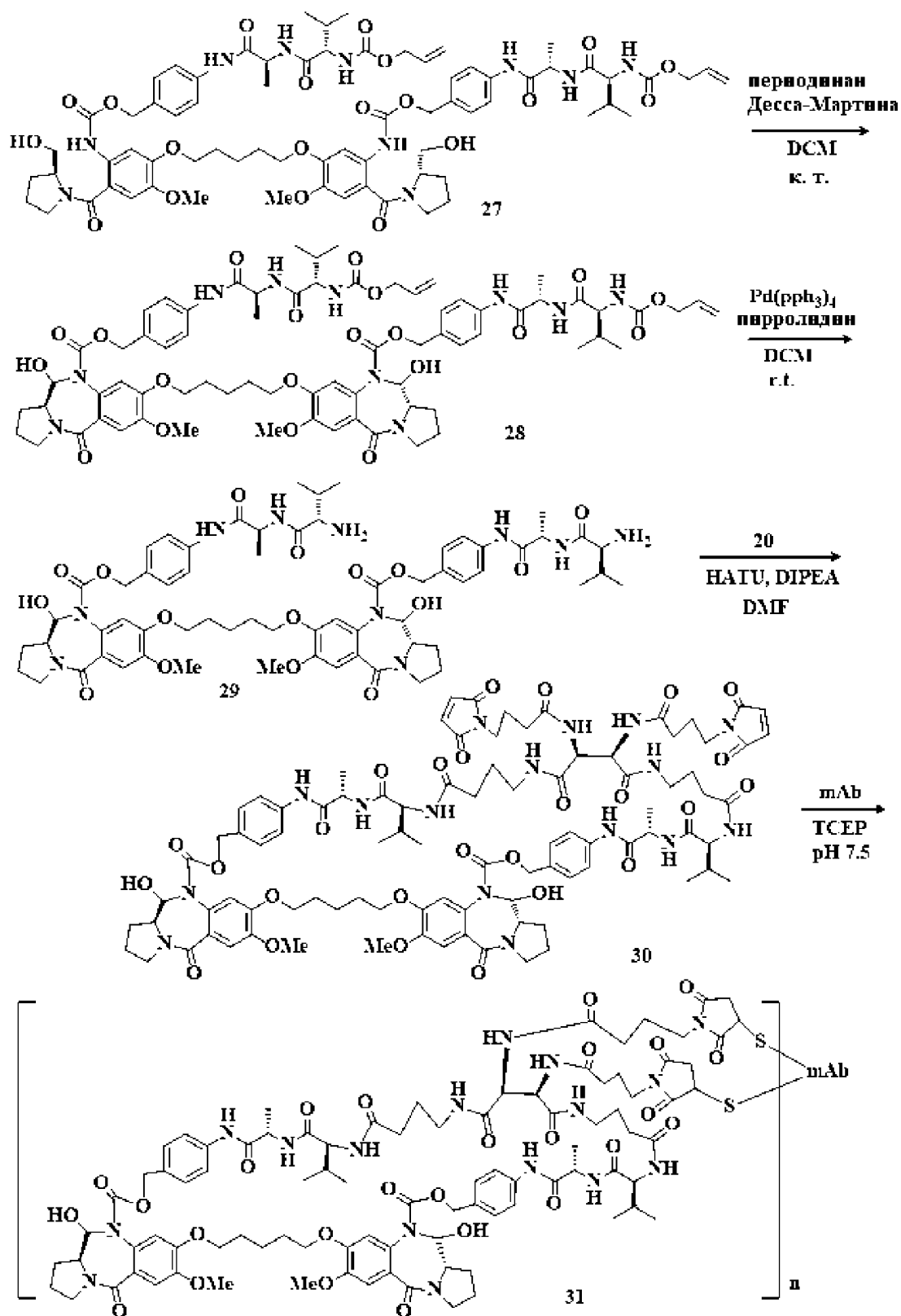
(5). Фармацевтически приемлемых солей, кислот, производных, гидратной или гидратированной соли; или кристаллической структуры; или оптического изомера, рацемата, диастереомера или энантиомера любого из вышеуказанных лекарственных средств.

20. Синергетические агенты по п. 20, выбранные из одного или более следующих лекарственных средств: абатацепт, абемациклиб, абиратерона ацетат, абраксан, ацетаминофен / гидрокодон, акалабрутиниб, адуканумаб, адалимумаб, ADXS31-142, ADXS-HER2, афатиниб дималеат, альдеслейкин, алектиниб, алемтузумаб, алитретиноин, адо-трастузумаб эмтанзин, амфетамин/декстроамфетамин, анастрозол, арипипразол, антрациклины, арипипразол, атазанавир, атезолизумаб, аторвастатин, авелумаб, аксикабтаген цилолейцел, акситиниб, белиноостат, BCG Live, бевацизумаб, бексаротен, блинатумомаб, бортезомиб, бозутиниб, брентуксимаб ведотин, бригаиниб, будесонид, будесонид/формотерол, бупренорфин, кабазитаксел, кабозантиниб, капматиниб, капецитабин, карфилзомиб, химерные антигенные рецепторные сконструированные Т-клетки (CAR-T), целекоксиб, церитиниб, цетуксимаб, хидамид, циклоспорин, цинакальцет, кризотиниб, кобиметиниб, козентикс, кризотиниб, CTL019, дабигатран, дабрафениб, дакарбазин, даклизумаб, дакомотиниб, даптомицин, даратумумаб, дарбэпоэтин альфа, дарунавир, дасатиниб, денилейкин дифтитокс, деносумаб, депакот, декслансопразол, дексметилфенидат, дексаметазон, система охлаждения DigniCap, динутуксимаб, доксициклин, дулоксетин, дювелисиб, дурвалумаб, элотузумаб, эмтрицитабин/рилпивирин/тенофовира дизопроксилфумарат, эмтрицитабин / тенофовир/эфавиренз, эноксапарин, энсартиниб, энзалутамид, эпоэтин альфа, эрлотиниб, эзомепразол, эзопиклон, этанерцепт, эверолимус, экземестан, эверолимус, экзенатид ER, эзетимиб, эзетимиб / симвастатин, фенофибрат, филграстим, финголимод, флутиказона пропионат, флутиказон / сальметерол, фулвестрант, газыва, гефитиниб, глатирамер, ацетат гозерелина, икотиниб, иматиниб, ибритумомаб тиуксетан, ибрутиниб, иделализиб, ифосфамид, инфликсимаб, имиквимод, ImmuCyst, иммуно БЦЖ, инипариб, инсулин аспарт, инсулин детемир, инсулин гларгин, инсулин лизпро, интерферон альфа, интерферон альфа-1b, интерферон альфа-2a, интерферон альфа-2b, интерферон бета, интерферон бета-1a, интерферон бета-1b, интерферон гамма-1a, лапатиниб, ипилимумаб, ипратропия бромид / сальбутамол, иксазомиб, канума, ланреотид ацетат, леналидомид, леналиомид, ленватиниба мезилат, летрозол, левотироксин, левотироксин, лидокаин, линезолид, лираглутид, лидексамфетамин, LN-144, лорлатиниб, мемантин, метилфенидат, метопролол, мекинист, мерицитабин/рилпивирин/тенофовир, модафинил, мометазон, мицидак-С,

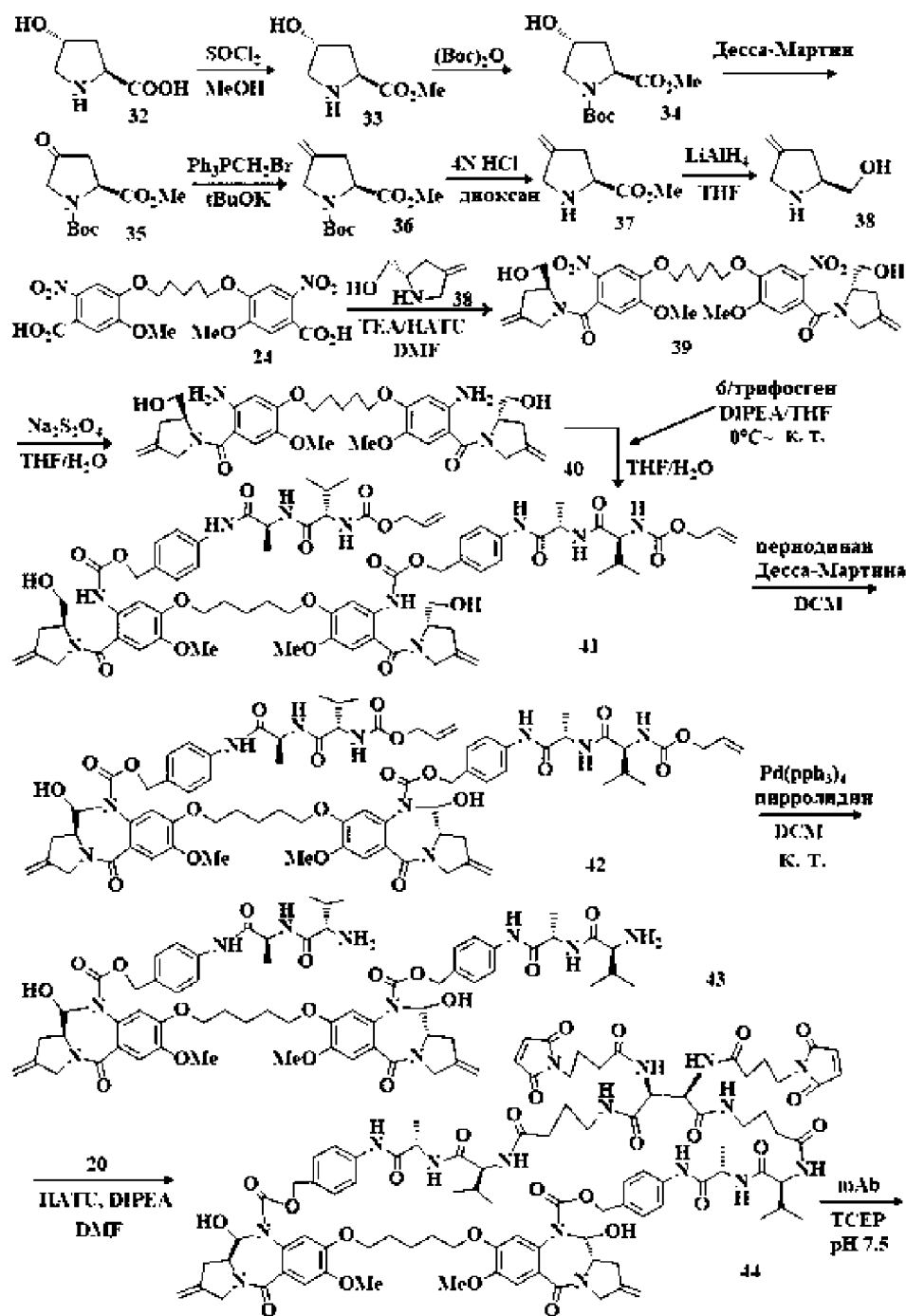
нецитумумаб, нератиниб, нилотиниб, нирапариб, ниволумаб, офатумумаб, обинутузумаб, олапариб, олмесартан, олмесартан / гидрохлоротиазид, омализумаб, сложные этиловые эфиры омега-3 жирных кислот, онкорин, осельтамивир, осимертиниб, оксикодон, палбоциклиб, паливизумаб, панитумумаб, панобиноостат, пазопаниб, пембролизумаб, антитело к PD-1, антитело к PD-L1, пеметрексед, пертузумаб, пневмококковая конъюгатная вакцина, помалидомид, прегабалин, Proscavax, пропранолол, кветиапин, рабепразол, хлорид радия 223, ралоксифен, ралтегравир, рамуцирумаб, ранибизумаб, регорафениб, рибоциклиб, ритуксимаб, ривароксабан, ромидепсин, розувастатин, руксолитиниба фосфат, салбутамол, саволитиниб, семаглутид, севеламер, силденафил, силтуксимаб, сипулейцел-Т, ситаглиптин, ситаглиптин/метформин, солифенацин, соланезумаб, сонидегиб, сорафениб, сунитиниб, такролимус, такримус, тадалафил, тамоксифен, тафинлар, талимоген, лагерпарепвек, талазопариб, телапревир, талазопариб, темозоломид, темсиролимус, тенофовир/эмтрицитабин, тенофовир дизопроксил фумарат, тестостерон гель, талидомид, TICE БЦЖ, тиотропия бромид, тизагенлеклейцел, торемифен, траметиниб, трастузумаб, трабектедин (эктеинасцидин 743), траметиниб, тремелиумаб, трифлуридин/типирацил, третиноин, уро-БЦЖ, устекинумаб, валсартан, велипариб, вандетаниб, вемурафениб, венетоклакс, вориноостат, зив-афлиберцепт, зоставакс и их аналоги, производные, фармацевтически приемлемые соли, носители, разбавители или их вспомогательные вещества, или комбинация вышеуказанного.



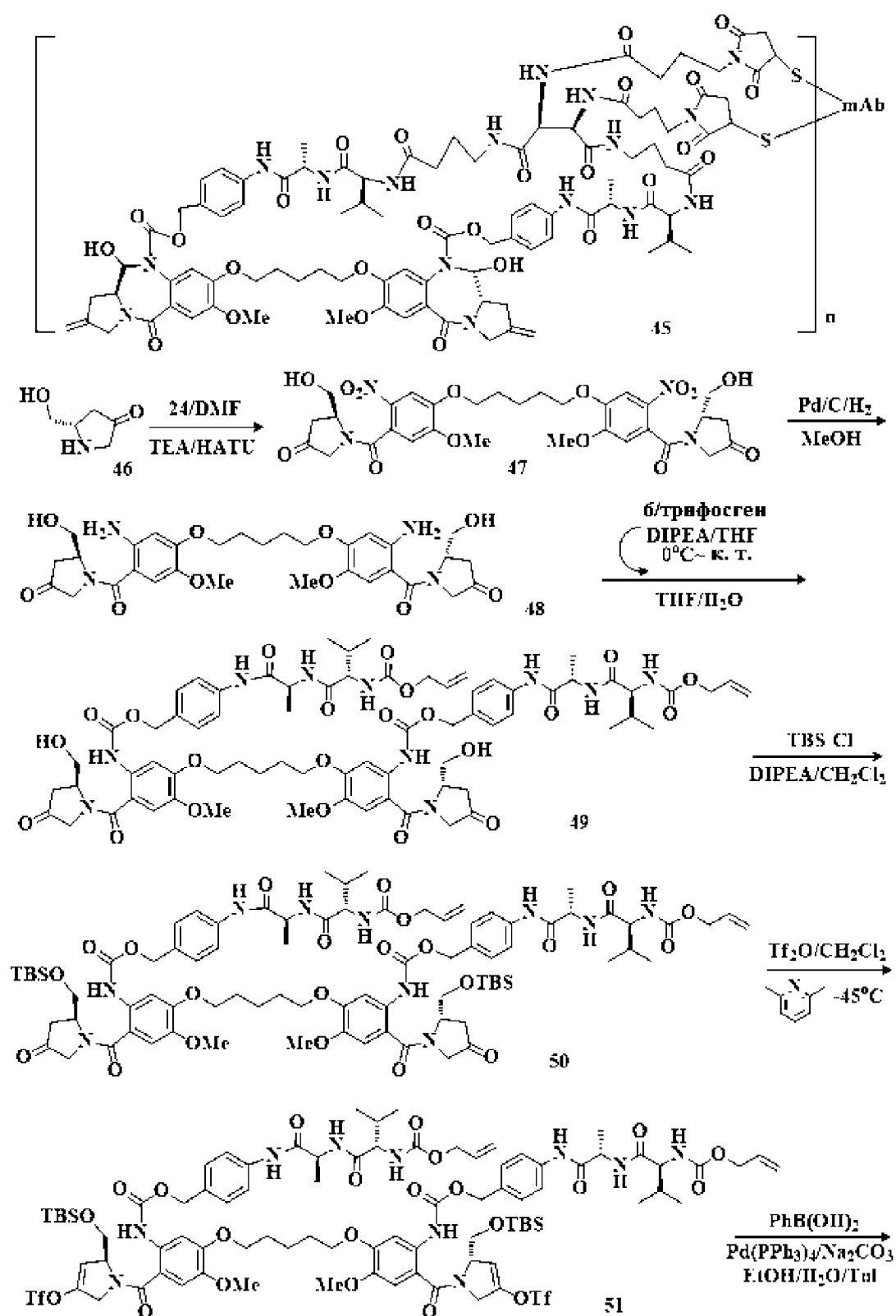
ФИГУРА 1



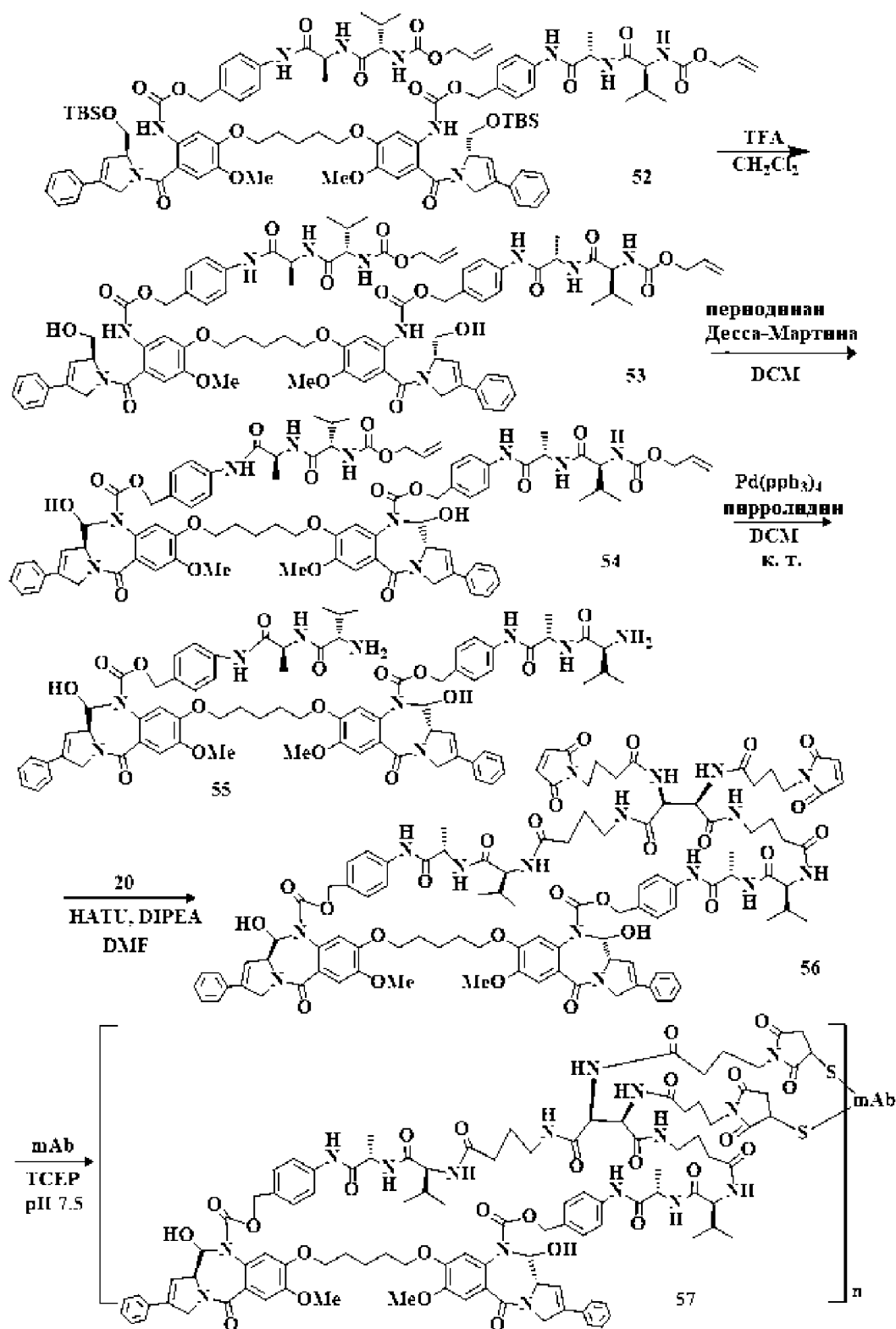
ФИГУРА 2



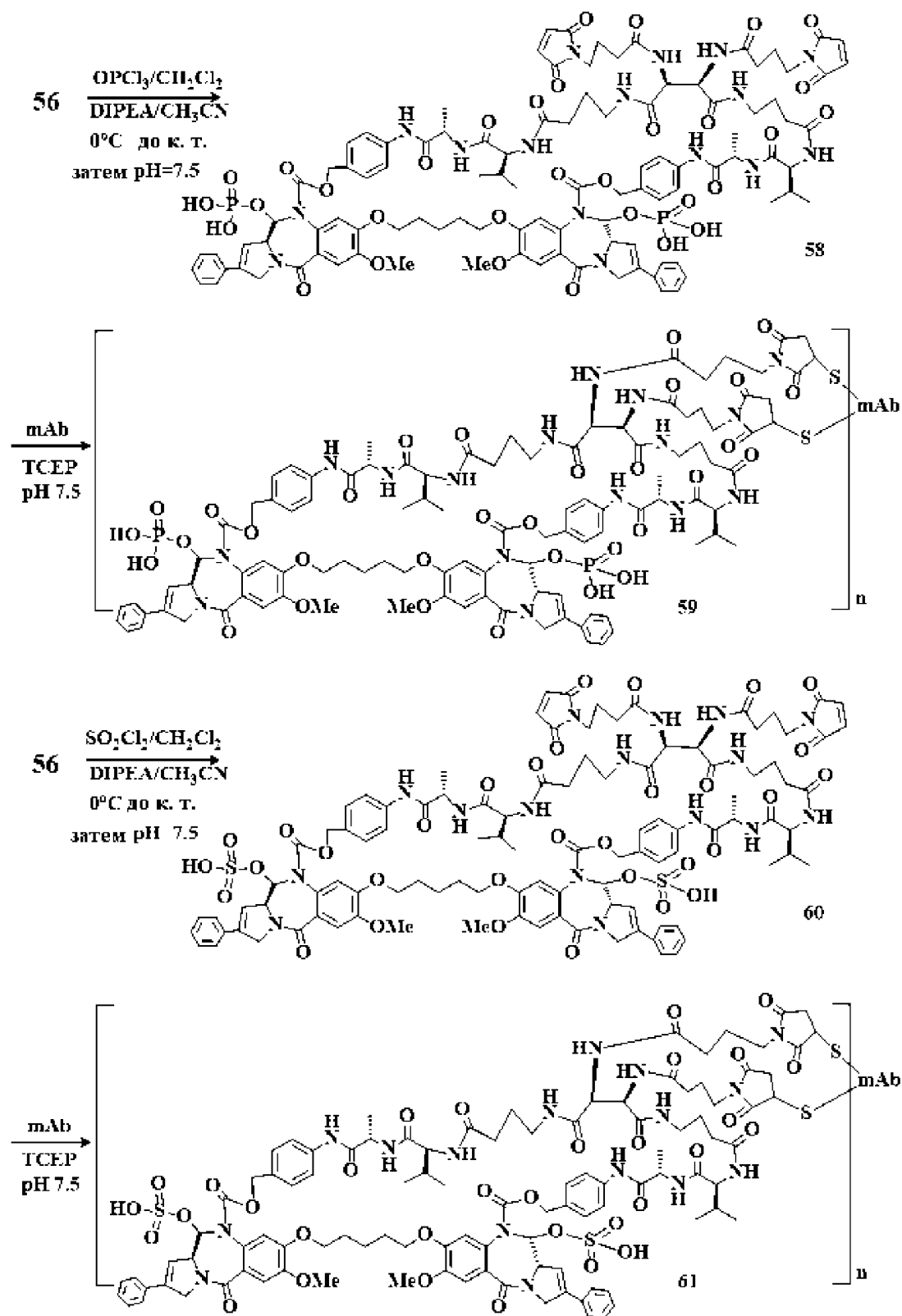
ФИГУРА 3



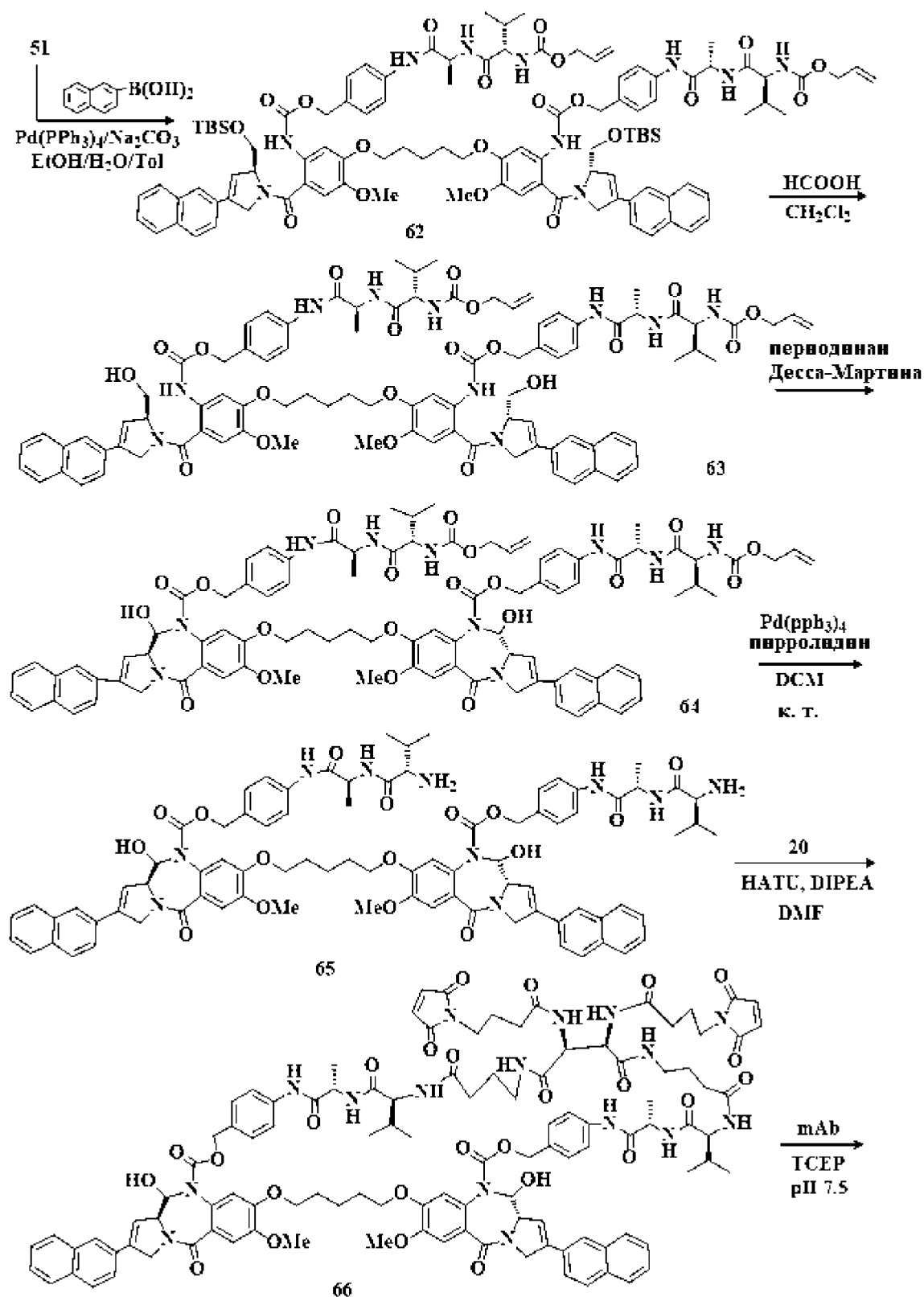
ФИГУРА 4



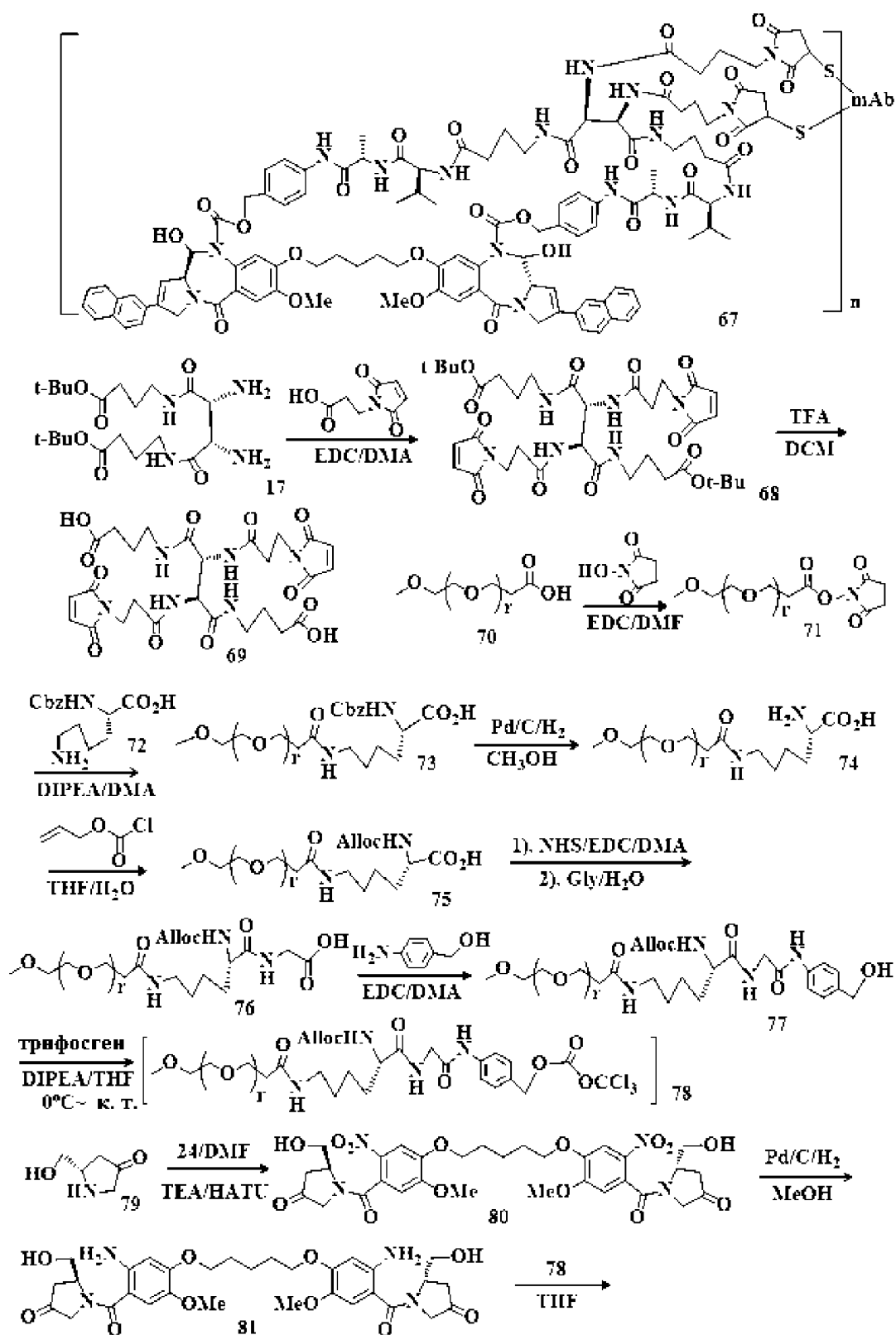
ФИГУРА 5



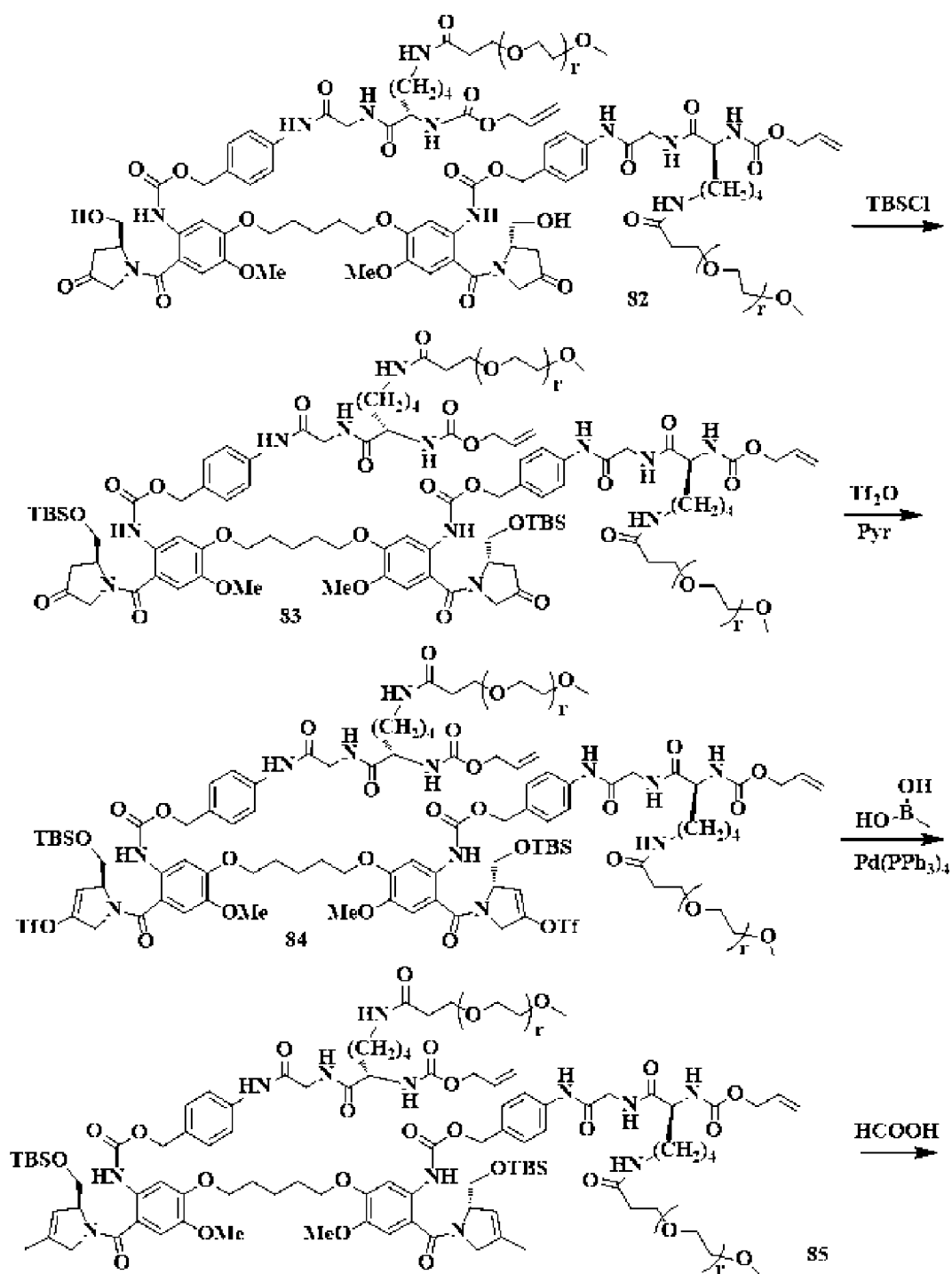
ФИГУРА 6



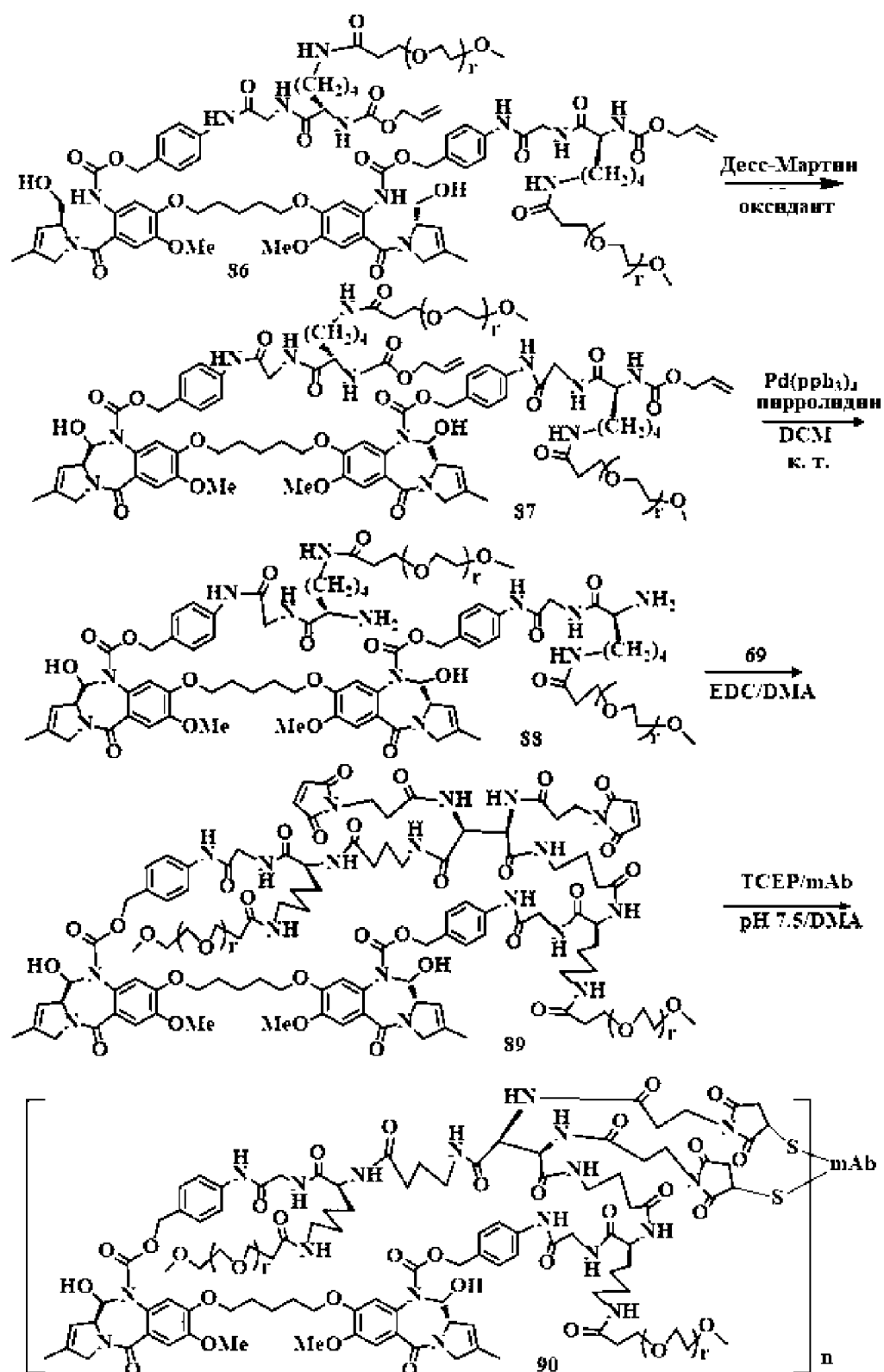
ФИГУРА 7



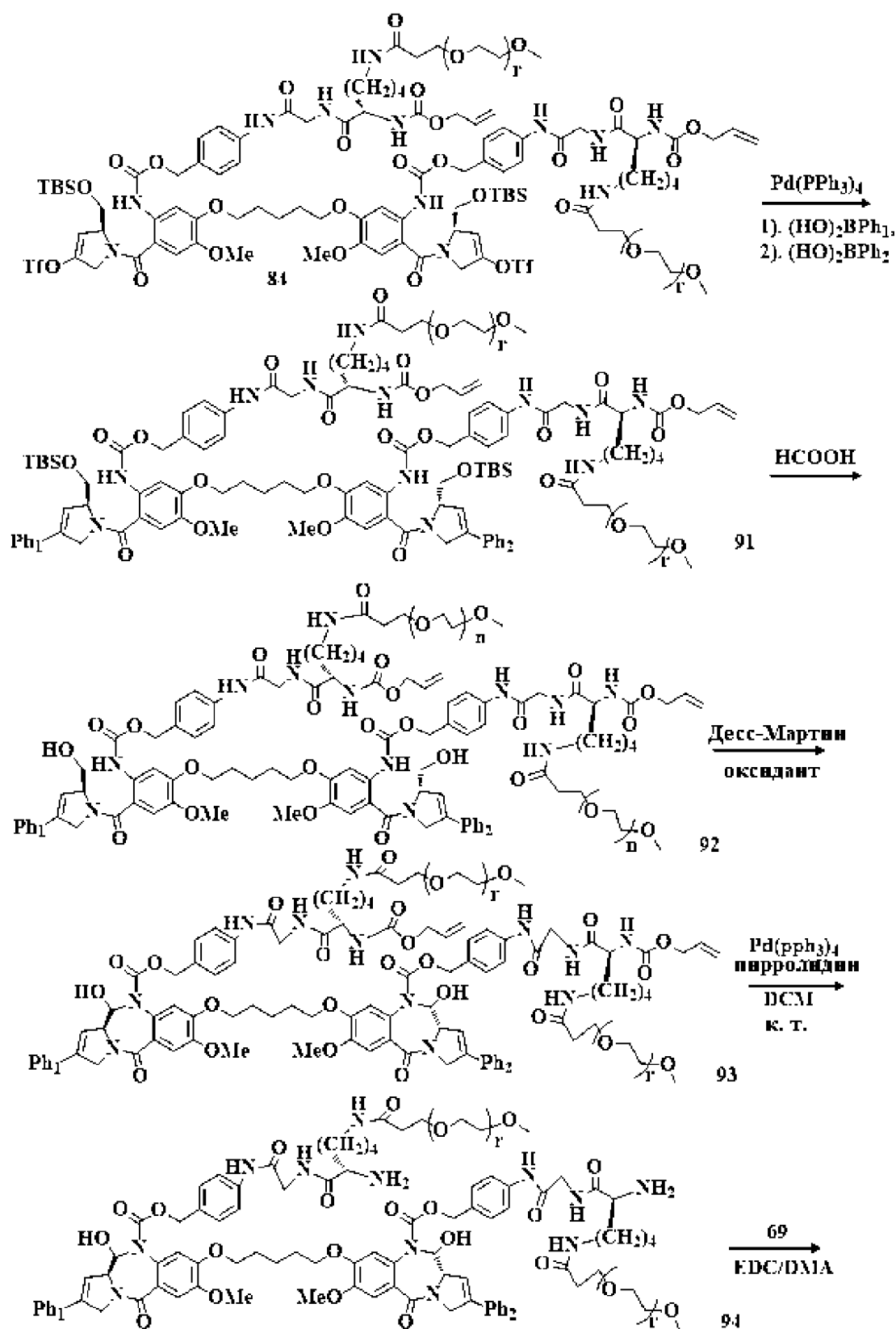
ФИГУРА 8



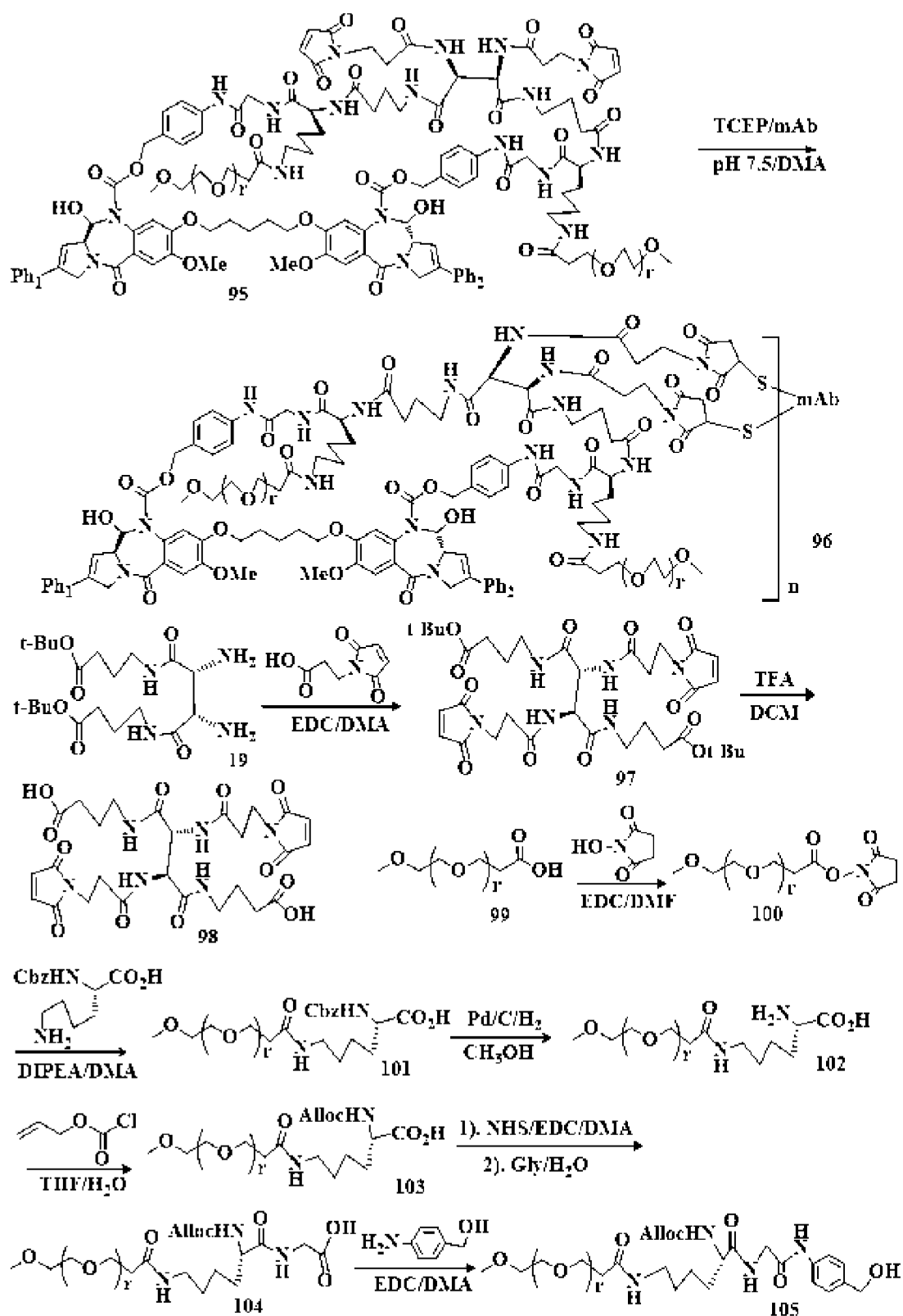
ФИГУРА 9



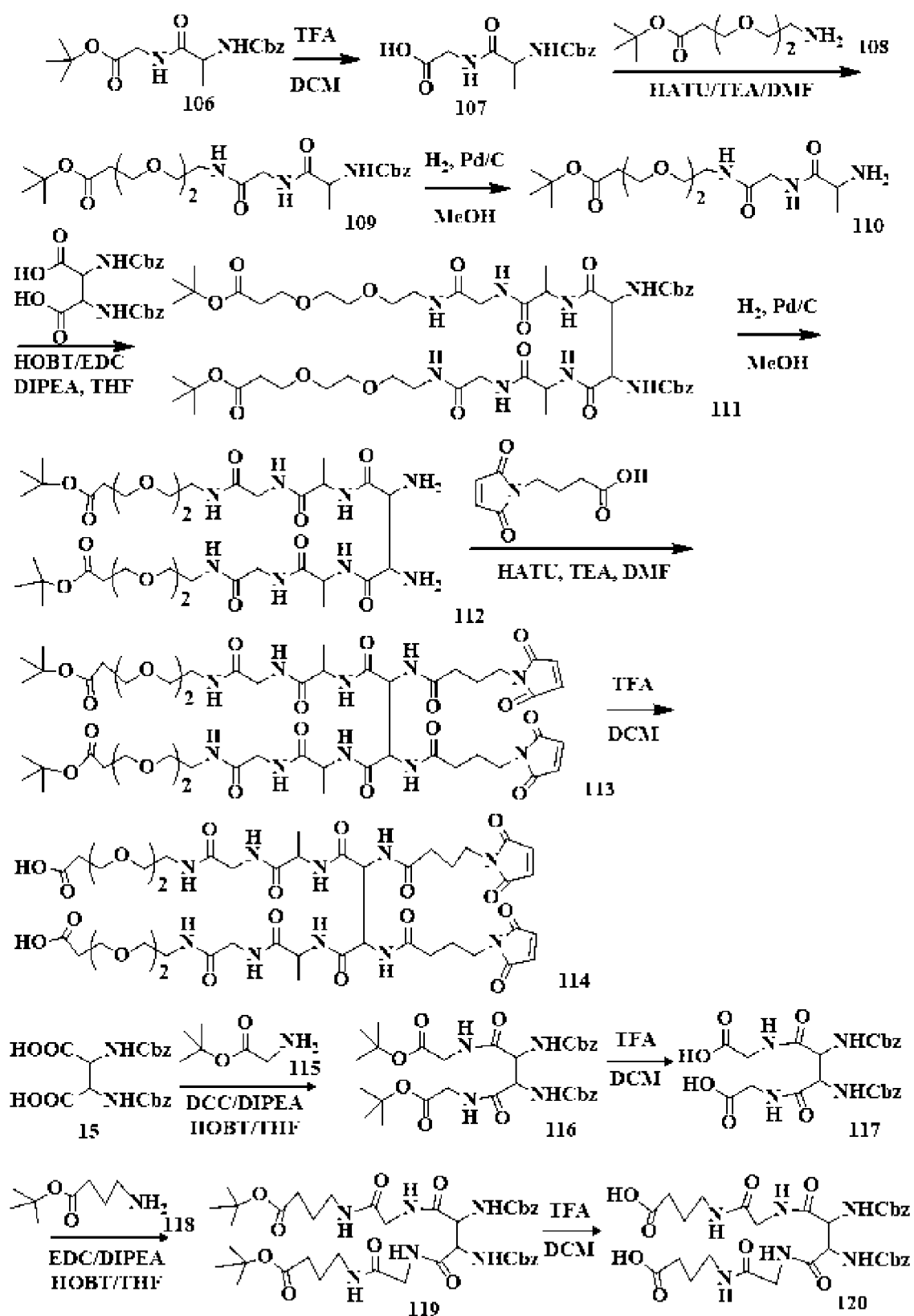
ФИГУРА 10



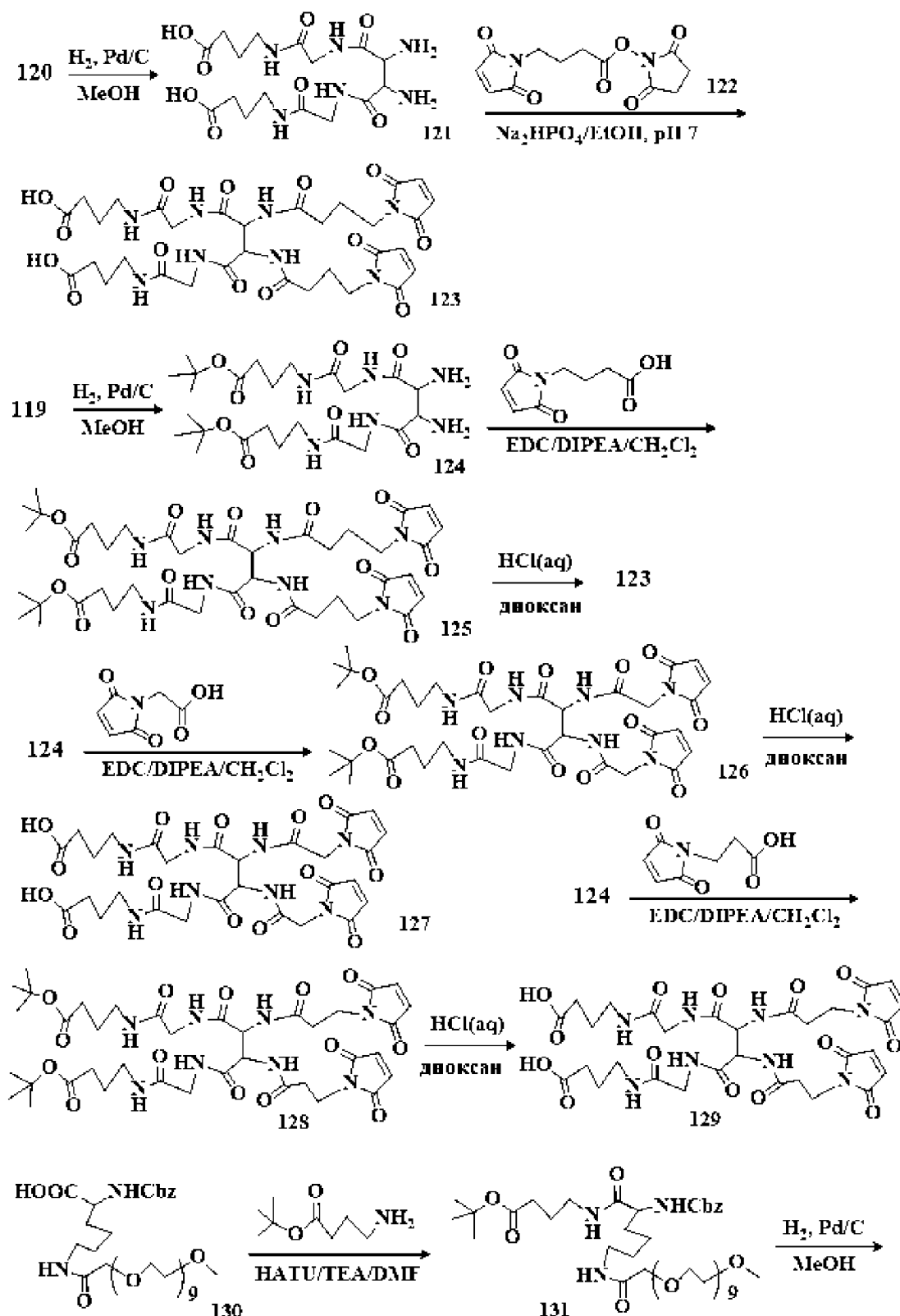
ФИГУРА 11



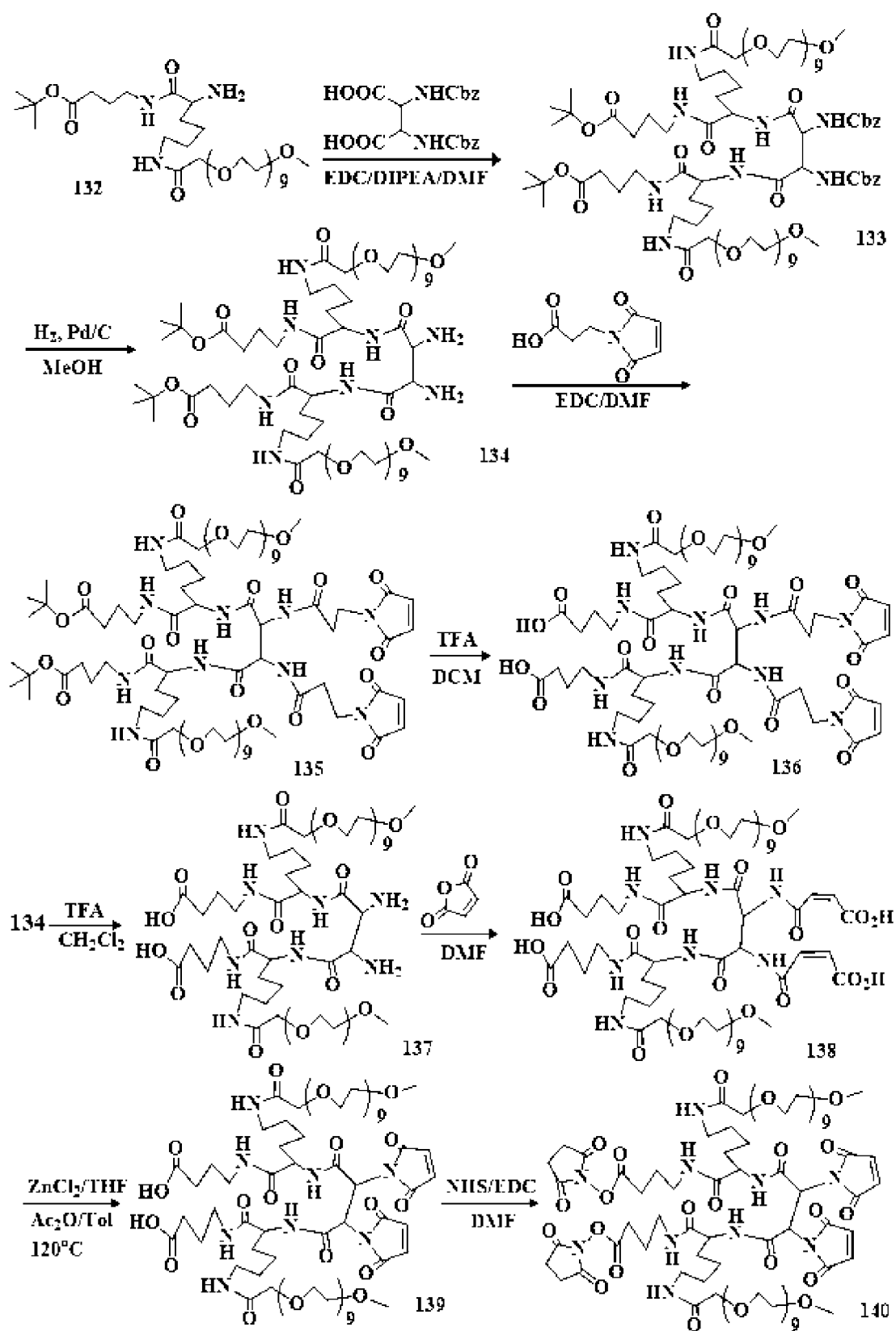
ФИГУРА 12



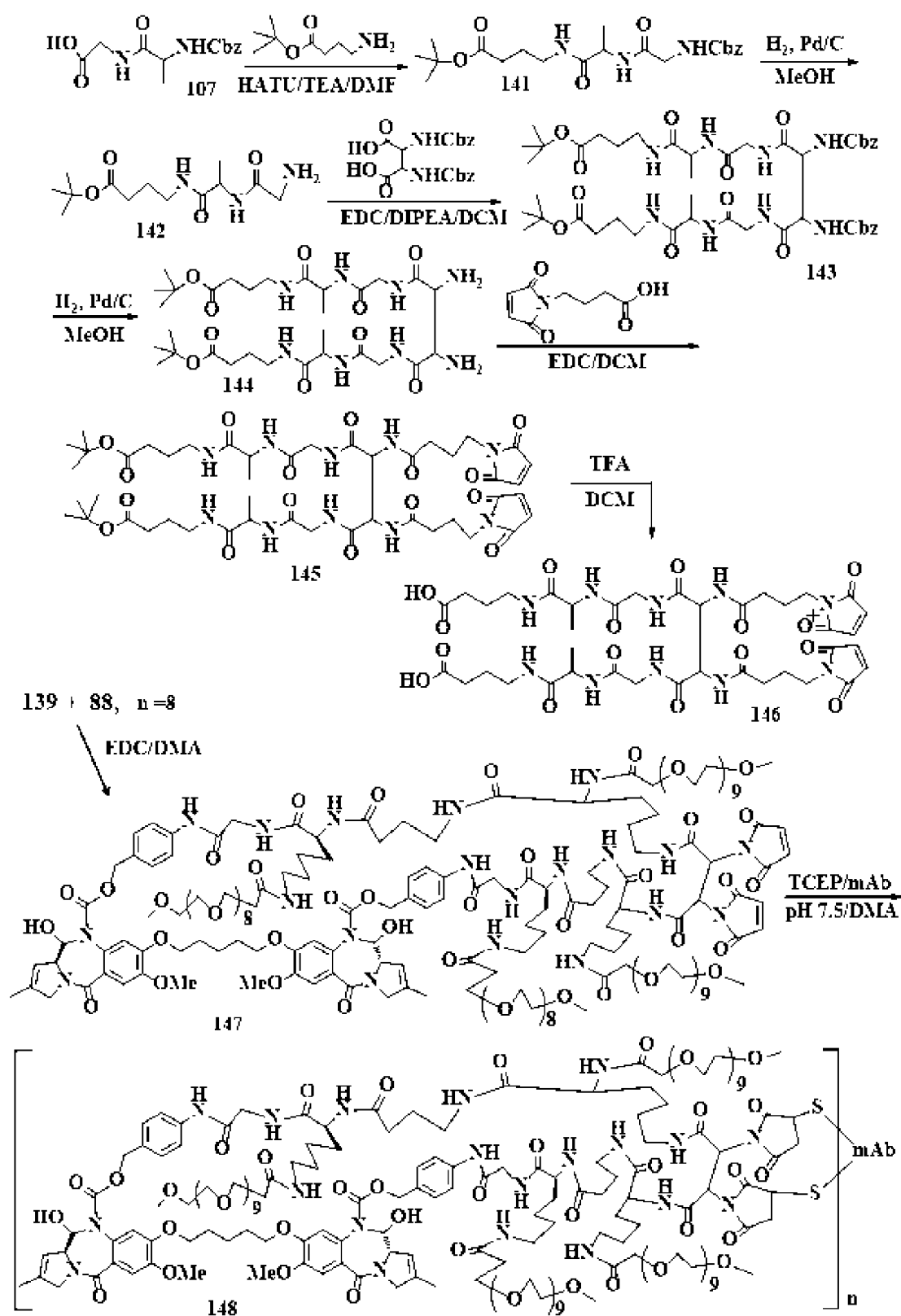
ФИГУРА 13



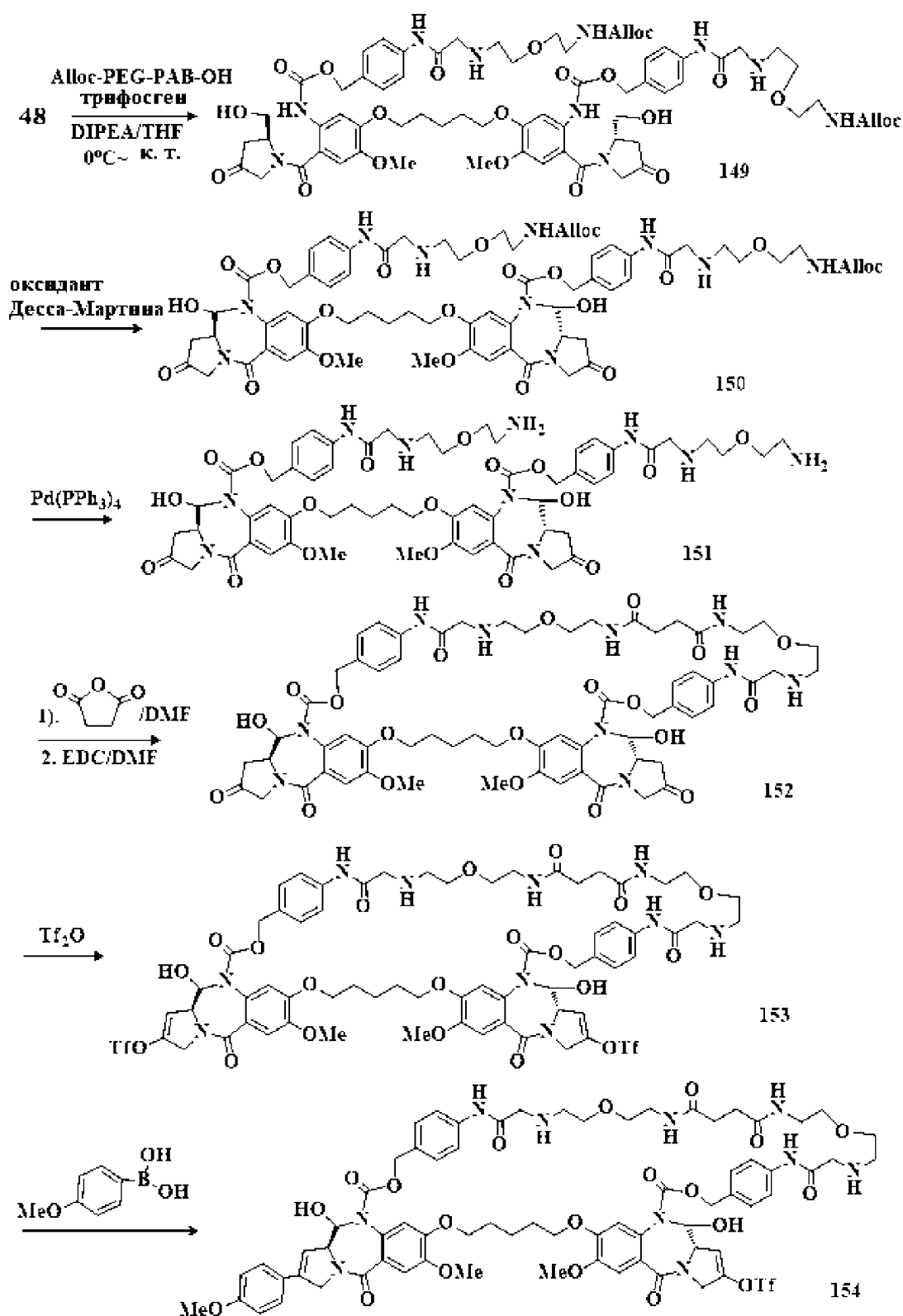
ФИГУРА 14



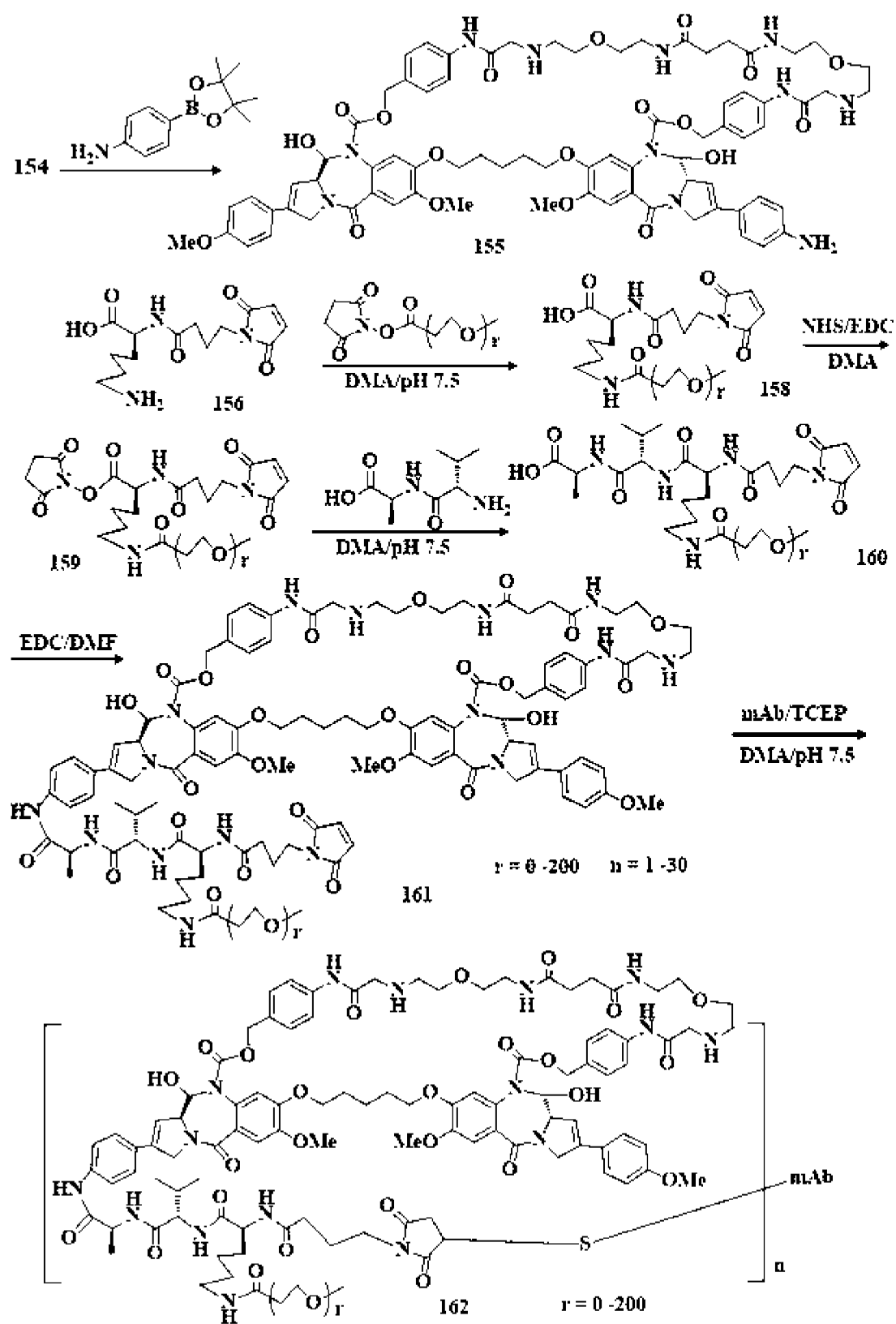
ФИГУРА 15



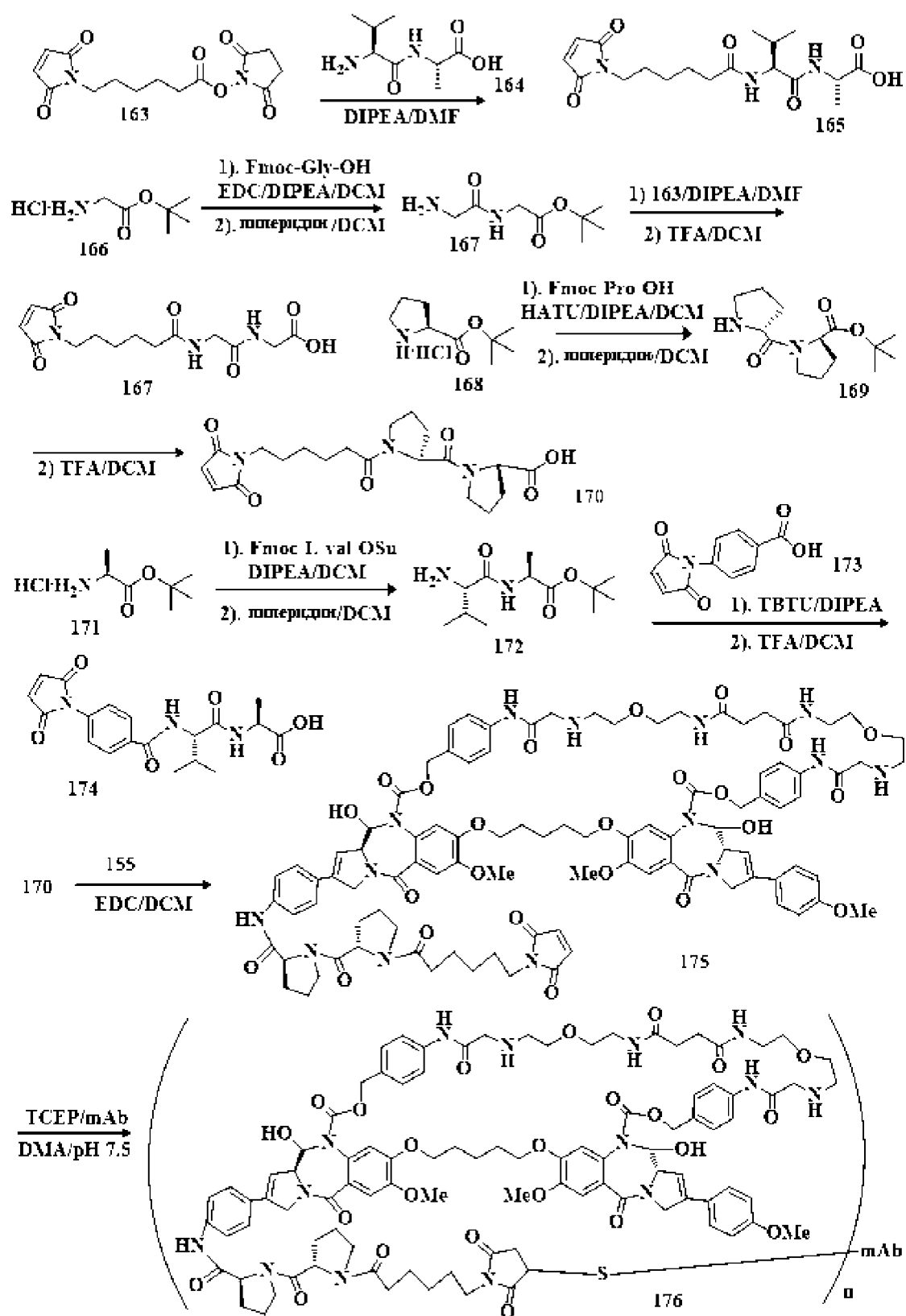
ФИГУРА 16



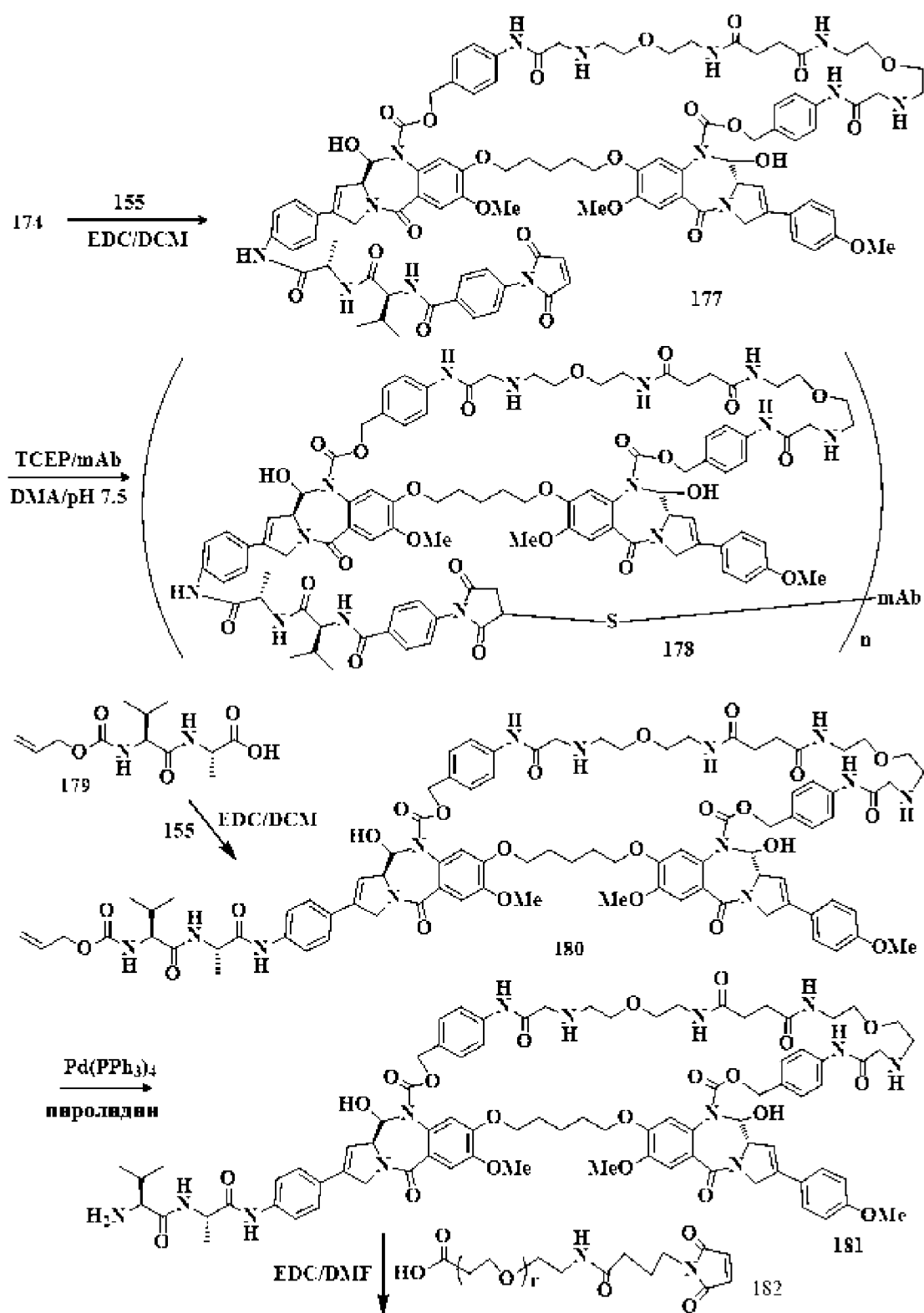
ФИГУРА 17



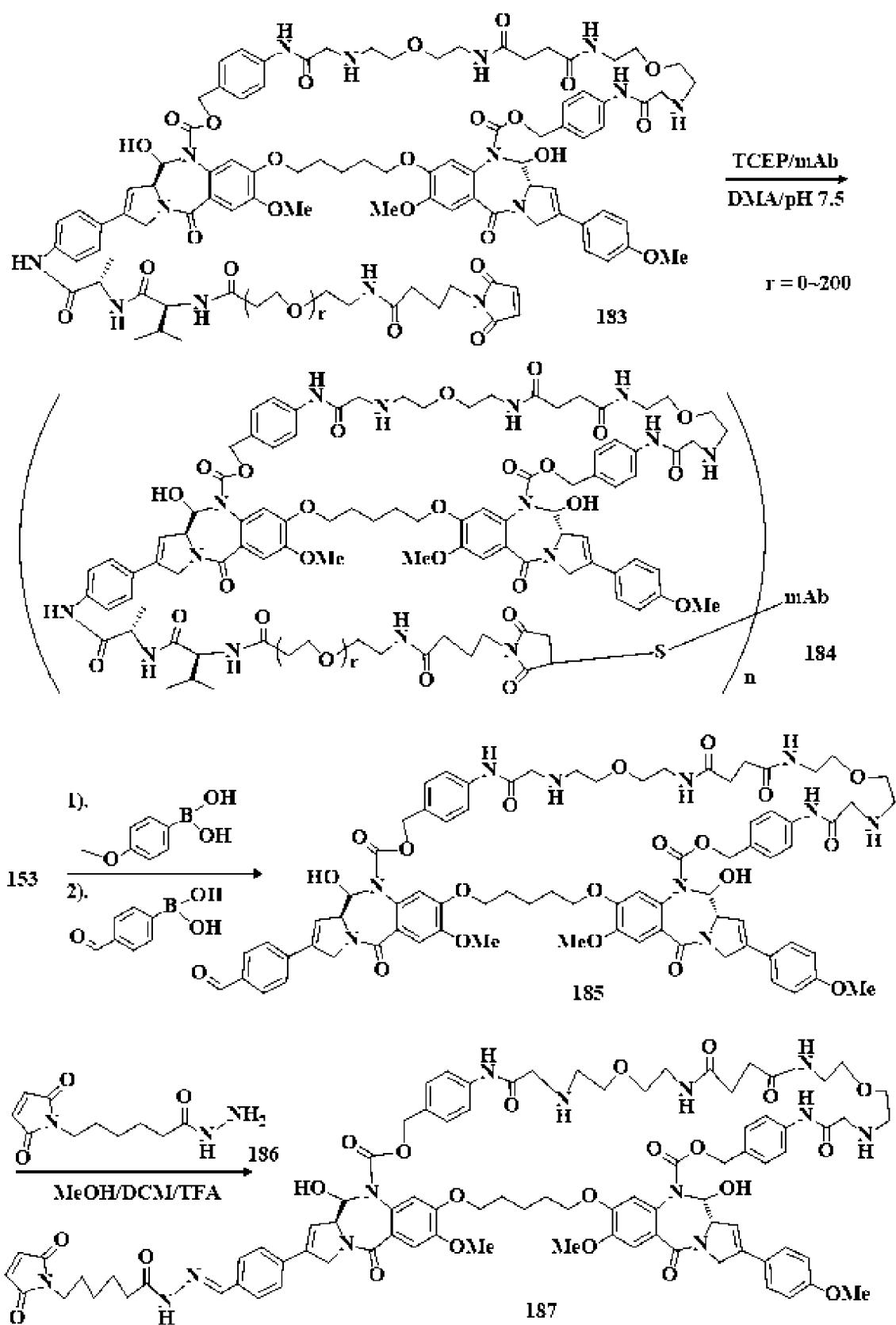
ФИГУРА 18



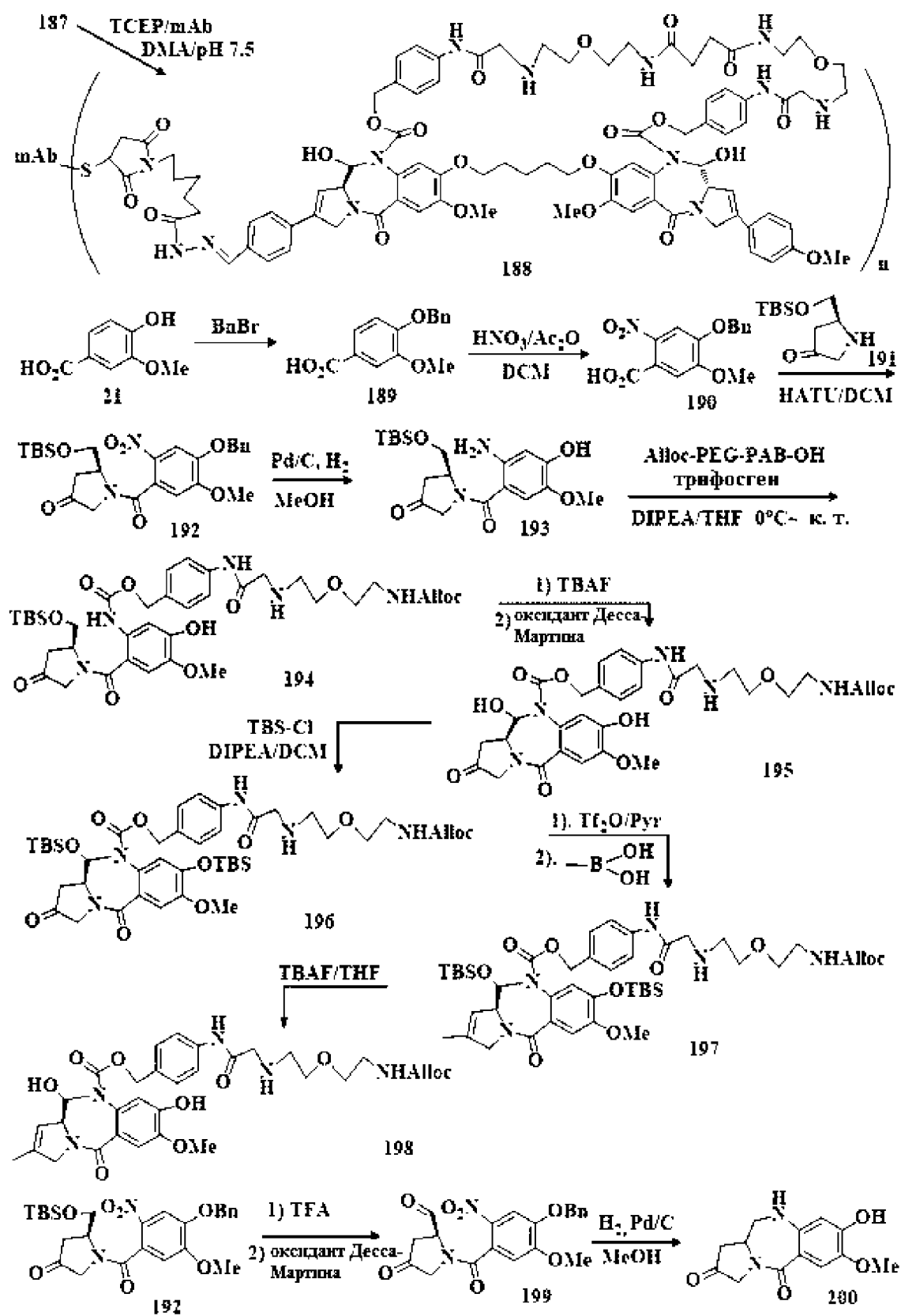
ФИГУРА 19



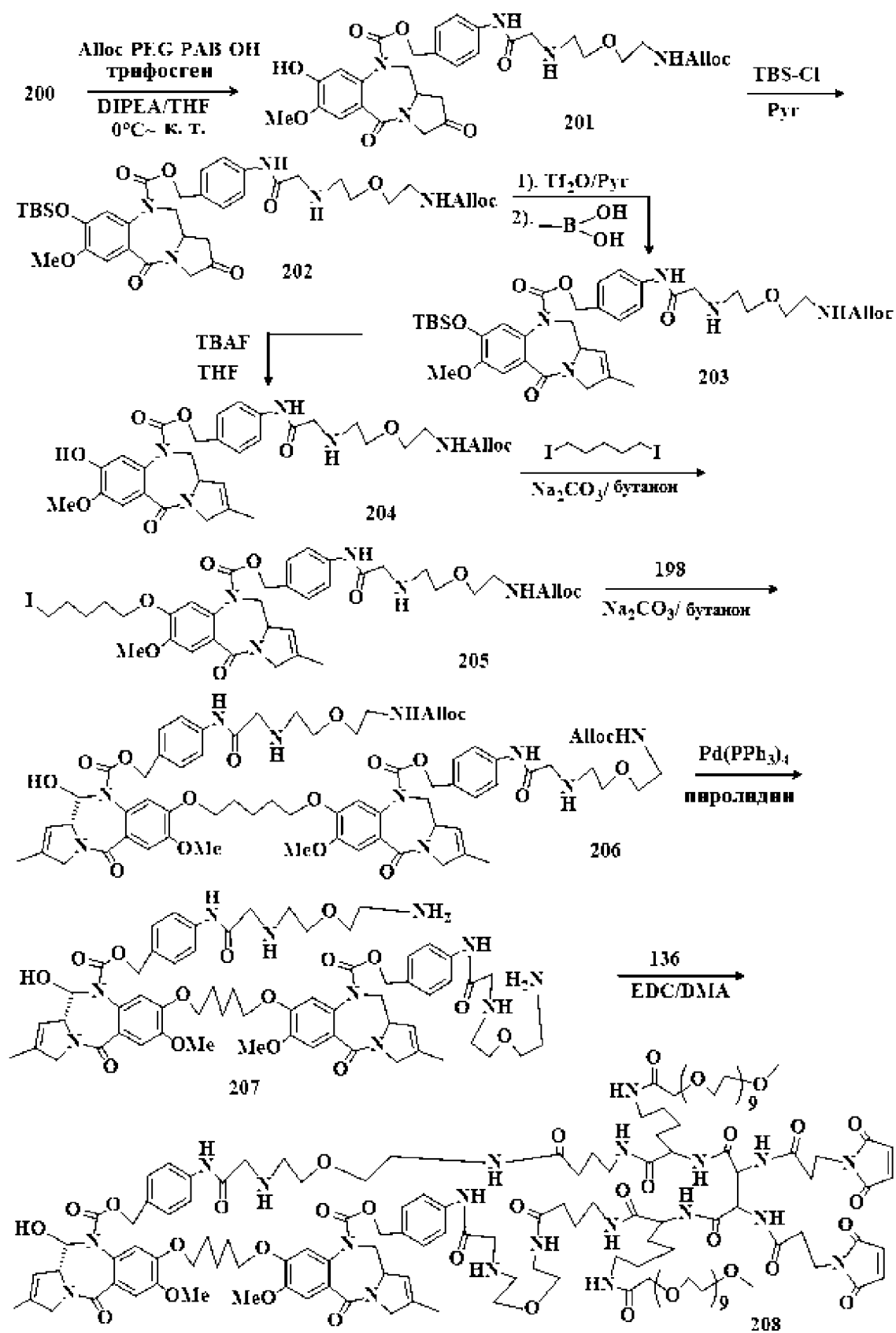
ФИГУРА 20



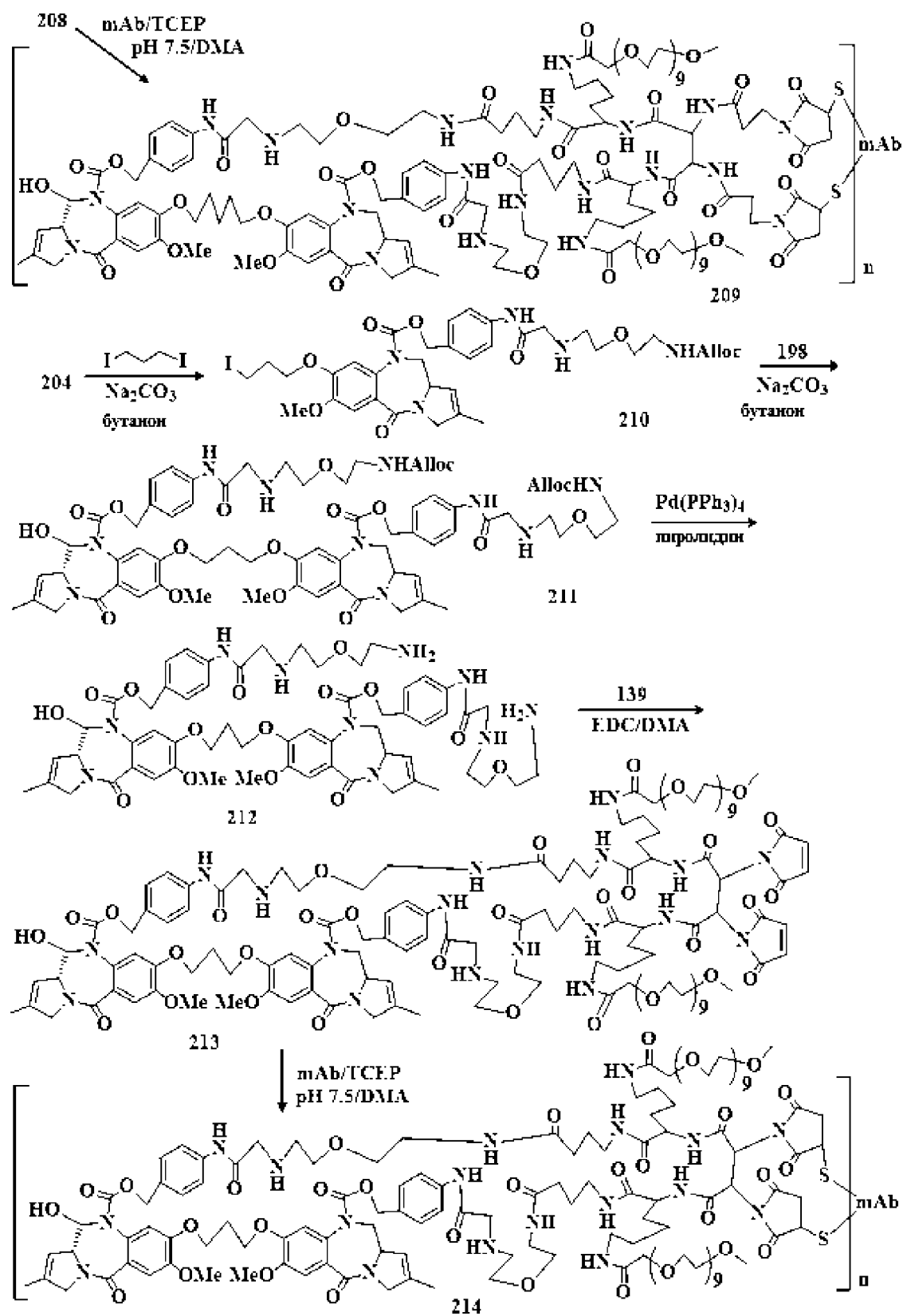
ФИГУРА 21



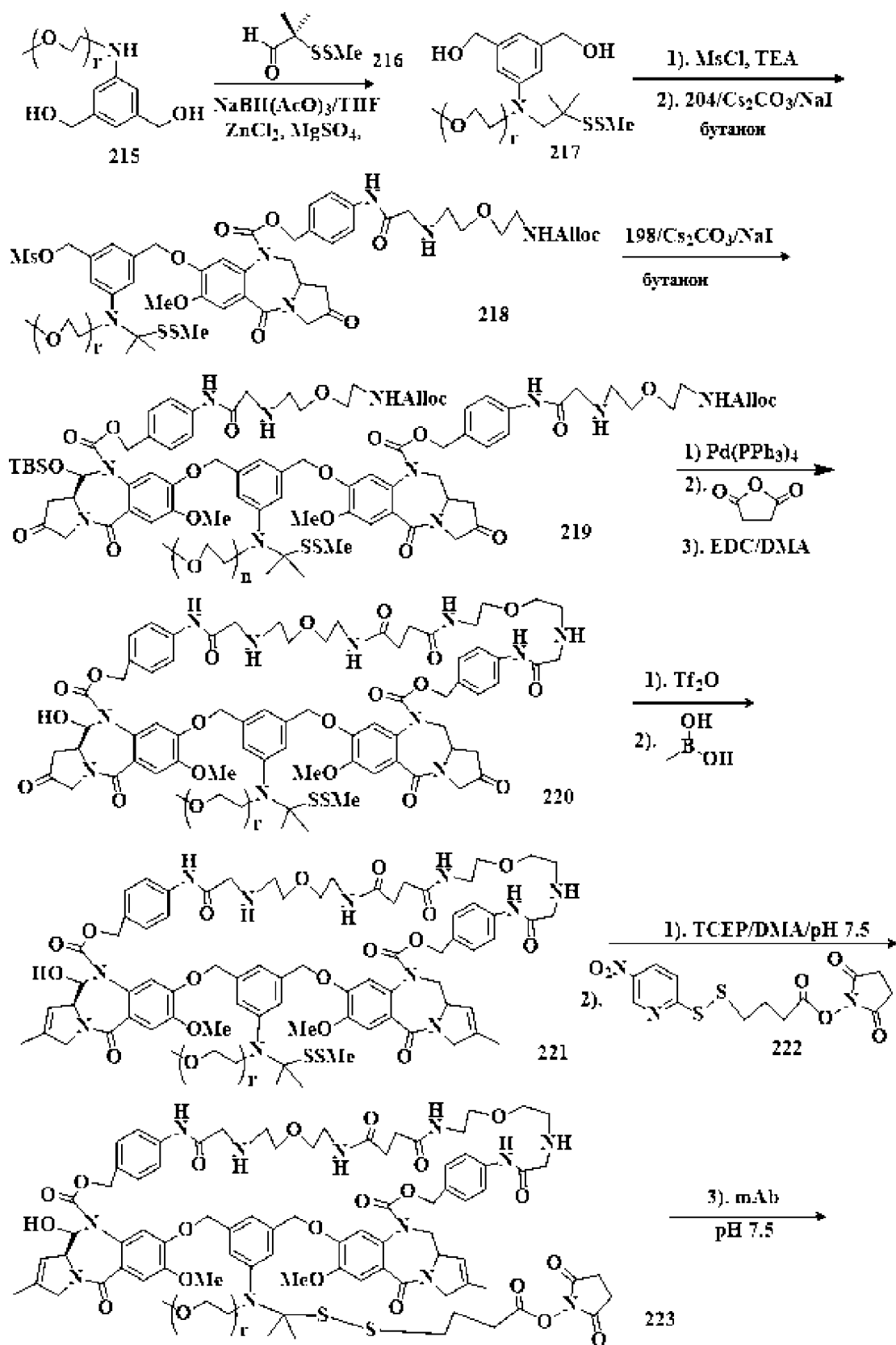
ФИГУРА 22



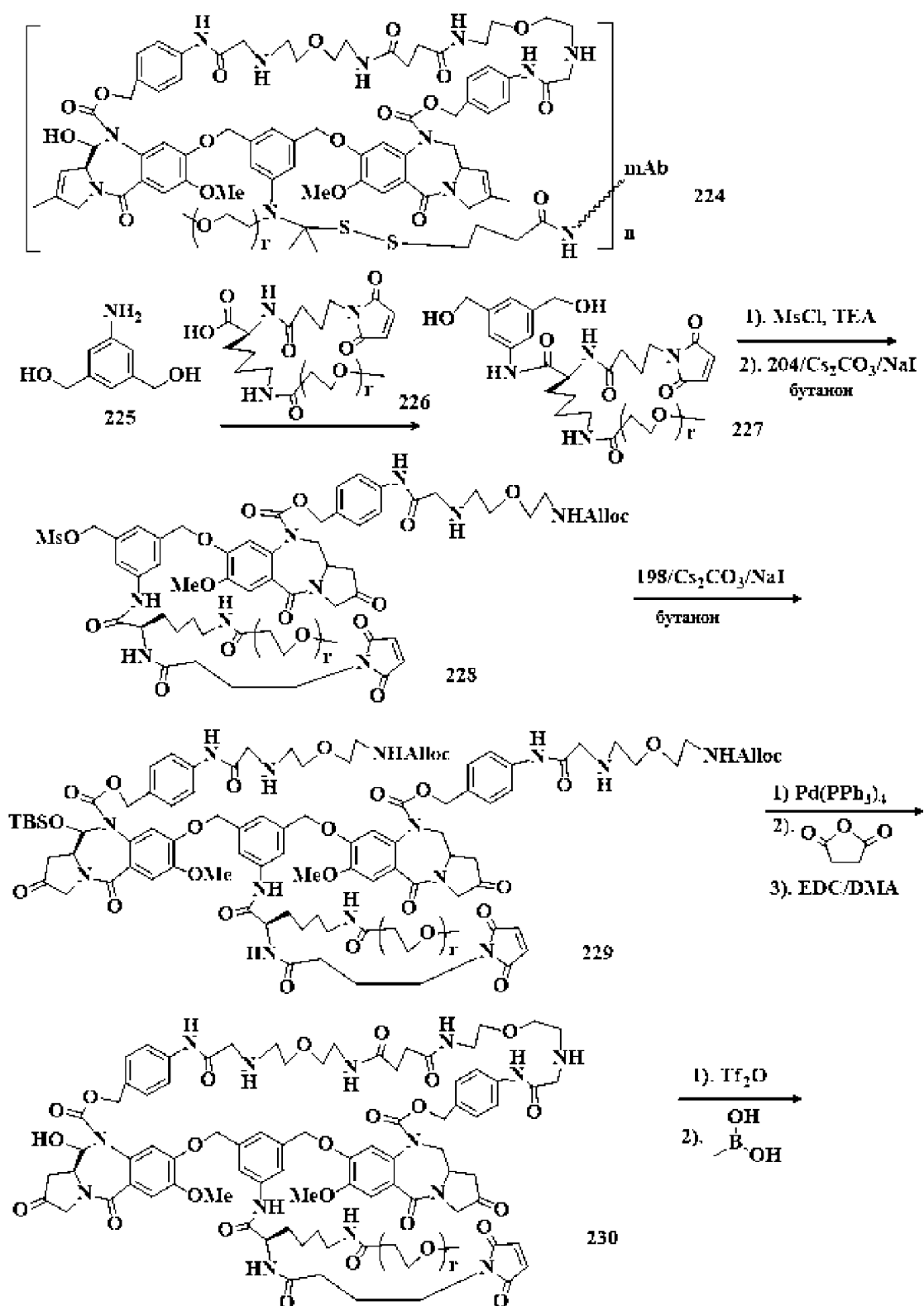
ФИГУРА 23



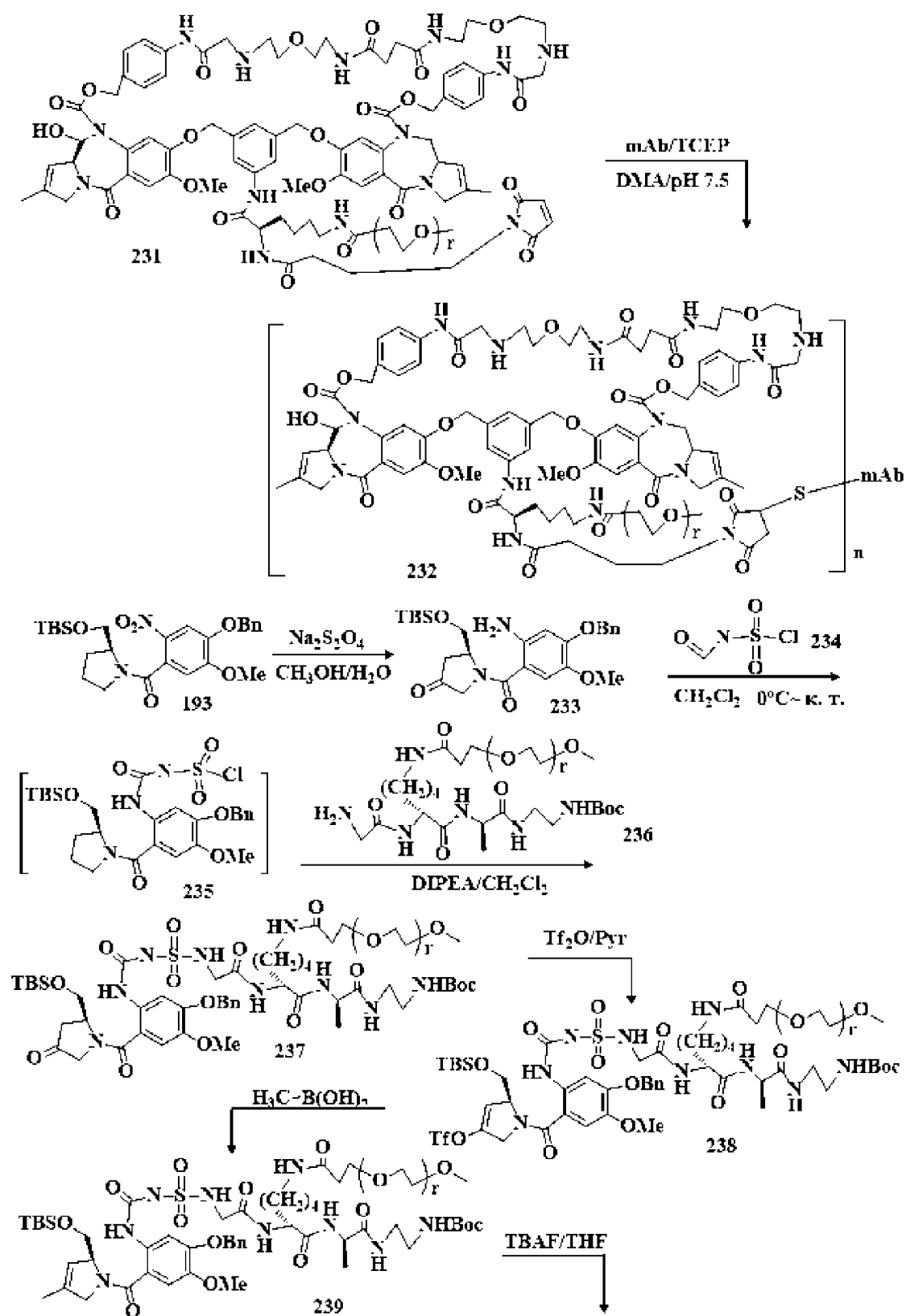
ФИГУРА 24



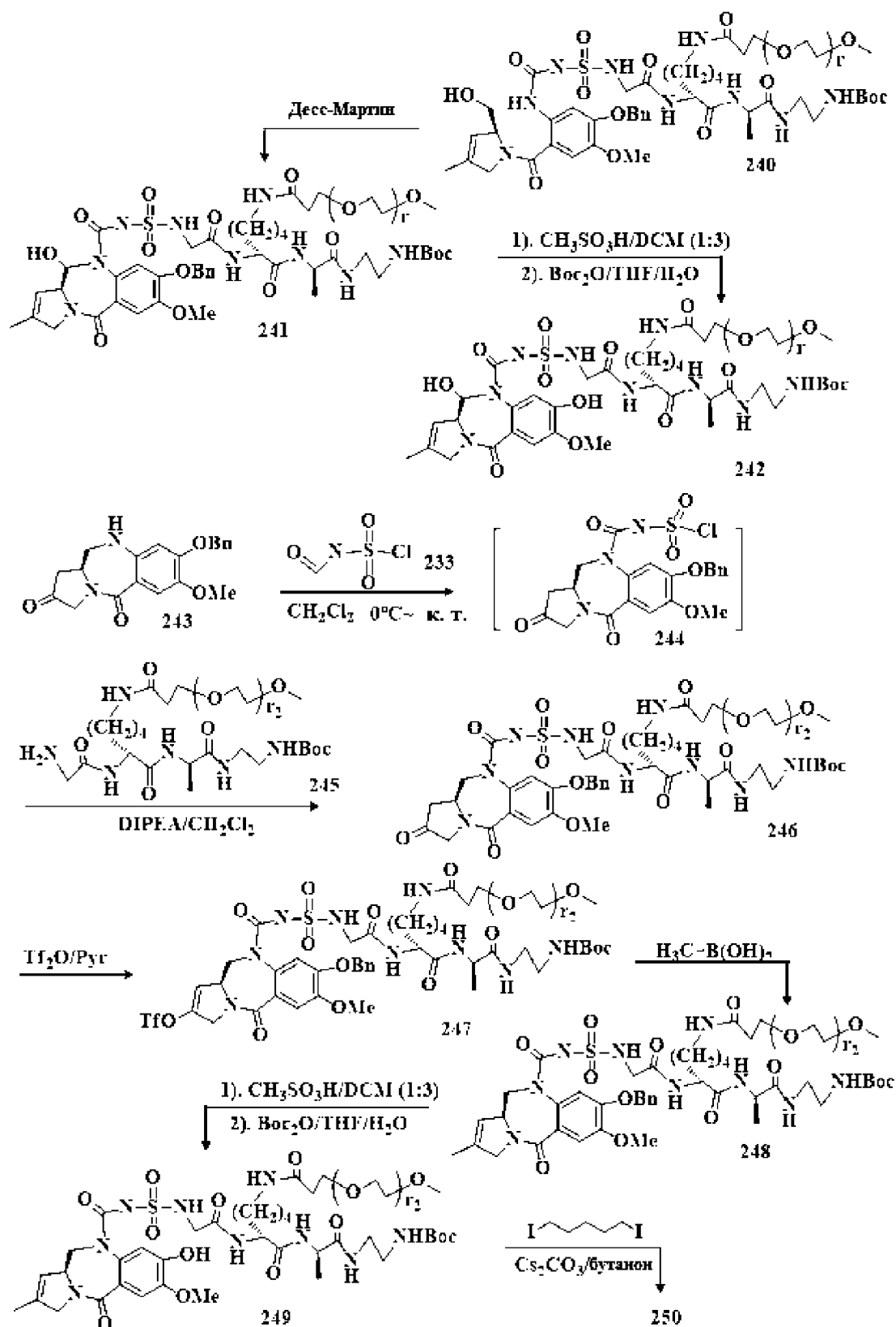
ФИГУРА 25



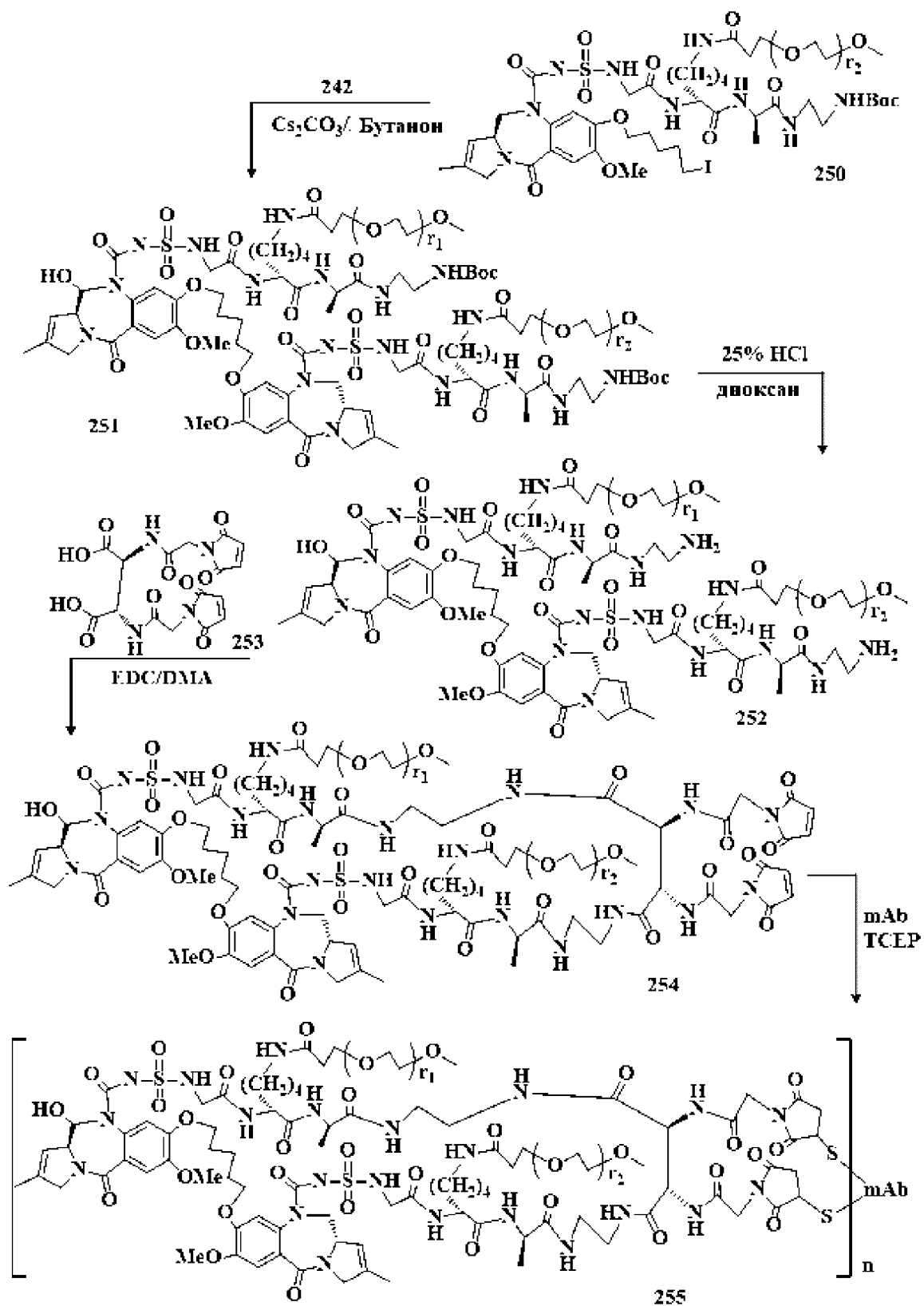
ФИГУРА 26



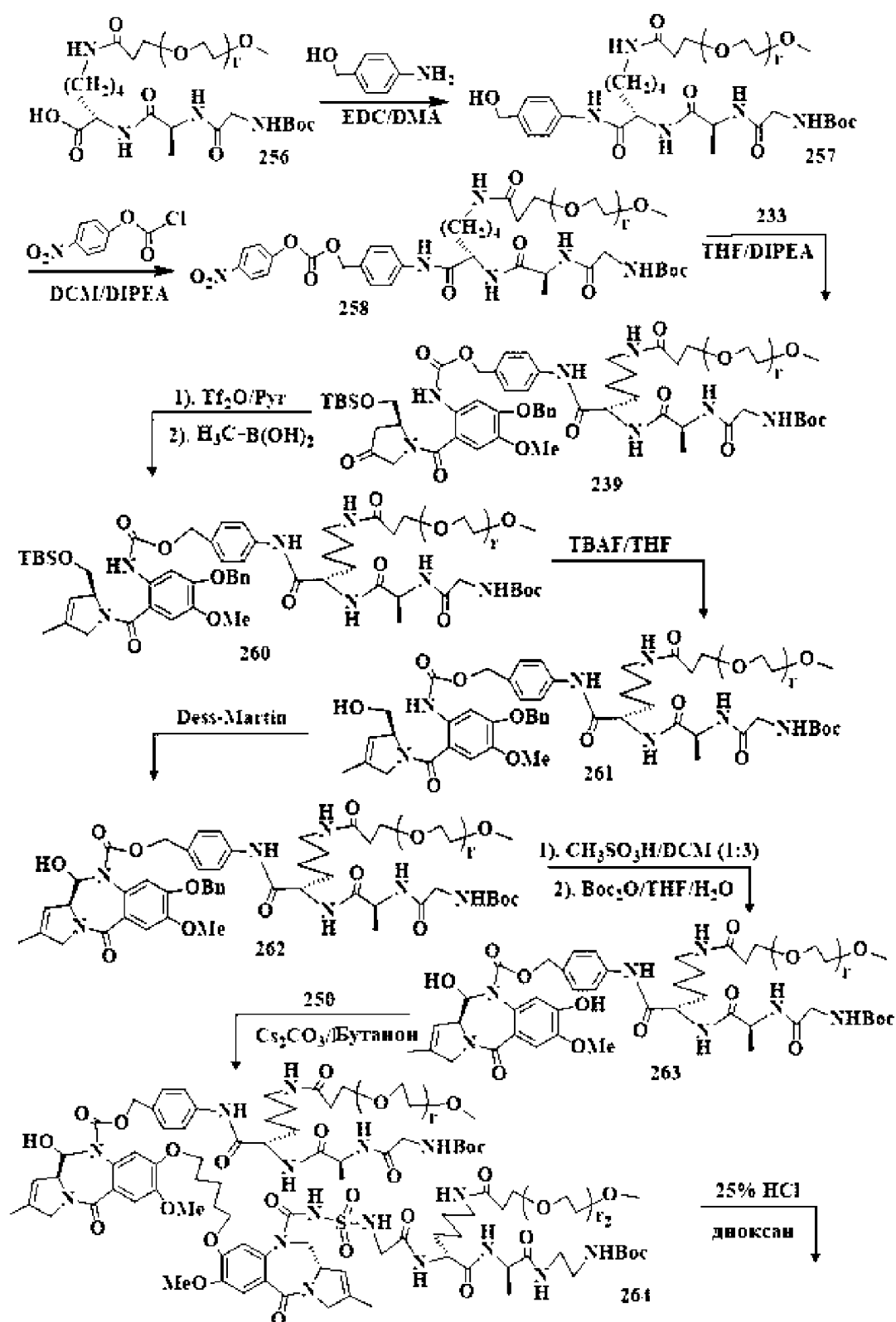
ФИГУРА 27



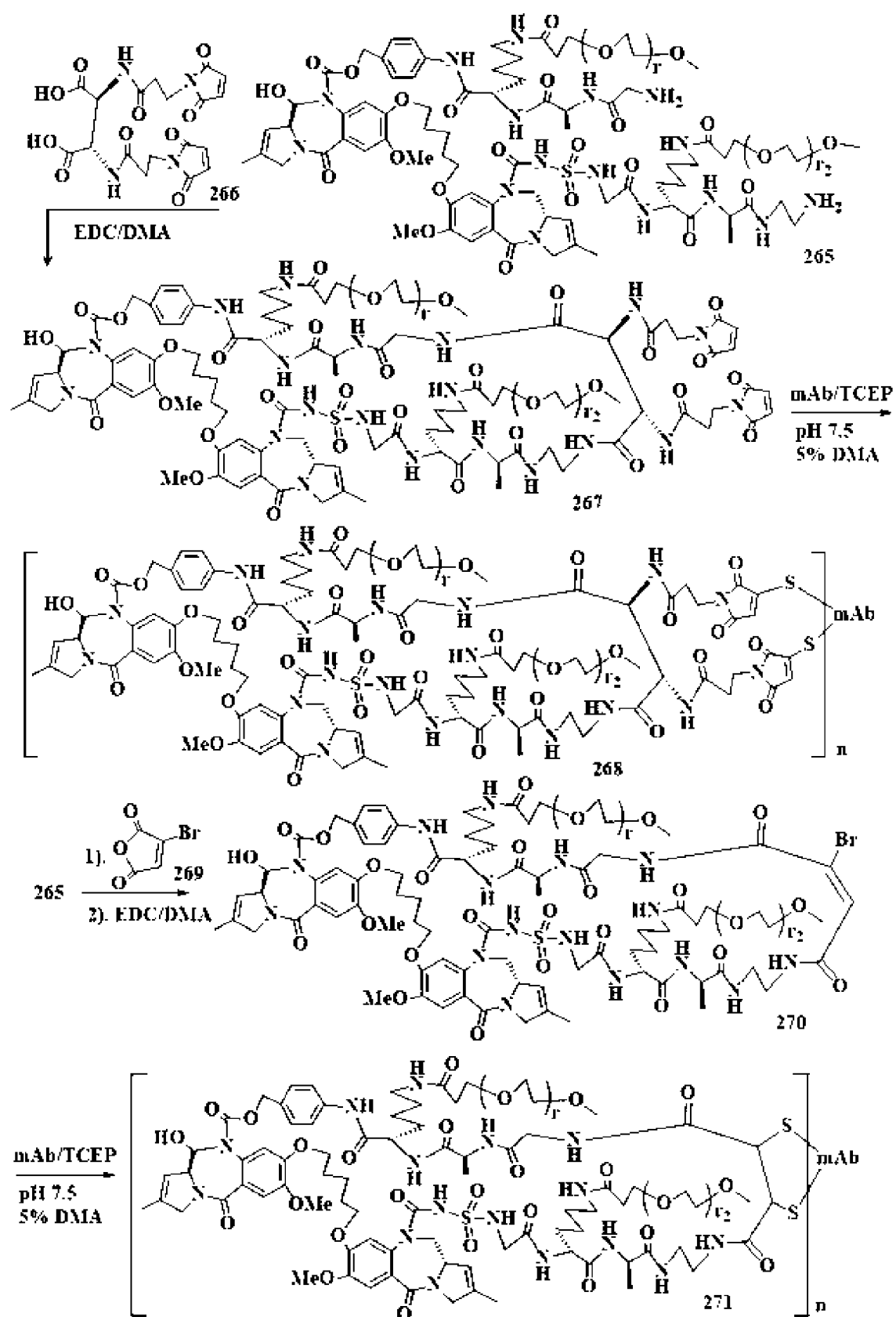
ФИГУРА 28



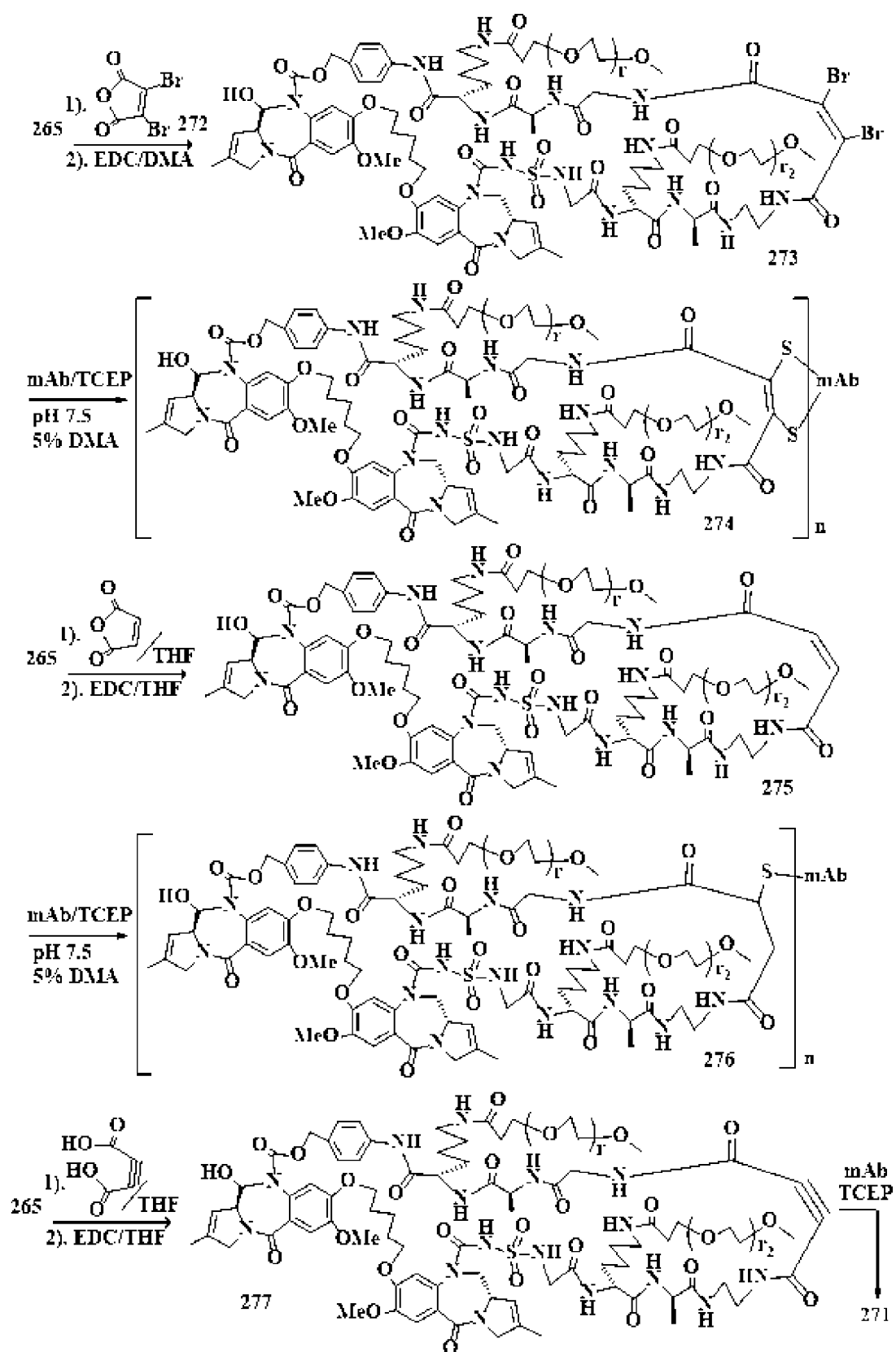
ФИГУРА 29



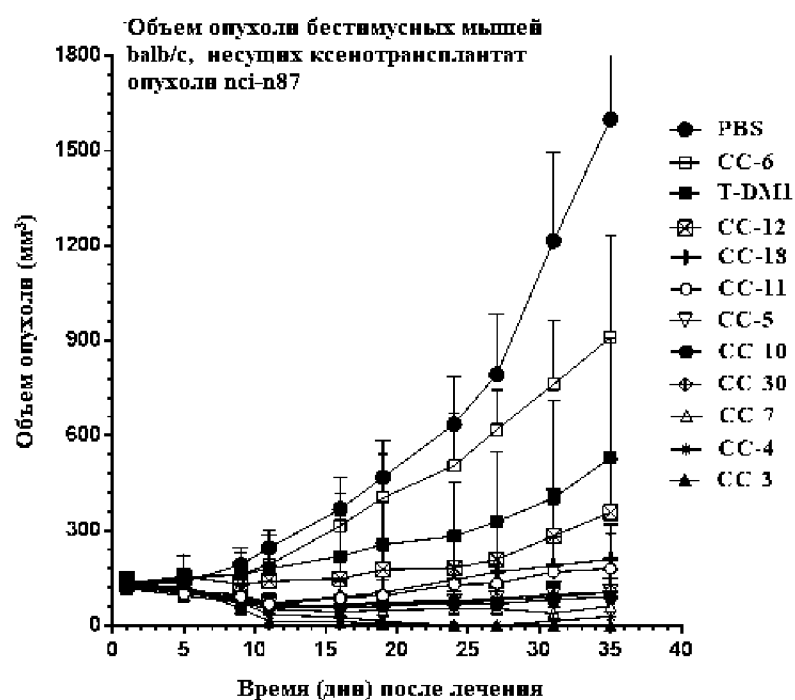
ФИГУРА 30



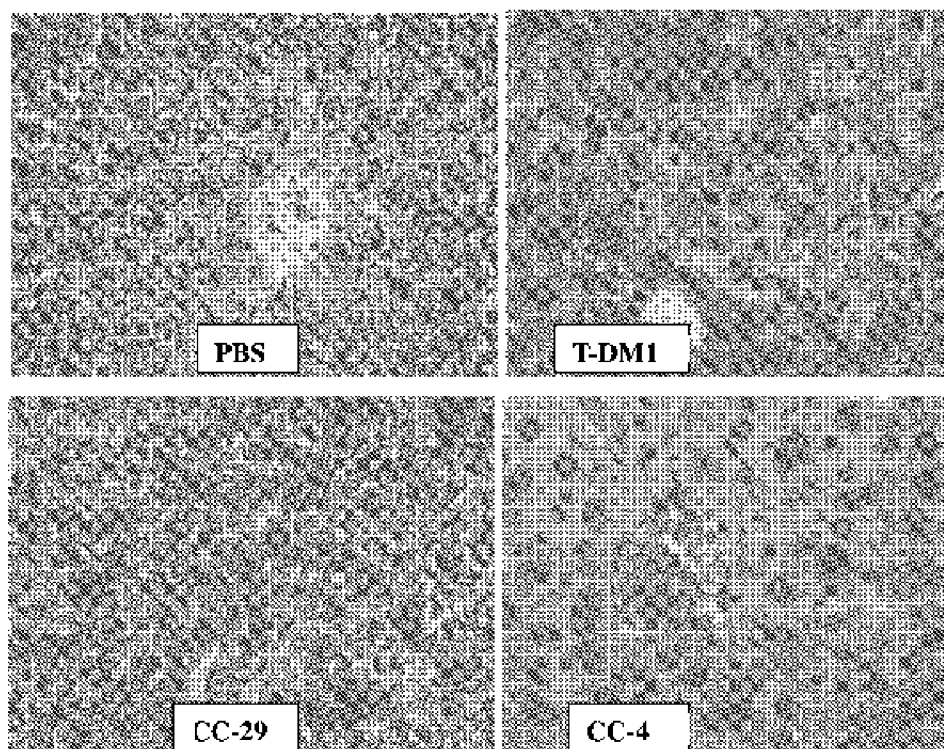
ФИГУРА 31



ФИГУРА 32



ФИГУРА 33



ФИГУРА 34