(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202190837 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.04.14

(22) Дата подачи заявки
2018.10.12

(51) Int. Cl. ***C07D 417/14*** (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)

(54) ЛИНКЕР КОНЪЮГАЦИИ, СОДЕРЖАЩИЙ 2,3-ДИАМИНОСУКЦИНИЛЬНУЮ ГРУППУ

(86) **PCT/CN2018/110155**
(87) **WO 2020/073345 2020.04.16**

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

(72) Изобретатель:
Чжао Роберт Юнсинь (US), Ян Цинлян, Хуан Юаньюань, Чжао Линьяо, Е Ханбо, Чжо Сяотао, Ян Ченюй, Лэй Цзюнь, Сюй Ифан, Го Хуэйхуэй, Ли Вэньцзюнь, Гай Шунь, Бай Лу, Го Чжисян, Цзя Цзюньсян, Чжэнь Цзюнь, Чжоу Сяомай (CN), Се Хуншэн (US), Тун Цяньцянь, Цао Минцзюнь, Тун Яньхун, Е Чжиуан, Линь Чэнь, Ян Яньлэй, Чэнь Биньбинь (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 конъюгату цитотоксического лекарственного средства/молекулы с клеточно-связывающей молекулой с бис-линкером (двойным линкером), содержащим 2,3-диаминосукцинильную группу. Оно также относится к получению конъюгата цитотоксического лекарственного средства/молекулы с клеточно-связывающей молекулой с бис-линкером, особенно когда лекарственное средство имеет функциональные группы: аминогруппу, гидроксильную, диаминогруппу, аминогидроксильную, дигидроксильную, карбоксильную, группу гидразина, альдегидную и тиольную для конъюгирования с бис-линкером специфическим способом, а также для терапевтического применения конъюгатов.

202190837 A1

202190837 A1

ЛИНКЕР КОНЪЮГАЦИИ, СОДЕРЖАЩИЙ 2,3-ДИАМИНОСУКЦИНИЛЬНУЮ ГРУППУ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Данное изобретение относится к конъюгату цитотоксического лекарственного средства/молекулы с клеточно-связывающей молекулой с бис-линкером (двойным линкером), содержащим 2,3-диаминосукцинильную группу. Оно также относится к получению конъюгата цитотоксического лекарственного средства/молекулы с клеточно-связывающей молекулой с бис-линкером, особенно когда лекарственное средство имеет функциональные аминогруппы, гидроксильные, диаминогруппы, аминогидроксильные, дигидроксильные, карбоксильные, гидразино-группы, альдегидные и тиольные группы для конъюгации с бис-линкером особым образом, а также для терапевтического применения конъюгатов.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), который представляет собой синергетическую комбинацию антитела (mAb), конъюгированного с низкомолекулярными химиотерапевтическими средствами через условно стабильный линкер для преимущественного накопления низкомолекулярных лекарственных средств в опухоли посредством рецептор-опосредованного эндоцитоза и, следовательно, щадящие здоровые ткани, привели к появлению чрезвычайно эффективного класса противораковых препаратов с уже обширным и быстрорастущим клиническим портфелем. Три компонента ADC (mAb, линкер и цитотоксин) влияют на эффективность и токсичность конъюгата. Оптимизация каждого из них при одновременном расширении функциональности ADC в целом была одним из основных соображений при проектировании и разработке ADC. Считается, что линкерная технология для достижения высвобождения в желаемом месте, эффективная загрузка лекарственного средства, оптимальная стехиометрия и гомогенность макромолекулы жизненно важны для достижения хорошей фармакокинетики, эффективности и переносимости ADC (Lambert, J. и Chari, R., J , Med. Chem. 2014, 57, 6949−64; Ponte, J. et al., Bioconj. Chem., 2016, 27(7), 1588-98; Dovgan, I., et al. Sci. Rep. 2016, 6, 30835; Ross, P. L. and Wolfe, J. L. J. Pharm. Sci. 105(2), 391-7; Chen, T. et al. J. Pharm. Biomed. Anal., 2016, 117, 304-10; Zhao, R. Y. et al, 2011, J. Med. Chem. 54, 3606-23).

Предыдущие исследования стабильности конъюгата антитело-лекарственное средство были сосредоточены на высвобождении лекарственного средства путем

деконъюгации линкера на стабильность ADC из-за относительно стабильных полезных нагрузок, таких как майтанзины (Piwko C et al, Clin Drug Investig. 2015, 35(8), 487-93; Lambert, J. and Chari, R., J. Med. Chem. 2014, 57, 6949–64). Но коммерчески доступный конъюгат антитело-майтанзин, называемый T-DM1, не прошел клинические испытания в качестве лечения первой линии для пациентов с HER2-положительным неоперабельным местнораспространенным или метастатическим раком груди и в качестве лечения второй линии HER2-положительного распространенного рака желудка. из-за небольшой пользы для пациентов при сравнении побочной токсичности с эффективностью (Ellis, PA, et al., J. Clin. Oncol. 2015, 33, (suppl; abstr 507 of 2015 ASCO Annual Meeting); Shen, K. et al, Sci Rep. 2016; 6: 23262; de Goeij, B. E. and Lambert, J. M. Curr Opin Immunol 2016, 40, 14-23; Barrios, C. H. et al, J Clin Oncol 2016, 34, (suppl; abstr 593 of 2016 ASCO Annual Meeting).

Для решения проблем нецелевой токсичности исследования и разработки в области химии и дизайна ADC в настоящее время расширяют области компоновки линкер-полезная нагрузка и химии конъюгирования за пределы только высокоактивных полезных нагрузок, и особенно для решения проблемы активности линкер-полезная нагрузка ADC относительно мишеней/целевых заболеваний (Lambert, JM Ther Deliv 2016, 7, 279-82; Zhao, RY et al, 2011, J. Med. Chem. 54, 3606-23). В настоящее время многие разработчики лекарств и академические институты уделяют большое внимание созданию новых надежных специфических линкеров конъюгирования и сайтспецифических методов конъюгирования ADC, которые, по-видимому, имеют более длительный период полужизни в кровотоке, более высокую эффективность, потенциально сниженную нецелевую токсичность и узкий диапазон in vivo фармакокинетических (PK) свойств ADC, а также лучшую однородность характеристик от серии к серии при производстве ADC (Hamblett, KJ et al., Clin. Cancer Res. 2004, 10, 7063−70; Adem, Y. T. et al, Bioconjugate Chem. 2014, 25, 656−664; Boylan, N. J. *Bioconjugate Chem.* 2013, *24*, 1008–1016; Strop, P., et al 2013 Chem. Biol. 20, 161−67; Wakankar, A. mAbs, 2011, 3, 161–172). Данные специфические способы конъюгирования, о которых сообщалось до сих пор, включают введение рекомбинантных цистеинов (Junutula, J.R. et al. Nat. Biotechnol. 2008, 26, 925–32; Junutula, J. R., et al 2010 Clin. Cancer Res. 16, 4769; патенты США 8309300; 7855275; 7521541; 7723485, WO2008/141044), селеноцистеины (Hofer, T., et al. Biochemistry 2009, 48, 12047–57; Li, X., et al. Methods 2014, 65, 133–8;патенты США 8916159 для Национального института рака США), цистеинсодержащая метка с перфторароматическими реагентами (Zhang, C. et al. Nat. Chem. 2015, 8, 1–9), тиоглюкоза (Okeley, N. M., et al 2013 Bioconjugate Chem. 24, 1650), неприродных аминокислот (Axup, J. Y., et al, Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2012, 109, 16101-6; Zimmerman, E.S., et al., 2014,

Bioconjug. Chem. 25, 351–361; Wu, P. и др., 2009 Proc. Natl. Acad. Sci. 106, 3000-5; Rabuka, D., et al, Nat. Protoc. 2012, 7, 1052−67; патент США 8778631 и патентные заявки 20100184135, WO2010/081110 для Sutro Biopharma; WO2006/069246, 2007/059312, патенты США 7332571, 7696312, и 7638299 для Ambrx; WO2007/130453, патенты США 7632492 и 7829659 для Allozyne), конъюгация с восстановленными межмолекулярными дисульфидами за счет повторного связывания дибромомалемидов (Jones, M. W. et al. J. Am. Chem. Soc. 2012, 134, 1847–52) бисульфоновые реагенты (Badescu, G. et al. Bioconjug. Chem. 2014, 25, 1124–36; WO2013/190272, WO2014/064424 для PolyTherics Ltd). Дибромопиридазиндионы (Maruani, A. et al. Nat. Commun. 2015, 6, 6645), галактозил- и сиалилтрансферазы (Zhou, Q. et al. Bioconjug. Chem. 2014, 25, 510–520; Заявка на патент США 20140294867 для Sanofi-Genzyme), фермент, генерирующий формилглицин (FGE) (Drake, P. M. et al. Bioconj. Chem. 2014, 25, 1331–41; Carrico, I. S. et al патенты США 7985783; 8097701; 8349910 и патентные заявки США 20140141025, 20100210543 Redwood Bioscience), фосфопантетинилтрансферазы (PPTases) (Grünewald, J. et al. Bioconjug. Chem. 2015, 26, 2554–62), сортаза A (Beerli, R. R., et al. PLoS One 2015, 10, e0131177), генетически введенная глутаминовая метка с трансглутаминазой Streptoverticillium mobaraense (mTG)(Strop, P., Bioconj. Chem., 2014, 25, 855–62; Strop, P., et al., Chem. Biol. 2013, 20, 161–7; патент США 8871908 Rinat-Pfizer) или с микробной трансглутаминазой (MTGase) (Dennler, P., et al, 2014, Bioconjug. Chem. 25, 569–78; Siegmund, V. et al. Angew. Chemie - Int. Ed. 2015, 54, 13420–4; патентная заявка США 20130189287 для Innate Pharma; патент США 7893019 для Bio-Ker S.r.l. (IT)), фермент/бактерия, образующая изопептидную связь-пептидные связи, которые образуются вне основной цепи белка (Kang, H.J., et al. Science 2007, 318, 1625–8; Zakeri, B. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2012, 109, E690–7; Zakeri, B. & Howarth, M. J. Am. Chem. Soc. 2010, 132, 4526–7).

Мы раскрыли несколько способов конъюгирования повторно соединяемых пар тиолов восстановленных межцепочечных дисульфидных связей нативного антитела, такие как использование броммалеимидных и дибромалеимидных линкеров (WO2014/009774), 2,3-дизамещенных янтарных/2-монозамещенных/2,3-дизамещенных фумаровых или малеиновых линкеров (WO2015/155753, WO20160596228), ацетилендикарбоновых линкеров (WO2015/151080, WO20160596228) или гидразиновых линкеров (WO2015/151081). ADC, полученные с использованием данных линкеров и способов, продемонстрировали лучшие окна терапевтического индекса, чем традиционно неселективное конъюгирование через остатки цистеина или лизина на антителе. В данном документе мы раскрываем изобретение бис-линкеров, содержащих 2,3-диаминосукцинильную группу, и способы конъюгации цитотоксической молекулы, в

частности, когда цитотоксический агент имеет двойные группы диамино, аминогидроксила, дигидроксила, карбоксила, альдегида, гидразина, тиолов или комбинация выше. Иммуноконъюгаты, полученные с помощью бис-связывания, имеют более длительный период полувыведения во время целевой доставки и сводят к минимуму воздействие на нецелевые клетки, ткани или органы во время кровообращения, что приводит к снижению нецелевой токсичности.

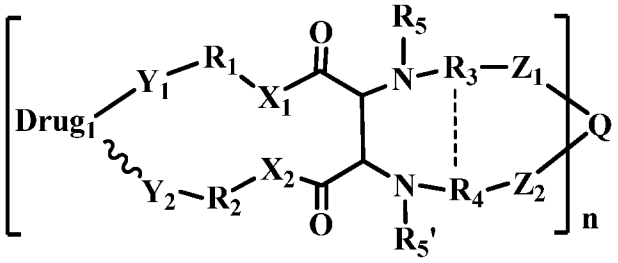
СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение предлагает бис-связывание антитела с цитотоксическим агентом, в частности, когда цитотоксический агент содержит две функциональные группы из амино, гидроксил, диамино, аминогидроксил, дигидроксил, карбоксил, гидразин или тиол. Оно также предлагает бис-линкер для конъюгирования молекулы, связывающейся с клеткой, с цитотоксической молекулой определенным образом.

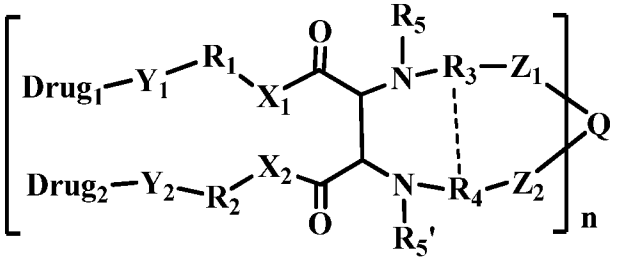
В одном аспекте данного изобретения конъюгат с бис-связью, содержащий 2,3-диаминосукцинильную группу, представлен Формулой (I), (II), (III) или (IV):

$Drug_1$ – Лекарств. средство$_1$

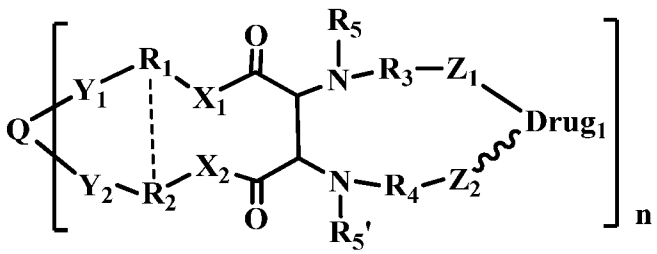
$Drug_2$ – Лекарств. средство$_2$



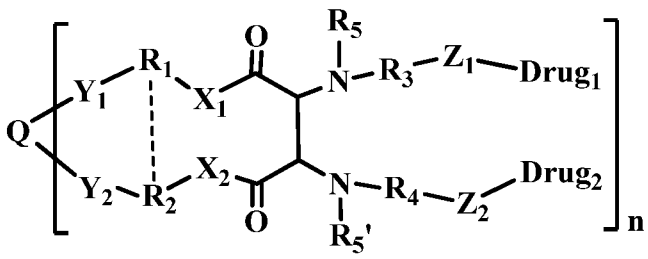
(I),



(II),



(III),



(IV),

где

«——» представляет собой одинарную связь;

“∿∿” представляет собой необязательно либо одинарную связь, либо отсутствует

«-----» представляет собой необязательно либо одинарную связь, либо двойную связь или может необязательно отсутствовать;

n независимо равно от 1 до 30;

Q представляет собой связывающийся с клеткой агент/молекулу, которая связывается с R_3, и R_4, может быть любого типа, известного в настоящее время или ставшего известным, молекулы, которая связывается, образует комплексы или взаимодействует с частью популяции клеток, которую предполагается использовать в терапевтических целях. или иным образом биологически модифицированные. Предпочтительно агент/молекула, связывающийся с клеткой, представляет собой иммунотерапевтический белок, антитело, фрагмент антитела или пептиды, содержащие более четырех аминокислот;

Лекарственное средство$_1$ или/и Лекарственное средство$_2$ представляют собой цитотоксическую молекулу/агент, который является терапевтическим лекарственным средством, или иммунотерапевтическим белком/молекулой, или функциональной молекулой для усиления связывания или стабилизации связывающего клетки агента, или лиганда, связывающего рецептор клеточной поверхности, или для ингибирования пролиферации клеток;

X_1 и X_2 одинаковые или разные и независимо выбраны из NH; NHNH; $N(R_1)$; $N(R_1)N(R_2)$; O; S; S-S, O-NH. $O\text{-}N(R_1)$, CH_2-NH. $CH_2\text{-}N(R_1)$, CH=NH. $CH{=}N(R_1)$, S(O), $S(O_2)$, P(O)(OH), S(O)NH, $S(O_2)NH$, P(O)(OH)NH, NHS(O)NH, $NHS(O_2)NH$, NHP(O)(OH)NH, $N(R_1)S(O)N(R_2)$, $N(R_1)S(O_2)N(R_2)$, $N(R_1)P(O)(OH)N(R_2)$, OS(O)NH, $OS(O_2)NH$, OP(O)(OH)NH, C(O), C(NH), $C(NR_1)$, C(O)NH, C(NH)NH, $C(NR_1)NH$, OC(O)NH, OC(NH)NH; $OC(NR_1)NH$, NHC(O)NH; NHC(NH)NH; $NHC(NR_1)NH$, C(O)NH, C(NH)NH, $C(NR_1)NH$, $OC(O)N(R_1)$, $OC(NH)N(R_1)$, $OC(NR_1)N(R_1)$, $NHC(O)N(R_1)$, $NHC(NH)N(R_1)$, $NHC(NR_1)N(R_1)$, $N(R_1)C(O)N(R_1)$, $N(R_1)C(NH)N(R_1)$, $N(R_1)C(NR_1)N(R_1)$; или C_1-C_6 алкила; C_2-C_8 алкенила, гетероалкила, алкилциклоалкила или

гетероциклоалкила; C_3-C_8 арила, Ar-алкила, гетероциклила, карбоциклила, циклоалкила, гетероалкилциклоалкила, алкилкарбонила или гетероарила;

Y_1, Y_2, Z_1 и Z_2 одинаковые или разные, и независимо являются функциональной группой, которая связывается с клеточно-связывающей молекулой Q, или лекарственным средством$_1$ или лекарственным средством$_2$, с образованием дисульфидной, эфирной, сложноэфирной, тиоэфирной, сложнотиоэфирной, пептидной, гидразоновой. карбаматной, карбонатной, амино- (вторичный, третичный или четвертичный), имино-, циклогетероалкиановой, гетероароматической, алкилоксимной или амидной связи; Предпочтительно Y_1, Y_2, Z_1 и Z_2 независимо друг от друга имеют следующие структуры: C(O)CH, C(O)C, $C(O)CH_2$, $ArCH_2$, C(O), NH, NHNH, $N(R_1)$, $N(R_1)N(R_2)$, O, S, S-S, O-NH, $O\text{-}N(R_1)$, CH_2-NH. $CH_2\text{-}N(R_1)$, CH=NH. $CH\text{=}N(R_1)$, S(O), $S(O_2)$, P(O)(OH), S(O)NH, $S(O_2)NH$, P(O)(OH)NH, NHS(O)NH, $NHS(O_2)NH$, NHP(O)(OH)NH, $N(R_1)S(O)N(R_2)$, $N(R_1)S(O_2)N(R_2)$, $N(R_1)P(O)(OH)N(R_2)$, OS(O)NH, $OS(O_2)NH$, OP(O)(OH)NH, C(O), C(NH), $C(NR_1)$, C(O)NH, C(NH)NH, $C(NR_1)NH$, OC(O)NH, OC(NH)NH; $OC(NR_1)NH$, NHC(O)NH; NHC(NH)NH; $NHC(NR_1)NH$, C(O)NH, $C(NR_1)NH$, $OC(O)N(R_1)$, $OC(NH)N(R_1)$, $OC(NR_1)N(R_1)$, $NHC(O)N(R_1)$, $NHC(NH)N(R_1)$, $NHC(NR_1)N(R_1)$, $N(R_1)C(O)N(R_1)$, $N(R_1)C(NH)N(R_1)$, $N(R_1)C(NR_1)N(R_1)$; или C_1-C_8 алкила; C_2-C_8 гетероалкила, алкилциклоалкила, гетероциклоалкила; C_3-C_8 арила, Ar-алкила, гетероциклила, карбоциклила, циклоалкила, гетероалкилциклоалкила, алкилкарбонила, гетероарила;

Предпочтительно Y_1, Y_2, Z_1 и Z_2 связаны с парами тиолов клеточно-связывающего агента/молекулы. Тиолы предпочтительно представляют собой пары атомов серы восстановленных из дисульфидных связей внутренней цепи агента, связывающегося с клеткой посредством восстанавливающего агента, выбранного из дитиотреитола (ДТТ), дитиоэритритола (DTE), L-глютатиона (GSH), трис(2-карбоксиэтил)фосфина (TCEP), 2-меркаптоэтиламина (β-MEA), или/и бета меркаптоэтанола (β-ME, 2-ME).

R_1, R_2, R_3, и R_4 представляют собой цепь атомов, выбранных из C, N, O, S, Si и P, предпочтительно имеющую 0 ~ 500 атомов, которая ковалентно соединяется с X и Z_1, и Y и Z_2. Атомы, используемые при образовании R_1, R_2, R_3, и R_4 могут быть связаны всеми химически значимыми способами, такими как образование алкилена, алкенилена и алкинилена, простых эфиров, полиоксиалкилена, сложных эфиров, аминов, иминов, полиаминов, гидразинов, гидразонов, амидов, мочевин, семикарбазидов, карбазидов, алкоксиаминов, алкоксиламинов, уретаньов, аминокислот, пептидов, ацилоксиламинов, гидроксамовых кислот или их комбинаций. Предпочтительно, чтобы R_1, R_2, R_3, и R_4 были одинаковыми или разными, независимо выбранными из O, NH, S, NHNH, $N(R_5)$, $N(R_3)N(R_{3'})$, полиэтиленокси-звеньев формулы $(OCH_2CH_2)_pOR_5$, или $(OCH_2CH\text{-}(CH_3))_pOR_5$,

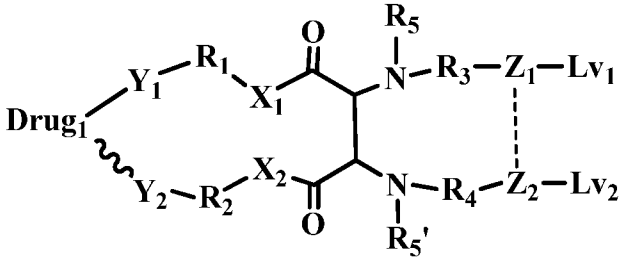
или $NH(CH_2CH_2O)_pR_5$, или $NH(CH_2CH(CH_3)O)_pR_5$, или $N[(CH_2CH_2O)_pR_5]$-$[(CH_2CH_2O)_{p'}R_{5'}]$, или $(OCH_2CH_2)_pCOOR_5$, или $CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_pCOOR_5$, где p и p‘ независимо равно целому числу, выбранному от 0 до около 1000, или их комбинацим; C_1-C_8 алкил; C_2-C_8 гетероалкил или алкилциклоалкил, гетероциклоалкил; C_3-C_8 арил, Ar-алкил, гетероциклический, карбоциклический, циклоалкил, гетероалкилциклоалкил, алкилкарбонил или гетероарил;

Более предпочтительно R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 и $R_{5'}$ независимо представляют собой H; C_1-C_8 алкил; C_2-C_8 гетероалкил, алкилциклоалкил или гетероциклоалкил; C_3-C_8 арил, Ar-алкил, гетероциклический, карбоциклический, гетероалкилциклоалкил, алкилкарбонил или гетероарил; или сложные эфиры, простой эфир или амид с C_1-C_8 атомами углерода; или 1~24 аминокислоты; или полиэтиленокси, имеющий формулу $(OCH_2CH_2)_p$ или $(OCH_2CH(CH_3))_p$, где p равно целому числу от 0 до около 5000, или их комбинация, указанная выше;

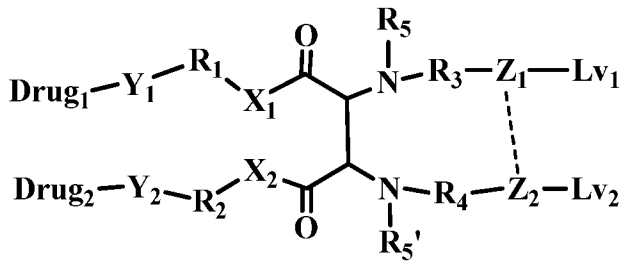
R_1, R_2, R_3, и R_4 могут необязательно состоять из одного или нескольких линкерных компонентов 6-малеимидокапроила («MC»), малеимидопропаноила («MP»), валин-цитруллина («val-cit» или «vc»), аланин-фенилаланина («ala-phe» или «af»), п-аминобензилоксикарбонила («PAB»), 4-тиопентаноата («SPP»), 4-(N-малеимидометил)циклогексан-1 карбоксилата («MCC»), (4-ацетил)аминобензоата («SIAB»), 4-тио-бутирата (SPDB), 4-тио-2-гидроксисульфонилбутирата (2-Sulfo-SPDB) или природных или неприродных пептидов, содержащих от 1 до 8 природных или неприродных аминокислотных единиц. Природная аминокислота предпочтительно выбрана из аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, аргинина, гистидина, лизина, серина, треонина, аспарагина, глютамина, цистеина, селеноцистеина, тирозина, фенилаланина, глицина, пролина, триптофана и аланина;

Кроме того, R_1, R_2, R_3, R_4, Y_1, Y_2, Z_1, и Z_2 могут независимо отсутствовать.

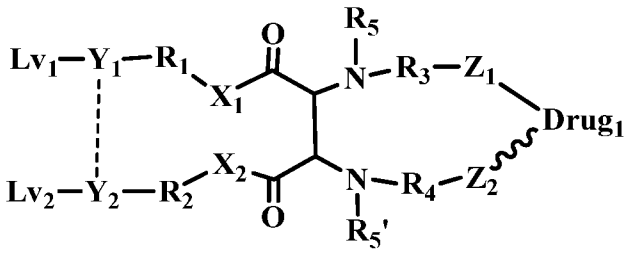
В другом аспекте данное изобретение обеспечивает легко реагирующий бис-линкер Формулы (V), (VI), (VII) и (VIII), содержащий 2,3-диаминосукцинильную группу, указанную ниже, где два или более остатков клеточно-связывающей молекулы могут одновременно или последовательно реагировать с образованием Формул (I), (II), (III) и (IV), указанных выше:



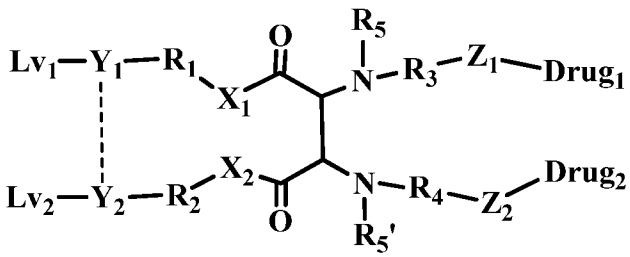
(V),



(VI),



(VII),



(VIII),

где:

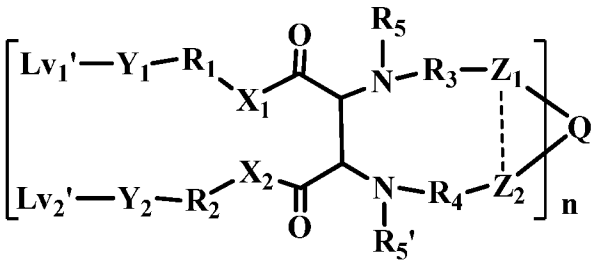
"-----" необязательно представляет собой одинарную связь, или двойную связь, или тройную связь, или может необязательно отсутствовать; Это при условии, что когда ----- представляет собой тройную связь, как Lv_1, так и Lv_2 отсутствуют;

"——", "∿∿∿", Лекарственное средство$_1$, Лекарственное средство$_2$, n, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 , $R_{5'}$, Z_1, и Z_2 определены так же, как в Формуле (I) - (IV);

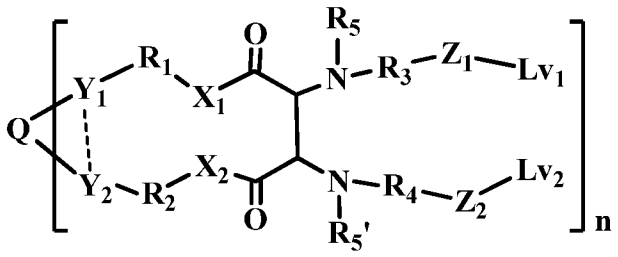
Lv_1 и Lv_2 представляют собой одинаковую или различную уходящую группу, которую могут приводить в контакт с тиольной, амино, карбоксильной, селенольной, фенольной или гидроксильной группой в молекуле, связывающейся с клеткой. Такими уходящими группами являются, но не ограничиваются ими, галогенид (например, фторид, хлорид, бромид и иодид), метансульфонил (мезил), толуолсульфонил (тозил), трифторметилсульфонил (трифлат), трифторметилсульфонат, нитрофеноксил, N-сукцинимидилоксил (NHS), феноксил; динитрофеноксил; пентафторфеноксил, тетрафторфеноксил, трифторфеноксил, дифторфеноксил, монофторфеноксил, пентахлорфеноксил, 1H-имидазол-1-ил, хлорфеноксил, дихлорфеноксил, трихлорфеноксил, тетрахлорфеноксил, N- (бензотриазол-ил)оксил,2-этил-5-фенилизоксазолий-3'-сульфонил, фенилоксадиазол-сульфонил (-сульфон-ODA), 2-этил-5-фенилизоксазолий-ил, фенилоксадиазол-ил (ODA),оксадиазол-ил, ненасыщенный углерод (двойная или тройная связь между углерод-углеродом, углерод-азотом, углерод-серой, углерод-фосфором, сера-азотом, фосфор-азотом, кислород-азотом или углерод-

кислородом) или промежуточная молекула, образованная с помощью реагента конденсации для реакций Мицунобу.

В другом аспекте данное изобретение обеспечивает легко-реагирующий бис-линкер формулы (IX) и (X) из следующих, в котором две или более функциональных группы цитотоксических молекул могут реагировать одновременно или последовательно с образованием Формулы (I), (II), (III) или (IV), указанной выше.



(IX),

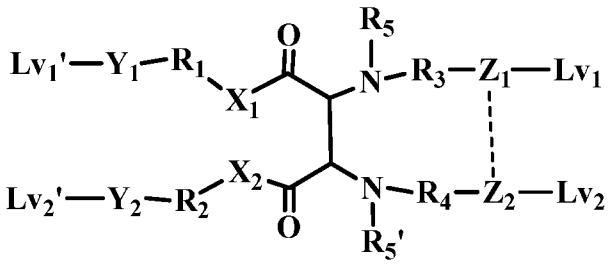


(X),

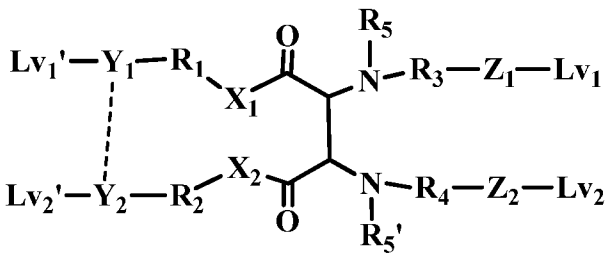
где:

“——”, “”, Q, n, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 , $R_{5'}$, Z_1, и Z_2 определены так же, как в Формуле(I)-(IV); и “-----”,Lv_1, Lv_2, Lv_1’ и Lv_2’ определены так же, как Lv_1 и Lv_2 в Формуле (V)- (VIII);

В другом аспекте данное изобретение обеспечивает легко реагирующий бис-линкер Формулы (XI) и (XII), приведенные ниже, где цитотоксическая молекула и молекула, связывающаяся с клеткой, могут реагировать с ней независимо, одновременно или последовательно с образованием Формулы (I)-(IV).



(XI),



(XII),

где “——”, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 , $R_{5'}$, Z_1 и Z_2 определены так же, как в Формуле(I)-(IV); и “-----”, Lv_1, Lv_2, Lv_1’ и Lv_2’ определены так же, как Lv_1 и Lv_2 в Формуле (V)- (VIII);

Данное изобретение также относится к способу получения конъюгата клеточно-связывающая молекула-лекарственное средство Формулы (I), (II), (III) и (IV).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На Фиг. 1 представлен синтез аналогов тирозина (Tyr) и тубутирозина (Tut), которые содержат амино или нитрогруппу в бензольном кольце для двойного связывания с молекулой, связывающейся с клеткой.

На Фиг. 2 представлен синтез компонентов аналогов тубулизина.

На Фиг. 3 представлен синтез компонентов аналогов тубулизина.

На фиг.4 представлен синтез бис-линкера, содержащего 2,3-диаминосукцинильную группу, и аналога тубулизина, содержащего бис-линкер, имеющий 2,3-диаминосукцинильную группу.

На Фигуре 5 представлен синтез аналога тубулизина с бис-линкером, содержащим 2,3-диаминосукцинильную группу, и его конъюгацию с антителом через пару тиолов антитела.

На Фигуре 6 представлен синтез аналога тубулизина с бис-линкером, содержащим 2,3-диаминосукцинильную группу, и его конъюгацию с антителом через пару тиолов антитела.

На Фигуре 7 представлен синтез аналога тубулизина с бис-линкером, содержащим 2,3-диаминосукцинильную группу, и его конъюгацию с антителом через пару тиолов антитела.

На Фигуре 8 представлен синтез аналога тубулизина с бис-линкером, содержащим 2,3-диаминосукцинильную группу, и его конъюгацию с антителом через пару тиолов антитела.

На Фигуре 9 представлен синтез аналога тубулизина с бис-линкером, содержащим 2,3-диаминосукцинильную группу, и его конъюгацию с антителом через пару тиолов антитела.

На Фигуре 10 представлен синтез аналога тубулизина с бис-линкером, содержащим 2,3-диаминосукцинильную группу, и его конъюгацию с антителом через пару тиолов антитела.

На Фигуре 11 представлен синтез аналога тубулизина с бис-линкером, содержащим 2,3-диаминосукцинильную группу, и его конъюгацию с антителом через пару тиолов антитела и синтез компонентов ауристатина.

На Фигуре 12 представлен синтез компонентов ауристатина, содержащих бис-линкер.

На фигуре 13 представлен синтез ауристатина F, содержащего бис-линкер, и его конъюгация с антителом, а также синтез компонентов аманитина и линкера.

На Фигуре 14 представлен синтез синтеза ауристатина F, содержащего бис-линкер, и его конъюгация с антителом.

На Фигуре 15 представлен синтез аналога аманитина, содержащего бис-линкер.

На Фигуре 16 представлен синтез конъюгации аналога аманитина, содержащего бис-линкер, с антителом через пару тиолов на антителе.

На Фигуре 17 представлен синтез конъюгации аналога аманитина, содержащего бис-линкер, с антителом через пару тиолов на антителе.

На фигуре 18 представлен синтез конъюгации аналога тубулизина и аналога CBI-димера, содержащего бис-линкер, с антителом через пару тиолов антитела.

На Фигуре 19 представлен синтез аналога CBI-димера, содержащего бис-линкер, и его конъюгация с антителом через пару тиолов антитела.

На фигуре 20 представлен синтез аналога CBI-димера, содержащего бис-линкер, и его конъюгация с антителом через пару тиолов антитела.

На фигуре 21 представлен синтез аналога CBI-димера, содержащего бис-линкер, и его конъюгация с антителом через пару тиолов антитела.

На фиг. 22 представлен синтез аналога CBI-димера, содержащего бис-линкер, и его конъюгация с антителом через пару тиолов антитела, а также синтез компонентов димера PBD.

На Фигуре 23 представлен синтез димера PBD, содержащего бис-линкер, и его конъюгация с антителом через пару тиолов антитела.

На Фигуре 24 представлен синтез димера PBD, содержащего бис-линкер, и его конъюгация с антителом через пару тиолов антитела.

На Фигуре 25 представлен синтез димера PBD, содержащего бис-линкер, и его конъюгация с антителом через пару тиолов антитела.

На Фигуре 26 представлен синтез димера PBD, содержащего бис-линкер, и его конъюгация с антителом через пару тиолов антитела.

На Фиг. 27 представлено сравнение противоопухолевого эффекта конъюгатов **B-12, B-14, B-16, Ca-03, Ca-04, Ca-05, Ca-06, Ca-07, Ca-10, Ca-11, Ca-12** вместе с T-DM1 и PBS

(контроль) с использованием клеточной модели рака желудка N87, в.в., одна инъекция, доза 3 мг/кг для конъюгатов. Все 12 конъюгатов, протестированных в данном документе, кроме Ca-06, продемонстрировали противоопухолевую активность.

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, имеющим C_1-C_8 (от 1 до 8 атомов углерода) в цепи. Термин «разветвленный» означает, что одна или более низших алкильных групп, таких как метил, этил или пропил, присоединены к линейной алкильной цепи. Типичные алкильные группы включают метил, этил, *н*-пропил, *изо*пропил, *н*-бутил, *трет*-бутил, *н*-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, *н*-гептил, изогептил, *н*-октил и изооктил. C_1-C_8 алкильная группа может быть незамещенной или замещенной одной или более группами, включая, но не ограничиваясь ими, -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', -$S(O)_2$R', -S(O)R', -OH, -галоген, -N_3, -NH_2, -NH(R'), -$N(R')_2$ и -CN ; причем каждый R' независимо выбран из -C_1-C_8 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, но не ограничиваются ими, -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, но не ограничиваясь ими, -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',-$S(O)_2$R', -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, н-бутенил, изобутенил, 3-метилбут-2-енил, н-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, *н*-бутинил, 2-бутинил, 3-метилбутинил, 5-пентинил, *н*-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, но не ограничиваются ими: метилен (-CH_2-), 1,2-этил (-CH_2CH_2-), 1,3-пропил (-$CH_2CH_2CH_2$-), 1,4-бутил (-$CH_2CH_2CH_2CH_2$-), и тому подобное.

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, но не ограничиваются ими: 1,2-этилен (-CH=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, но не ограничиваются ими: ацетилен, пропаргил и 4-

пентинил.

Термин «арил» или «Ar» относится к ароматической или гетероароматической группе, состоящей из одного или более колец, включающих 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, предпочтительно один, два, три или четыре атома углерода заменены 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 -R', -галоген, -OR', или -SR', -NR'R'', -N=NR', -N=R', -NR'R'',-NO_2, -S(O)R', -$S(O)_2$R', -$S(O)_2$OR', -$OS(O)_2$OR', -PR'R'', -P(O)R'R'', -P(OR')(OR''), -P(O)(OR')(OR'') или -OP(O)(OR')(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 заменены гетероатомом из группы O, N, S, Se, B, Si и P. Предпочтительными гетероатомами являются O, N и S. Гетероциклы также описаны в The Handbook of Chemistry and Physics, 78th Edition, CRC Press, Inc., 1997-1998, p. 225-226, описание которых включено в настоящее описание посредством ссылки. Предпочтительный неароматический гетероциклил включает эпоксид, азиридинил, тииранил, пирролидинил, пиразолидинил, имидазолидинил, оксиранил, тетрагидрофуранил, диоксоланил, тетрагидропиранил, диоксанил, диоксаланил, пиперидил, пиперазинил, морфолинил, пиранил, имидазолинил, пирролинил, пиразолинил, тиазолидинил, тетрагидротиопиранил, дитианил, тиоморфолинил, дигидропиранил, тетрагидропиранил, дигидропиранил, тетрагидропиридил, дигидропиридил, тетрагидропиримидинил, дигидротиопиранил, азепанил, а также конденсированные системы, образующиеся в результате конденсации с фенильной группой.

Термин «гетероарил» или ароматические гетероциклы относится к 3-14, предпочтительно 5-10-членным ароматическим гетеро, моно-, би- или мультициклическим кольцам. Примеры включают пирролил, пиридил, пиразолил, тиенил, пиримидинил, пиразинил, 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 тому подобное относятся также к соответствующим «алкилену», «циклоалкилену», «алкенилену», «алкинилену», «арилену», «гетероарилену», «гетероциклену» и тому подобное, 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 метоксиметиловый эфир, 2-метоксиэтоксиметиловый эфир, тетрагидропираниловый эфир, бензиловый эфир, *п*-метоксибензиловый эфир, триметилсилиловый эфир, триэтилсилиловый эфир, триизопропилсилиловый эфир, *трет*-бутилдиметилсилиловый эфир, трифенилметилсилиловый эфир, ацетатные эфиры, пивалоат, бензоат, метансульфонат и *п*-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), *п*-толуолсульфонил (тозил), трифторметилсульфонил (трифлат) и трифторметилсульфонат. Предпочтительная уходящая группа выбрана из нитрофенола; N-гидроксисукцинимида (NHS); фенола; динитрофенола; пентафторфенола; тетрафторфенола; дифторфенола; монофторфенола; пентахлорфенола; трифлата; имидазола; дихлорфенола; тетрахлорфенола; 1-гидроксибензотриазола; тозилата; мезилата; 2-этил-5-фенилизоксазолий-3'-сульфоната, простых и смешанных ангидридов, например, ацетилангидрида, формил ангидрида; или интермедиата, полученного 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, гексафторфосфат бромтриспирролидинофосфония; CDI, 1,1'-карбонилдиимидазол; DCC, дициклогексилкарбодиимид; DCE,, дихлорэтан; DCM, дихлорметан; DEAD -

диэтилазодикарбоксилат, DIAD, диизопропилазодикарбоксилат; DIBAL-H, диизобутилалюминийгидрид; DIPEA или DEA, диизопропилэтиламин; DEPC, диэтилфосфороцианидат; DMA, N,N-диметилацетамид; DMAP, 4-(N,N-диметиламино)пиридин; DMF, N, N-диметилформамид; DMSO, диметилсульфоксид; DTPA - диэтилентриаминпентауксусная кислота; ДТТ, дитиотреитол; EDC, 1- (3-диметиламинопропил) -3-этилкарбодиимид гидрохлорид; ESI-MS, масс-спектрометрия с электрораспылением; EtOAc - этилацетат; Fmoc представляет собой N-(9-флуоренилметоксикарбонил); HATU, O- (7-азабензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония гексафторфосфат; HOBt, 1-гидроксибензотриазол; ВЭЖХ, жидкостная хроматография высокого давления; NHS, N-гидроксисукцинимид; MeCN - ацетонитрил; MeOH - метанол; MMP, 4-метилморфолин; PAB, п-аминобензил; PBS, фосфатно-солевой буфер (pH 7,0 ~ 7,5); Ph - фенил; phe представляет собой L-фенилаланин; PyBrop представляет собой гексафторфосфат бром-трис-пирролидинофосфония; PEG, полиэтиленгликоль; SEC, эксклюзионная хроматография; TCEP, трис(2-карбоксиэтил)фосфин; TFA, трифторуксусная кислота; THF, тетрагидрофуран; Val, валин; TLC - тонкослойная хроматография; UV - 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, глютамин, 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 аминокислот и миметики. 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. Многие последовательности распознавания для расщепления протеазой известны в данной области техники. 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); раскрытие которых включено в настоящий документ посредством 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, 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 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*, а m и n <36), гликозид в данном контексте включает глюкозу (декстрозу), фруктозу (левулозу), аллозу, альтрозу, маннозу, гулозу, йодозу, галактозу, талозу, галактозамин, глюкозамин, сиаловую кислоту, *N*-ацетилглюкозамин, сульфохиновозу (6-дезокси-6-сульфо-D-глюкопиранозу), рибозу, арабинозу, ксилозу, ликсозу, сорбит, маннит, мальтозу, 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 циклических форме пиранозы или ациклической форме, α-изомера (-OH аномерный атом углерода находится ниже плоскости атомов углерода проекции Хауорта) или β-изомера (-OH аномерный атом углерода находится над плоскостью атомов углерода проекции Хауорта). Углевод, как используется в данном документе, может быть как моносахаридом, дисахаридом, полиолом или олигосахаридом, содержащим 3-6 единиц сахара.

Термин «антитело», как используется в данном документе,относится к полноразмерной молекуле иммуноглобулина или иммунологически активной части полноразмерной молекулы иммуноглобулина, то есть к молекуле, которая содержит

антигенсвязывающий сайт, который иммуноспецифически связывает антиген-мишень представляющие интерес или их часть, такие мишени, включая, но не ограничиваясь ими, раковые клетки или клетки, которые продуцируют аутоиммунные антитела, связанные с аутоиммунным заболеванием. Раскрытый в данном 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 молекулы иммуноглобулина. Иммуноглобулины могут происходить от любого вида. Однако предпочтительно иммуноглобулин человеческого, мышиного или кроличьего происхождения. Антитела, используемые в изобретении, предпочтительно являются моноклональными и включают, но не ограничиваются ими, поликлональные, моноклональные, биспецифические, человеческие, гуманизированные или химерные антитела, одноцепочечные антитела, Fv, фрагменты Fab, фрагменты F(ab'), фрагменты $F(ab')_2$, фрагменты, продуцируемые библиотекой экспрессии Fab, антиидиотипическими (анти-Id) антителами, CDR и эпитоп-связывающими фрагментами любого из вышеперечисленных, которые иммуноспецифически связываются с антигенами раковых клеток, вирусными антигенами или микробными антигенами.

«Энантиомер», также известный как «оптический изомер», является одним из двух стереоизомеров, которые являются зеркальными отображениями друг друга, которые не могут быть совмещены (не идентичны), так же как левая и правая руки одинаковы, за исключением того, что они перевернуты. по одной оси (руки не могут казаться идентичными просто путем переориентации). Один хиральный атом или подобная структурная особенность в соединении приводит к тому, что это соединение имеет две возможные структуры, которые не могут быть совмещены, каждая из которых является зеркальным отображением другой. Наличие нескольких хиральных элементов в данном соединении увеличивает количество возможных геометрических форм, хотя могут быть пары идеального зеркального отображения. Энантиомерочистые соединения относятся к образцам, имеющим в пределах обнаружения, молекулы только одной хиральности. Когда присутствуют в симметричной среде энантиомеры имеют идентичные химические и физические свойства, за исключением их способности вращать плоско-поляризованный свет (+/-) на равные величины, но в противоположных направлениях (хотя поляризованный свет можно рассматривать как асимметричную среду). По этой причине их иногда называют оптическими изомерами. Смесь равных частей оптически активного изомера и его энантиомера называется рацемической и имеет нулевое чистое вращение плоскополяризованного света, потому что положительному вращению каждой (+) формы точно противодействует отрицательное вращение (-) формы. Члены энантиомера часто вступают в различные химические реакции с другими энантиомерными веществами.

Поскольку многие биологические молекулы являются энантиомерами, иногда наблюдается заметное различие в действии 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 менее активен, неактивен или иногда даже вызывает побочные эффекты. Благодаря этому открытию, лекарственные средства, состоящие только из одного энантиомера («энантиопер»), могут быть разработаны для повышения фармакологической эффективности, а иногда и для устранения некоторых побочных эффектов.

Изотопы представляют собой варианты определенного химического элемента, который различается числом нейтронов. Все изотопы данного элемента имеют одинаковое количество протонов в каждом атоме. Каждый атомный номер определяет конкретный элемент, но не изотоп; атом данного элемента может иметь широкий диапазон количества нейтронов. Число нуклонов (как протонов, так и нейтронов) в ядре - это массовое число атома, и каждый изотоп данного элемента имеет различное массовое число. Например, углерод-12, углерод-13 и углерод-14 представляют собой три изотопа 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 нейтронные числа этих изотопов равны 6, 7 и 8 соответственно. Атом водорода имеет три изотопа - протий (^{1}H), дейтерий (^{2}H) и тритий (^{3}H), причем дейтерий имеет удвоенную массу протия, а тритий имеет утроенную массу протия. Изотопное замещение можно использовать для определения механизма химической реакции и через кинетический изотопный эффект. Изотопное замещение можно использовать для изучения того, как организм влияет на конкретный ксенобиотик/химическое вещество после введения через механизмы абсорбции и распределения, а также метаболические изменения вещества в организме (например, метаболическими ферментами, такими как цитохром P450 или ферменты глюкуронозилтрансферазы), а также эффекты и пути выведения метаболитов препарата. Такое исследование называется фармакокинетикой (ФК). Изотопное замещение можно использовать для изучения биохимических и физиологических эффектов лекарств. Эффекты могут включать те, которые проявляются у животных (включая людей), микроорганизмов или комбинаций организмов (например, инфекции). Такое исследование называется фармакодинамикой (ФД). Эффекты могут включать те, которые проявляются у животных (включая людей), микроорганизмов или комбинаций организмов (например, инфекции). Оба вместе влияют на дозировку, пользу и побочные эффекты препарата. изотопы могут содержать стабильный (нерадиоактивный) или нестабильный элемент.

Изотопное замещение лекарственного средства может иметь терапевтическую эффективность, отличную от 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, но не ограничиваются ими, 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, метансульфоновая, бензолсульфоновая, глюкуроновая, глутаминовая, бензойная, салициловая, толуолсульфоновая, щавелевая, фумаровая, малеиновая, молочная кислота и тому подобное. Дополнительные соли присоединения

включают соли аммония, такие как трометамин, меглюмин, эполамин и т.д., 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 эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил, являются предпочтительными. Списки подходящих солей можно найти в Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1985, p. 1418, раскрытие которой настоящим включено в качестве 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 по данному изобретению, эффективное для предотвращения или лечения указанного в данном документе патологического состояния.

Термин «пациент» или «пациент, нуждающийся в этом» предназначен для животного или человека, пораженного или вероятно затронутого упомянутым в данном документе патологическим состоянием. Предпочтительно пациентом является человек.

В контексте рака термин «лечение» включает любое или все из: предотвращение роста опухолевых клеток или раковых клеток, предотвращение репликации опухолевых клеток или раковых клеток, уменьшение общей опухолевой нагрузки и облегчение одного или нескольких симптомов, связанных с заболеванием

В контексте аутоиммунного заболевания термин «лечение» включает любое или все из: предотвращение репликации клеток, связанных с аутоиммунным болезненным состоянием, включая, помимо прочего, клетки, способные продуцировать аутоиммунные антитела, уменьшение нагрузки аутоиммунных антител и облегчение одного или нескольких симптомов аутоиммунного заболевания.

В контексте инфекционного заболевания термин «лечение» включает любое или все из: предотвращение роста, размножения или репликации патогена, вызывающего инфекционное заболевание, и облегчение одного или нескольких симптомов инфекционного заболевания.

Примеры «млекопитающего» или «животного» включают, но не ограничиваются ими, человека, крысу, мышь, морскую свинку, обезьяну, свинью, козу, корову, лошадь, собаку, кошку, птицу и домашнюю 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 раскрыты в данном изобретении, или их структура, формула или любое производное, которое включено в качестве ссылки. Термин также включает стереоизомеры, геометрические изомеры, таутомеры, сольваты, метаболиты, соли (например, фармацевтически приемлемые соли) и пролекарства, а также соли пролекарств соединения всех формул, раскрытых в данном изобретении. Термин также включает любые сольваты, гидраты и полиморфы любого из вышеперечисленных. Конкретное перечисление «стереоизомеров», «геометрических изомеров», «таутомеров», «сольватов», «метаболитов», «соли», «пролекарства», «соли пролекарства», «конъюгатов», «соли конъюгатов», «сольвата», «гидрата» или «полиморфа» в некоторых аспектах изобретения, описанных в данной заявке, не следует интерпретировать как намеренное исключение этих форм в других аспектах изобретения, где термин «соединение» используется без упоминания этих других форм.

Термин «реагент, реагирующий с имином» относится к реагенту, который способен реагировать с иминной группой. Примеры реагента, реагирующего с имином, включают, но не ограничиваются ими, сульфиты (H_2SO_3, H_2SO_2 или соль HSO_3^-, SO_3^{2-} или HSO_2^-, образованная с катионом), метабисульфит ($H_2S_2O_5$ или соль $S_2O_5^{2-}$, образованная с катионом), моно, ди, три и тетратиофосфаты (PO_3SH_3, $PO_2S_2H_3$, POS_3H_3, PS_4H_3 или соли PO_3S^{3-}, $PO_2S_2^{3-}$, POS_3^{3-} или PS_4^{3-}, образованные с катионом), сложные эфиры тиофосфата ($(R_5O)_2PS(OR_5)$, R_5SH, R_5SOH, R_5SO_2H, R_5SO_3H), различные амины (гидроксиламин (NH_2OH), гидразин (NH_2NH_2), NH_2OR_5, R_5NHR_5, NH_2R_5), NH_2-CO-NH_2, NH2-C(=S)-NH_2), тиосульфат ($H_2S_2O_3$ или соль $S_2O_3^{2-}$, образованная с катионом), дитионит ($H_2S_2O_4$ или соль $S_2O_4^{2-}$, образованная с катионом), фосфородитиоат (P(=S)(OR_5)(SH)(OH) или его соль с катионом), гидроксамовая кислота ($R_5C(=O)NHOH$ или соль, образованная с катионом), гидразид ($R_5CONHNH_2$), сульфоксилат формальдегида ($HOCH_2SO_2H$ или соль $HOCH_2SO_2^-$, образованная с катионом, например $HOCH_2SO_2^-Na^+$) , гликированный нуклеотид (такой

как GDP-манноза), флударабин или смесь их, где R_5 и $R_{5'}$ каждый независимо представляют собой линейный или разветвленный алкил, содержащий от 1 до 8 атомов углерода, и замещены по меньшей мере одним заместителем, выбранным из $-N(R_5)(R_{5'})$, $-CO_2H$, $-SO_3H$, и $-PO_3H$; R_5 и $R_{5'}$ могут быть дополнительно необязательно замещены заместителем для описанного в данном документе алкила; Предпочтительно катион представляет собой одновалентный катион, такой как Na^+ или K^+. Предпочтительно реагент, реагирующий с имином, выбран из сульфитов, гидроксиламина, мочевины и гидразина. Более предпочтительно, реагент, реагирующий с имином, представляет собой $NaHSO_3$ или $KHSO_3$.

«Агенты, связывающие клетки» или «молекулы, связывающие клетки» могут быть любого типа, известного в настоящее время или ставшего известным, и включать пептиды и непептиды. Как правило, это могут быть антитела (особенно моноклональные антитела) или фрагмент антитела, который содержит по крайней мере один сайт связывания, лимфокины, гормоны, факторы роста, молекулы, транспортирующие питательные вещества (такие как трансферрин), или любую другую связывающую клетку молекулу или вещество. (например, витамины).

Более конкретные примеры агентов, связывающих клетки, которые можно использовать, 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, продуцируемые библиотекой экспрессии Fab, антиидиотипическими (анти-Id) антителами, CDR и эпитоп-связывающими фрагментами любого из вышеперечисленных, которые иммуноспецифически связываются с антигенами раковых клеток, вирусными антигенами или микробными антигенами; интерфероны; пептиды; лимфокины, такие как IL-2, IL-3, IL-4, IL-6; гормоны, такие как инсулин, TRH (тиреотропин-рилизинг-гормоны), MSH (меланоцит-стимулирующий гормон), стероидные гормоны, такие как андрогены и эстрогены; факторы роста и колониестимулирующие факторы, такие как EGF, TGFα, инсулиноподобный фактор роста (IGF-I, IGF-II), G-CSF, M-CSF и GM-CSF {Burgess, 5 Immunology Today 155-158 (1984)} ; витамины, такие как фолиевая кислота и; трансферрин {O'Keefe et al., 260 J. Biol. Chem. 932-937 (1985)}.

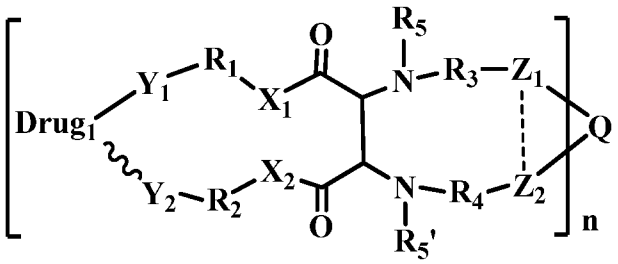
Технология моноклональных антител позволяет производить чрезвычайно селективные связывающие клетки агенты в форме специфических моноклональных антител. В данной области особенно хорошо известны методы создания моноклональных антител, продуцируемых иммунизацией мышей, крыс, хомяков или любого другого млекопитающего представляющим интерес антигеном, таким как интактная клетка-

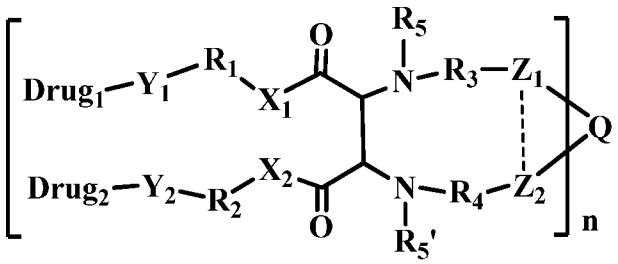
мишень, антигены, выделенные из клетки-мишени, цельный вирус, аттенуированный цельный вирус, и вирусные белки, такие как белки вирусной оболочки. Выбор подходящего связывающего клетки агента - это вопрос выбора, который зависит от конкретной популяции клеток, на которую должна быть направлена мишень, но в общем случае предпочтительны моноклональные антитела, если подходящие антитела доступны.

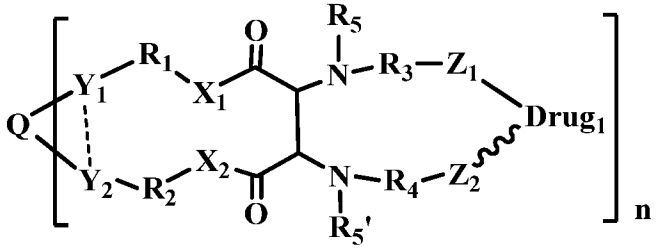
В новых конъюгатах, раскрытых в данном документе, используются бис-линкеры. Примеры некоторых подходящих линкеров и их синтеза показаны на Фигурах 1-26 и в экспериментальных примерах.

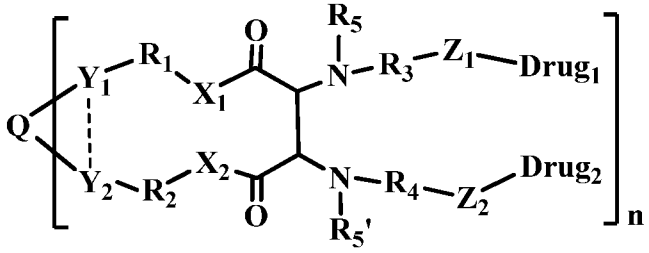
КОНЪЮГАТ КЛЕТОЧНО-СВЯЗЫВАЮЩЕГО АГЕНТА - ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ МОЛЕКУЛЫ ЧЕРЕЗ БИС-СВЯЗЬ, СОДЕРЖАЩИЙ 2,3-ДИАМИНОСУКЦИНИЛЬНУЮ ГРУППУ.

Бис-связь конъюгата представлена Формулой (I), (II), (III) или (IV):


(I),


(II),


(III),


(IV),

или их оптические изомеры, рацематы, диастереомеры или энантиомеры;

где

«——» представляет собой одинарную связь;

“∿∿” представляет собой необязательно либо одинарную связь, либо отсутствует

«-----» представляет собой необязательно либо одинарную связь, либо двойную связь или может необязательно отсутствовать;

n независимо равно от 1 до 30;

Q представляет собой связывающийся с клеткой агент/молекулу, которая связывается с R_3, и R_4, может быть любого типа, известного в настоящее время или ставшего известным, молекулы, которая связывается, образует комплексы или взаимодействует с частью популяции клеток, которую предполагается использовать в терапевтических целях. или иным образом биологически модифицированные. Предпочтительно агент/молекула, связывающийся с клеткой, представляет собой иммунотерапевтический белок, антитело, одноцепочечное антитело; фрагмент антитела, который связывается с клеткой-мишенью; моноклональное антитело; одноцепочечное моноклональное антитело; или фрагмент моноклонального антитела, который связывается с клеткой-мишенью; химерное антитело; фрагмент химерного антитела, который связывается с клеткой-мишенью; домен антитела; фрагмент домена антитела, который связывается с клеткой-мишенью; аднектины, которые имитируют антитела; DARPins (дарпины); лимфокин; гормон; витамин; фактор роста; колониестимулирующий фактор; или молекулу, переносящую питательные вещества в клетку (трансферрин); связывающие пептиды, содержащие более четырех аминокислот, или белок, или антитело, или малую молекулу, связывающуюся с клеткой или лиганд, присоединенный к альбумину, полимерам, дендримерам, липосомам, наночастицам, везикулам или (вирусным) капсидам;

Лекарственное средство$_1$ или/и Лекарственное средство$_2$ представляют собой цитотоксическую молекулу/агент, которая является терапевтическим лекарственным средством/молекулой/агентом, или иммунотерапевтическим белком/молекулой, или функциональной молекулой для усиления связывания или стабилизации связывающего клетки агента или поверхности клетки. лиганд, связывающий рецептор, или для ингибирования пролиферации клеток, или для мониторинга, обнаружения или изучения действия связывающей клетки молекулы. Также это может быть аналог, или пролекарство, или фармацевтически приемлемая соль, гидрат или гидратированная соль, или кристаллическая структура, или оптический изомер, рацемат, диастереомер или энантиомер, иммунотерапевтического соединения, химиотерапевтическое соединение, антитело (проантитело) или фрагмент антитела (проантитела), или миРНК, или молекула ДНК, или лиганд, связывающийся с клеточной поверхностью;

Предпочтительно цитотоксическая молекула представляет собой любое из многих низкомолекулярных лекарственных средств, включая, но не ограничваясь ими, тубулизины, калихеамицины, ауристатины, майтанзиноиды, аналоги CC-1065, морфолинодоксорубицины, таксаны, криптофицины, аматоксины (например, аманитины), эпотилоны, эрибулин, гелданамицины, камптотецины (например, SN-38), дуокармицины, дауномицины, метотрексаты, виндезины, винкристины и димеры бензодиазепина (например, димеры пирролобензодиазепина (PBD), томаймицин, индолинобензодиазепины, имидазобензотиадиазепины, или оксазолидинобензодиазепины);

X_1 и X_2 одинаковые или разные и независимо выбраны из NH; NHNH; $N(R_1)$; $N(R_1)N(R_2)$; O; S; S-S, O-NH. O-$N(R_1)$, CH_2-NH. CH_2-$N(R_1)$, CH=NH. CH=$N(R_1)$, S(O), $S(O_2)$, P(O)(OH), S(O)NH, $S(O_2)$NH, P(O)(OH)NH, NHS(O)NH, $NHS(O_2)NH$, NHP(O)(OH)NH, $N(R_1)S(O)N(R_2)$, $N(R_1)S(O_2)N(R_2)$, $N(R_1)P(O)(OH)N(R_2)$, OS(O)NH, $OS(O_2)NH$, OP(O)(OH)NH, C(O), C(NH), $C(NR_1)$, C(O)NH, C(NH)NH, $C(NR_1)NH$, OC(O)NH, OC(NH)NH; $OC(NR_1)NH$, NHC(O)NH; NHC(NH)NH; $NHC(NR_1)NH$, C(O)NH, C(NH)NH, $C(NR_1)NH$, $OC(O)N(R_1)$, $OC(NH)N(R_1)$, $OC(NR_1)N(R_1)$, $NHC(O)N(R_1)$, $NHC(NH)N(R_1)$, $NHC(NR_1)N(R_1)$, $N(R_1)C(O)N(R_1)$, $N(R_1)C(NH)N(R_1)$, $N(R_1)C(NR_1)N(R_1)$; или C_1-C_6 алкила; C_2-C_8 алкенила, гетероалкила, алкилциклоалкила или гетероциклоалкила; C_3-C_8 арила, Ar-алкила, гетероциклила, карбоциклила, циклоалкила, гетероалкилциклоалкила, алкилкарбонила или гетероарила;

Y_1, Y_2, Z_1 и Z_2 одинаковые или разные, и независимо являются функциональной группой, которая связывается с клеточно-связывающей молекулой Q, или лекарственным средством$_1$ или лекарственным средством$_2$, с образованием дисульфидной, эфирной, сложноэфирной, тиоэфирной, сложнотиоэфирной, пептидной, гидразоновой. карбаматной, карбонатной, амино- (вторичный, третичный или четвертичный), имино-, циклогетероалкиановой, гетероароматической, алкилоксимной или амидной связи; Предпочтительно Y_1, Y_2, Z_1 и Z_2 независимо друг от друга имеют следующие структуры: C(O)CH, C(O)C, $C(O)CH_2$, $ArCH_2$, C(O), NH, NHNH, $N(R_1)$, $N(R_1)N(R_2)$, O, S, S-S, O-NH, O-$N(R_1)$, CH_2-NH. CH_2-$N(R_1)$, CH=NH. CH=$N(R_1)$, S(O), $S(O_2)$, P(O)(OH), S(O)NH, $S(O_2)$NH, P(O)(OH)NH, NHS(O)NH, $NHS(O_2)NH$, NHP(O)(OH)NH, $N(R_1)S(O)N(R_2)$, $N(R_1)S(O_2)N(R_2)$, $N(R_1)P(O)(OH)N(R_2)$, OS(O)NH, $OS(O_2)NH$, OP(O)(OH)NH, C(O), C(NH), $C(NR_1)$, C(O)NH, C(NH)NH, $C(NR_1)NH$, OC(O)NH, OC(NH)NH; $OC(NR_1)NH$, NHC(O)NH; NHC(NH)NH; $NHC(NR_1)NH$, C(O)NH, $C(NR_1)NH$, $OC(O)N(R_1)$, $OC(NH)N(R_1)$, $OC(NR_1)N(R_1)$, $NHC(O)N(R_1)$, $NHC(NH)N(R_1)$, $NHC(NR_1)N(R_1)$, $N(R_1)C(O)N(R_1)$, $N(R_1)C(NH)N(R_1)$, $N(R_1)C(NR_1)N(R_1)$; или C_1-C_8 алкила; C_2-C_8 гетероалкила,

алкилциклоалкила, гетероциклоалкила; C_3-C_8 арила, Ar-алкила, гетероциклила, карбоциклила, циклоалкила, гетероалкилциклоалкила, алкилкарбонила, гетероарила;

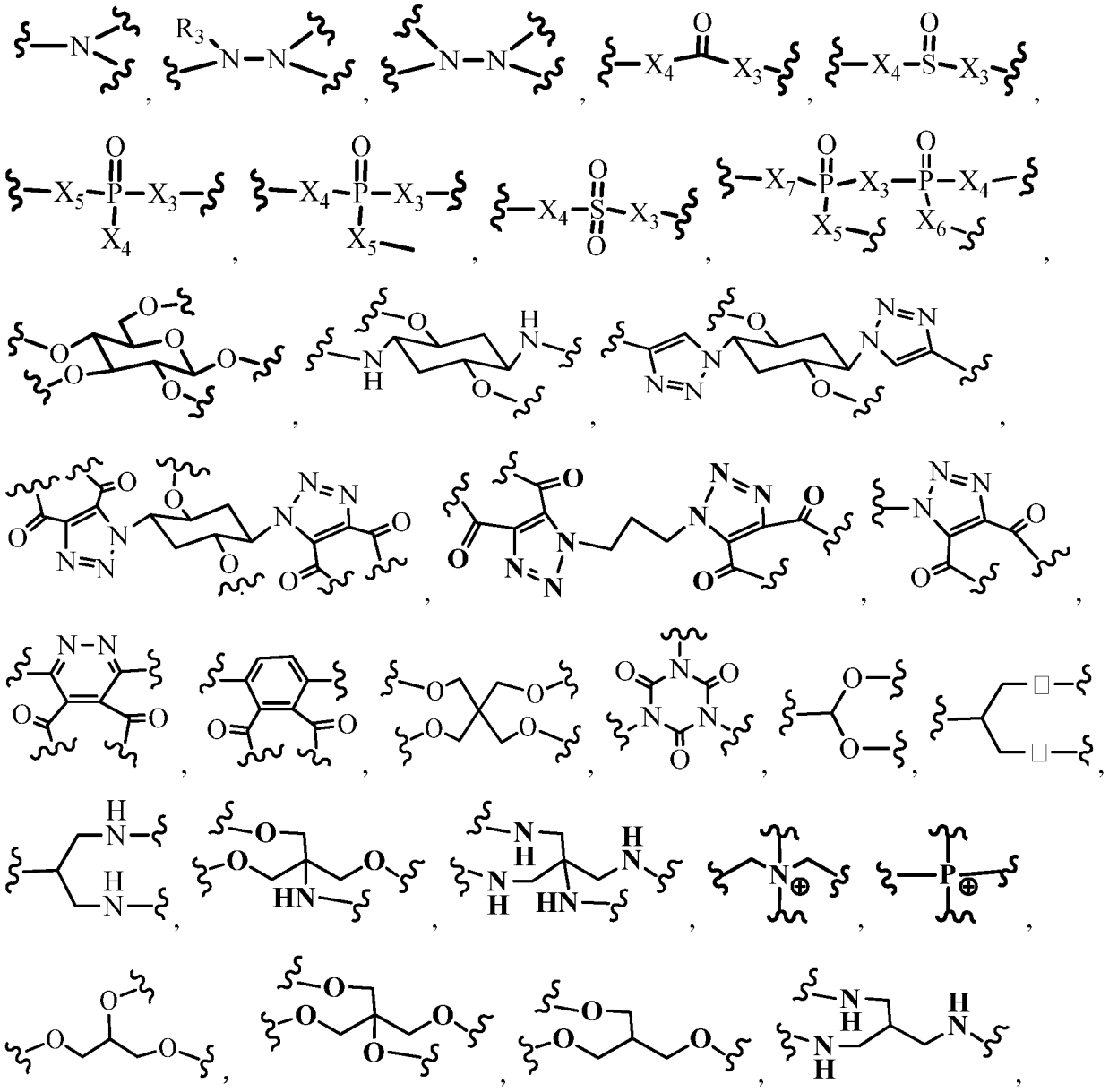
Предпочтительно Y_1, Y_2, Z_1 и Z_2 связаны с парами тиолов клеточно-связывающего агента/молекулы. Тиолы предпочтительно представляют собой пары атомов серы восстановленных из дисульфидных связей внутренней цепи агента, связывающегося с клеткой посредством восстанавливающего агента, выбранного из дитиотреитола (ДТТ), дитиоэритритола (DTE), L-глютатиона (GSH), трис(2-карбоксиэтил)фосфина (TCEP), 2-меркаптоэтиламина (β-MEA), или/и бета меркаптоэтанола (β-ME, 2-ME).

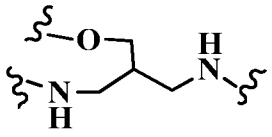
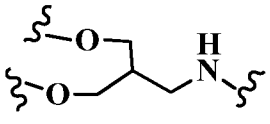
R_1, R_2, R_3, и R_4 представляют собой цепь атомов, выбранных из C, N, O, S, Si и P, предпочтительно имеющую 0 ~ 500 атомов, которая ковалентно соединяется с X и Z_1, и Y и Z_2. Атомы, используемые при образовании R_1, R_2, R_3 и R_4 могут быть связаны всеми химически значимыми способами, такими как образование алкилена, алкенилена и алкинилена, простых эфиров, полиоксиалкилена, сложных эфиров, аминов, иминов, полиаминов, гидразинов, гидразонов, амидов, мочевин, семикарбазидов, карбазидов, алкоксиаминов, алкоксиламинов, уретаныов, аминокислот, пептидов, ацилоксиламинов, гидроксамовых кислот или их комбинаций. Предпочтительно, чтобы R_1, R_2, R_3, и R_4 были одинаковыми или разными, независимо выбранными из O, NH, S, NHNH, $N(R_5)$, $N(R_3)N(R_{3'})$, полиэтиленокси-звеньев формулы $(OCH_2CH_2)_pOR_5$, или $(OCH_2CH\text{-}(CH_3))_pOR_5$, или $NH(CH_2CH_2O)_pR_5$, или $NH(CH_2CH(CH_3)O)_pR_5$, или $N[(CH_2CH_2O)_pR_5]\text{-}[(CH_2CH_2O)_{p'}R_{5'}]$, или $(OCH_2CH_2)_pCOOR_5$, или $CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_pCOOR_5$, где p и p' независимо равны целому числу, выбранному из от 0 до около 1000, или их комбинацию; C_1-C_8 алкила; C_2-C_8 гетероалкила или алкилциклоалкила, гетероциклоалкила; C_3-C_8 арила, Ar-алкила, гетероциклического, карбоциклического, циклоалкила, гетероалкилциклоалкила, алкилкарбонила или гетероарила; где R_5 и $R_{5'}$ независимо представляют собой H; C_1-C_8 алкил; C_2-C_8 гетероалкил, алкилциклоалкил или гетероциклоалкил; C_3-C_8 арил, Ar-алкил, гетероциклический; сложные эфиры, простой эфир или амид с C_2-C_8 атомами углерода; или 1 ~ 24 аминокислоты;

Более предпочтительно R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 и R_5'независимо представляют собой H; C_1-C_8 алкил; C_2-C_8 гетероалкил, алкилциклоалкил или гетероциклоалкил; C_3-C_8 арил, Ar-алкил, гетероциклический, карбоциклический, гетероалкилциклоалкил, алкилкарбонил или гетероарил; или сложные эфиры, простой эфир или амид с C_2-C_8 атомами углерода; или 1~24 аминокислоты; или полиэтиленокси, имеющий формулу $(OCH_2CH_2)_p$ или $(OCH_2CH(CH_3))_p$, где p равно целому числу от 0 до около 5000, или их комбинация, указанная выше;

R_1, R_2, R_3,и R_4 могут необязательно состоять из одного или нескольких линкерных компонентов 6-малеимидокапроила («MC»), малеимидопропаноила («MP»), валин-цитруллина («val-cit» или «vc»), аланин-фенилаланина («ala-phe» или «af»), п-аминобензилоксикарбонила («PAB»), 4-тиопентаноата («SPP»), 4-(N-малеимидометил)циклогексан-1 карбоксилата («MCC»), (4-ацетил)аминобензоата («SIAB»), 4-тио-бутирата (SPDB), 4-тио-2-гидроксисульфонилбутирата (2-Sulfo-SPDB) или природных или неприродных пептидов, содержащие от 1 до 8 природных или неприродных аминокислотных единиц. Природная аминокислота предпочтительно выбрана из аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, аргинина, гистидина, лизина, серина, треонина, аспарагина, глютамина, цистеина, селеноцистеина, тирозина, фенилаланина, глицина, пролина, триптофана и аланина;

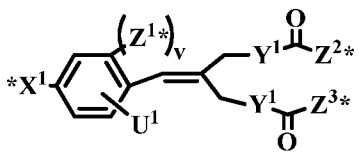
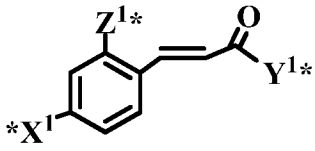
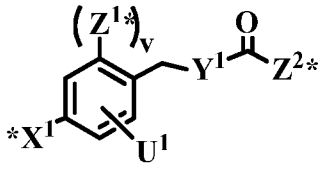
Кроме того, R_1, R_2, R_3, и R_4 могут независимо содержать одну из следующих гидрофильных структур:

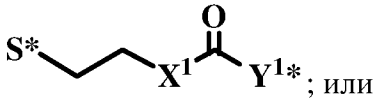
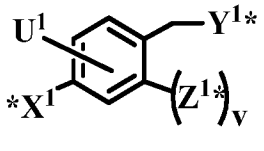




,где представляет собой сайт связи; X_3, X_4, X_5, X_6, и X_7 независимо выбраны из NH; NHNH; $N(R_5)$; $N(R_5)N(R_{5'})$; O; S; C_1-C_6 алкила; C_2-C_6 гетероалкила, алкилциклоалкила или гетероциклоалкила; C_3-C_8 арила, Ar-алкила, гетероциклического, карбоциклического, циклоалкила, гетероалкилциклоалкила, алкилкарбонила, гетероарила; или 1 ~ 8 аминокислот; где R_5 и $R_{5'}$ независимо представляют собой H; C_1-C_8 алкил; C_2-C_8 гетероалкил, алкилциклоалкил или гетероциклоалкил; C_3-C_8 арил, Ar-алкил, гетероциклический, карбоциклический, гетероалкилциклоалкил, алкилкарбонил или гетероарил; C_1-C_8 сложные эфиры, простой эфир или амид; или полиэтиленокси, имеющий формулу $(OCH_2CH_2)_p$ или $(OCH_2CH(CH_3))_p$, где p равно целому числу от 0 до около 5000, или их комбинация, указанная выше;

R_1, R_2, R_3, и R_4 Y_1, Y_2, Z_1, и Z_2 могут также независимо содержать саморазрушающийся или несаморазрушающийся компонент, пептидные единицы, гидразоновую связь, дисульфидную, сложноэфирную, оксимную, амидную или тиоэфирную связь. Саморасщепляющийся фрагмент включает, но не ограничивается ими, ароматические соединения, которые в электронном виде сходны 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:

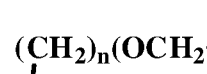
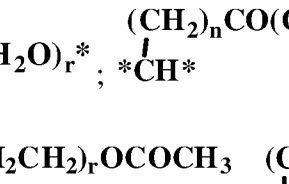
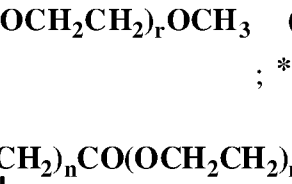
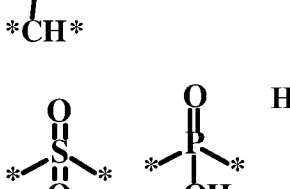
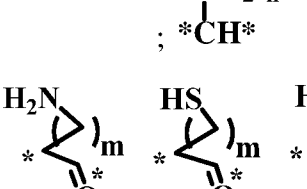
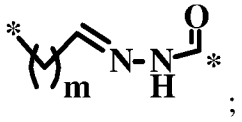
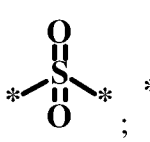
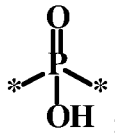
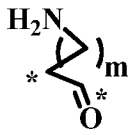
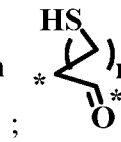
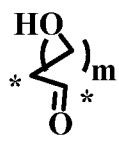
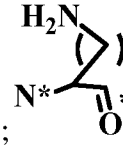
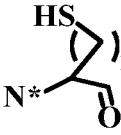
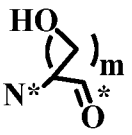
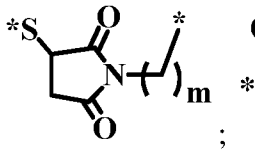
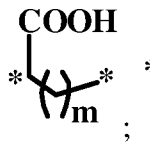
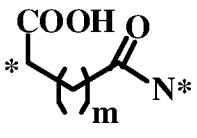
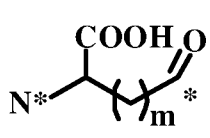
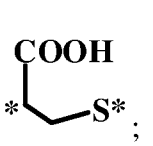
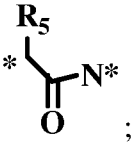
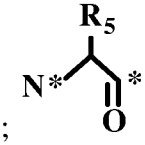
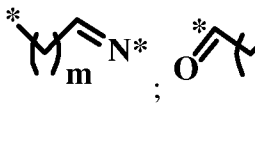
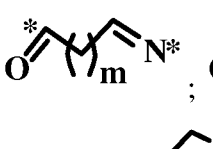
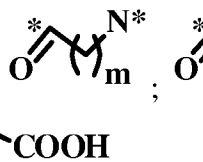


;

;.

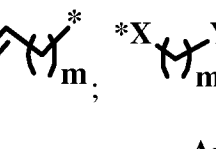
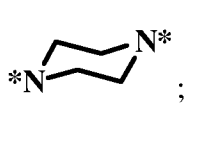
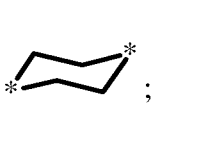
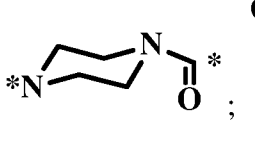
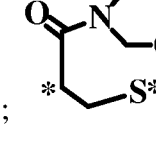
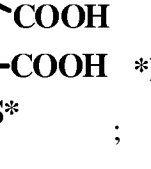
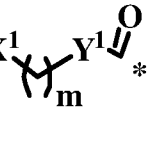
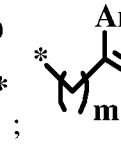
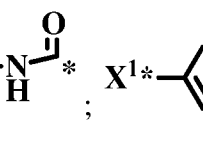
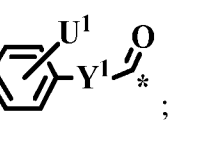
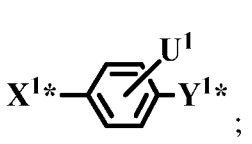
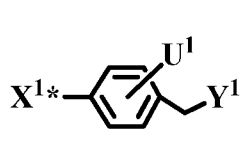
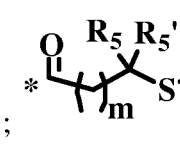
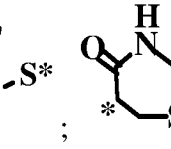
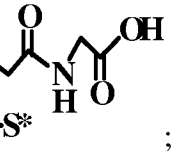
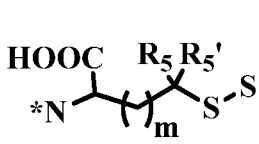
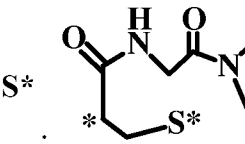
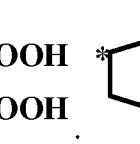
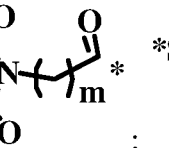
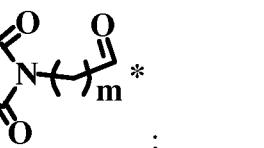

; или


где (*) атом представляет собой точку присоединения дополнительных спейсерных или высвобождаемых линкерных фрагментов или цитотоксического агента и/или связывающейся молекулы (CBA); X^1, Y^1, Z^2 и Z^3 независимо представляют собой NH, O или S; Z^1 независимо представляет собой H, NHR_5, OR_1, SR_5, COX_1R_5 где X_1 и R_5 являются такими, как определено выше; v равно 0 или 1; U^1 независимо представляет собой H, OH,

C_1~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~C_8 алкила; C_2~C_8 алкенила, алкинила, гетероалкила, или аминокислоты; C_3~C_8 арила, гетероциклила, карбоциклила, циклоалкила, гетероциклоалкила, гетероаралкила, алкилкарбонила или гликозида; или фармацевтических катионных солей;

Несаморасщепляющийся линкерный компонент имеет одну из следующих структур:


;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

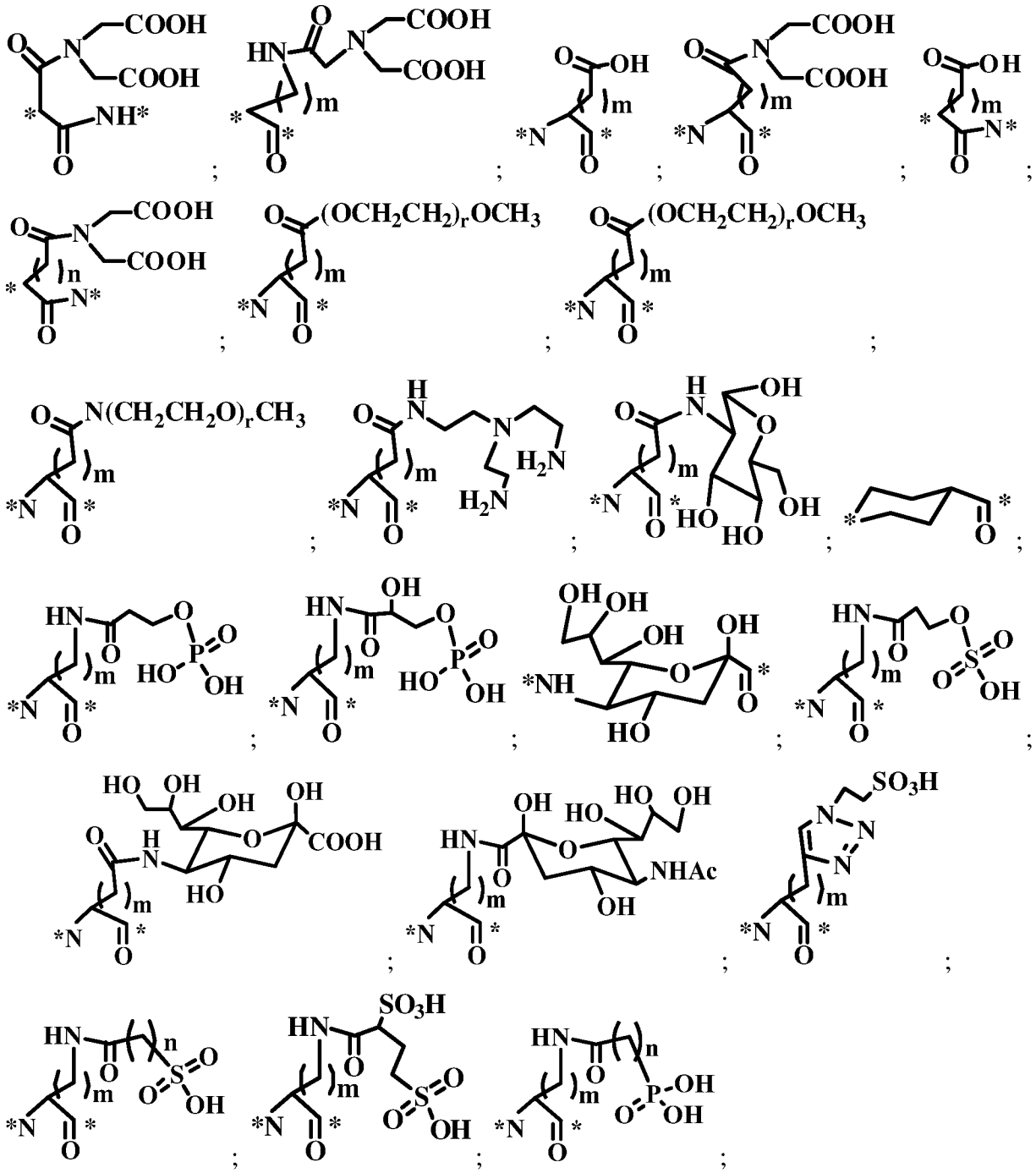
;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;



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 равно 0~100; m и n независимо равны 0-6;

Более того, предпочтительно, чтобы R_1, R_2, R_3 и R_4 могли независимо содержать высвобождаемый линкерный компонент. Термин «высвобождаемый линкерный компонент» включает по меньшей мере одну связь, которая может быть разорвана в физиологических условиях, такую как pH-лабильная, кислотно-лабильная, лабильная по основанию, окислительно-лабильная, метаболически лабильная, биохимически лабильная или ферментативно-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;

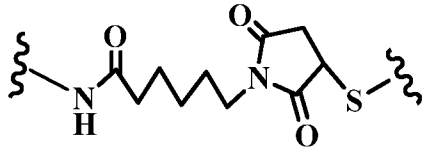
Примеры высвобождаемого линкерного компонента R_1, R_2, R_3, и R_4 включают, но не ограничиваются ими:

-$(CR_5R_6)_m$(Aa)r$(CR_7R_8)_n(OCH_2CH_2)_t$-, -$(CR_5R_6)_m(CR_7R_8)_n$(Aa)$_r(OCH_2CH_2)_t$-, -(Aa)$_r$-$(CR_5R_6)_m(CR_7R_8)_n(OCH_2CH_2)_t$-, -$(CR_5R_6)_m(CR_7R_8)_n(OCH_2CH_2)_r(Aa)_t$-, -$(CR_5R_6)_m$-$(CR_7{=}CR_8)(CR_9R_{10})_n$(Aa) $_t(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_5R_6)_m(NR_{11}CO)$(Aa)$_t(CR_9R_{10})_n$-$(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_5R_6)_m$(Aa)$_t(NR_{11}CO)(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-,-$(CR_5R_6)_m$(OCO)(Aa)$_t(CR_9R_{10})_n$-$(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_5R_6)_m(OCNR_7)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_5R_6)_m$(CO)(Aa)$_t$-$(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_5R_6)_m(NR_{11}CO)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_5R_6)_m$-$(OCO)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n$-$(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_5R_6)_m(OCNR_7)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_5R_6)_m$(CO)(Aa)$_t$-$(CR_9R_{10})_n$-$(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_5R_6)_m$-фенил-CO(Aa)$_t(CR_7R_8)_n$-, -$(CR_5R_6)_m$-фурил-CO(Aa)$_t(CR_7R_8)_n$-, -$(CR_5R_6)_m$-оксазолил-CO(Aa)$_t(CR_7R_8)_n$-, -$(CR_5R_6)_m$-тиазолил-CO(Aa)$_t(CCR_7R_8)_n$-, -$(CR_5R_6)_t$-тиенил-CO$(CR_7R_8)_n$-, -$(CR_5R_6)_t$-имидазолил-CO-$(CR_7R_8)_n$-, -$(CR_5R_6)_t$-морфолино-CO(Aa)$_t$-$(CR_7R_8)_n$-, -$(CR_5R_6)_t$пиперазино-CO(Aa)$_t$-$(CR_7R_8)_n$-, -$(CR_5R_6)_t$-N-метилпиперазин-CO(Aa)$_t$-$(CR_7R_8)_n$-, -$(CR_5R)_m$-(Aa)$_t$фенил-, -$(CR_5R_6)_m$-(Aa)$_t$фурил-, -$(CR_5R_6)_m$-оксазолил(Aa)$_t$-, -$(CR_5R_6)_m$-тиазолил(Aa)$_t$-, -$(CR_5R_6)_m$-тиенил-(Aa)$_t$-, -$(CR_5R_6)_m$-имидазолил(Aa)$_t$-, -(C $R_5R_6)_m$-морфолино-(Aa)$_t$-, -$(CR_5R_6)_m$-пиперазино-(Aa)$_t$-, -$(CR_5R_6)_m$-N-метилпиперазино-(Aa)$_t$-, -K$(CR_5R_6)_m$(Aa)r$(CR_7R_8)_n(OCH_2CH_2)_t$-, -K$(CR_5R_6)_m(CR_7R_8)_n$(Aa)$_r(OCH_2CH_2)_t$-, -K(Aa)$_r$-$(CR_5R_6)_m(CR_7R_8)_n(OCH_2CH_2)_t$-, -K$(CR_5R_6)_m(CR_7R_8)_n(OCH_2CH_2)_r(Aa)_t$-, -K$(CR_5R_6)_m$-$(CR_7{=}CR_8)(CR_9R_{10})_n(Aa)_t(OCH_2CH_2)_r$-, -K$(CR_5R_6)_m(NR_{11}CO)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -K$(CR_5R_6)_m(Aa)_t(NR_{11}CO)(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -K$(CR_5R_6)_m$(OCO)(Aa)$_t(CR_9R_{10})_n$-$(OCH_2CH_2)_r$-, -K$(CR_5R_6)_m(OCNR_7)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -K$(CR_5R_6)_m$(CO)(Aa)$_t$-$(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -K$(CR_5R_6)_m(NR_{11}CO)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -K$(CR_5R_6)_m$-$(OCO)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -K$(CR_5R_6)_m(OCNR_7)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -K-$(CR_5R_6)_m$(CO)(Aa)$_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -K$(CR_5R_6)_m$-фенил-CO(Aa)$_t(CR_7R_8)_n$-, -K-$(CR_5R_6)_m$-фурил-CO(Aa)$_t$-$(CR_7R_8)_n$-, -K$(CR_5R_6)_m$-оксазолил-CO(Aa)$_t(CR_7R_8)_n$-, -K$(CR_5R_6)_m$-тиазолил-CO(Aa)$_t$-$(CR_7R_8)_n$-, -K$(CR_5R_6)_t$-тиенил-CO$(CR_7R_8)_n$-, -K$(CR_5R_6)_t$имидазолил-CO-$(CR_7R_8)_n$-, -K$(CR_5R_6)_t$морфолино-CO(Aa)$_t(CR_7R_8)_n$-, -K$(CR_5R_6)_t$пиперазино-CO(Aa)$_t$-$(CR_7R_8)_n$-, -K$(CR_5R_6)_t$-N-метидпиперазинCO(Aa)$_t(CR_7R_8)_n$-, -K$(CR_5R)_m(Aa)_t$фенил, -K-$(CR_5R_6)_m$-(Aa)$_t$фурил-, -K$(CR_5R_6)_m$-оксазолил(Aa)$_t$-, -K$(CR_5R_6)_m$-тиазолил(Aa)$_t$-

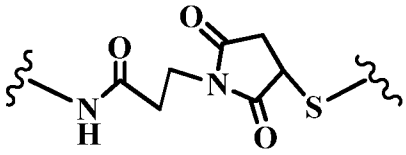
, -K(CR_5R_6)$_m$-тиенил-(Aa)$_t$-, -K(CR_5R_6)$_m$-имидазолил(Aa)$_t$-, -K(CR_5R_6)$_m$-морфолино(Aa)$_t$-, -K(CR_5R_6)$_m$-пиперазино-(Aa)$_t$G, -K(CR_5R_6)$_m$N-метилпиперазино(Aa)$_t$-; где m, Aa, m и n описаны выше; t и r независимо равны 0 - 100; R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, и R_8 независимо выбраны из H; галогенида; C_1~C_8 алкила; C_2~C_8 арила, алкенила, алкинила, простого эфира, сложного эфира, амина или амида, который необязательно замещен одним или несколькими галогенидами, CN, NR_1R_2, CF_3, OR_1, арилом, гетероциклом, $S(O)R_1$, SO_2R_1, -CO_2H, -SO_3H, -OR_1, -CO_2R_1, -$CONR_1$, -$PO_2R_1R_2$, -PO_3H или $P(O)R_1R_2R_3$; K представляет собой NR_1, -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 C_3-C_8) или пептиды, содержащие 1-20 аминокислот;

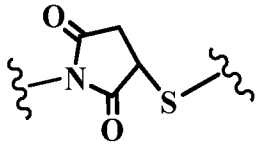
Более предпочтительно, R_1, R_2, R_3 и R_4, независимо представляют собой линейный алкил, содержащий от 1 до 18 атомов углерода, или полиэтиленокси-звено, имеющее формулу $(OCH_2CH_2)_p$, , p = 1 ~ 5000, или пептид, содержащий 1 ~ 20 звеньев аминокислот (L или D форма) или комбинацию, указанную выше.

Кроме того, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, Z_1 или Z_2 могут независимо состоять из одного или нескольких следующих компонентов, как показано ниже:

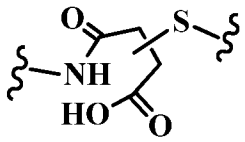


6-малеимидокапроила (MC),

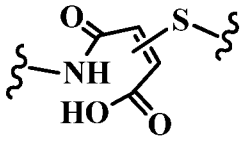




малеимидопропаноила (MP),

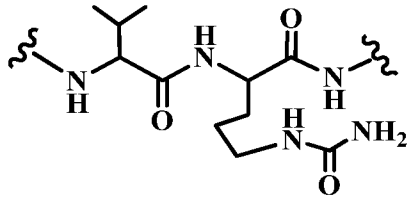


тиомалеидо,

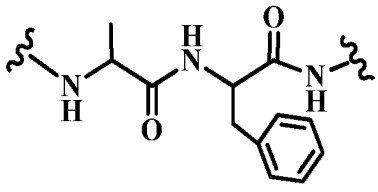


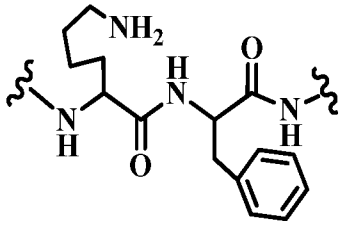
тиоаминооксобутановой кислоты,

тиоаминооксобутеновой кислоты,



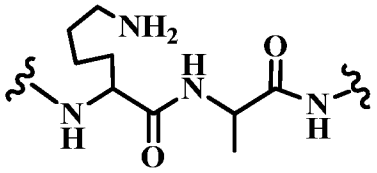
валин-цитруллина (val-cit),

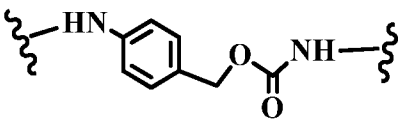


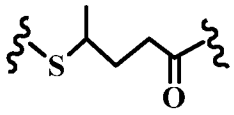


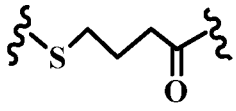
аланин-фенилаланина (ala-phe),

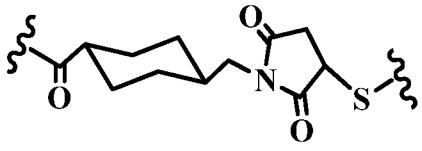
лизин-фенилаланина (lys-phe) ,

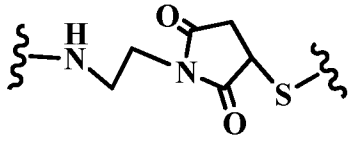


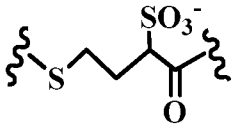
лизин-аланина (lys-ala),


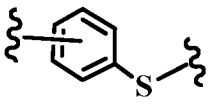
пара-аминобензилоксикарбонила (PAB),


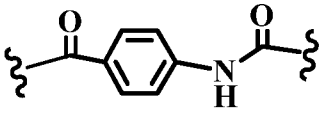
4-тиопентаноата (SPP),


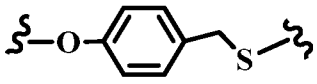
4-тиобутирата (SPDB),


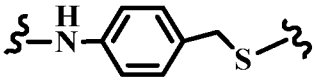
4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилата (MCC),


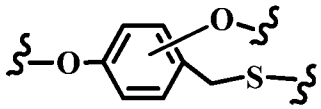


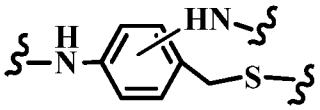
малеимидоэтила (ME), 4-тио-2-гидроксисульфонилбутирата (2-сульфо-SPDB),


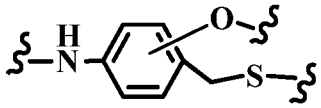
арилтиола (PySS),


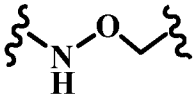
(4-ацетил)аминобензоата (SIAB),


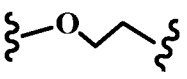
оксилбензилтио,


аминобензилтио,


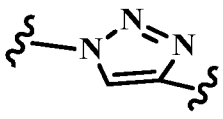
диоксилбензилтио,


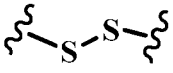
диаминобензилтио,


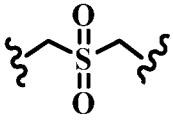
аминооксилбензилтио,


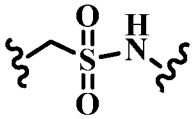
алкоксиамино (AOA),


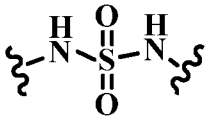
этиленокси (EO),

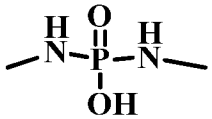
4-метил-4-дитиопентаноила (MPDP),


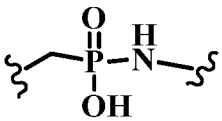
триазола,


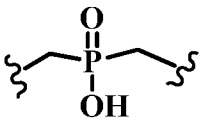
дитио,


алкилсульфонила,


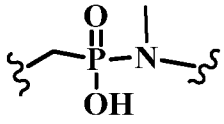
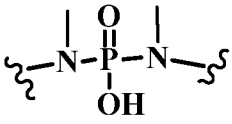
алкилсульфонамида,


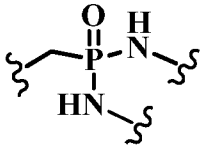
сульфон-бисамида,


фосфондиамида,


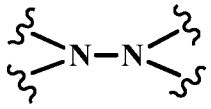
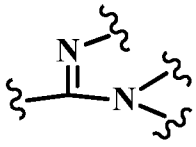
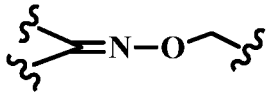
алкилфосфонамида,


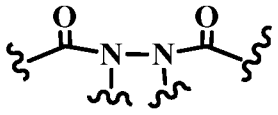
фосфиновой

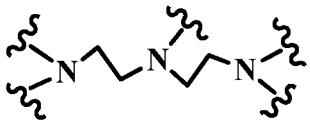
кислоты,  N-метилфосфонамидной кислоты,  N,N'-



диметилфосфонамидной кислоты, N,N'-диметилфосфондиамида,

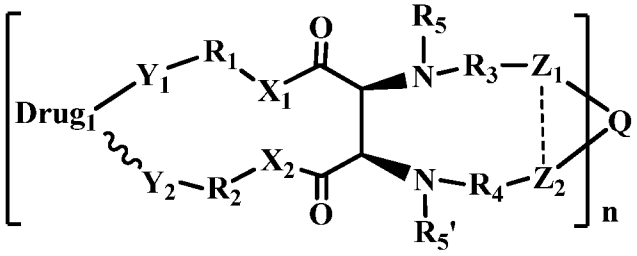
 гидразина,  ацетимидамида;  оксима,

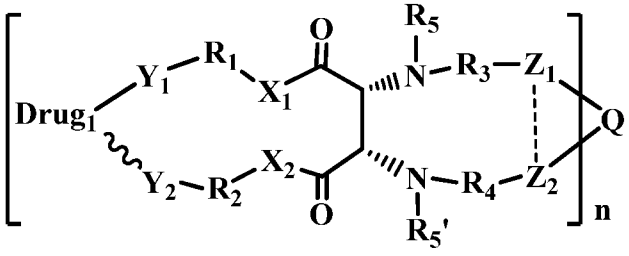
 ацетилацетогидразида, аминоэтиламина,

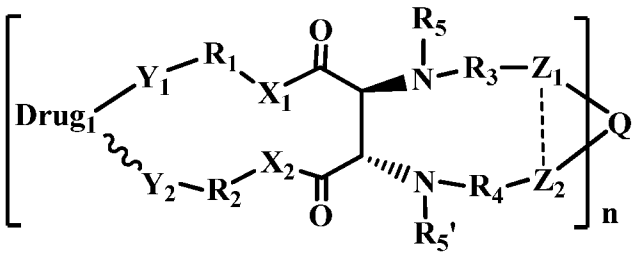
 аминоэтиламиноэтиламина и L- или D-, природных или неприродных пептидов, содержащих 1-20 аминокислот; где связующая связь между атомами означает, что она может соединять любые соседние углеродные связи; волнистая линия - место, с которым может быть связана другая связь;

В качестве альтернативы, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, Z_1 или Z_2 могут отсутствовать независимо, но Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, Z_1 и Z_2 не могут отсутствовать одновременно.

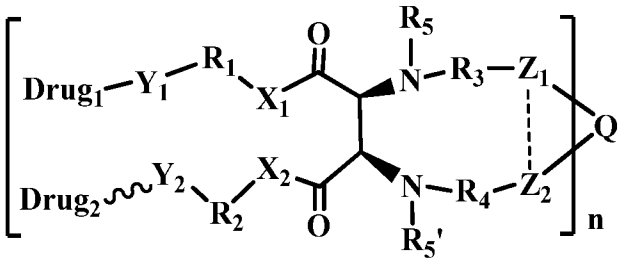
Предпочтительный стереоизомер Формулы (I), (II), (III) и (IV) представлен следующей Формулой (Ia), (Ib), (Ic), (IIa), (IIb), (IIc) , (IIIa), (IIIb), (IIIc), (IVa), (IVb) и (IVc):

 (Ia),

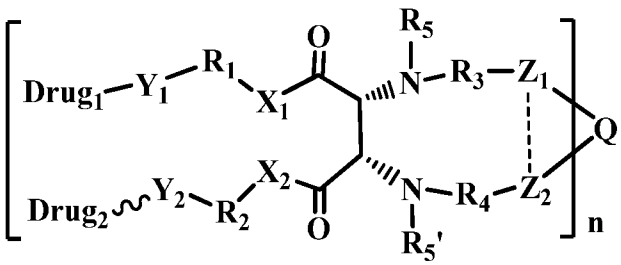
 (Ib),



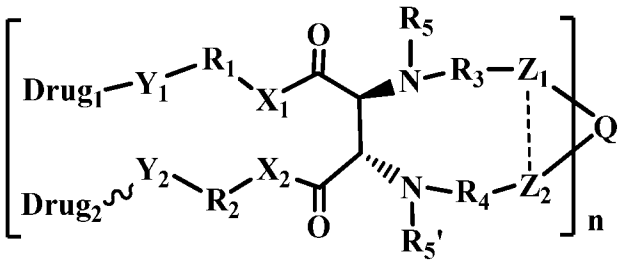
(Ic),



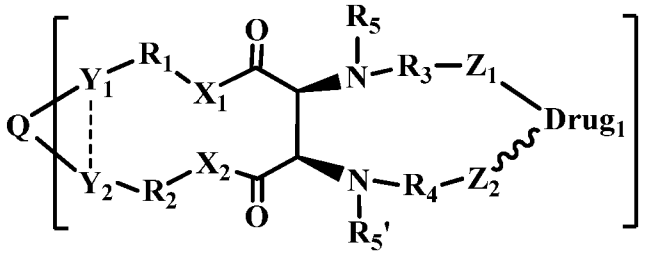
(IIa),



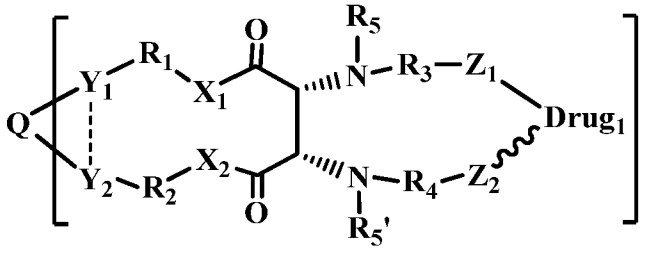
(IIb),



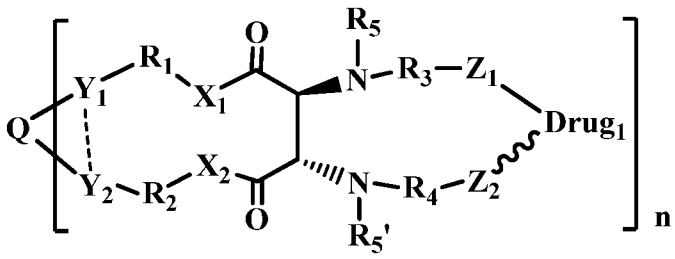
(IIc),



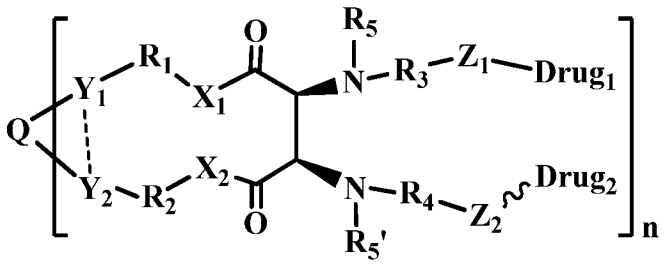
(IIIa),



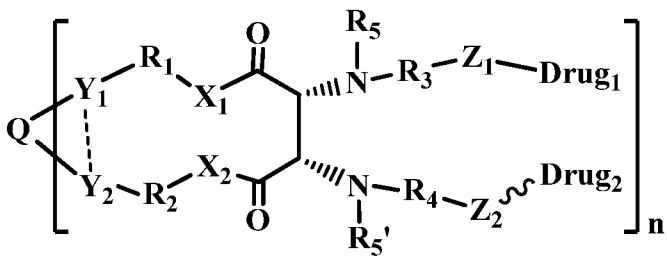
(IIIb),



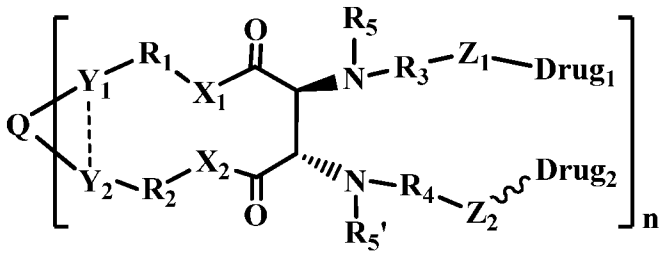
(IIIc),



(IVa),



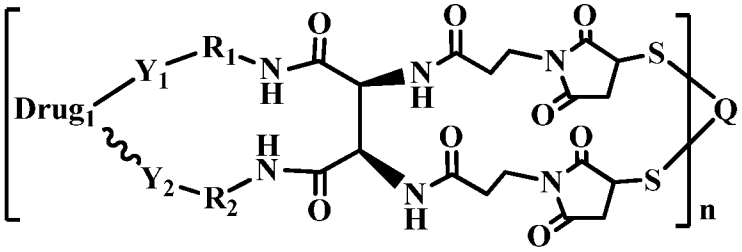
(IVb),



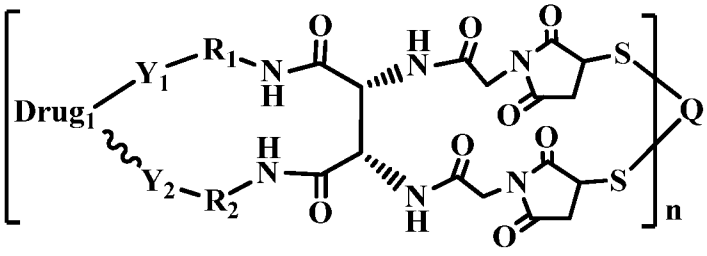
(IVc),

где "-----", Q, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, $R_{5'}$, Z_1, Z_2, Лекарственное средство$_1$ и Лекарственное средство$_2$ определены так же, как и выше.

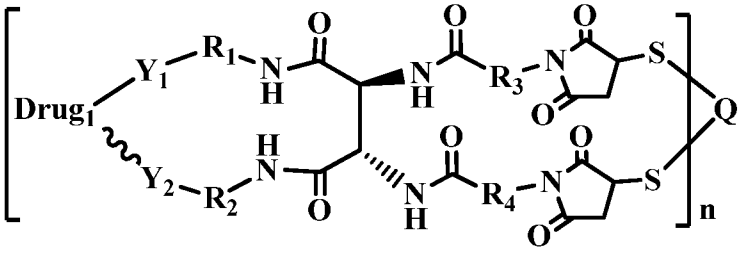
Предпочтительно бис-связь конъюгата дополнительно представлена Формулой (I-01), (I-02), (I-03), (I-04), (I-05), (I-06), (I-07), (I-08), (I-09), (I-10), (I-11), (I-12), (I-13), (I-14), (I-15), (I-16), (I-17), (I-18), (I-19), (I-20), (I-21), (I-22), (I-23), (II-01), (II-02), (II-03), (II-04), (II-05), (II-06), (II-07), (II-08), (II-09), (II-10), (II-11), (II-12), (II-13), (II-14), (II-15), (II-16), (II-17), (II-18), (III-01), (III-02), (III-03), (III-04), (III-05), (III-06), (III-07), (III-08), (III-09), (III-10), (III-11), (III-12), (III-13), (III-14), (III-15), (III-16), (III-17), (III-18), (III-19), (III-20), (IV-01), (IV-02), (IV-03), (IV-04), (IV-05), (IV-06), (IV-07), (IV-08), (IV-09), (IV-10), (IV-11), (IV-12), (IV-13), (IV-14), (IV-15), (IV-16), (IV-17), (IV-18), (IV-19), и (IV-20) ниже:



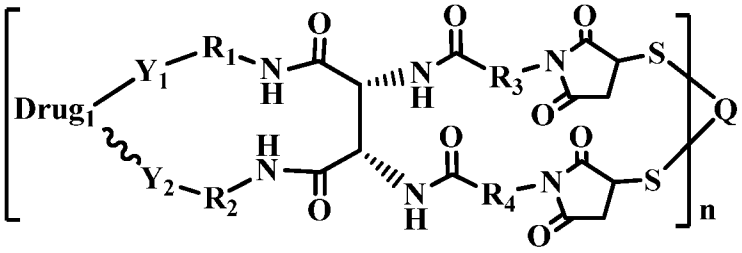
(I-01),



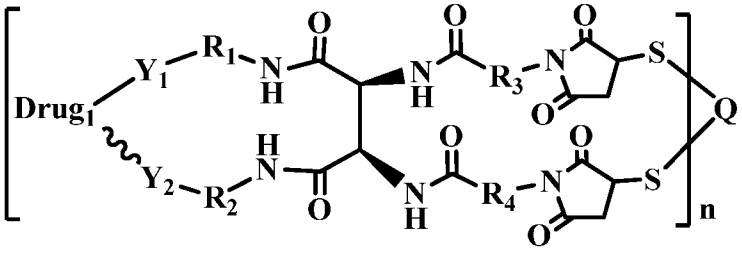
(I-02),



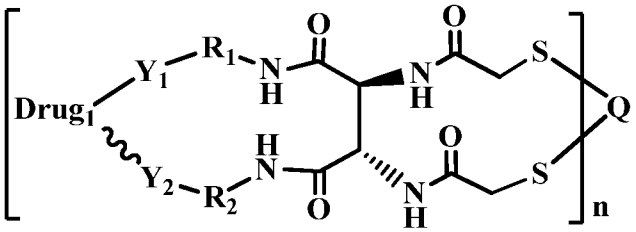
(I-03),



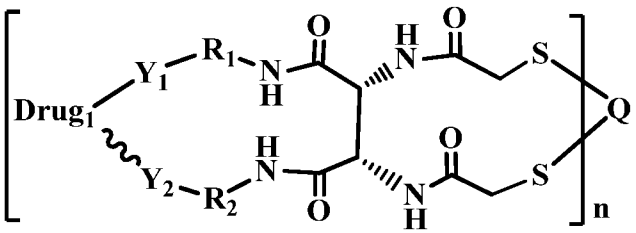
(I-04),



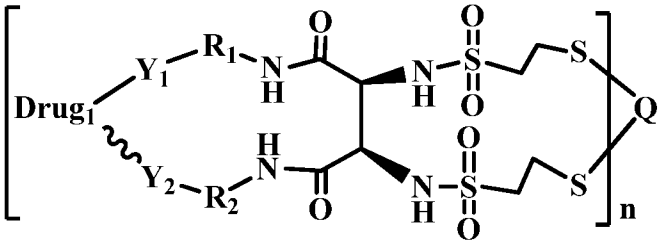
(I-05),



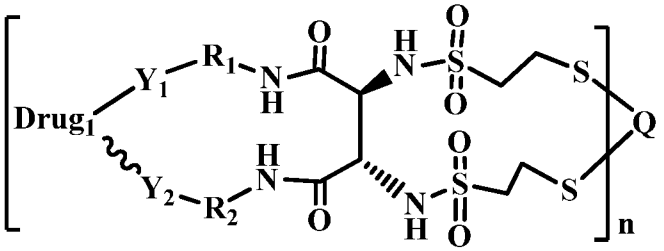
(I-06),



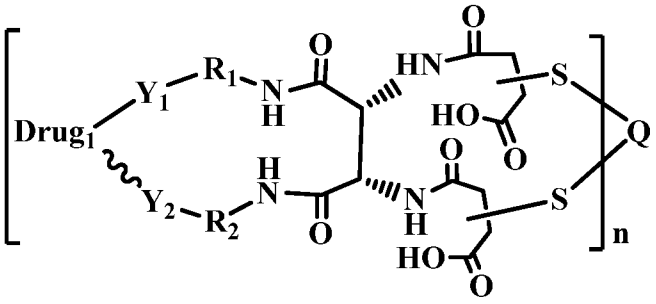
(I-07),



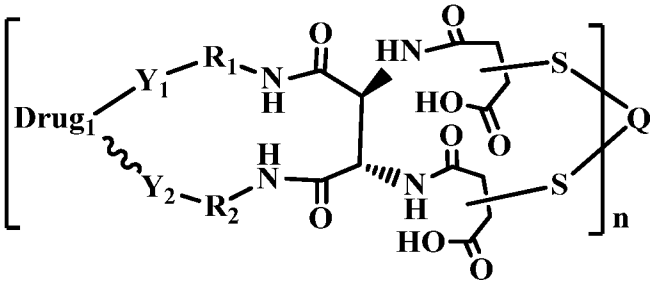
(I-08),



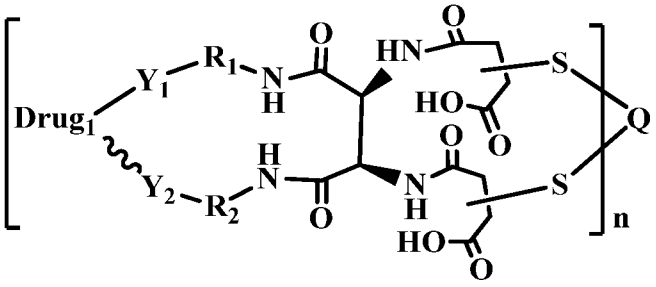
(I-09),



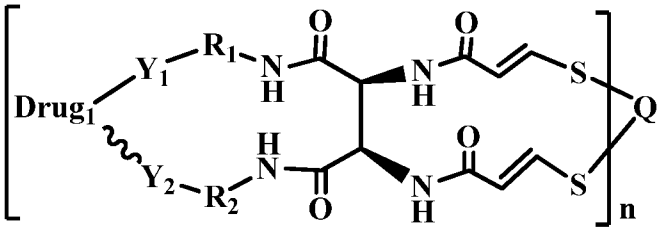
(I-10),



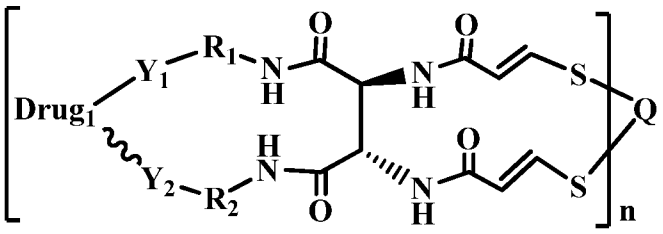
(I-11),



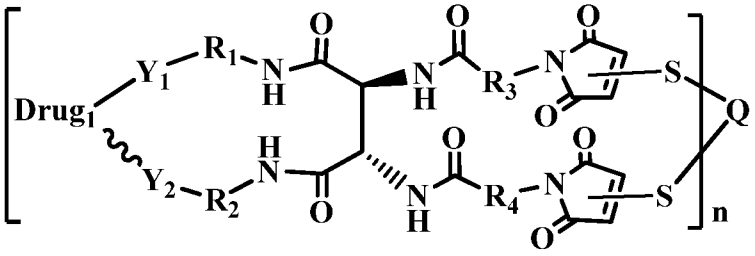
(I-12),



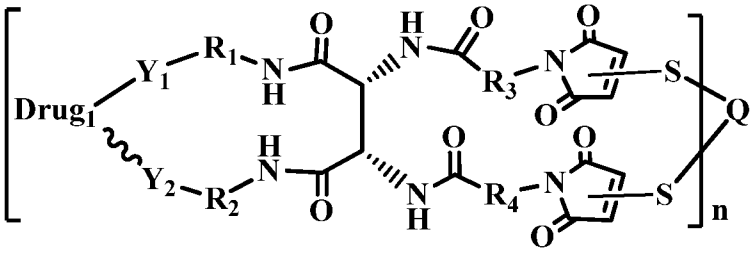
(I-13),



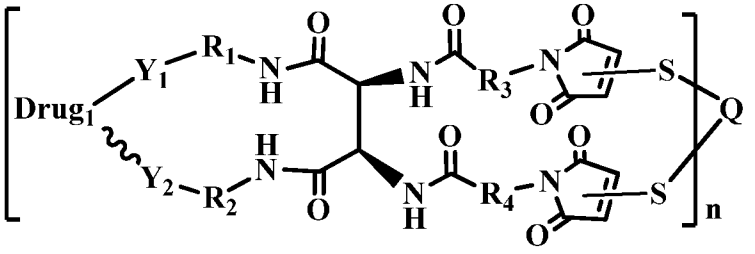
(I-14),



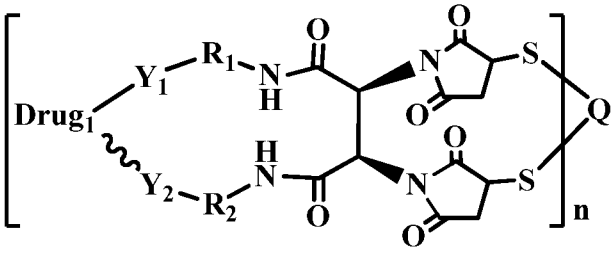
(I-15),



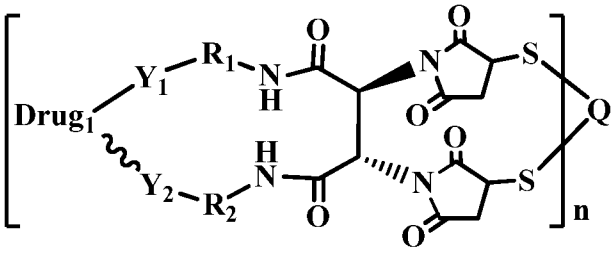
(I-16),



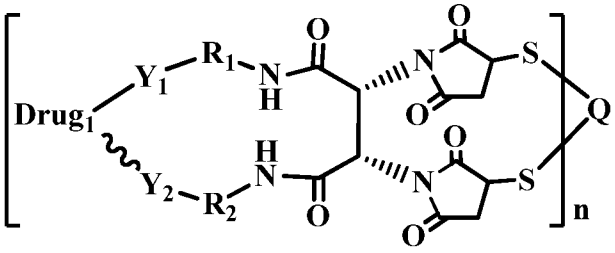
(I-17),



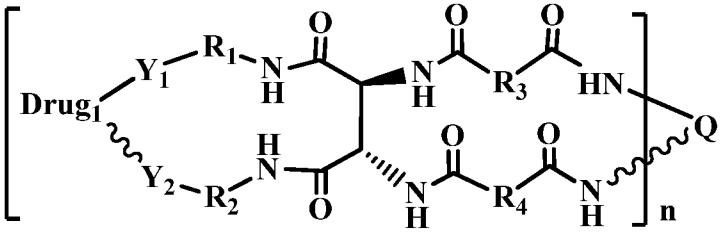
(I-18),



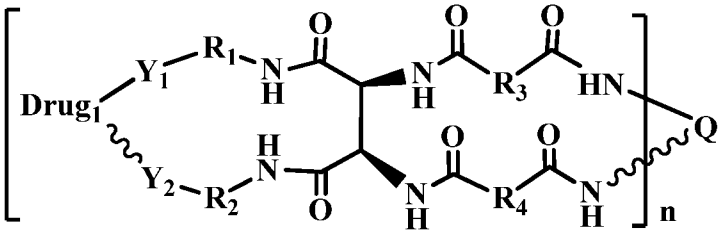
(I-19),



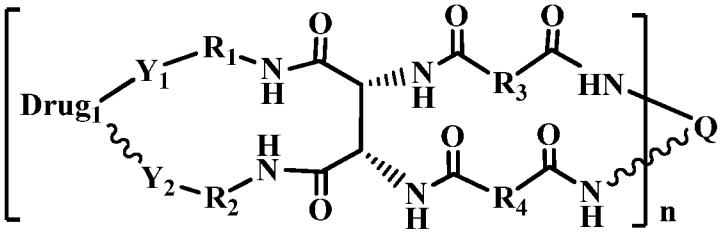
(I-20),



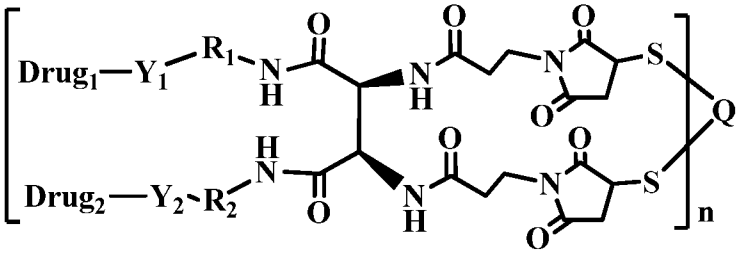
(I-21),



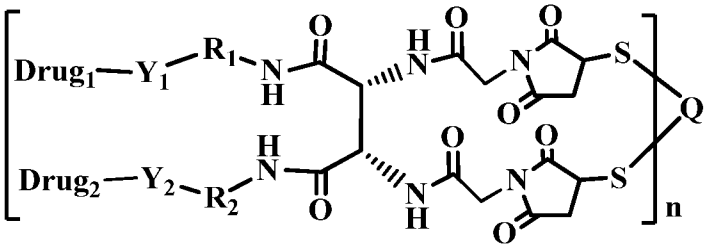
(I-22),



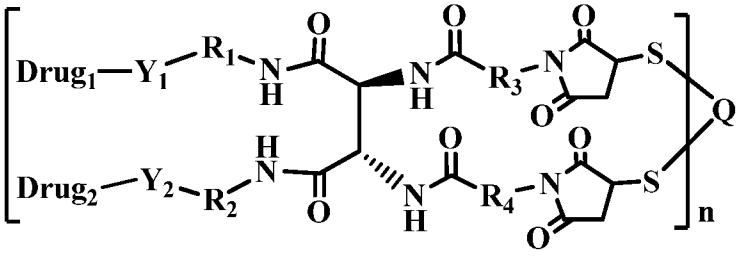
(I-23),



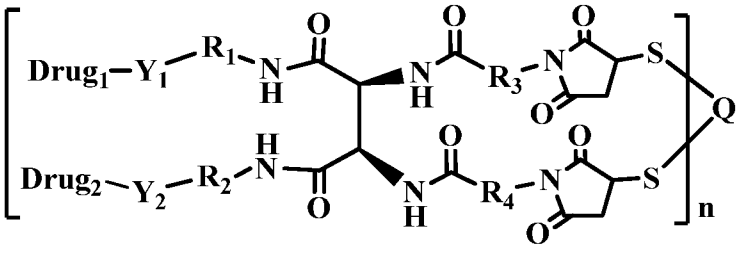
(II-01),



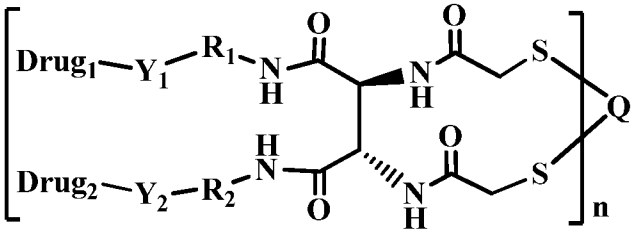
(II-02),



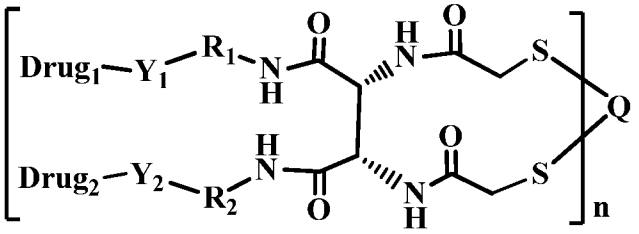
(II-03),



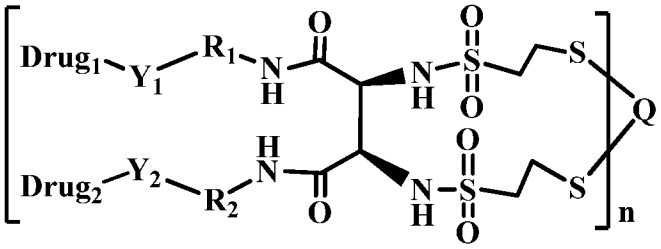
(II-04),



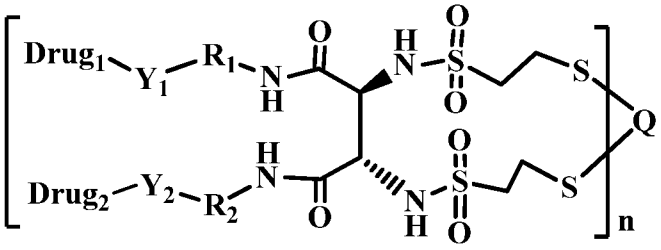
(II-05),



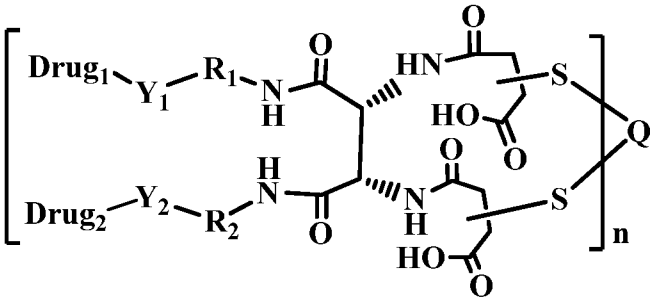
(II-06),



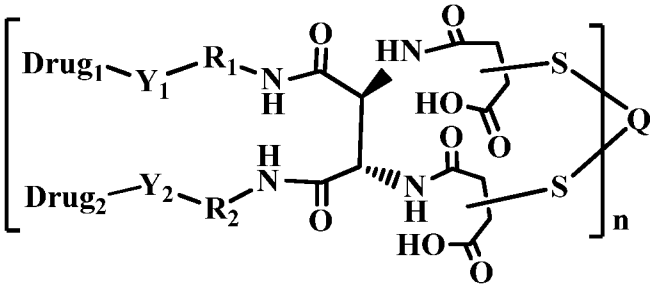
(II-07),



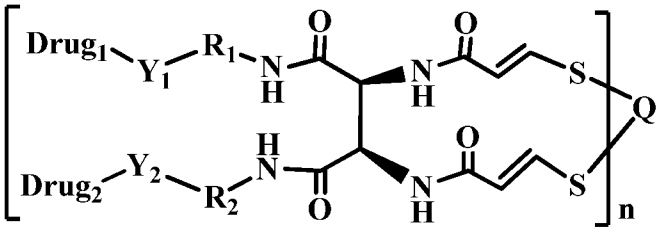
(II-08),



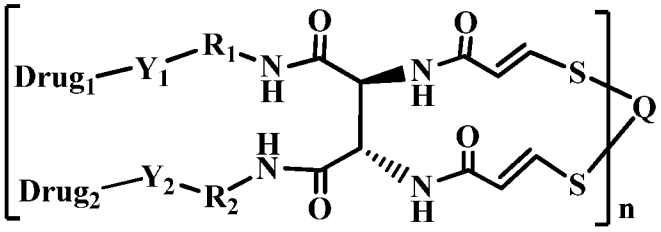
(II-09),



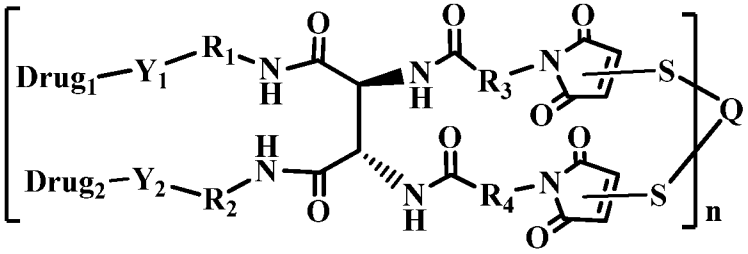
(II-10),



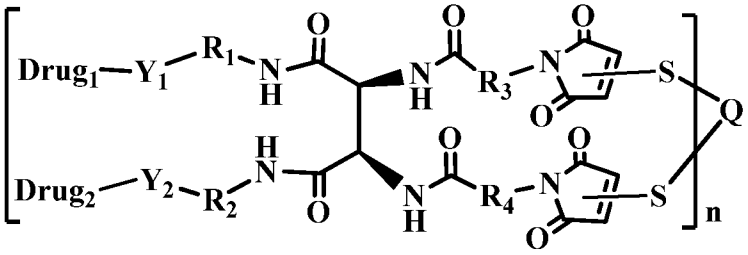
(II-11),



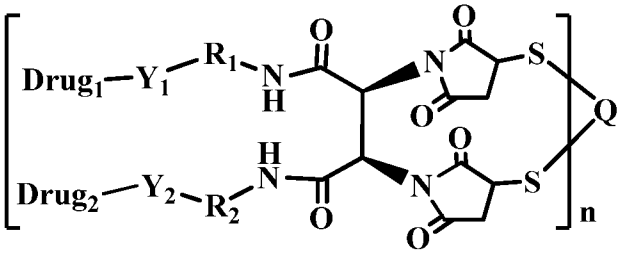
(II-12),



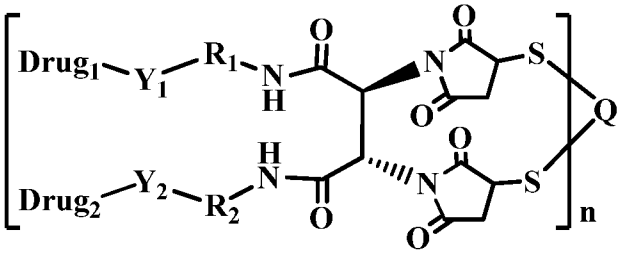
(II-13),



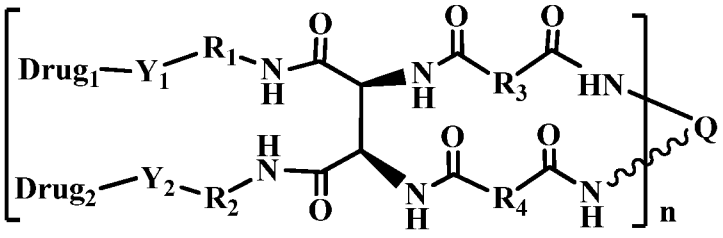
(II-14),



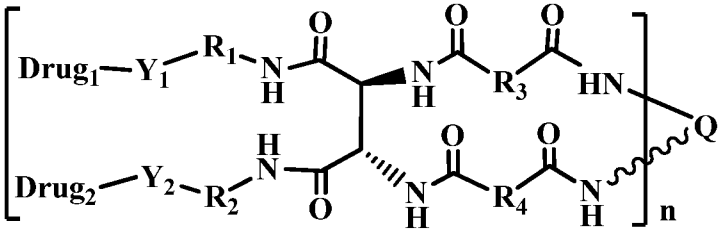
(II-15),



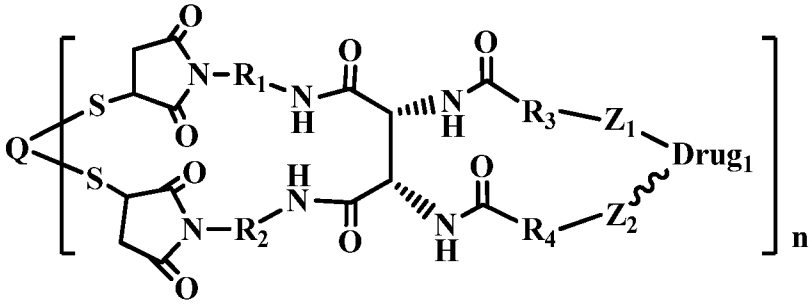
(II-16),



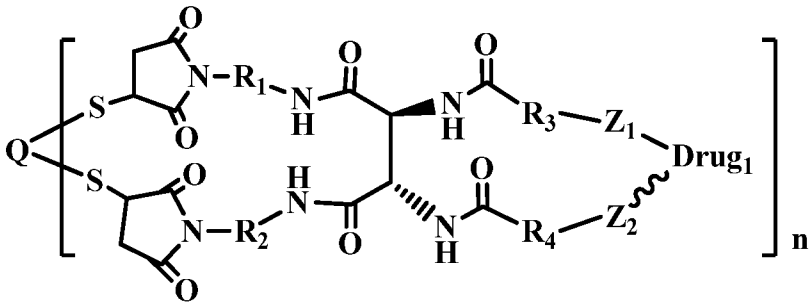
(II-17),



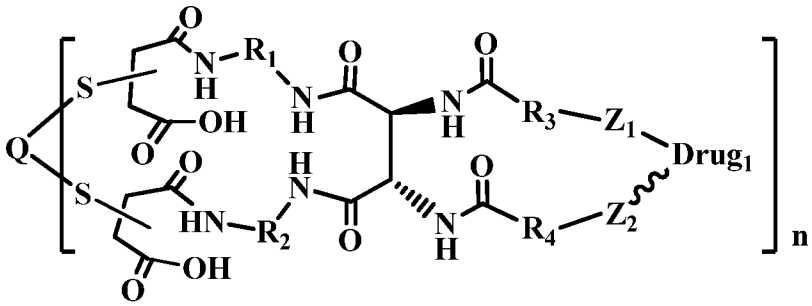
(II-18),



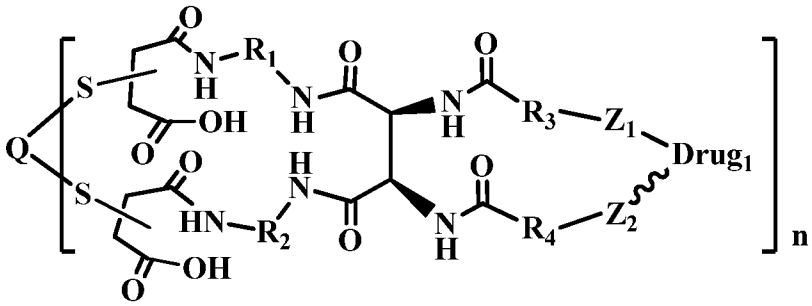
(III-01),



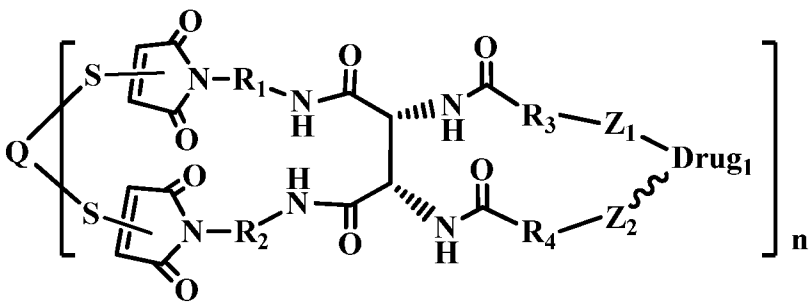
(III-02),



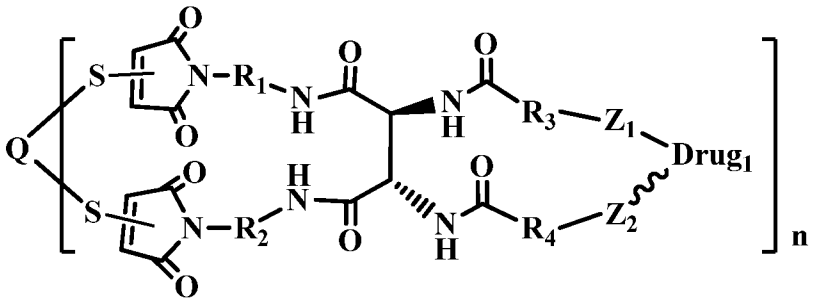
(III-03),



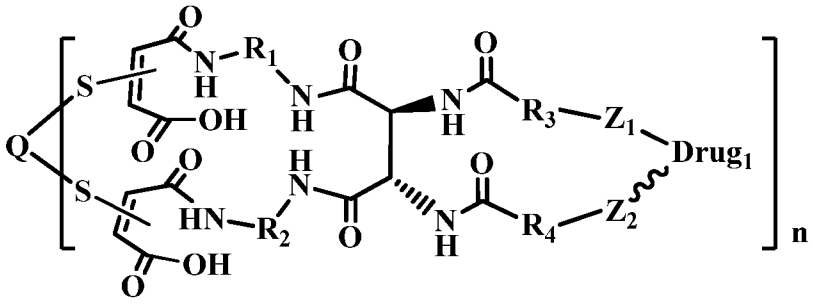
(III-04),



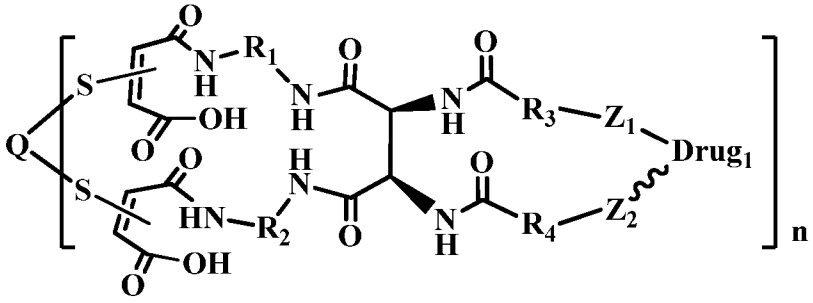
(III-05),



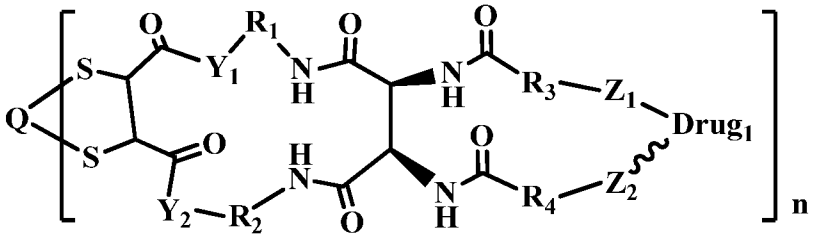
(III-06),



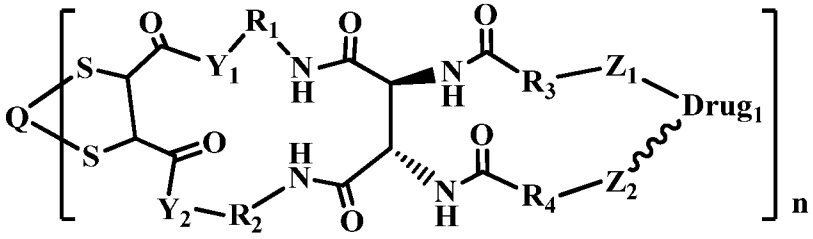
(III-07),



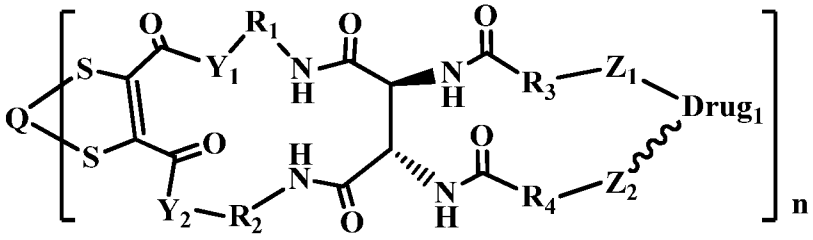
(III-08),



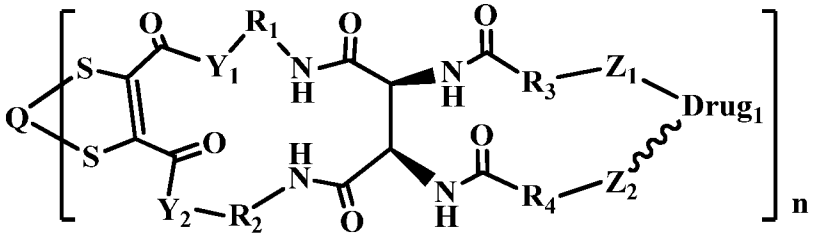
(III-09),



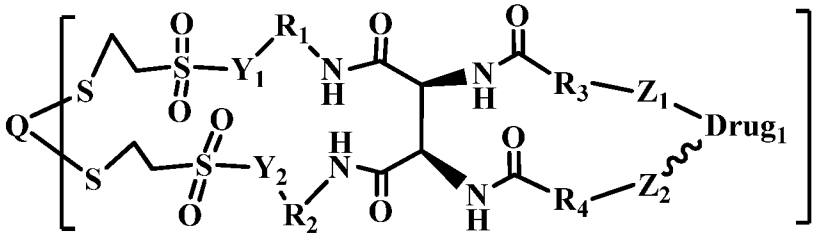
(III-10),



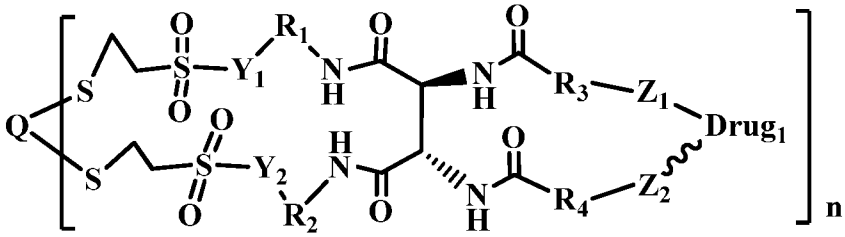
(III-11),



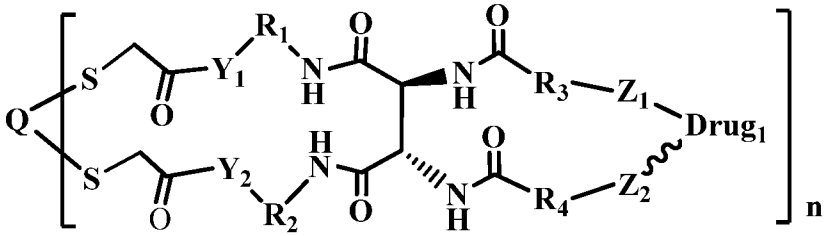
(III-12),



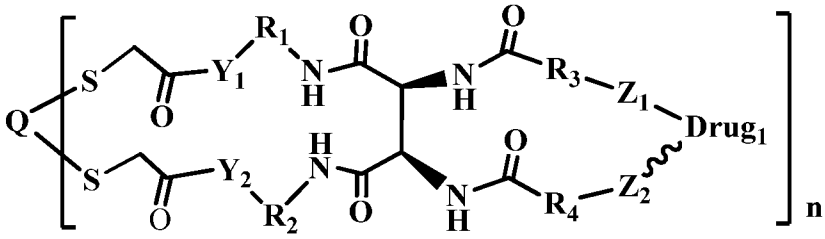
(III-13),



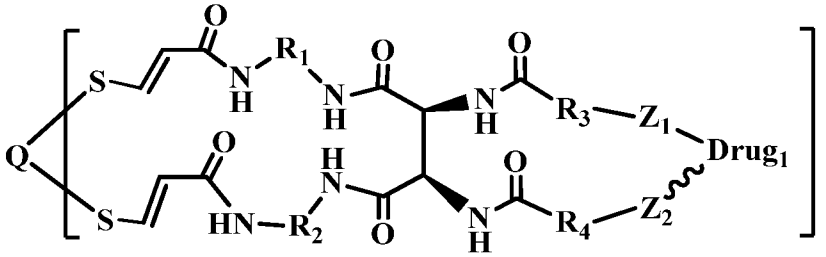
(III-14),



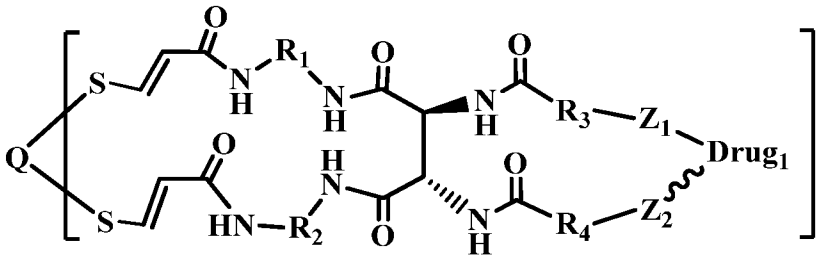
(III-15),



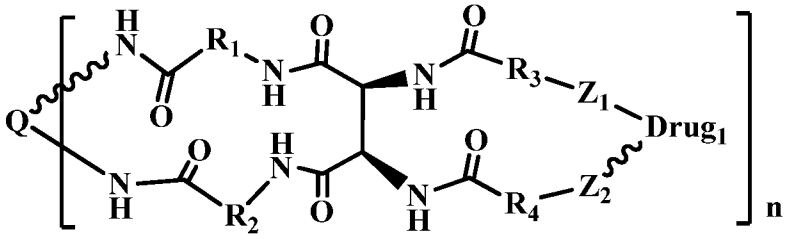
(III-16),



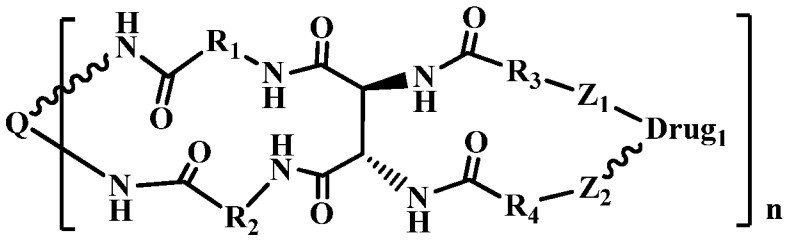
(III-17),



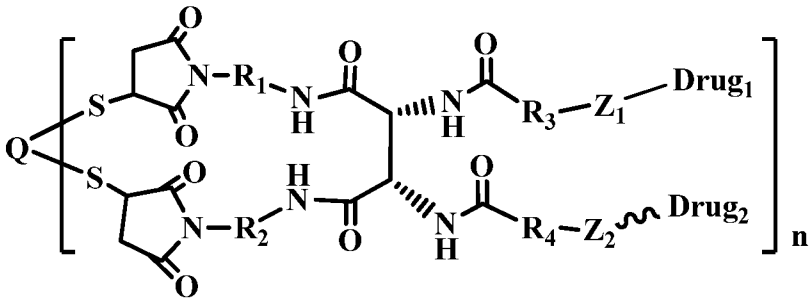
(III-18),



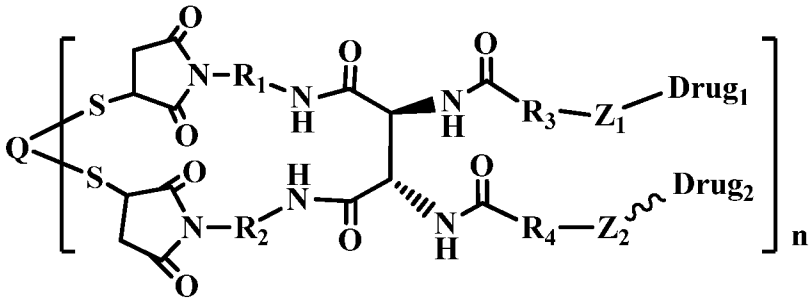
(III-19),



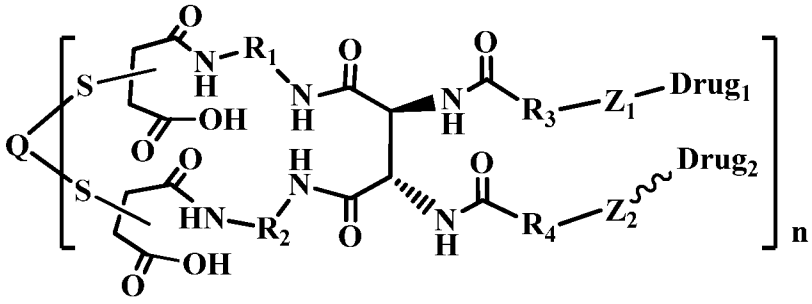
(III-20),



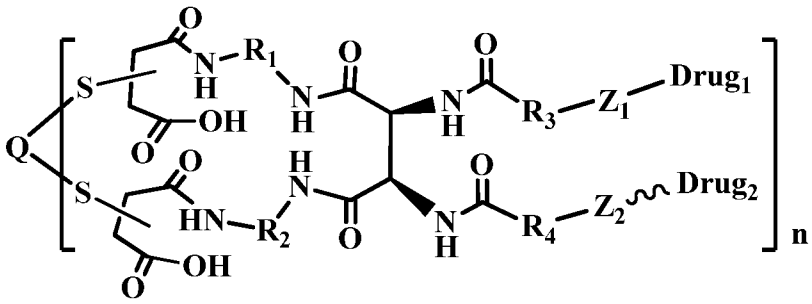
(IV-01),



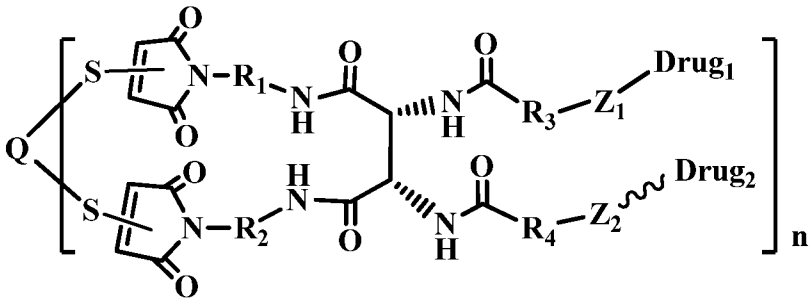
(IV-02),



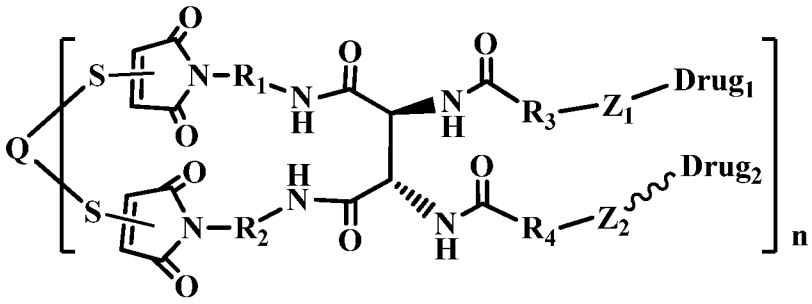
(IV-03),



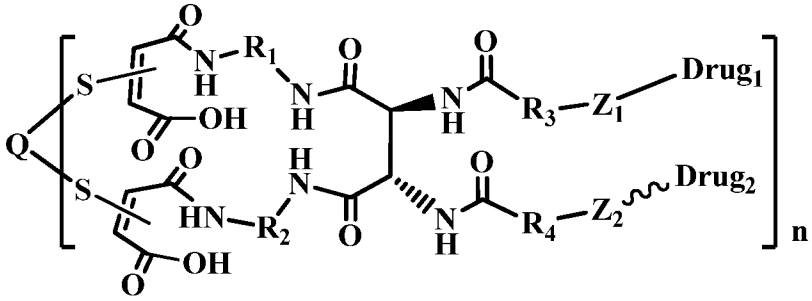
(IV-04),



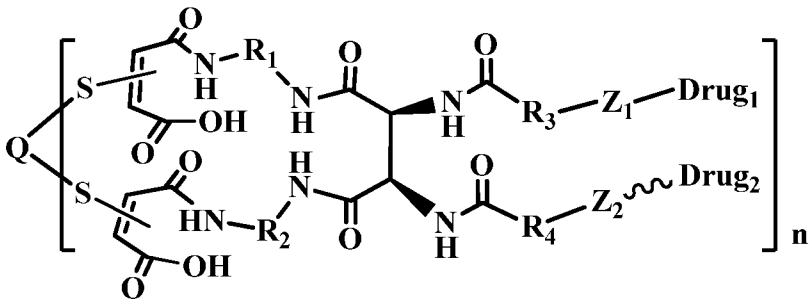
(IV-05),



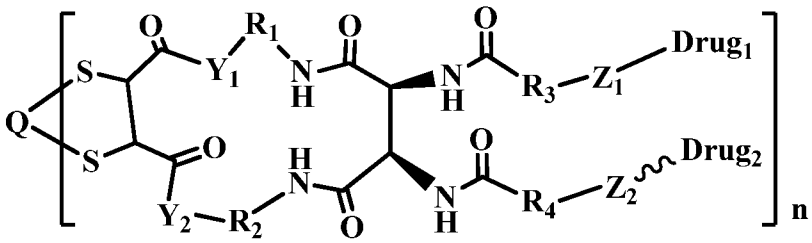
(IV-06),



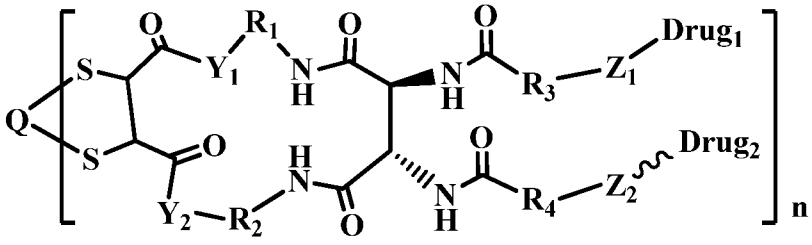
(IV-07),



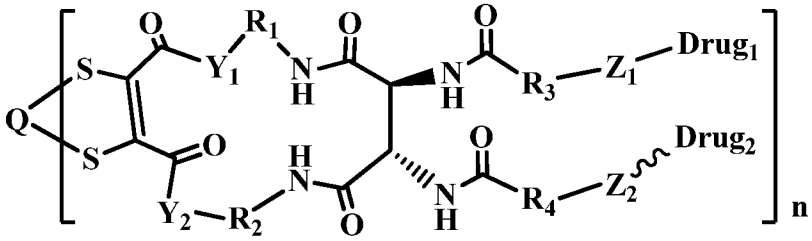
(IV-08),



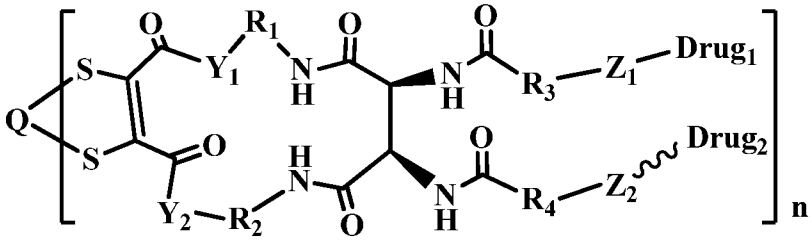
(IV-09),



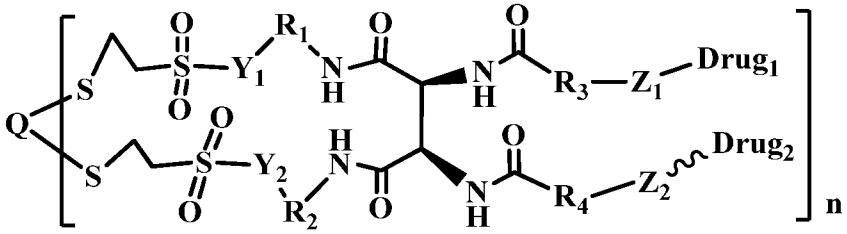
(IV-10),



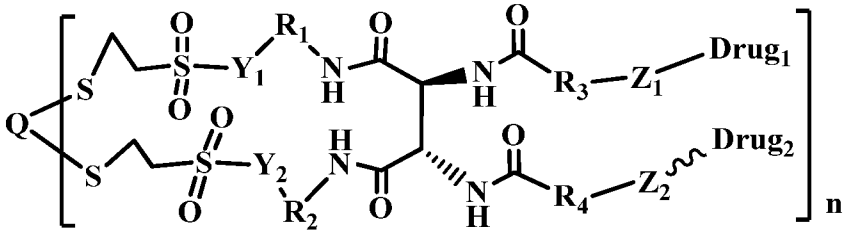
(IV-11),



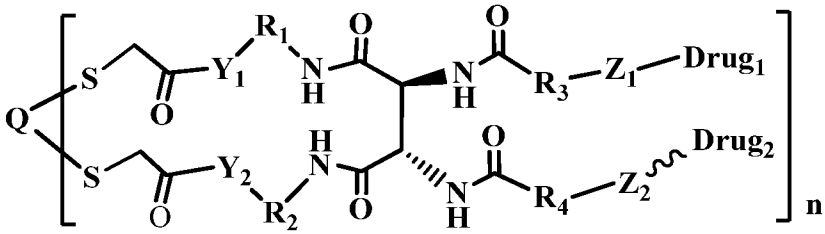
(IV-12),



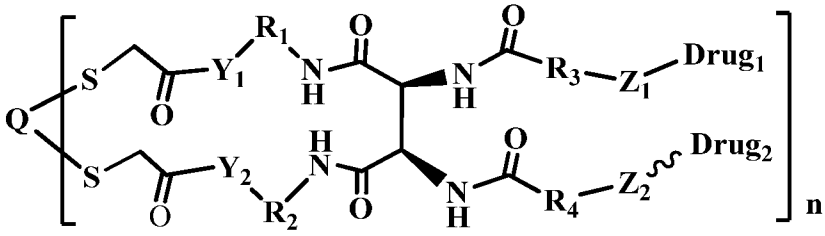
(IV-13),



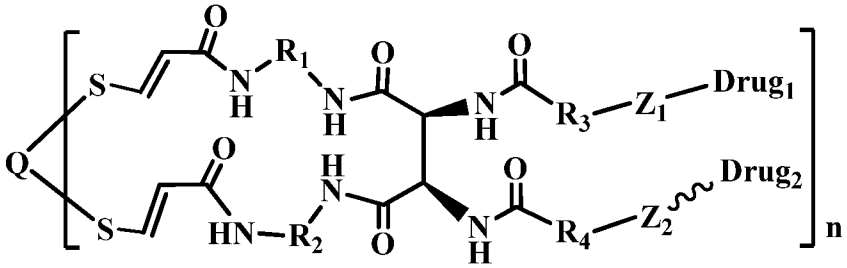
(IV-14),



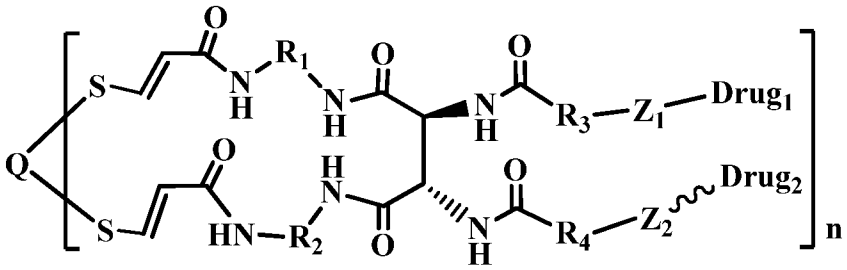
(IV-15),



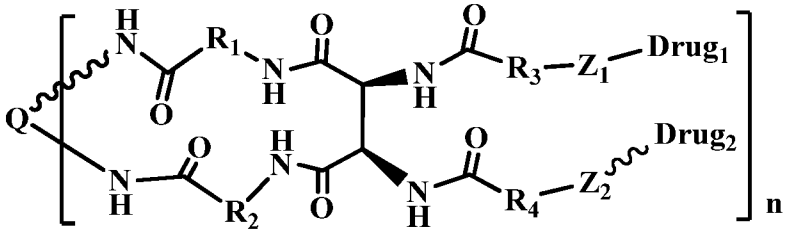
(IV-16),



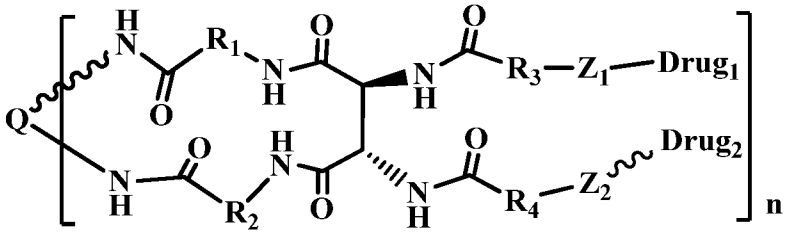
(IV-17),



(IV-18),



(IV-19),



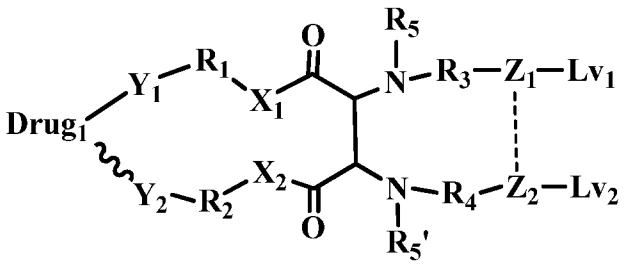
(IV-20),

где "-----", "∿∿", Q, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, $R_{5'}$, Z_1, Z_2, Лекарственное средство$_1$ и Лекарственное средство$_2$ определены так же, как и выше. Кроме того, одно из Лекарственное средство$_1$ и Лекарственное средство$_2$ может отсутствовать независимо, но не могут отсутствовать одновременно.

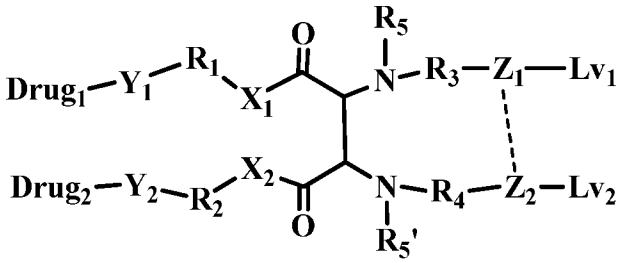
ПОЛУЧЕНИЕ КОНЪЮГАТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ С КЛЕТОЧНО-СВЯЗЫВАЮЩИМИ МОЛЕКУЛАМИ ЧЕРЕЗ БИС-СВЯЗЬ, СОДЕРЖАЩУЮ 2,3-ДИАМИНОСУКЦИНИЛЬНУЮ ГРУППУ

Получение конъюгатов лекарственных средств с клеточно-связывающими молекулами по данному изобретению и пути синтеза для получения конъюгатов посредством бис-связывания показаны на Фигурах 1-46 и экспериментальных примерах.

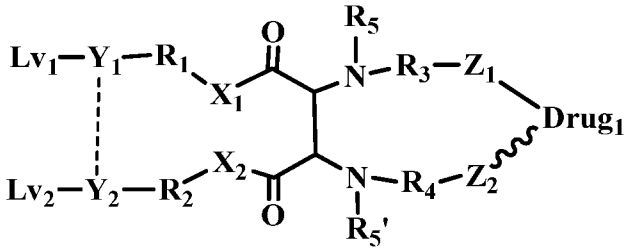
В другом аспекте данное изобретение обеспечивает легко реагирующий бис-линкер Формулы (V), (VI), (VII) и (VIII), содержащий 2,3-диаминосукцинильную группу, указанную ниже, где два или более остатков клеточно-связывающей молекулы могут одновременно или последовательно реагировать с образованием Формул (I), (II), (III) и (IV), указанных выше:



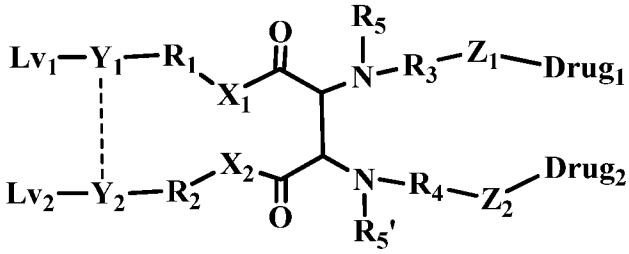
(V),



(VI),



(VII),



(VIII),

где:

"-----" необязательно представляет собой одинарную связь, или двойную связь, или тройную связь, или необязательно может отсутствовать; то при условии, что когда ----- представляет собой тройную связь, Lv_1 и Lv_2 отсутствуют;

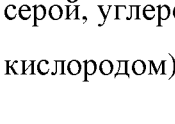
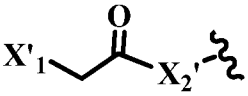
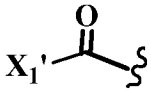
"——", "〰", Лекарственное средство$_1$, Лекарственное средство$_2$, n, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 , $R_{5'}$, Z_1, и Z_2 определены так же, как в Формуле (I)-(IV);

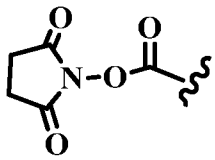
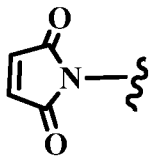
Lv_1 и Lv_2 представляют собой одинаковую или различную уходящую группу, которую могут приводить в контакт с тиольной, амино, карбоксильной, селенольной, фенольной или гидроксильной группой в молекуле, связывающейся с клеткой. Lv_1 и Lv_2 независимо выбраны из OH; F; Cl; Br; I; нитрофенола; N-гидроксисукцинимида (NHS); фенола; динитрофенола; пентафторфенола; тетрафторфенола; дифторфенола; монофторфенола; пентахлорфенола; трифлата; имидазола; дихлорфенола; тетрахлорфенола; 1-гидроксибензотриазола; тозилата; мезилата; 2-этил-5-фенилизоксазолий-3'-сульфоната, простых и смешанных ангидридов, например, уксусного ангидрида, формил ангидрида;

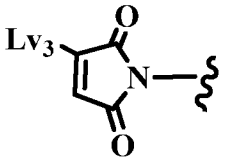
или интермедиата, полученного с помощью реагента конденсации для реакций пептидного сочетания или для реакций Мицунобу. Примерами реагентов конденсации являются: EDC (N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимид), DCC (дициклогексилкарбодиимид), N,N'-диизопропилкарбодиимид (DIC), N-циклогексил-N'-(2-морфолино-этил)карбодиимид мезо п-толуолсульфонат (CMC или CME-CDI), 1,1'-карбонилдиимидазол (CDI), TBTU (O-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония тетрафторборат), N,N,N',N'-тетраметил-O-(1H-бензотриазол-1-ил)урония гексафторфосфат (HBTU), (бензотриазол-1-илокси)трис(диметиламино)фосфонийгексафторфосфат(BOP), (бензотриазол-1-илокси)трипирролидинофосфонийгексафторфосфат (PyBOP), диэтилцианофосфонат (DEPC), хлор-N,N,N',N'-тетраметилформамидинийгексафторфосфат, 1-[бис(диметиламино)метилен]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридиния-3-оксид гексафторфосфат (HATU), 1-[(диметиламино)(морфолино)метилен]-1H-[1,2,3]триазоло[4,5-b]пиридин-1-ий 3-оксид гексафторфосфат (HDMA), 2-хлор-1,3-диметилимидазолидиния гексафторфосфат (CIP), хлортрипирролидинофосфония гексафторфосфат (PyCloP), фтор-N,N,N',N'-бис(тетраметилен)формамидиния гексафторфосфат (BTFFH), N,N,N',N'-тетраметил-S-(1-оксидо-2-пиридил)тиурония гексафторфосфат, O-(2-оксо-1(2H)пиридил)-N,N,N',N'-тетраметилуроний тетрафторборат (TPTU), S-(1-оксидо-2-пиридил)-N,N,N',N'-тетраметилтиуроний тетрафторборат, O-[(этоксикарбонил)-цианометиленамино]-N,N,N',N'-тетраметилуронийгексафторфосфат (HOTU), (1-циано-2-этокси-2-оксоэтилиденаминокси)диметиламиноморфолинокарбений гексафторфосфат (COMU), O-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-бис(тетраметилен)уроний гексафторфосфат (HBPyU), N-бензил-N'-циклогексилкарбодиимид (связанный или нет с полимером), дипирролидино (N-сукцинимидилокси)карбений гексафторфосфат (HSPyU), хлордипирролидинокарбения гексафторфосфат (PyClU), 2-хлор-1,3-диметилимидазолидин тетрафторбират (CIB), (бензотриазол-1-илокси)дипиперидинокарбений гексафторфосфат (HBPipU), O-(6-хлорбензотриазол-1-ил)-N,N,N′,N′-тетраметилуроний тетрафторборат (TCTU), бромтрис(диметиламино)фосфоний гексафторфосфат (BroP) пропилфосфоновый ангидрид (PPACA, T3P®), 2-Morpholinoethyl isocyanide (MEI), N,N,N′,N′-тетраметил-O-(N-сукцинимидил)уроний гексафторфосфат (HSTU), 2-бром-1-этилпиридиний тетрафторборат (BEP) , O-[(этоксикарбонил)цианометиленамино]-N,N,N′,N′-тетраметилуроний тетрафторборат (TOTU), 4-(4,6-диметокси-1,3,5-триазин-2-ил)-4-метилморфолинийхлорид (MMTM, DMTMM), N,N,N′,N′-тетраметил-O-(N-сукцинимидил)уроний тетрафторборат (TSTU), O-(3,4-дигидро-4-оксо-1,2,3-бензотриазин-3-ил)-N,N,N′,N′-тетраметилуроний тетрафторборат (TDBTU), 1,1'-

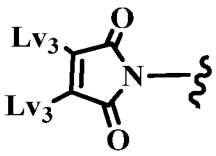
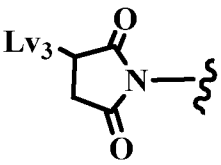
(азодикарбонил)дипиперидин (ADD), ди-(4-хлорбензил)азодикарбоксилат (DCAD), ди-трет-бутилазодикарбоксилат (DBAD), диизопропилазодикарбоксилат (DIAD), диэтилазодикарбоксилат (DEAD). Кроме того, Lv_1 и Lv_2 могут быть простым или смешанным ангидридом, кислот C_1~C_8;

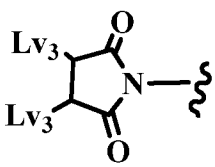
Предпочтительно Lv_1 и Lv_2 независимо выбраны из галогенида (например, фторида, хлорида, бромида и иодида), метансульфонила (мезила), толуолсульфонила (тозила), трифторметилсульфонила (трифлата), трифторметилсульфоната, нитрофеноксила, N-сукцинимидилоксила (NHS), феноксила; динитрофеноксила; пентафторфеноксила, тетрафторфеноксила, трифторфеноксила, дифторфеноксила, монофторфеноксила, пентахлорфеноксила, 1H-имидазол-1-ила, хлорфеноксила, дихлорфеноксила, трихлорфеноксила, тетрахлорфеноксила, N- (бензотриазол-ил)оксила,2-этил-5-фенилизоксазолий-3'-сульфонила, фенилоксадиазол-сульфонила (-сульфон-ODA), 2-этил-5-фенилизоксазолий-ила, фенилоксадиазол-ила (ODA), оксадиазол-ила, ненасыщенный углерод (двойная или тройная связь между углерод-углеродом, углерод-азотом, углерод - серой, углерод-фосфором, сера-азотом, фосфор-азотом, кислород-азотом или углерод-кислородом) или одной из следующих структур:

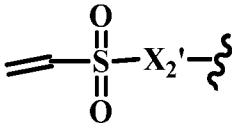
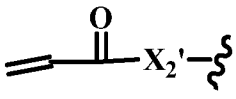

дисульфид;

галогенацетил;

ацилгалогенид (галогенангидрид);

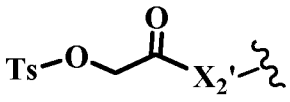
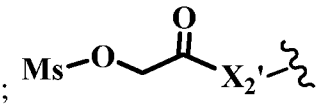

сложный эфир *N*-гидроксисукцинимида;

малеимид;

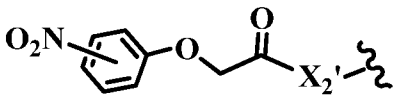
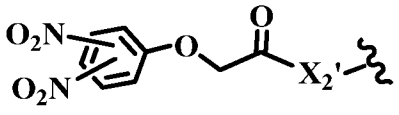
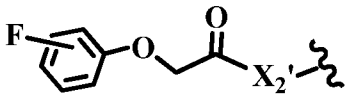


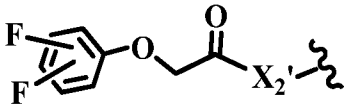
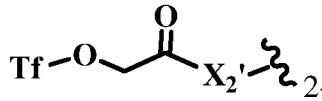
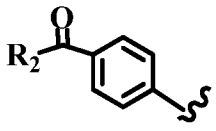

монозамещенный малеимид;

дизамещенный малеимид;

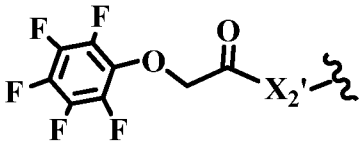
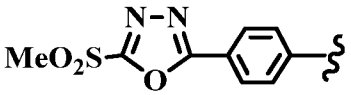
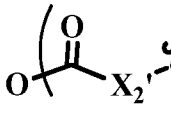
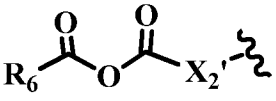
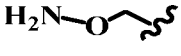
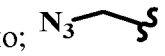
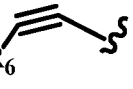

монозамещенный сукцинимид;
дизамещенный сукцинимид; -CHO альдегид;

 этенсульфонил;  акрил (акрилоил);

 2-(тозилокси)ацетил;  2-(мезилокси)ацетил;

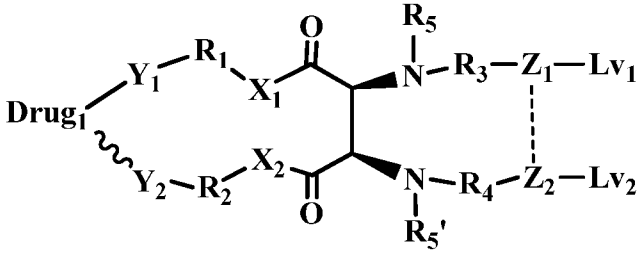
 2-(нитрофенокси)ацетил;  2-(динитрофенокси)ацетил;  2-(фторфенокси)ацетил;

 2-(дифторфенокси)ацетил;  2-(((трифторметил)сульфонил)окси)ацетил;  кетон или альдегид,

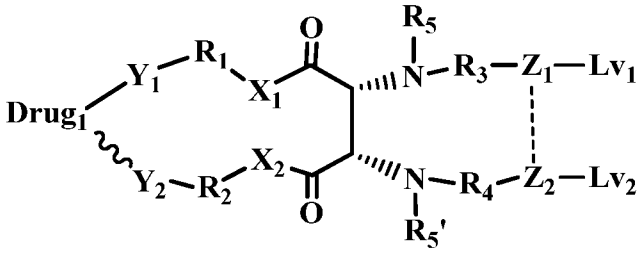
 2-(пентафторфенокси)ацетил;  , метилсульфонфенилоксадиазол (ODA);  ,  ангидрид кислоты,  алкилоксиамино;  азидо,  алкинил или гидразид, где X_1' представляет собой F, Cl, Br, I или Lv_3; X_2' представляет собой O, NH, N(R_1), или CH_2; R_6 независимо представляет собой H, ароматическую, гетероароматическую 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 F, Cl, Br, I, нитрофенола; N-гидроксисукцинимида (NHS); фенола; динитрофенола; пентафторфенола, тетрафторфенола, дифторфенола, монофторфенола, пентахлорфенола, трифлата; имидазола; дихлорфенола, тетрахлорфенола, 1-гидроксибензотриазола; тозилата; мезилата; 2-этил-5-фенилизоксазолий-3′-сульфоната, простых и смешанных ангидридов, например, уксусного ангидрида, формил ангидрида; или интермедиата, полученного с

помощью реагента конденсации для реакций пептидного сочетания или для реакций Мицунобу;

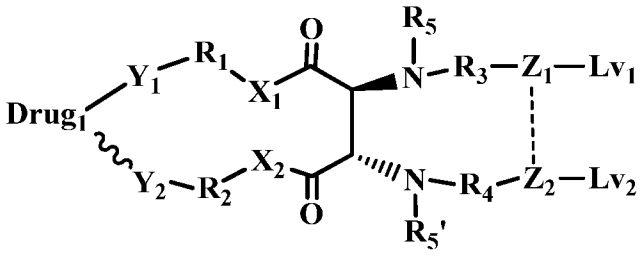
Предпочтительный стереоизомер Формулы (I) представлен следующей Формулой (Va), (Vb), (Vc), (VIa), (VIb), (VIc), (VIIa), (VIIb), (VIIc) , (VIIIa), (VIIIb) и (VIIIc):



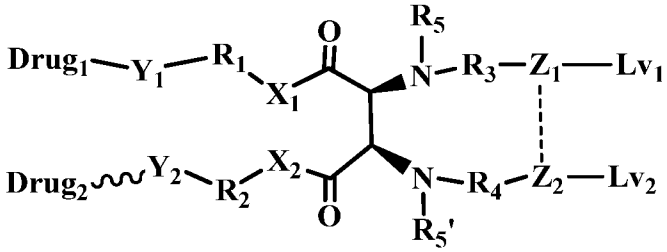
(Va),



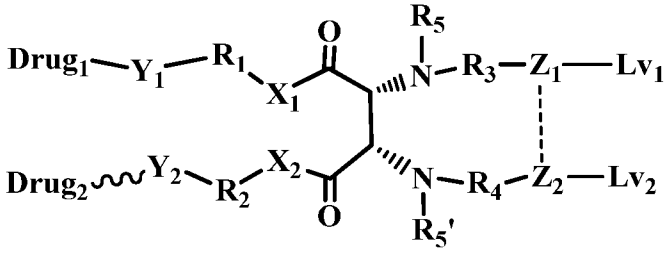
(Vb),



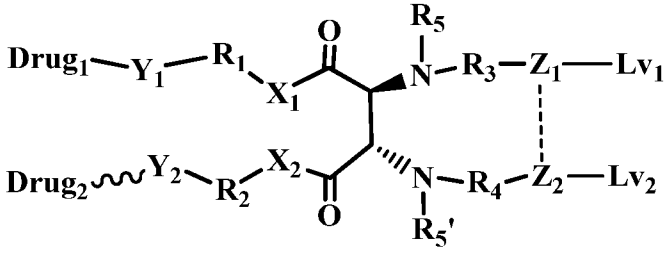
(Vc),



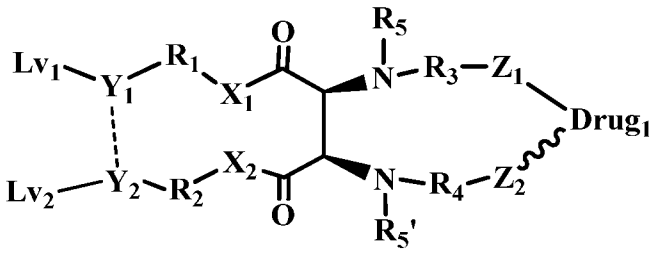
(VIa),



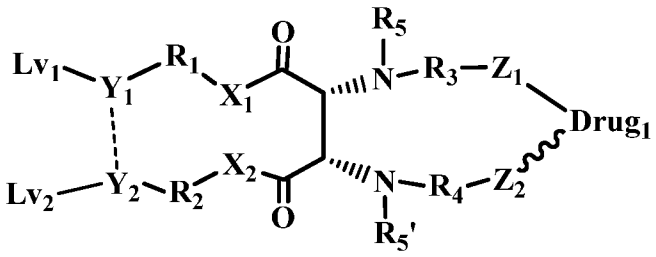
(VIb)



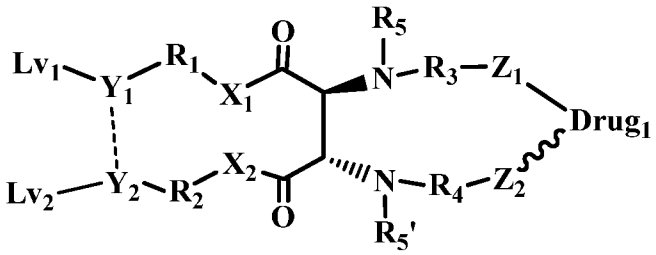
(VIc),



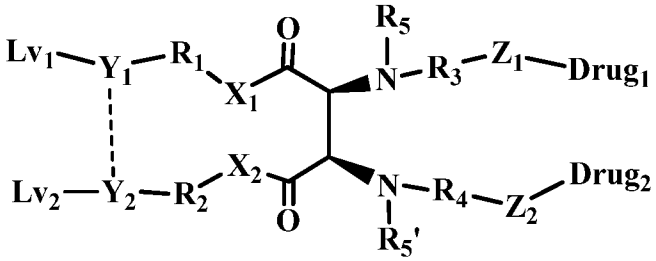
(VIIa),



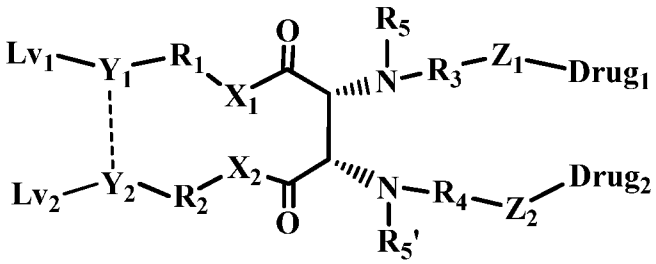
(VIIb),



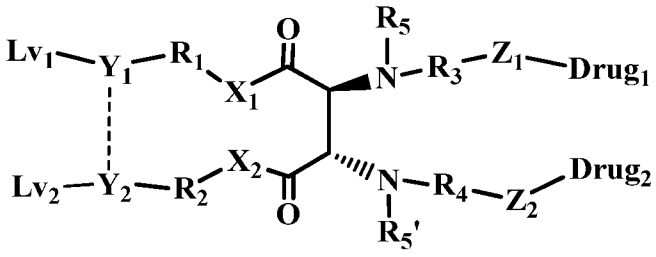
(VIIc),



(VIIIa),



(VIIIb),

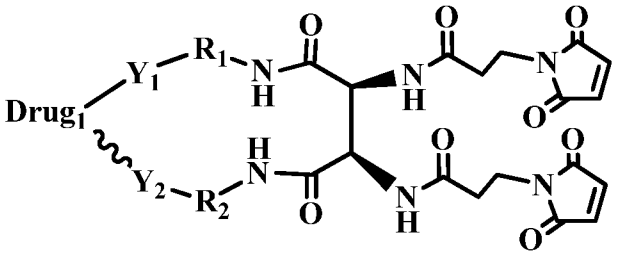


(VIIIc),

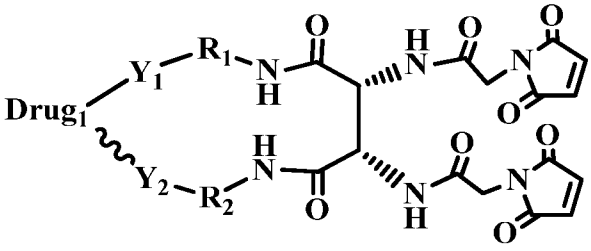
где "-----", Q, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, $R_{5'}$, Z_1, Z_2, Lv_1, Lv_2, Лекарственное средство$_1$ и Лекарственное средство$_2$ определены так же, как указано выше.

Предпочтительно бис-связь конъюгата дополнительно представлена Формулой (V-01), (V-02), (V-03), (V-04), (V-05), (V-06), (V-07), (V-08), (V-09), (V-10), (V-11), (V-12), (V-

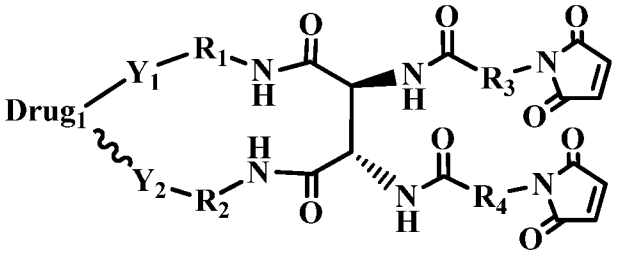
13), (V-14), (V-15), (V-16), (V-17), (V-18), (V-19), (V-20), (V-21), (V-22), (V-23), (VI-01), (VI-02), (VI-03), (VI-04), (VI-05), (VI-06), (VI-07), (VI-08), (VI-09), (VI-10), (VI-11), (VI-12), (VI-13), (VI-14), (VI-15), (VI-16), (VI-17), (VI-18), (VII-01), (VII-02), (VII-03), (VII-04), (VII-05), (VII-06), (VII-07), (VII-08), (VII-09), (VII-10), (VII-11), (VII-12), (VII-13), (VII-14), (VII-15), (VII-16), (VII-17), (VII-18), (VII-19), (VII-20), (VIII-01), (VIII-02), (VIII-03), (VIII-04), (VIII-05), (VIII-06), (VIII-07), (VIII-08), (VIII-09), (VIII-10), (VIII-11), (VIII-12), (VIII-13), (VIII-14), (VIII-15), (VIII-16), (VIII-17), (VIII-18), (VIII-19), и (VIII-20) ниже:



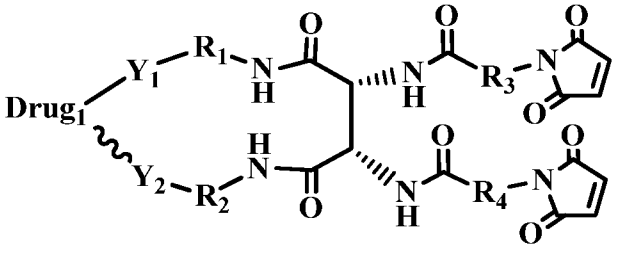
(V-01),



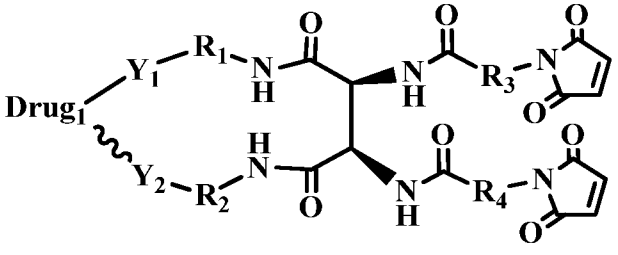
(V-02),



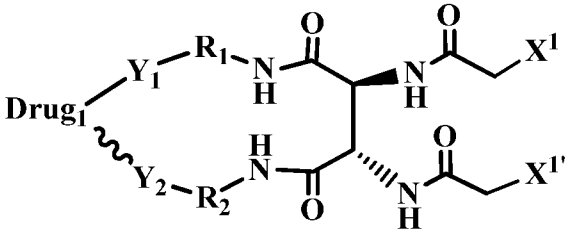
(V-03),



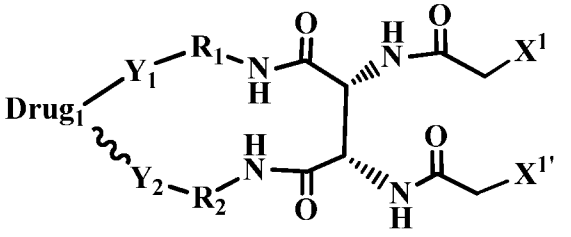
(V-04),



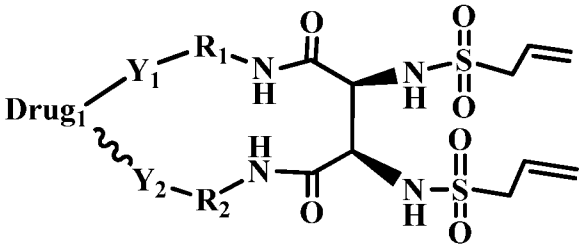
(V-05),



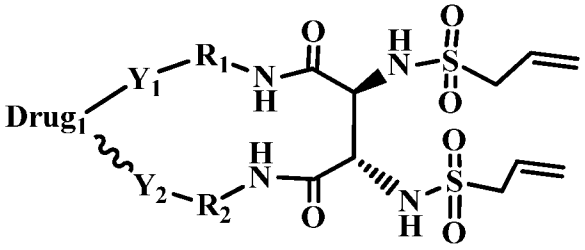
(V-06),



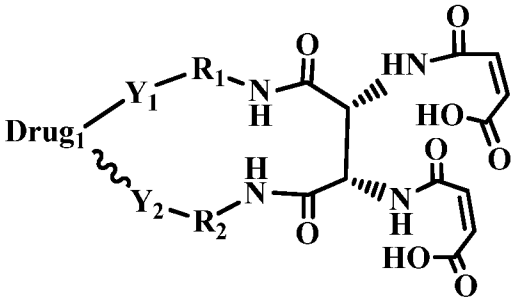
(V-07),



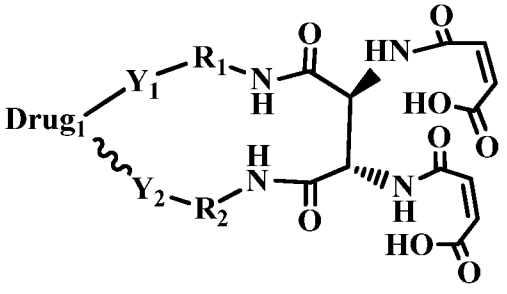
(V-08),



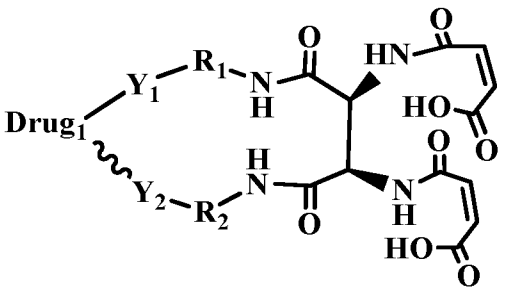
(V-09),



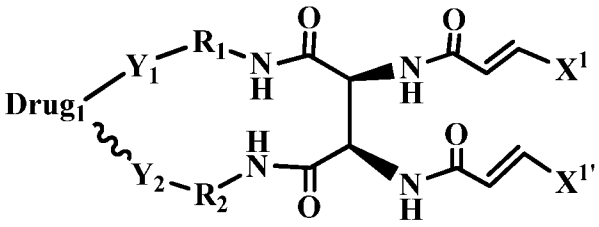
(V-10),



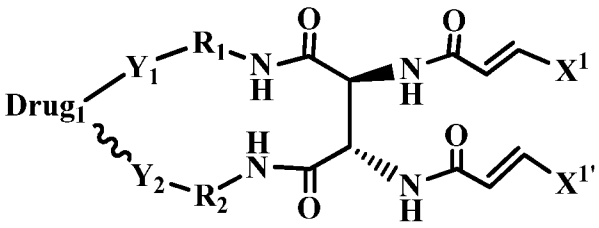
(V-11),



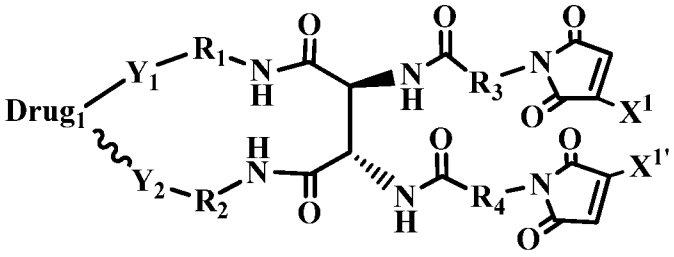
(V-12),



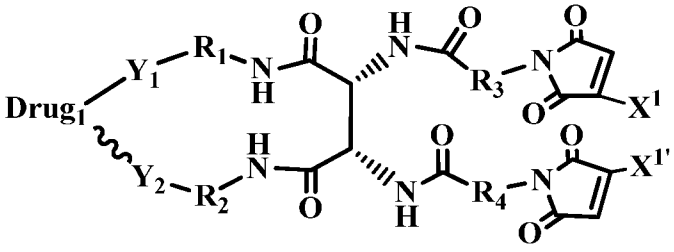
(V-13),



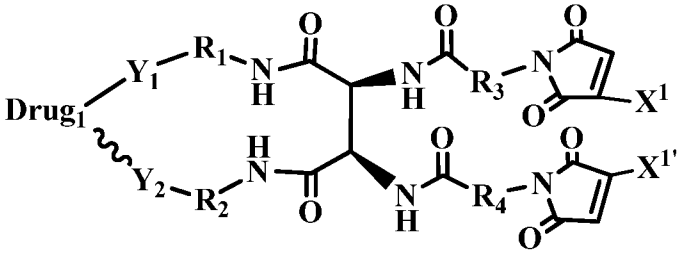
(V-14),



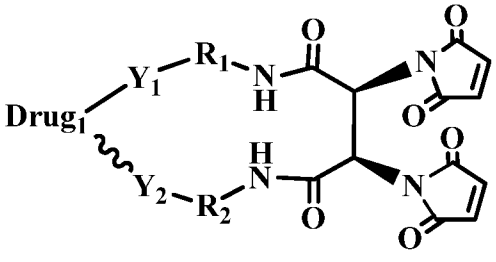
(V-15),



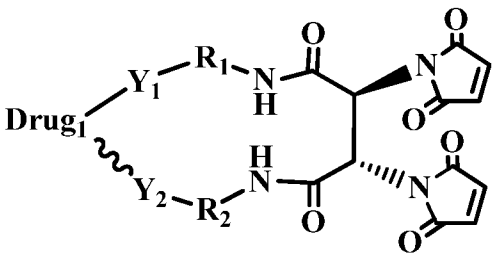
(V-16),



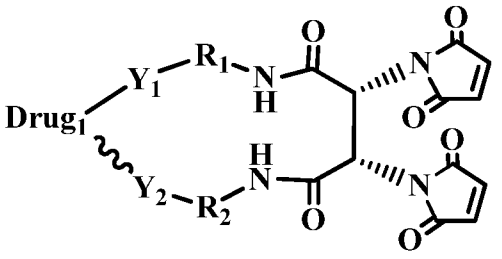
(V-17),



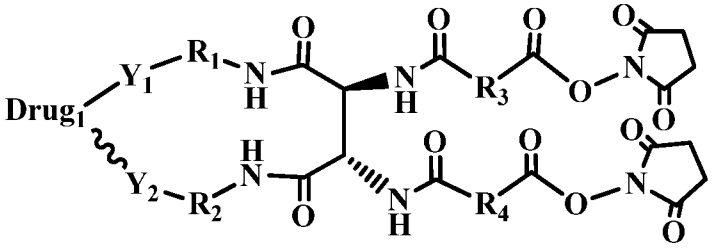
(V-18),



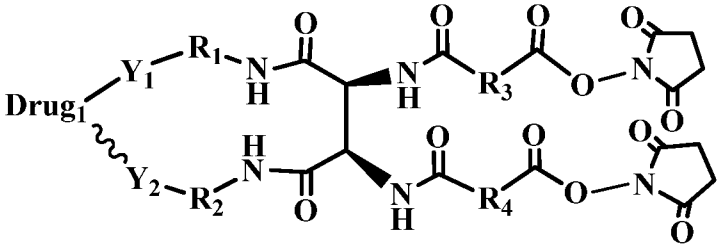
(V-19),



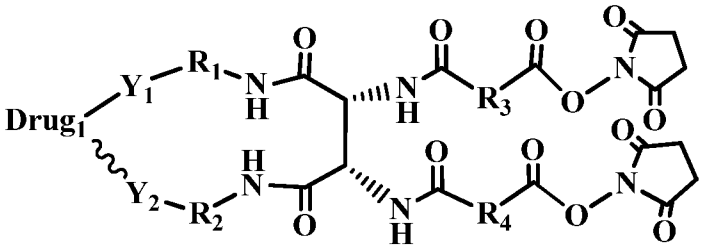
(V-20),



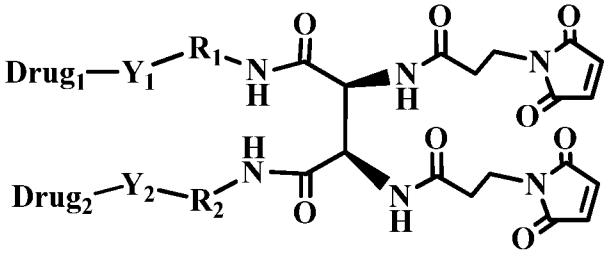
(V-21),



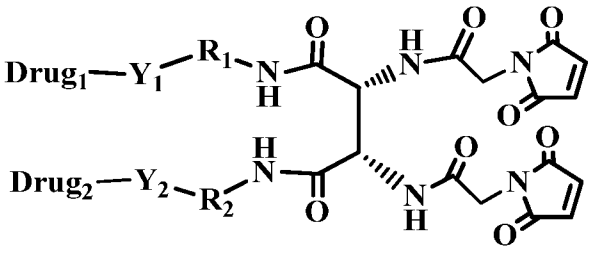
(V-22),



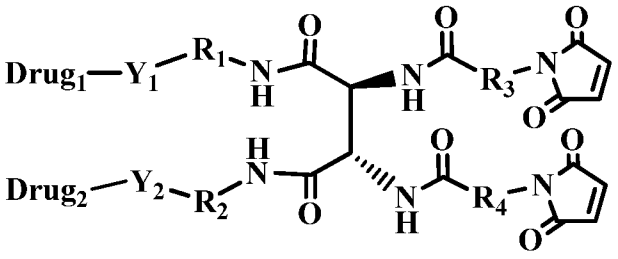
(V-23),



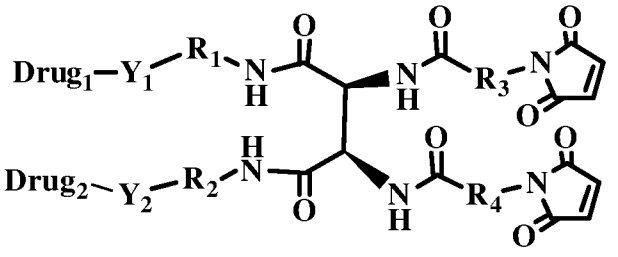
(VI-01),



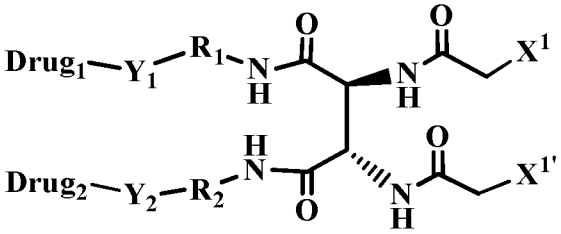
(VI-02),



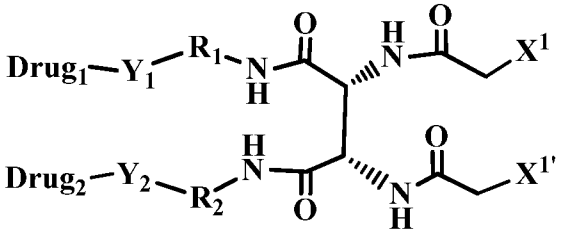
(VI-03),



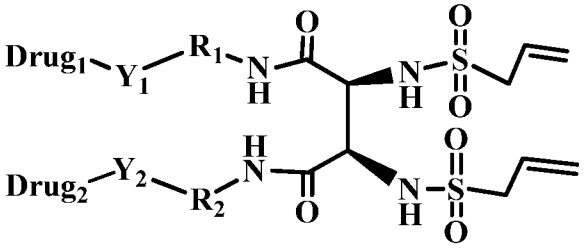
(VI-04),



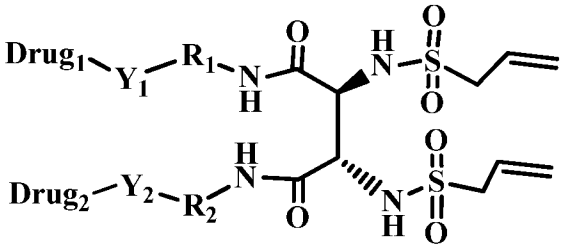
(VI-05),



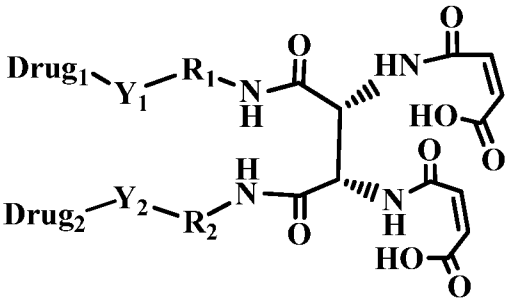
(VI-06),



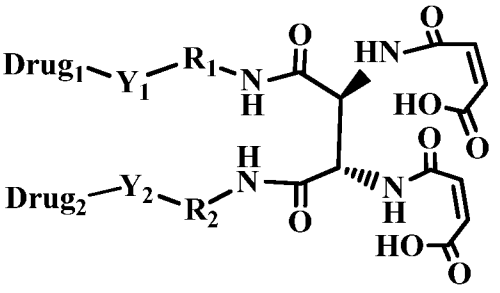
(VI-07),



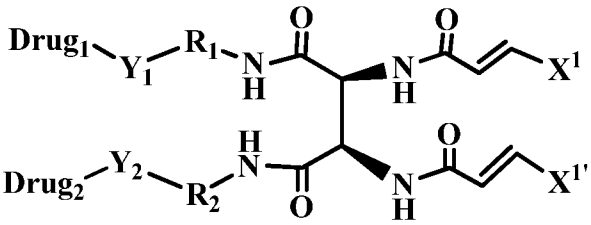
(VI-08),



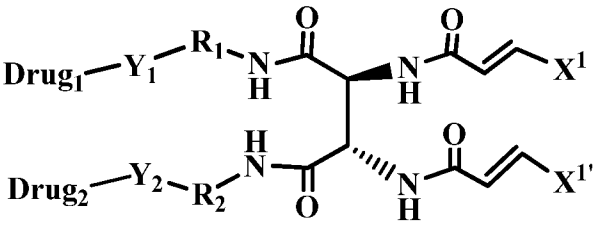
(VI-09),



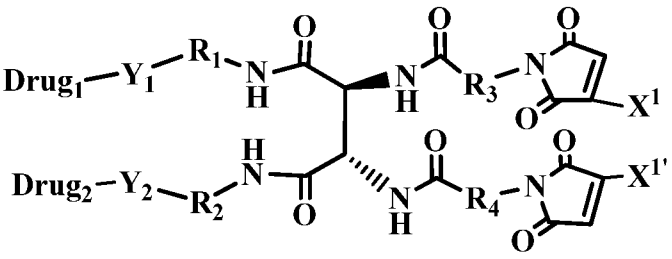
(VI-10),



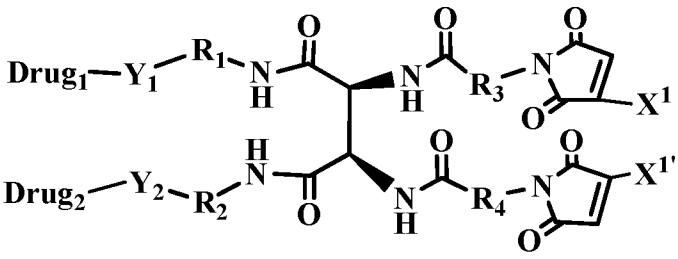
(VI-11),



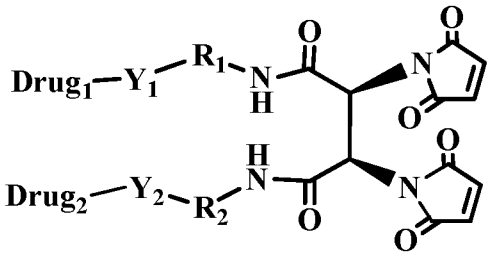
(VI-12),



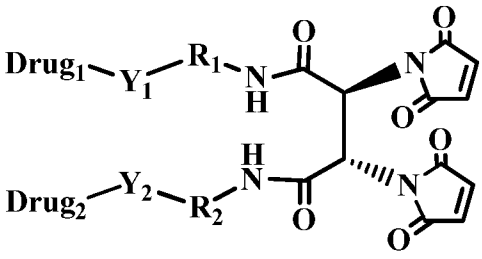
(VI-13),



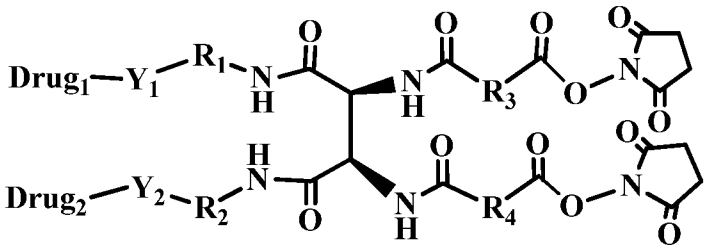
(VI-14),



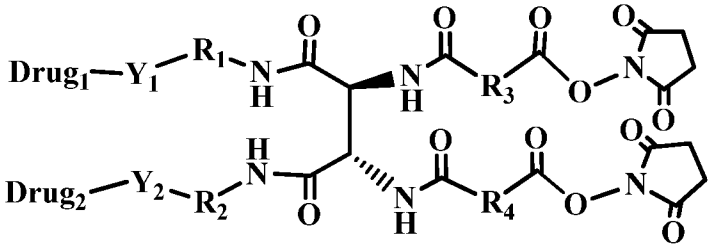
(VI-15),



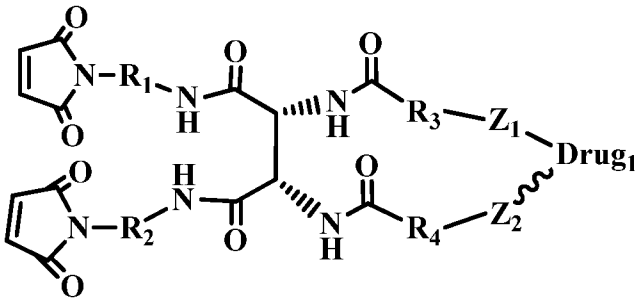
(VI-16),



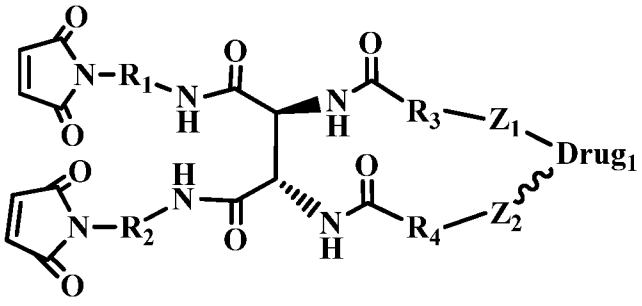
(VI-17),



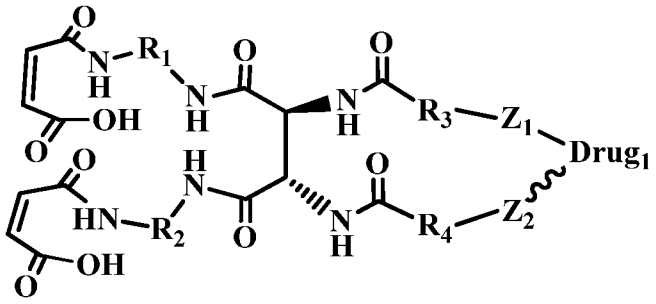
(VI-18),



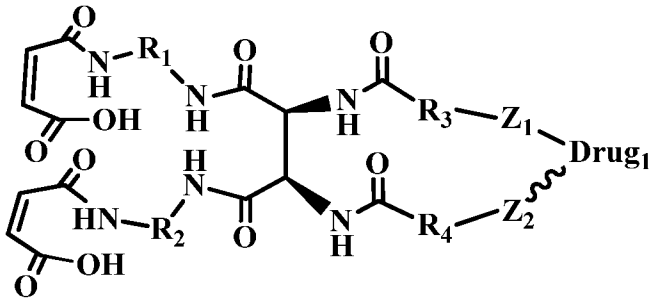
(VII-01),



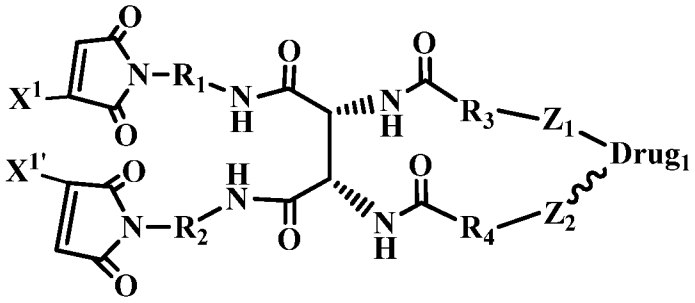
(VII-02),



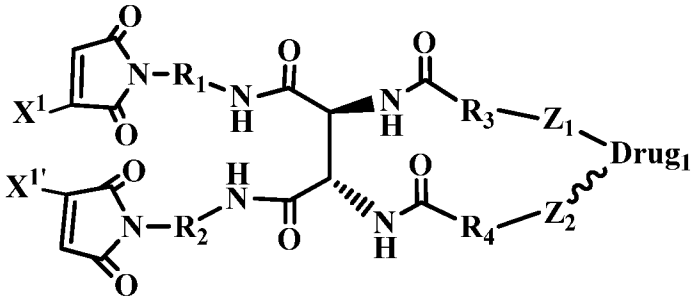
(VII-03),



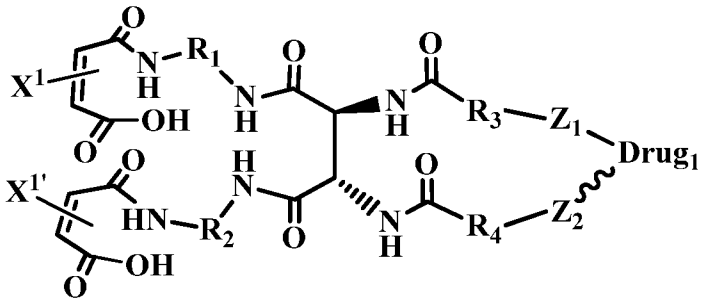
(VII-04),



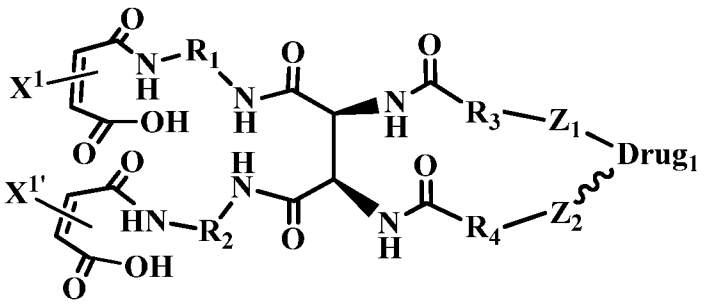
(VII-05),



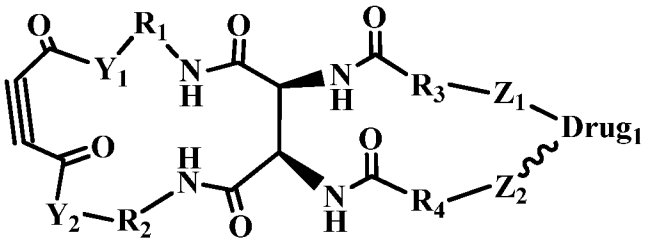
(VII-06),



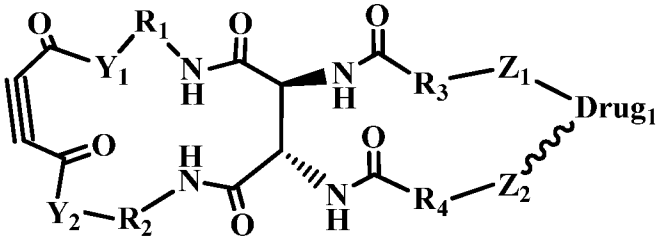
(VII-07),



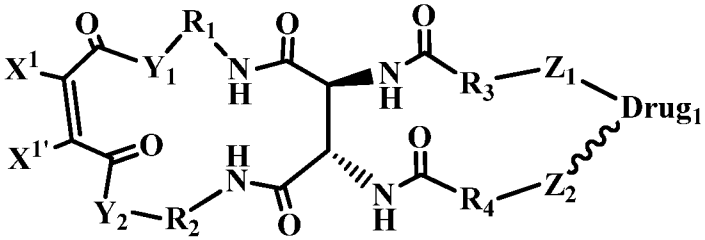
(VII-08),



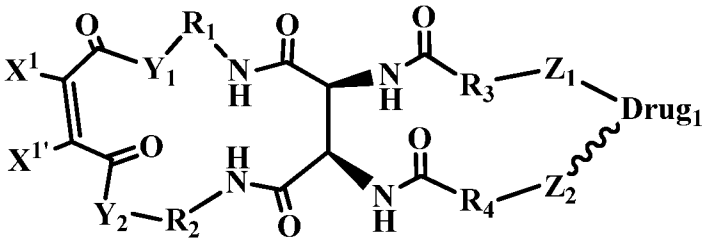
(VII-09),



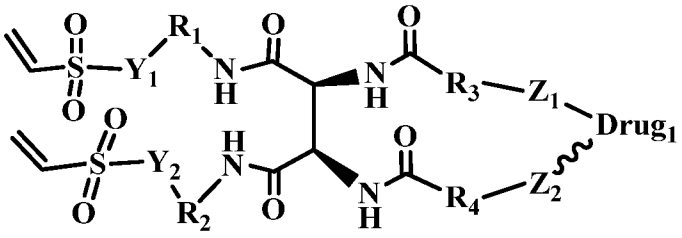
(VII-10),



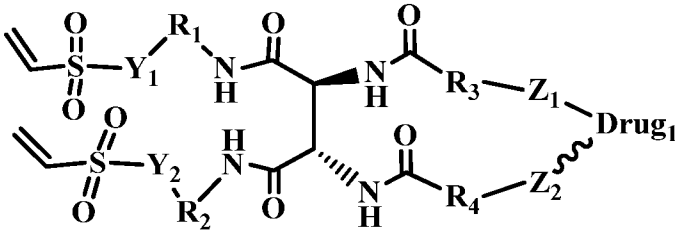
(VII-11),



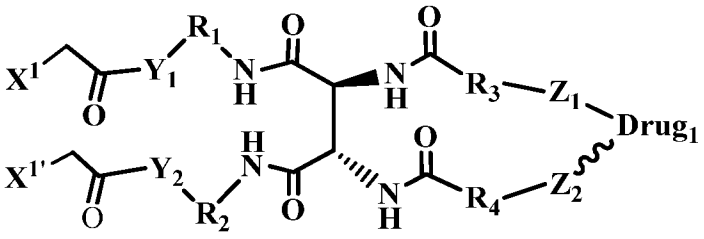
(VII-12),



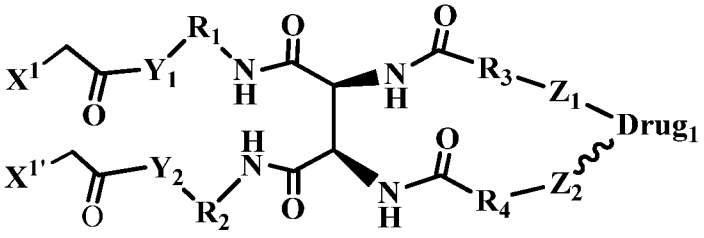
(VII-13),



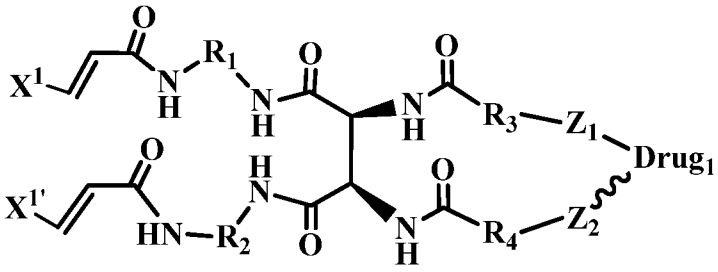
(VII-14),



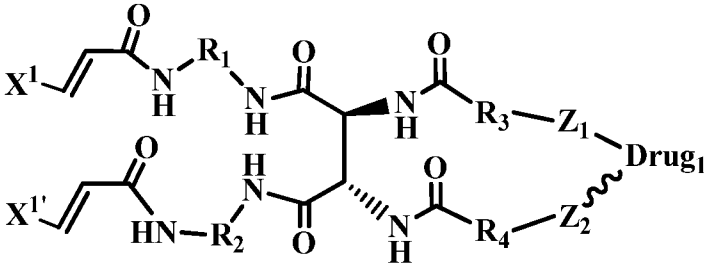
(VII-15),



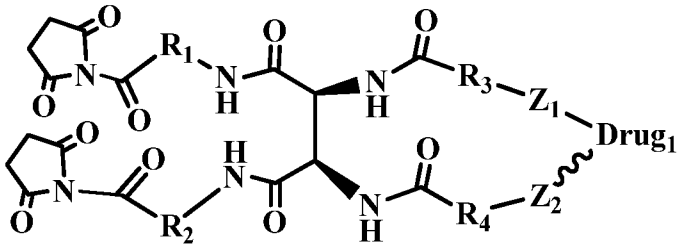
(VII-16),



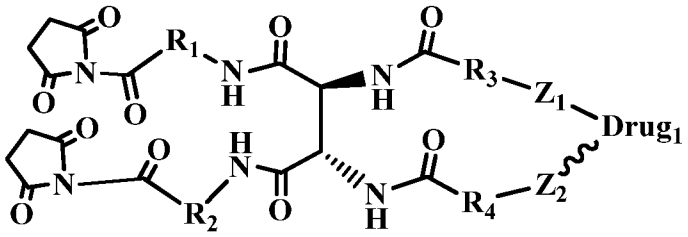
(VII-17),



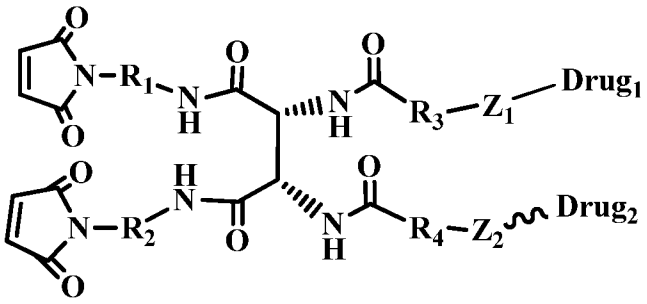
(VII-18),



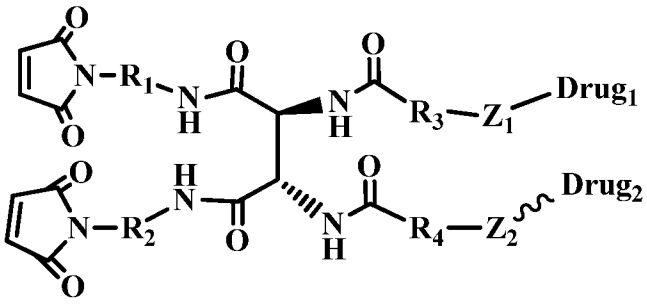
(VII-19),



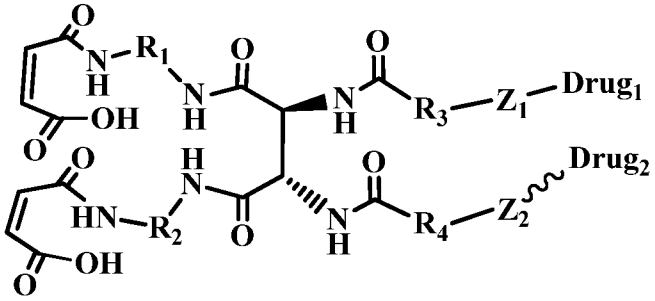
(VII-20),



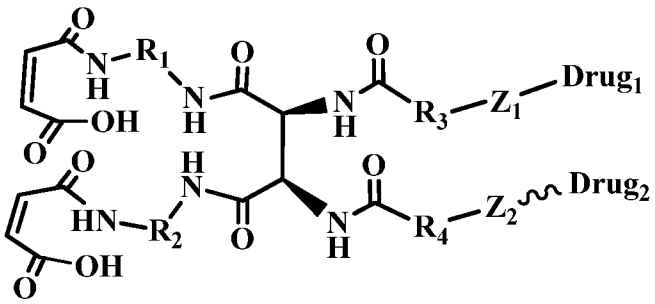
(VIII-01),



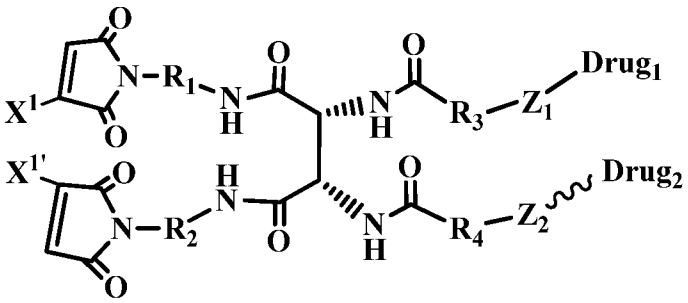
(VIII-02),



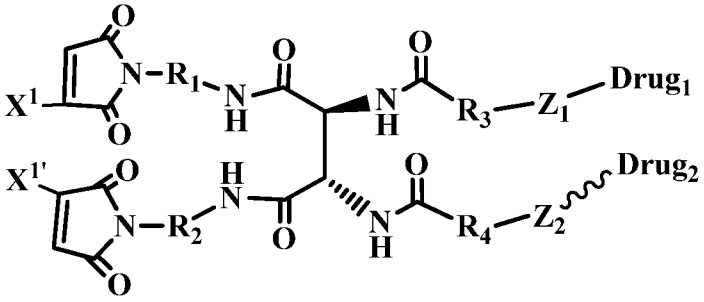
(VIII-03),



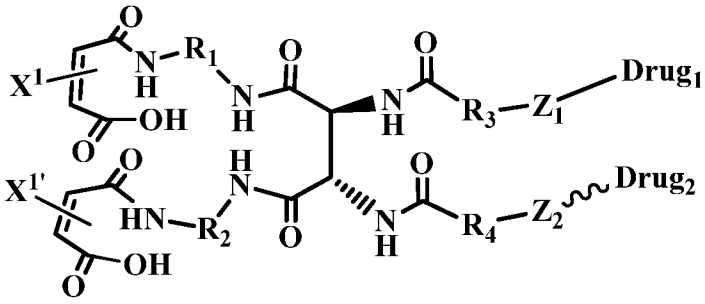
(VIII-04),



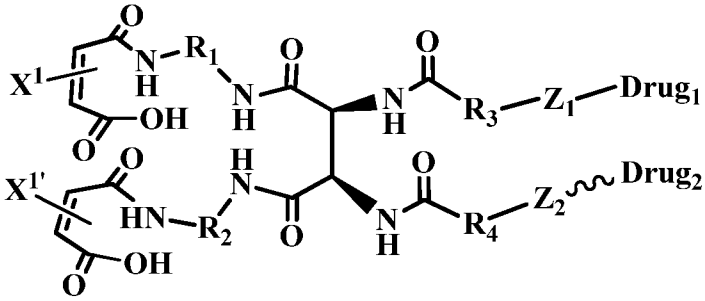
(VIII-05),



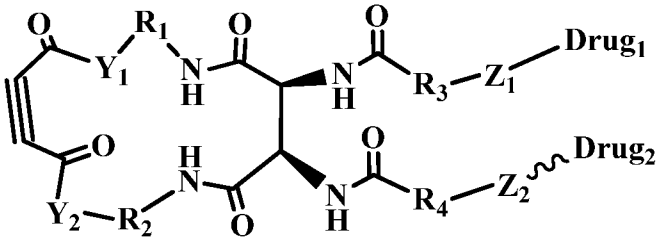
(VIII-06),



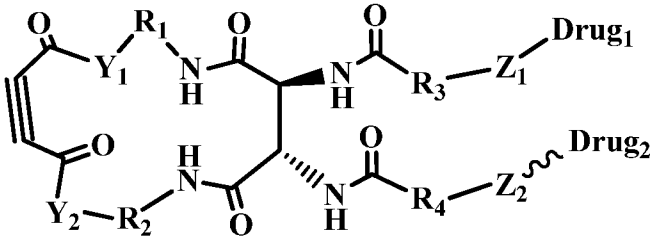
(VIII-07),



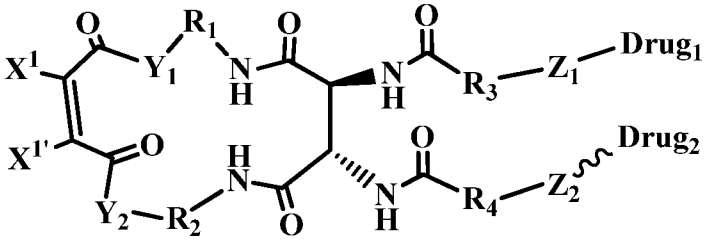
(VIII-08),



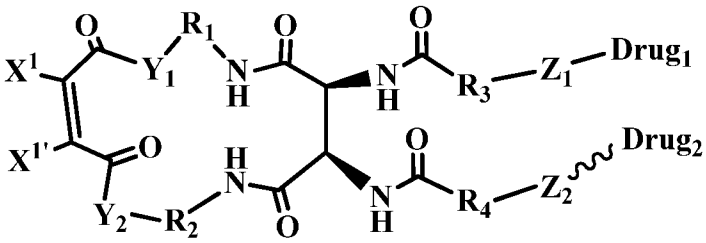
(VIII-09),



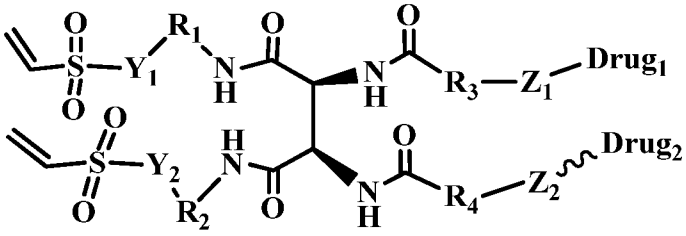
(VIII-10),



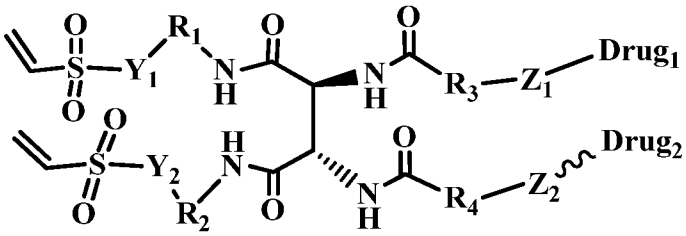
(VIII-11),



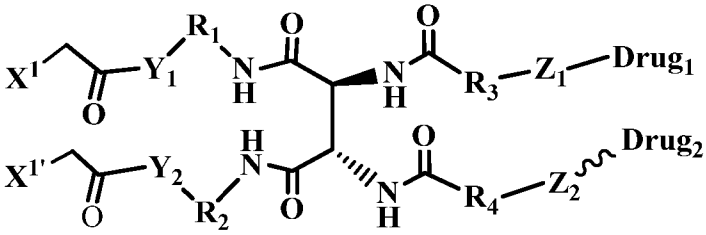
(VIII-12),



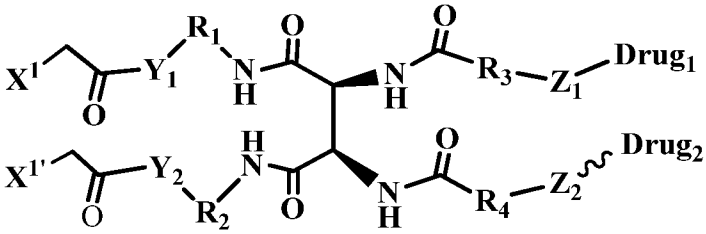
(VIII-13),



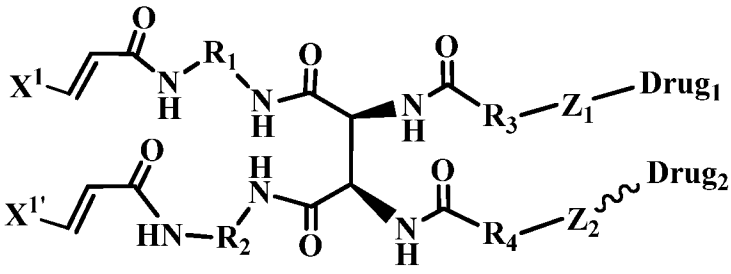
(VIII-14),



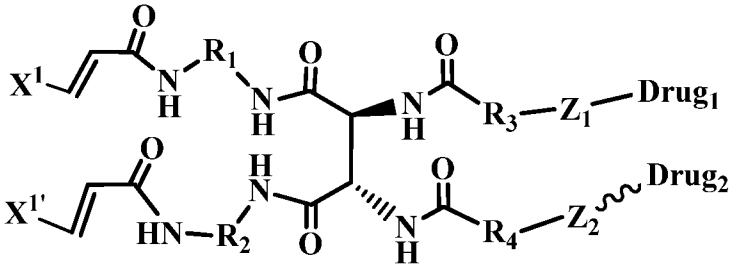
(VIII-15),



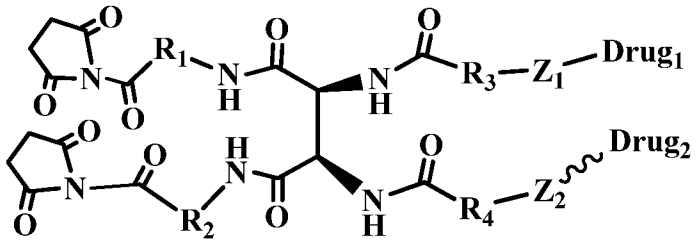
(VIII-16),



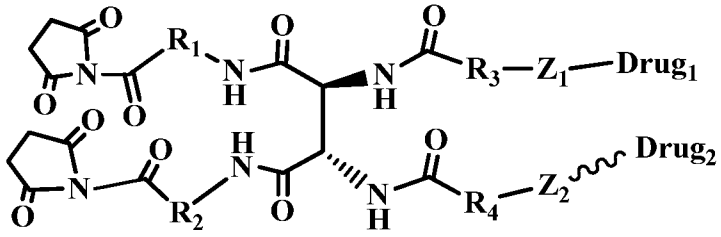
(VIII-17),



(VIII-18),



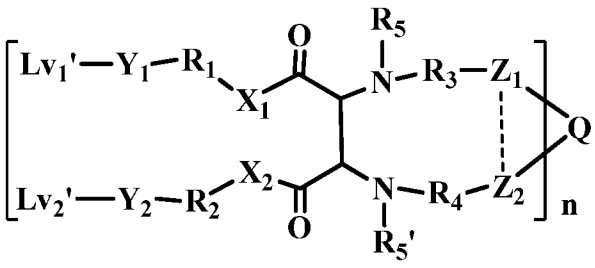
(VIII-19),



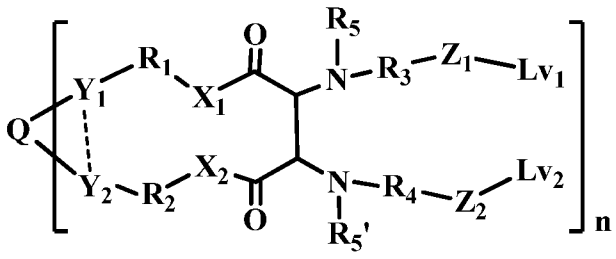
(VIII-20),

где "-----", "∿∿", Q, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, $R_{5'}$, Z_1, Z_2, Лекарственное средство$_1$ и Лекарственное средство$_2$ определены так же, как и выше; X^1 и $X^{1'}$ представляют собой независимо H, F, Cl, Br, I, OTs, OMs, OTf, N_3, CHO, -C=CH, $-C\equiv C-$, $ArC(=O)R_1$, $C(=O)NHNH_2$, $-O-NH_2$, нитрофенол; N-гидрокси-сукцинимид (NHS); фенол; динитрофенол; пентафторфенол; тетрафторфенол; дифторфенол; монофторфенол; пентахлорфенол; трифлат; имидазол; дихлорфенол; тетрахлорфенол; 1-гидроксибензотриазол; тозилат; мезилат; 2-этил-5-фенилизоксазолий-3'-сульфонат, ангидриды, образовавшиеся сами по себе или образовавшиеся с другим ангидридом, например ацетилангидрид, формилангидрид; O-NHS (O-N-гидросукцинимид), O-имидазол, O-триазол, O-тетразол, O-Ar, $O-ArNO_2$, $O-Ar(NO_2)_2$, $O-ArF_4$, $O-ArF_3$, $O-ArF_5$, $O-ArF_2$, O-ArF, $O-ArCl_4$, $O-ArCl_3$, $O-ArCl_5$, $O-ArCl_2$, O-ArCl, $O-ArSO_3H$, $O-ArOPO_3H_2$, $O-Ar(NO_2)COOH$, $S-Ar(NO_2)_2COOH$, O-пиридин, O-нитрофенол, O-динитрофенол, O-пентафторфенол, O-тетрафторфенол, O-трифторфенол, O-дифторфенол, O-фторфенол, O-пентахлорфенол, O-тетрахлорфенол, O-трихлорфенол, O-дихлорфенол, O-хлорфенол, O-пиридин, O-нитропиридин, O-динитропиридин, $O-C_1-C_8$ алкил, O-трифлат, O-бензотриазол, S-Ar, $S-ArNO_2$, $S-Ar(NO_2)_2$, $S-ArF_4$, $S-ArF_3$, $S-ArF_5$, $S-ArF_2$, S-ArF, $S-ArCl_4$, $S-ArCl_3$, $S-ArCl_5$, $S-ArCl_2$, S-ArCl, S-ArSO3H, $S-ArOPO_3H_2$, $S-Ar(NO_2)COOH$, $S-Ar(NO_2)_2COOH$, S-пиридин, S-S-пиридин, S-нитропиридин, S-динитропиридин, $S-C_1-C_8$ алкил, $S-S-C_1-C_8$ алкил, S-трифлат, S-бензотриазол, где Ar представляет собой ароматическое кольцо C_3-C_8; или промежуточную молекулу, полученную с помощью реагента конденсации для реакций пептидного сочетания, или для реакций Мицунобу.

В другом аспекте данное изобретение обеспечивает легко реагирующий бис-линкер Формулы (IX) и (X) следующие, где одна или две или несколько функциональных групп цитотоксической молекулы могут реагировать с ней одновременно или последовательно с образованием Формулы (I) , (II), (III) или (IV) представленных выше:



(IX),



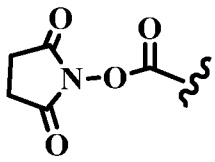
(X),

где:

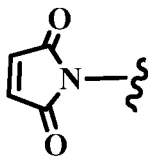
“——”, “∿∿”, Q, n, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 , $R_{5'}$, Z_1, и Z_2 определены так же, как в Формуле (I)-(IV); и “-----”, Lv_1, Lv_2, Lv_1’и Lv_2’ определены так же, как Lv_1 и Lv_2 в Формуле (V)-(VIII);

Lv_1, Lv_2, Lv_1’ и Lv_2’ представляют собой функциональную группу, которая может независимо реагировать с остаточными группами цитотоксического лекарственного средства одновременно или последовательно с образованием соединения Формулы (I), (II), (III) и (IV) соответственно;

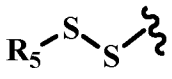
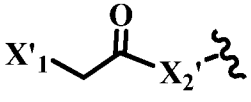
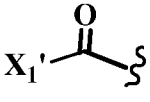
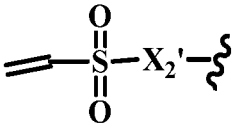
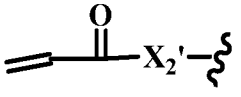
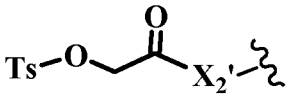
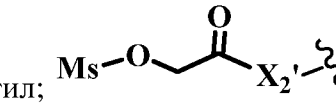
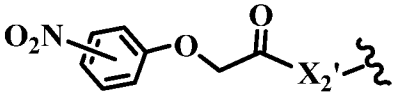
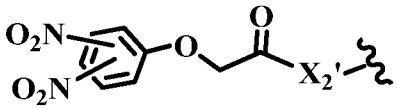
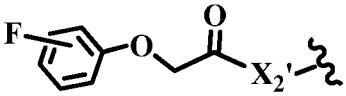
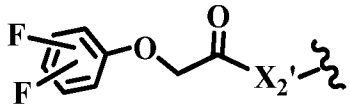
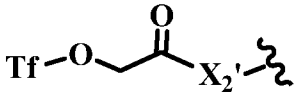
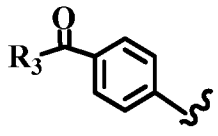
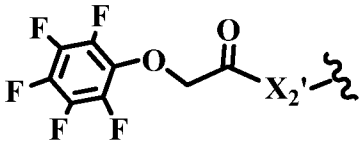
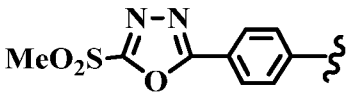
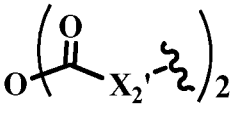
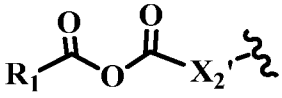
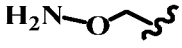
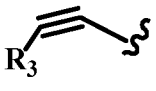
Кроме того, Lv_1, Lv_2, Lv_1’ и Lv_2’ предпочтительно независимо представляют собой дисульфидный заместитель, малеимидо, галоацетил, алкоксиамин, азидо, кетон, альдегид, гидразин, амино, гидроксил, карбоксилат, имидазол, тиол или алкин; или сложный эфир N-гидроксисукцинимида, сложный п-нитрофениловый эфир, сложный динитрофениловый эфир, сложный пентафторфениловый эфир, сложный пентахлорфениловый эфир; сложный тетрафторфениловый эфир; сложный дифторфениловый эфир; сложный монофторфениловый эфир; или сложный пентахлорфениловый эфир, сложный дихлорфениловый эфир, сложный тетрахлорфениловый эфир или сложный эфир 1-гидроксибензотриазола; трифлат, мезилат или тозилат; 2-этил-5-фенилизоксазолий-3'-сульфонат; пиридилдисульфид или нитропиридилдисульфид; малеимид, галогенацетат, ацетилендикарбоновая группа или галогенат карбоновой кислоты (фторид, хлорид, бромид или йодид). Предпочтительно X и Y имеют одну из следующих структур:



сложный эфир N-гидроксисукцинимида;

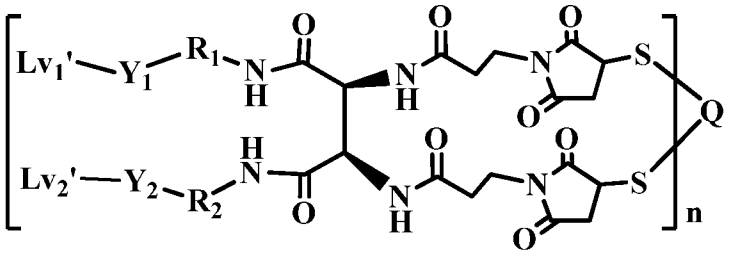


малеимид;

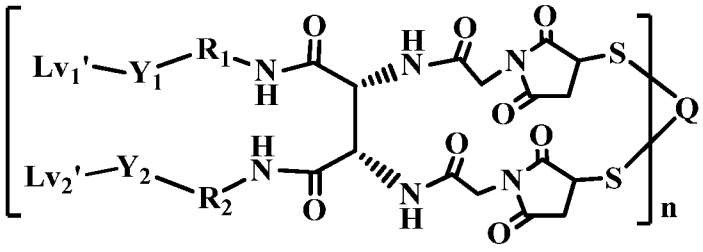
 дисульфид;  галогенацетил;  ацилгалогенид (галогенид кислоты),  этенсульфонил;  акрил (акрилоил);  2- (тозилокси)ацетил;  2- (мезилокси)ацетил;  2- (нитрофенокси)ацетил;  2-(динитрофенокси)ацетил;  2- (фторфенокси)-ацетил;  2-(дифторфенокси)-ацетил;  2-(((трифторметил)сульфонил)окси)ацетил;  кетон или альдегид,  2-(пентафторфенокси)ацетил;  , метилсульфонфенилоксадиазол (ODA);  ,  ангидрид кислоты,  алкилоксиамино; азидо,  алкинил или гидразид, где X_1' представляет 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 представляют собой H, R_1, ароматическую, гетероароматическую или ароматическую группу, в которой один или несколько атомов H независимо замещены -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-сукцинимидилоксила (NHS), феноксила; динитрофеноксила; пентафторфеноксила, тетрафторфеноксила, трифторфеноксила, дифторфеноксила, монофторфеноксила, пентахлорфеноксила, 1H-

имидазол-1-ила, хлорфеноксила, дихлорфеноксила, трихлорфеноксила, тетрахлорфеноксила, N-(бензотриазол-ил)оксила, 2-этил-5-фенилизоксазолий-ила, фенилоксадиазол-ила (ODA), оксадиазол-ила или промежуточную молекулу, полученную с помощью реагента конденсации для реакций Мицунобу, где R_1 и R2 определены выше ;

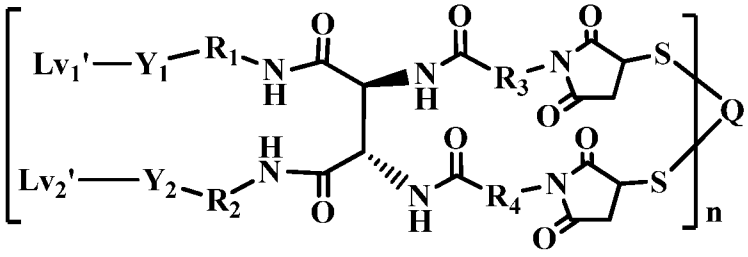
Предпочтительно бис-линкерное соединение для приготовления конъюгата дополнительно представлено Формулой (IX-01), (IX-02), (IX-03), (IX-04), (IX-05), (IX-06), (IX-07), (IX-08), (IX-09), (IX-10), (IX-11), (IX-12), (IX-13), (IX-14), (IX-15), (IX-16), (IX-17), (IX-18), (IX-19), (IX-20), (IX-21), (IX-22), (IX-23), (X-01), (X-02), (X-03), (X-04), (X-05), (X-06), (X-07), (X-08), (X-09), (X-10), (X-11), (X-12), (X-13), (X-14), (X-15), (X-16), (X-17), (X-18), (X-19), и (X-20) ниже:



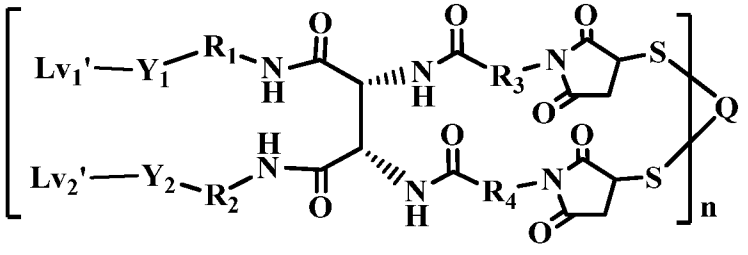
(IX-01),



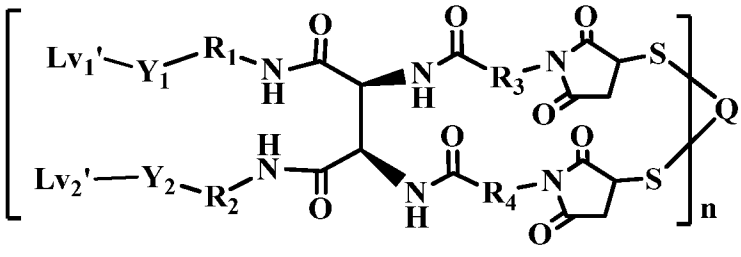
(IX-02),



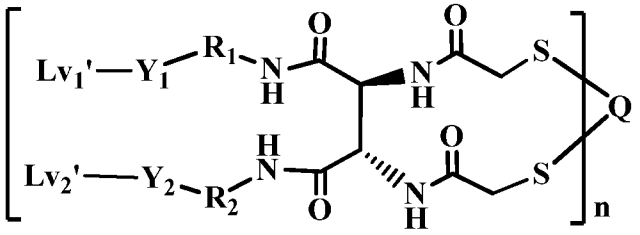
(IX-03),



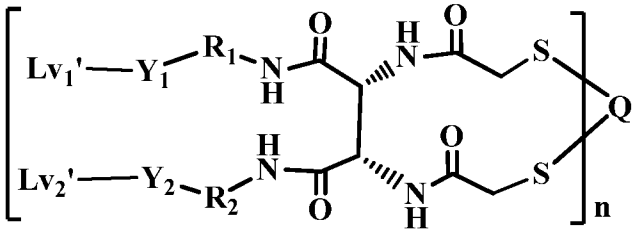
(IX-04),



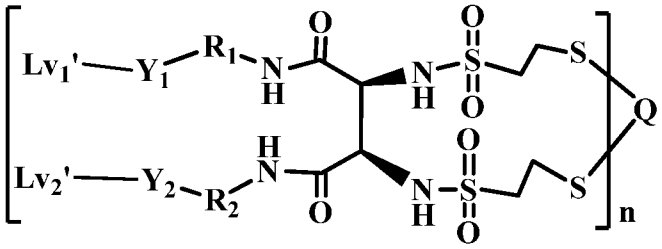
(IX-05),



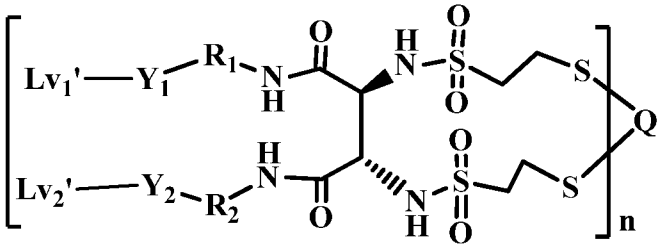
(IX-06),



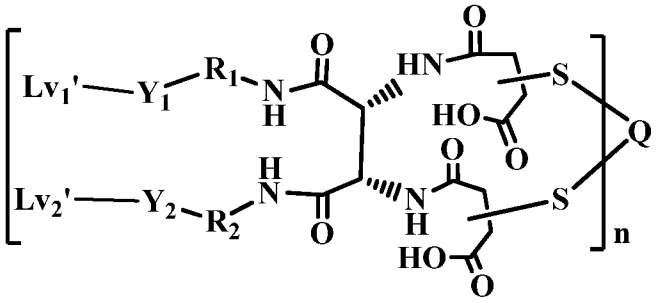
(IX-07),



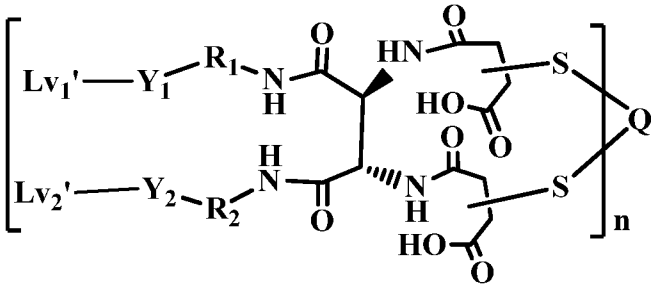
(IX-08),



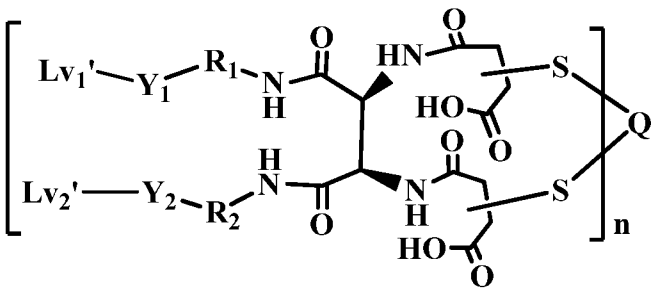
(IX-09),



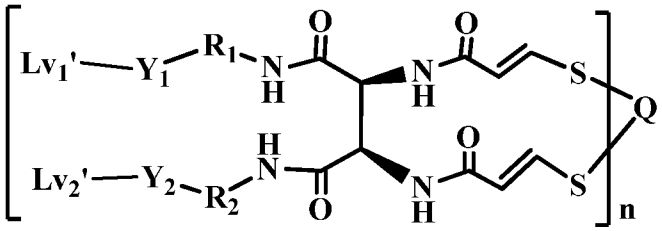
(IX-10),



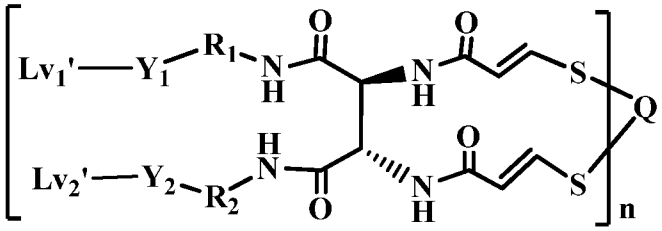
(IX-11),



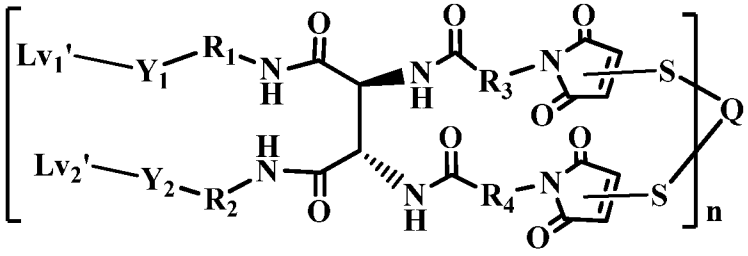
(IX-12),



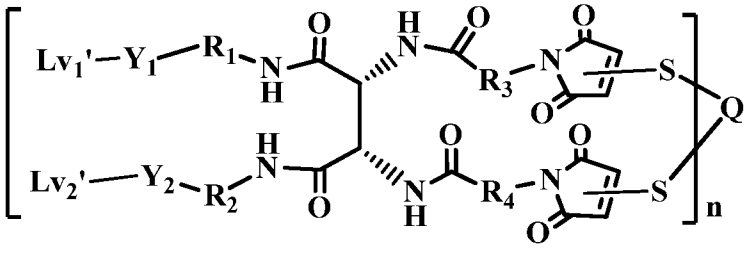
(IX-13),



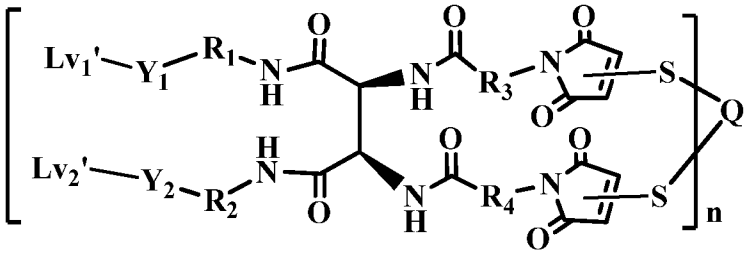
(IX-14),



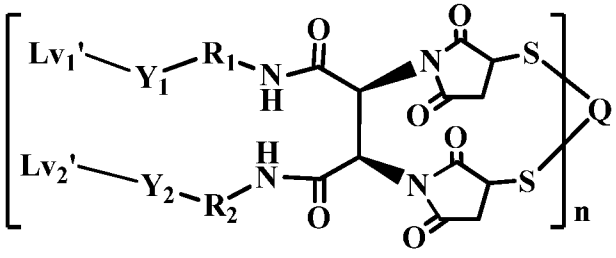
(IX-15),



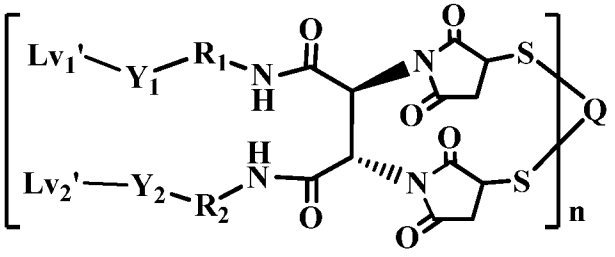
(IX-16),



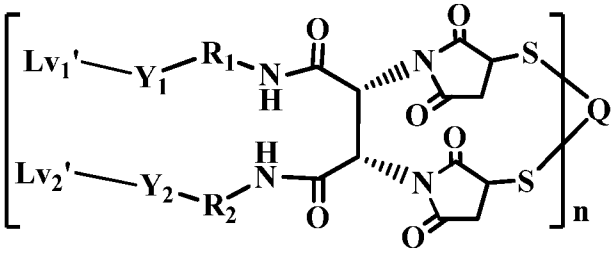
(IX-17),



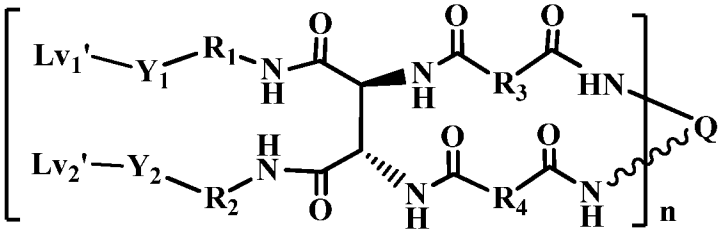
(IX-18),



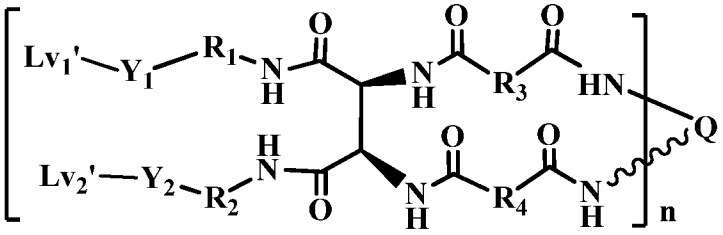
(IX-19),



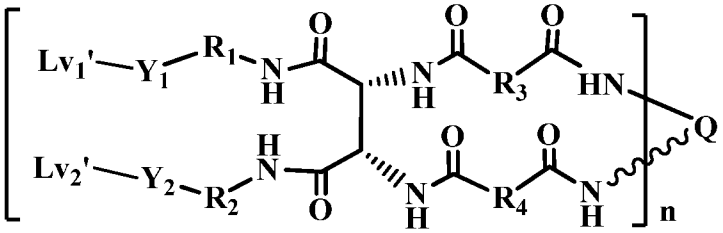
(IX-20),



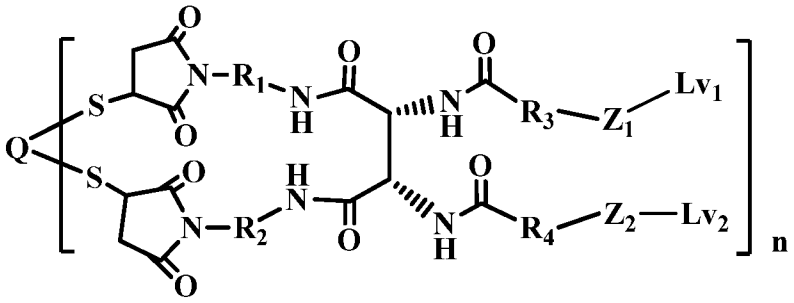
(IX-21),



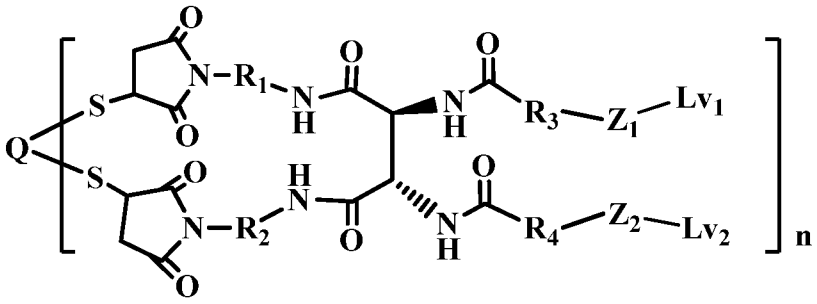
(IX-22),



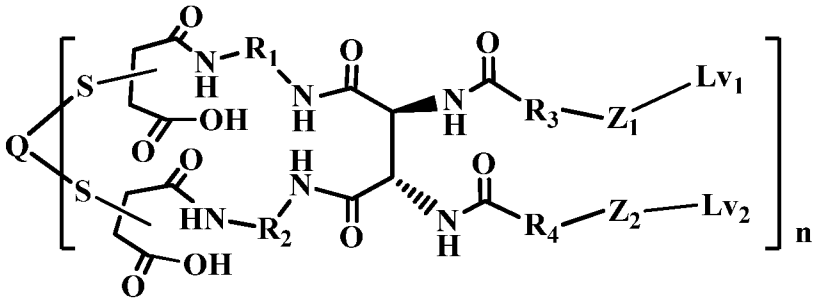
(IX-23),



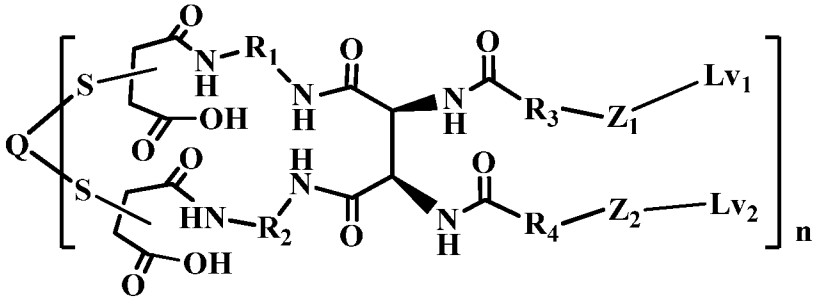
(X-01),



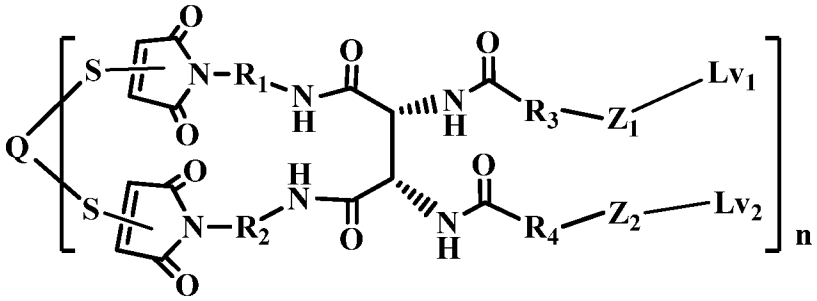
(X-02),



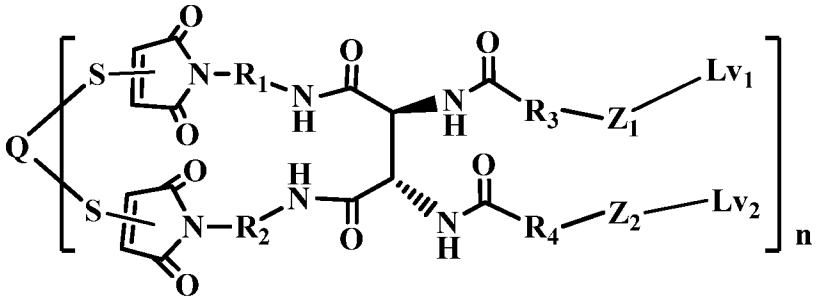
(X-03),



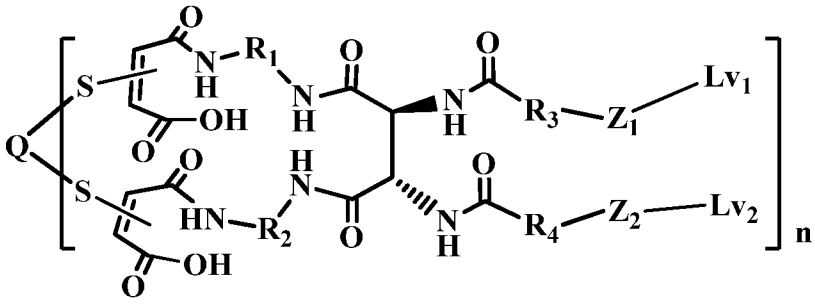
(X-04),



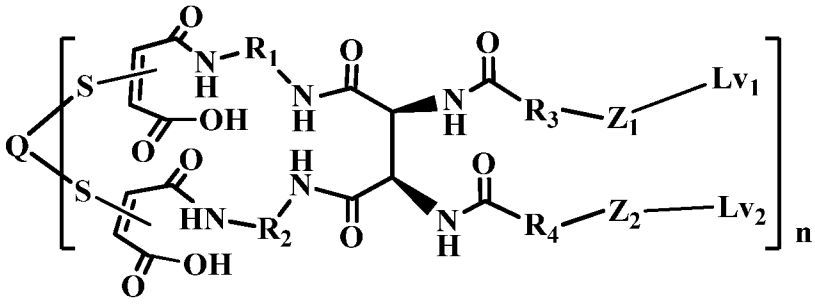
(X-05),



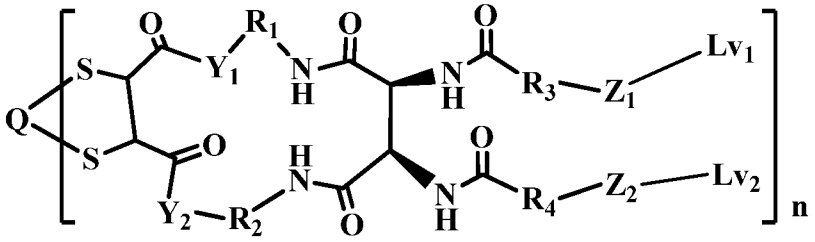
(X-06),



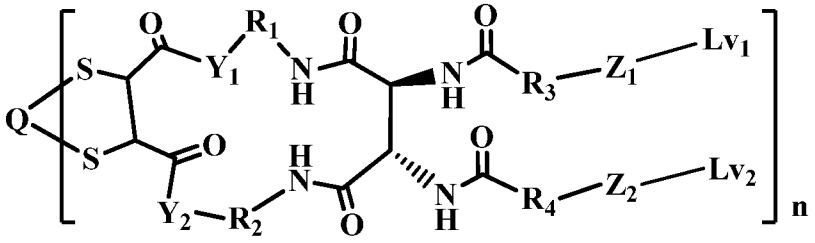
(X-07),



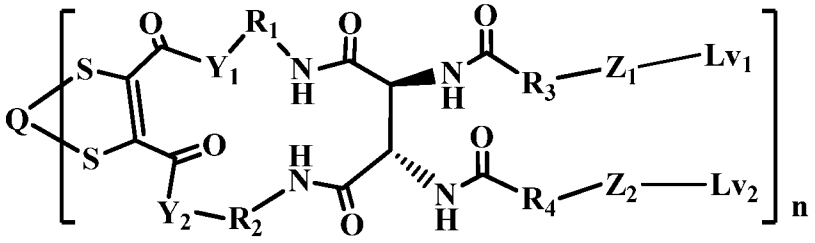
(X-08),



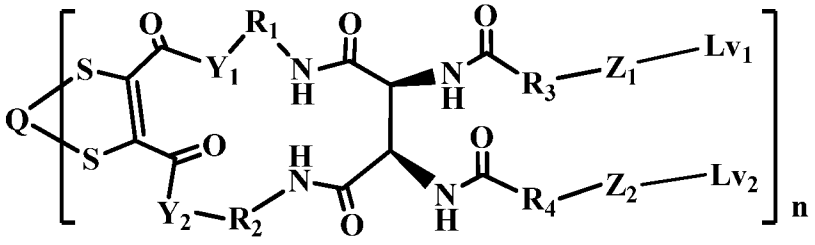
(X-09),



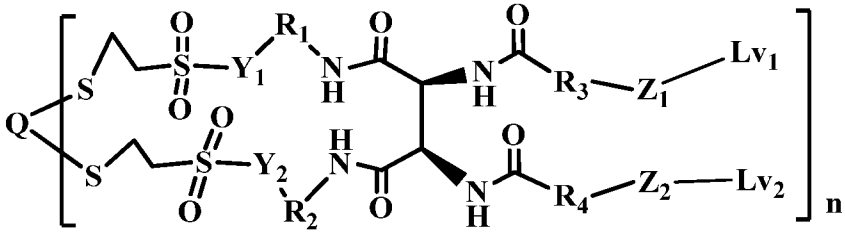
(X-10),



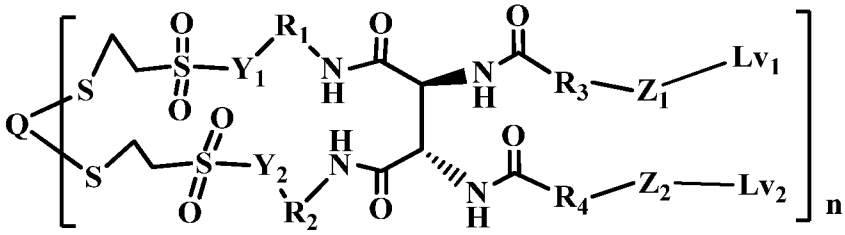
(X-11),



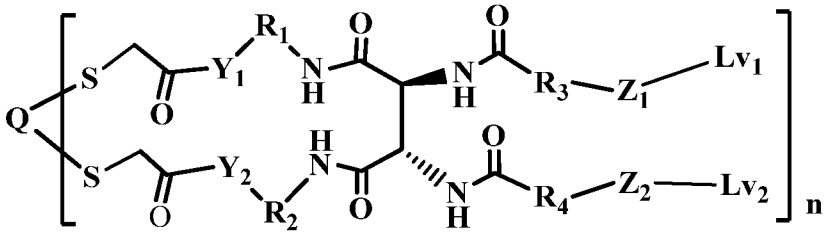
(X-12),



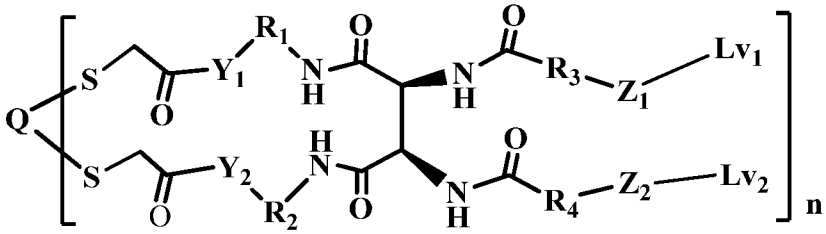
(X-13),



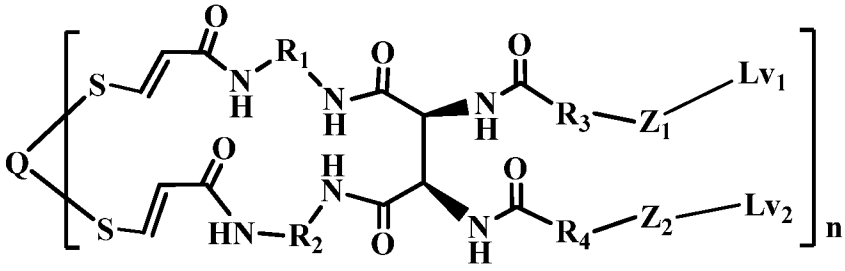
(X-14),



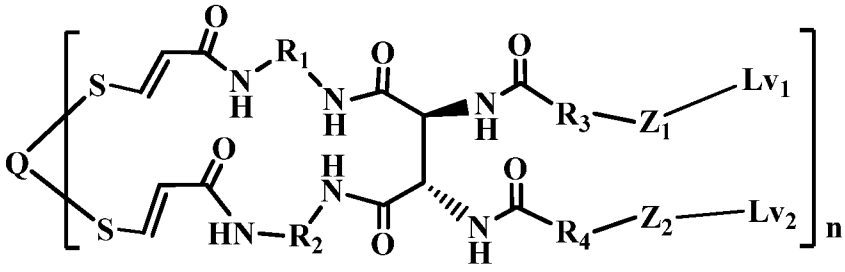
(X-15),



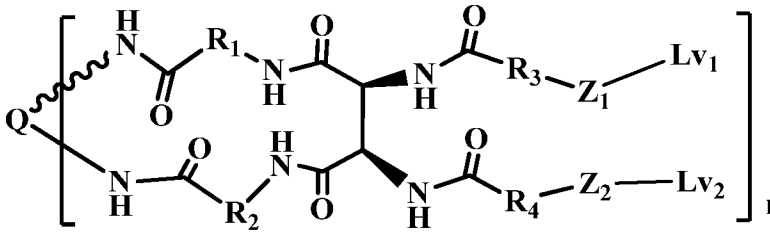
(X-16),



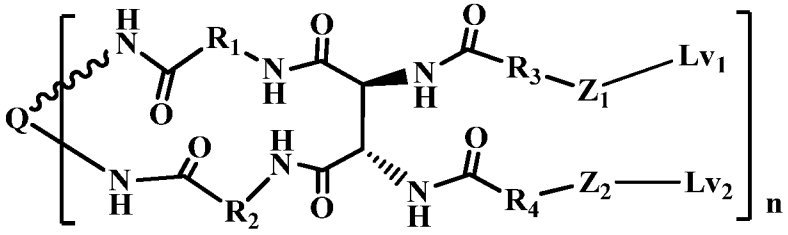
(X-17),



(X-18),



(X-19),

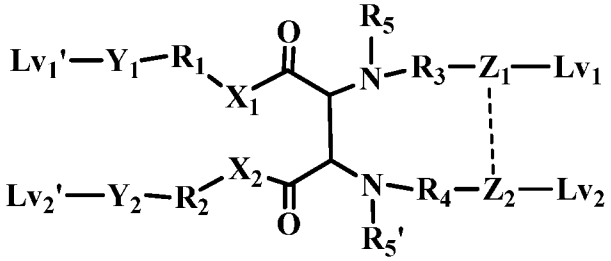


(X-20),

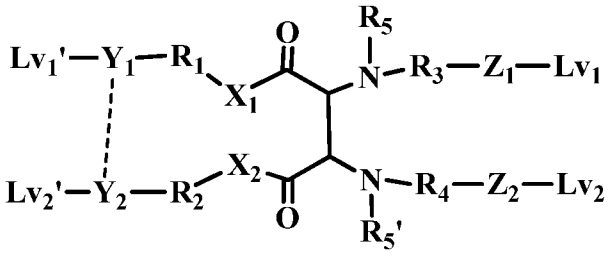
где "-----", "〰", Q, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, Lv_1, Lv_2, Lv_1', и Lv_2' определены так же, как и выше. Кроме того, одно из Лекарственное средство$_1$ и Лекарственное средство$_2$ может отсутствовать независимо, но не могут отсутствовать одновременно.

Примерами функциональных групп, Lv_1, Lv_2, Lv_1', и Lv_2' которые делают возможной реакцию с концевой аминогруппой или гидроксильной группой лекарственного средства/цитотоксического агента, могут быть, но не ограничиваясь ими, сложные эфиры N-гидроксисукцинимида, сложные *n*-нитрофениловые эфиры, сложные динитрофениловые эфиры, сложные пентафторфениловые эфиры, хлориды карбоновых кислот или ангидрид карбоновой кислоты; На конце тиола цитотоксического агента могут быть, но не ограничиваясь ими, пиридилдисульфиды, нитропиридилдисульфиды, малеимиды, галогенацетаты, метилсульфонфенилоксадиазол (ODA), хлориды карбоновых кислот и ангидрид карбоновой кислоты; На конце кетона или альдегида могут быть, но не ограничиваясь ими, амины, алкоксиамины, гидразины, ацилоксиламин или гидразид; На конце азида может быть, но не ограничиваясь этим, алкин.

В другом аспекте данное изобретение обеспечивает легко реагирующий бис-линкер Формулы (XI) и (XII), приведенные ниже, где цитотоксическая молекула и молекула, связывающаяся с клеткой, могут реагировать с ней независимо, одновременно или последовательно с образованием Формулы (I)-(IV).



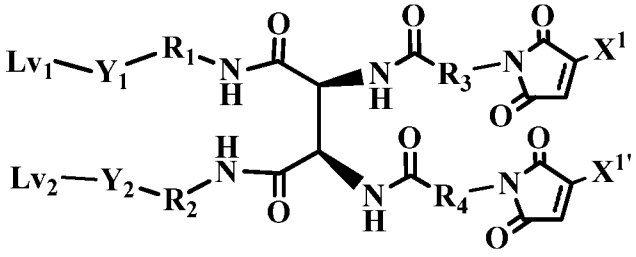
(XI),



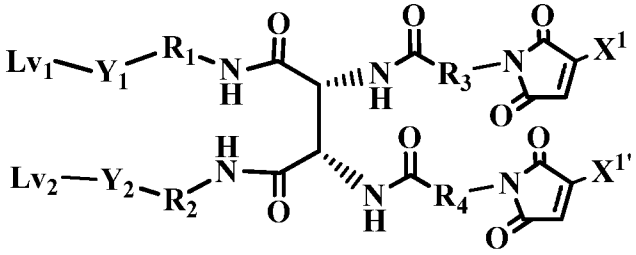
(XII),

где “——”,X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 , $R_{5'}$, Z_1, и Z_2 определены так же, как в Формуле (I)-(IV); и “-----”, Lv_1, Lv_2 определены так же, как в Формуле (V)-(VIII); Lv_1‘ и Lv_2‘ определены так же, как Lv_1 и Lv_2;

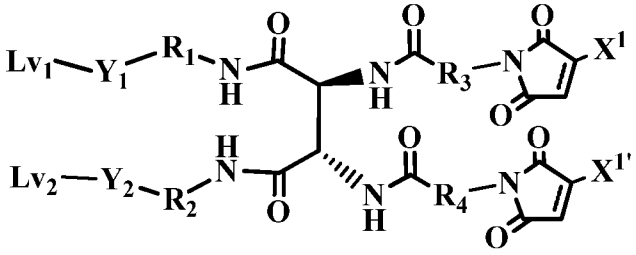
Предпочтительно бис-линкерное соединение для приготовления конъюгата дополнительно представлено формулой



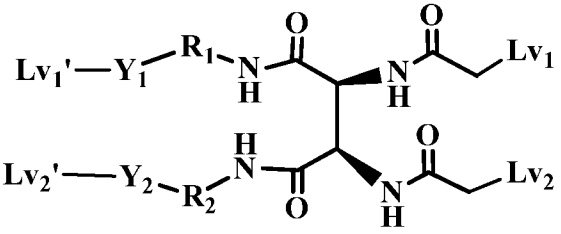
(XI-01),



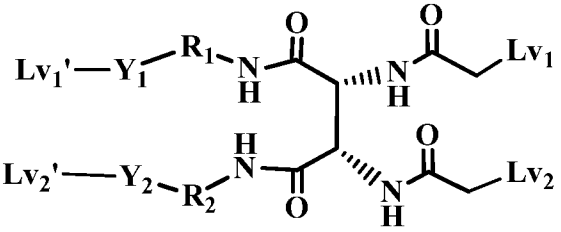
(XI-02),



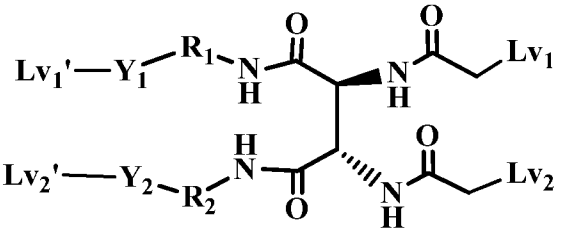
(XI-03),



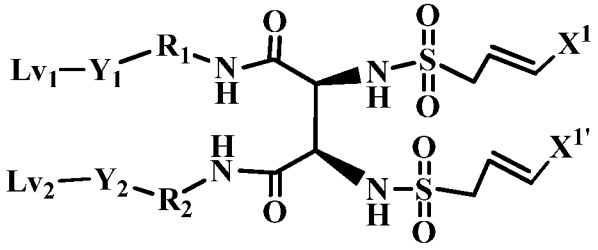
(XI-04),



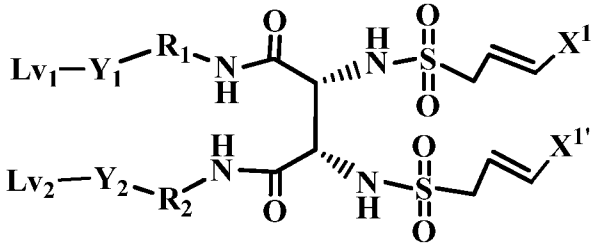
(XI-05),



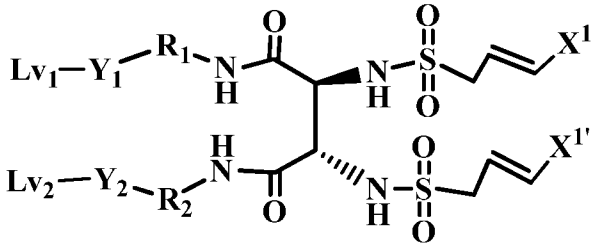
(XI-06),



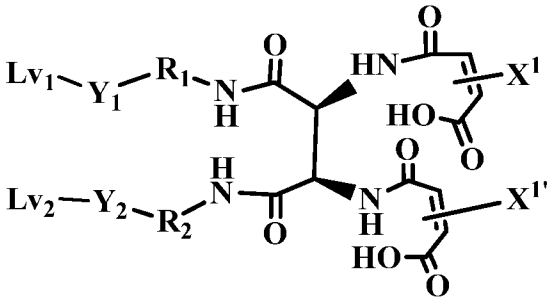
(XI-07),



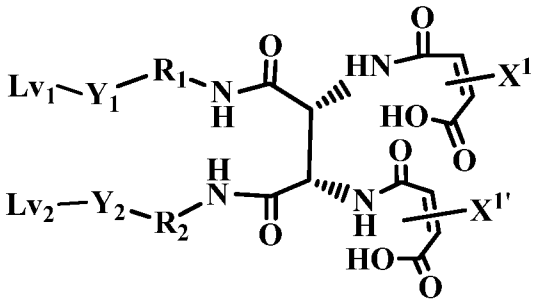
(XI-08),



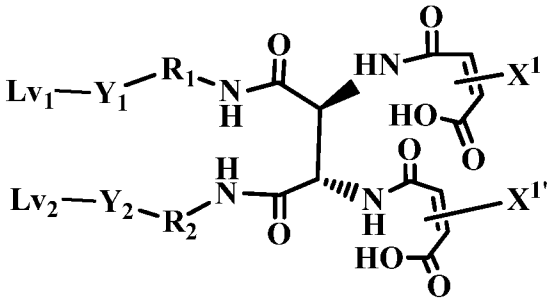
(XI-09),



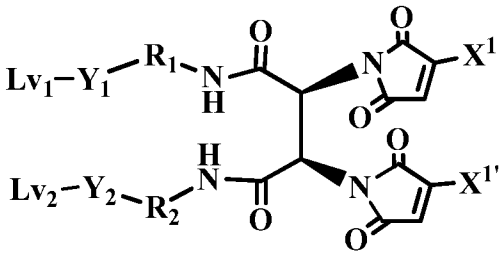
(XI-10),



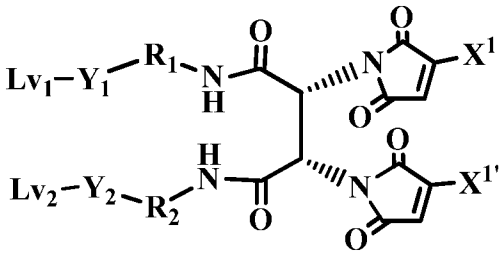
(XI-11),



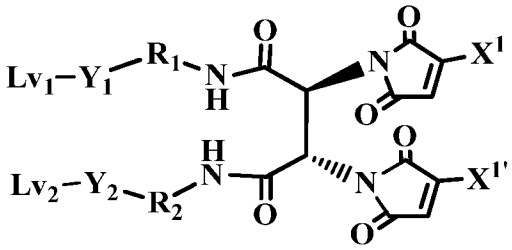
(XI-12),



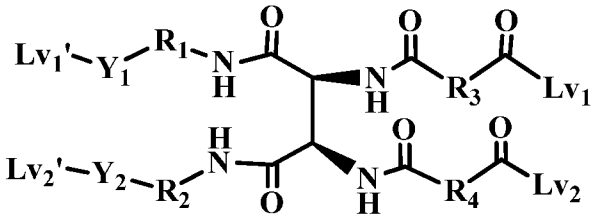
(XI-13),



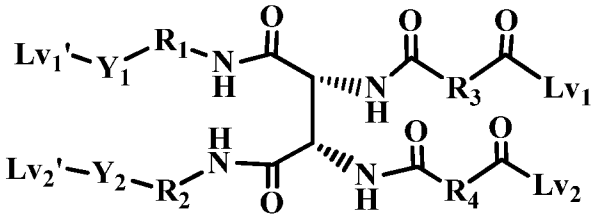
(XI-14),



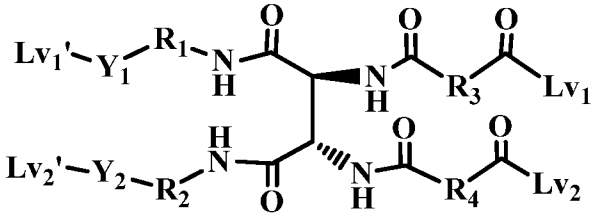
(XI-15),



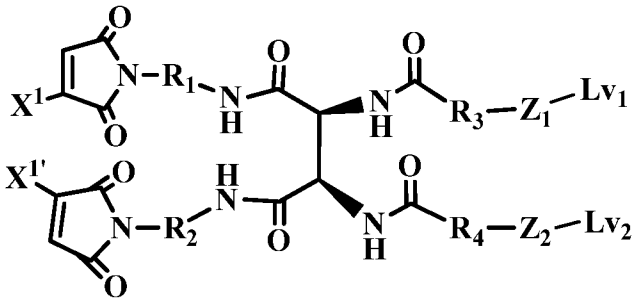
(XI-16),



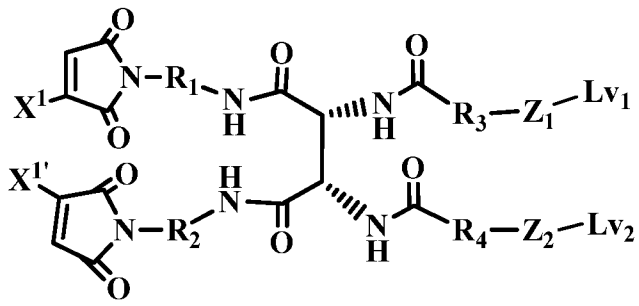
(XI-17),



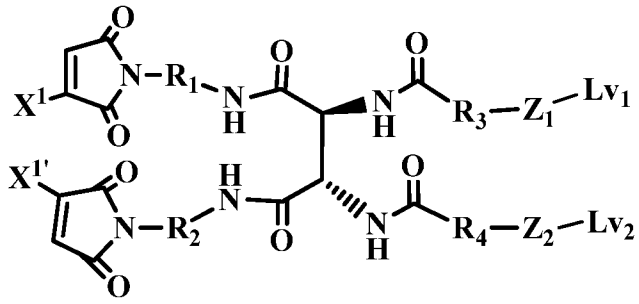
(XI-18),



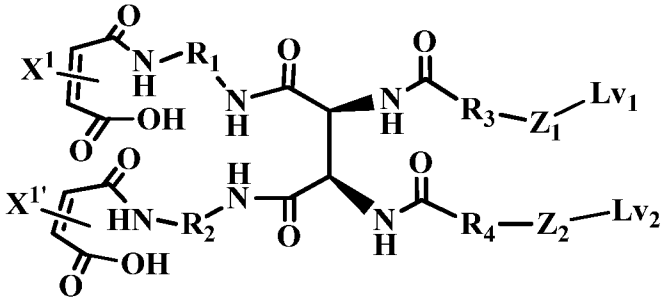
(XII-01),



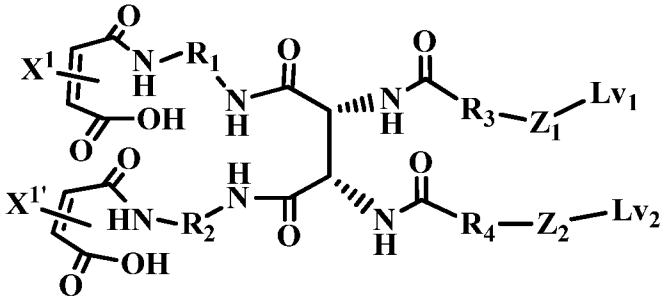
(XII-02),



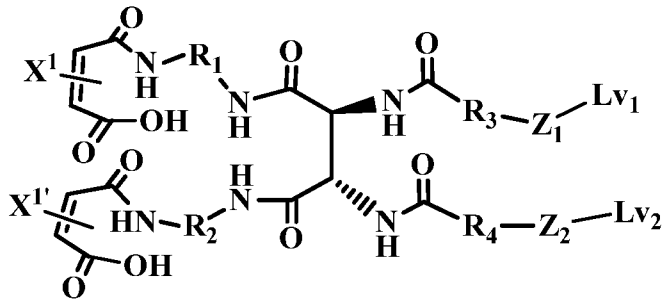
(XII-03),



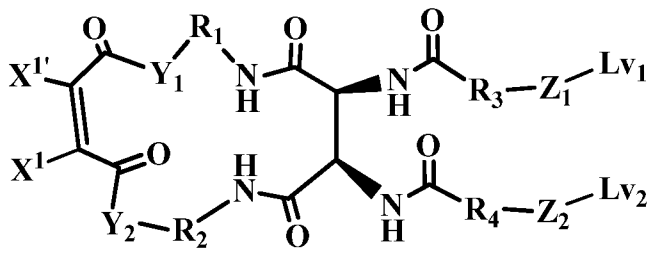
(XII-04),



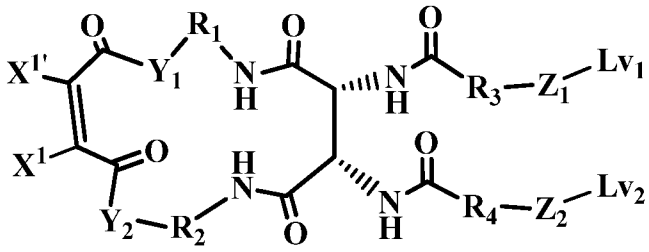
(XII-05),



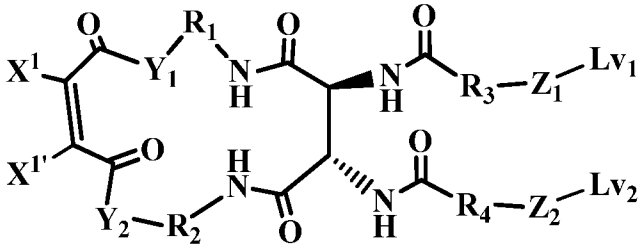
(XII-06),



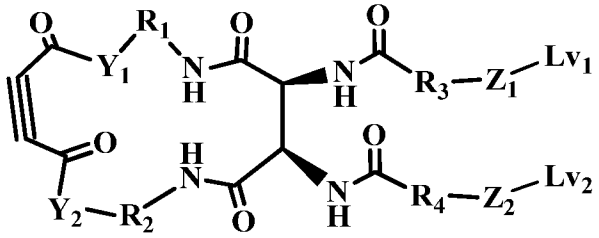
(XII-07),



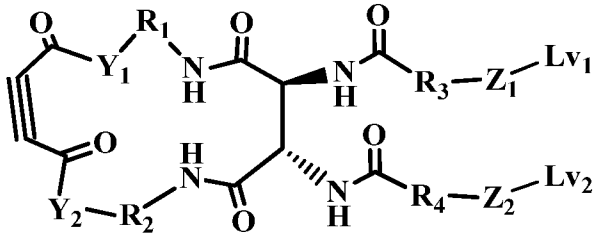
(XII-08),



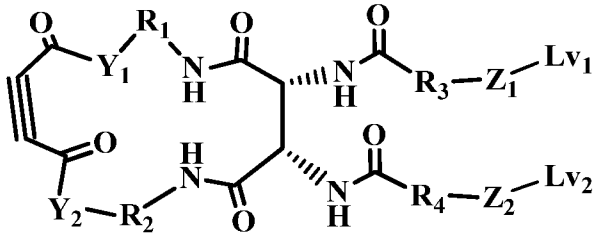
(XII-09),



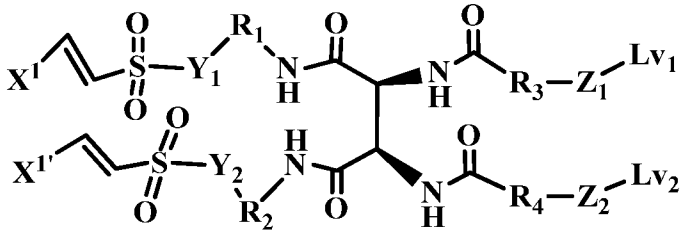
(XII-10),



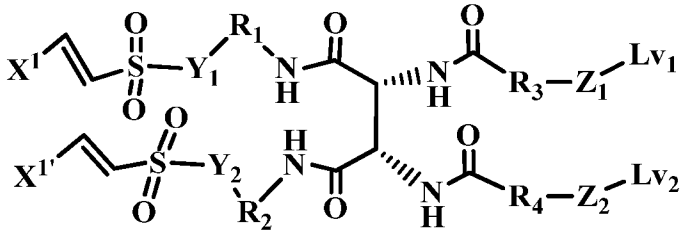
(XII-11),



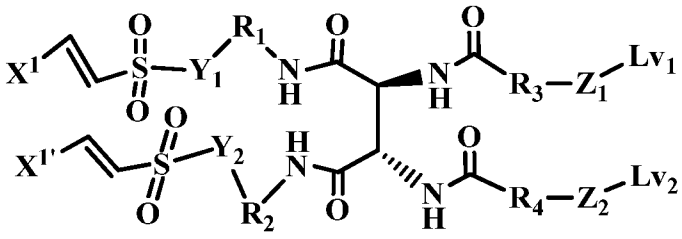
(XII-12),



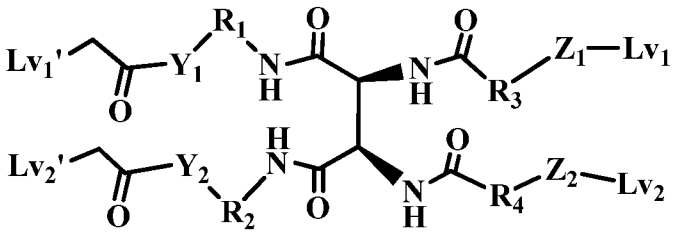
(XII-13),



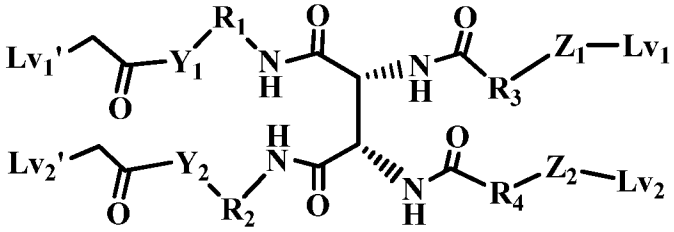
(XII-14),



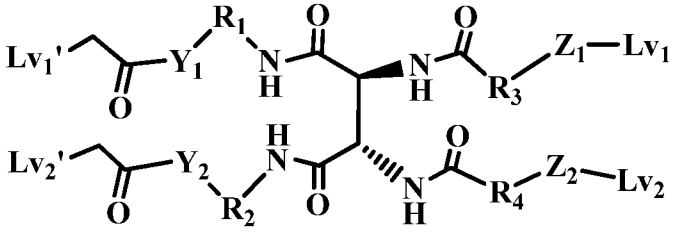
(XII-15),



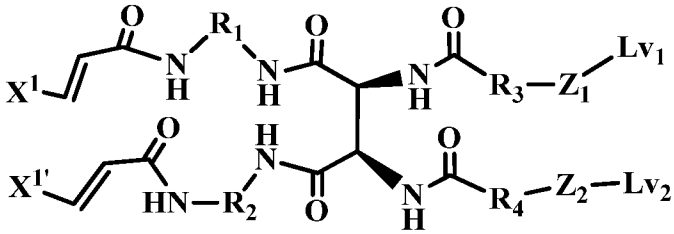
(XII-16),



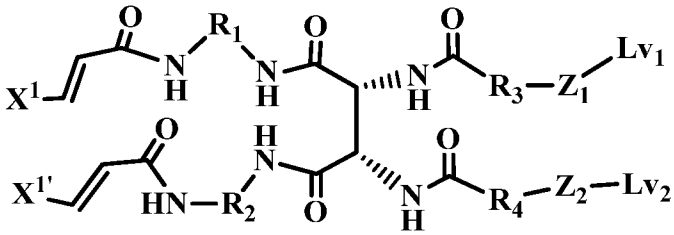
(XII-17),



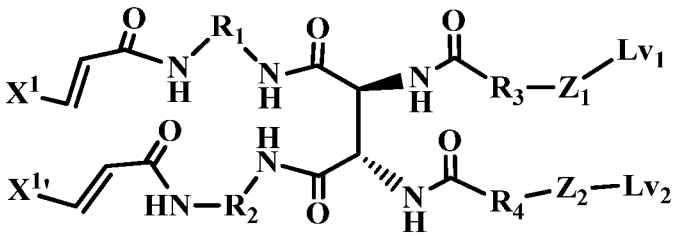
(XII-18),



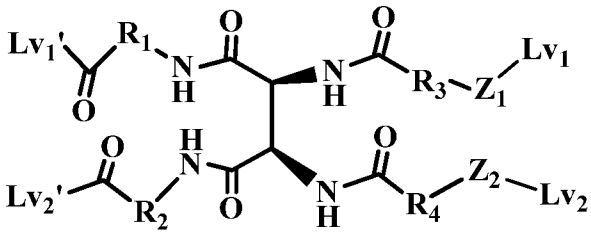
(XII-19),

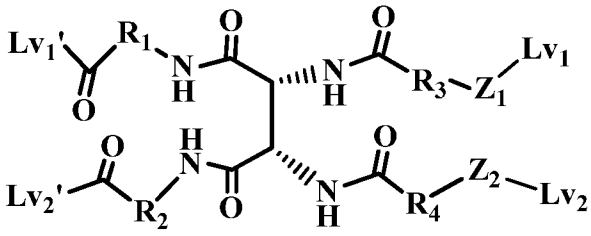


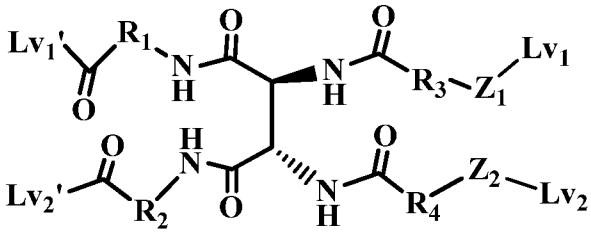
(XII-20),



(XII-21),


(XII-22),


(XII-23),


(XII-24),

где "-----", "", Q, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, $R_{5'}$, Z_1, Z_2, Lv_1, Lv_2, Lv_1', Lv_2', X^1 и $X^{1'}$ определены так же, как и выше.

Некоторые препараты Формулы (I), (II), (III) и (IV) структурно показаны на Фигурах 1-26 и в экспериментальных примерах. Чтобы синтезировать конъюгат Формулы (I), (II), (III) или (IV), как правило, две функциональные группы в лекарственном средстве или молекуле клеточной токсичности сначала последовательно или одновременно реагируют с Lv1 ', Lv2', Lv1 и Lv2 группами линкера формулы (XI) и (XII) в химическом растворителе или в водной среде, содержащей 0,1% -99,5% органических растворителей, или в 100% водной среде с образованием соединения Формулы (V), (VI), (VII) или (VIII). Затем соединение Формулы (V), (VI), (VII) или (VIII) может быть необязательно сначала выделено или может немедленно, или одновременно, или последовательно реагировать с двумя или более остатками связывающей клетку молекулы, предпочтительно с парой свободных тиолов, которые образуются за счет восстановления дисульфидных связей связывающей клетки молекулы при 0-60°C, водной среде pH 5 ~ 9 с добавлением или без добавления 0~30% смешиваемых с водой (смешивающихся) органических растворителей, таких как DMA, ДМФА, этанол, метанол, ацетон, ацетонитрил, ТГФ, изопропанол, диоксан, пропиленгликоль или этилендиол с образованием конъюгированного соединения Формулы (I), (II), (III) или (IV).

Альтернативным путем, конъюгаты Формулы (I), (II), (III) или (IV) также могут быть получены посредством первой реакции линкеров формулы (XI) или (XII) с двумя или более остатками клеточно-связывающей молекулы, предпочтительно парой свободных

тиолов, образованных восстановлением дисульфидных связей клеточно-связывающей молекулы при 0-60°C, pH 5~9 водная среда с добавлением или без добавления 0~30% смешиваемых с водой (смешивающихся) органических растворителей с образованием модифицированной связывающейся с клеткой молекулы Формулы (IX) или (X). Пары тиолов являются предпочтительными парами дисульфидных связей, восстановленных из дисульфидных связей внутренней цепи молекулы, связывающейся с клеткой, посредством восстанавливающего агента, который может быть выбран из дитиотреитола (ДТТ), дитиоэритритола (DTE), L-глютатиона (GSH), трис(2-карбоксиэтил)фосфина (TCEP), 2-меркаптоэтиламина (β-MEA), или/и бета меркаптоэтанола (β-ME, 2-ME) при pH 4~9 в водной среде с добавлением или без добавления 0~30% смешиваемых с водой (смешивающихся) органических растворителей. Реакционноспособные группы $Lv_{1'}$, $Lv_{2'}$, Lv_1 и Lv_2 в Формуле (XI) и (XII), которые могут быть независимо дисульфидом, тиолом, тиоэфиром, малеимидо, галогенацетилом, азидом, 1-ином, кетоном, альдегидом, алкоксиамино, трифлатом карбонилимидазолом, тозилатом, мезилатом, 2-этил-5-фенилизоксазолий-3'-сульфонатом или сложными эфирами карбоновой кислоты нитрофенола, N-гидроксисукцинимида (NHS), фенола; динитрофенола, пентафторфенола, тетрафторфенола, дифторфенола, монофторфенола, пентахлорфенола, дихлорфенола, тетрахлорфенола, 1-гидроксибензотриазола, ангидридами или гидразидными группами, или другими производными сложного эфира кислоты, затем могут реагировать с одной или двумя группами лекарственного средства/цитотоксического агента одновременно или последовательно при 0-60°C, в водной среде pH 4~9,5 с добавлением или без добавления 0~30% смешиваемых с водой (смешивающихся) органических растворителей, с получением конъюгата Формулы (I), (II), (III) или (IV) после очистки на колонке или диализа. Реакционноспособные группы лекарственного средства/цитотоксического агента реагируют на модифицированную связывающую клетку молекулу Формулы (IX) или (X) различным образом, соответственно. Например, связь, содержащая дисульфидные связи, в конъюгатах клеточно-связывающий агент-лекарственное средство Формулы (I), (II), (III) или (IV) достигается за счет дисульфидного обмена между дисульфидной связью в модифицированном связывающем клетку агенте Формулы (IX) или (X) и лекарственном средстве, имеющем свободную тиольную группу; Связь, содержащая тиоэфирные связи в конъюгатах клеточно-связывающий агент-лекарственное средство Формулы (I), (II), (III) или (IV), достигается реакцией малеимидо- или галогенацетильного или этилсульфонильного модифицированного связывающего клетки агента Формулы (IX) или (X) и лекарственного средства, имеющего свободную тиольную группу; Связь, содержащая связь кислотоустойчивого гидразона в конъюгатах, может быть достигнута

реакцией карбонильной группы лекарственного средства или соединения Формулы (IX) или (X) с гидразидным фрагментом в соединении Формулы (IX) или (X) или лекарственного средства соответственно, способами, известными в данной области (см., например, P. Hamann et al., Cancer Res. 53, 3336-34, 1993; B. Laguzza et al., J. Med. Chem., 32; 548-55, 1959; P. Trail et al., Cancer Res., 57; 100-5, 1997); связь, содержащая связь триазола в конъюгатах, может быть получена взаимодействием 1-иновой группы лекарственного средства или соединения Формулы (IX) или (X) с азидным фрагментом другого аналога, соответственно, посредством клик химии (циклоприсоединение по Хьюсгену) (Lutz, J-F. et al, 2008, Adv. Drug Del. Rev.60, 958–70; Sletten, E. M. et al 2011, AccChem. Research 44, 666–76). Связь, содержащая связь оксима в конъюгатах «агент, связывающийся с клеткой-лекарственное средство», связанных через оксим, получается взаимодействием кето- или альдегидогруппы в модифицированном агенте, связывающимся с клеткой, Формулы (IX) или (X) или лекарственном средстве с оксиамин группой в лекарственном средстве или модифицированном агенте, связывающимся с клеткой Формулы (IX) или (X) соответственно. Тиолсодержащее лекарственное средство может реагировать с модифицированным линкером связывающей клетку молекулы Формулы (IX) или (X), несущей малеимидо, или галогенацетил, или этилсульфонильный заместитель при pH 5,5 ~ 9,0 в водном буфере с образованием тиоэфирной связи в конъюгате клеточно-связывающая молекула-лекарственное средство Формулы (I), (II), (III) или (IV). Тиолсодержащее лекарственное средство может подвергаться дисульфидному обмену с модифицированным линкером Формулы (IX) или (X), содержащим пиридилдитио-фрагмент, с образованием конъюгата, содержащим дисульфидную связь. Лекарственное средство, содержащее гидроксильную группу или тиоловую группу, может взаимодействовать с модифицированным мостиковым линкером Формулы (IX) или (X), содержащим галоген, в частности альфа-галогенкарбоксилатом, в присутствии мягкого основания, например, pH 8,0-9,5, с получением модифицированного лекарственного средства, содержащего простоэфирную или простую тиоэфирную связь. Гидроксильную группу в лекарственном средстве можно конденсировать со сшивающим линкером Формулы (XI) или (XII), несущим карбоксильную группу, в присутствии дегидратирующего агента, такого как EDC или DCC, для получения сложноэфирной связи, и затем целевой модифицированный лекарственным средством мостиковый линкер Формулы (IX) или (X) подвергается конъюгированию с молекулой, связывающейся с клеткой. Лекарственное средство, содержащее аминогруппу, может конденсироваться с группой карбоксилового сложного эфира NHS, имидазола, нитрофенола; N-гидроксисукцинимида (NHS); фенола; динитрофенола; пентафторфенола;

тетрафторфенола; дифторфенола; монофторфенола; пентахлорфенола; трифлата; имидазола; дихлорфенола; тетрахлорфенола; 1-гидроксибензотриазола; тозилата; мезилата; 2-этил-5-фенилизоксазолий-3'-сульфоната молекулы, связывающейся с клеткой-линкера Формулы (IX) или (X) с образованием конъюгата через амидную связь.

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.

Для достижения более высокого выхода реакции конъюгации комплекса цитотоксическая молекула-бис-линкер Формулы (V), (VI), (VII) или (VIII) с парой свободных тиолов на молекуле, связывающейся с клеткой, предпочтительно на антителе может потребоваться небольшой процент смешивающихся с водой органических растворителей или агентов фазового переноса для добавления к реакционной смеси. Для сшивания реагент (линкер) Формулы (V), (VI), (VII) или (VIII) может быть сначала растворен в полярном органическом растворителе, который смешивается с водой, например, в различных спиртах, таких как метанол. , этанол и пропанол, ацетон, ацетонитрил, тетрагидрофуран (THF), 1,4-диоксан, диметилформамид (DMF), диметилацетамид (DMA) или диметилсульфоксид (DMSO) в высокой концентрации, например 1-500 мМ. В то же время, молекулу, связывающуюся с клеткой, такую как антитело, растворенную в водном буфере с pH 4-9,5, предпочтительно pH 6-8,5, при концентрации 1-50 мг/мл обрабатывают 0,5-20 эквивалентами TCEP или ДТТ в течение 20 минут до 48 часов. После восстановления ДТТ можно удалить хроматографической очисткой SEC. TCEP может быть необязательно удален с помощью SEC-хроматографии или ионообменной хроматографии, или может оставаться в реакционной смеси для следующей стадии реакции без дополнительной очистки. Кроме того, восстановление антител или других клеточно-связывающих агентов с помощью TCEP может быть выполнено вместе с существующей молекулой лекарственного средства-линкера Формулы (V), (VI), (VII) или (VIII), для которых перекрестное сшивание и конъюгация связывающихся с клеткой молекул может быть достигнута одновременно с уменьшением TCEP.

Водные растворы для модификации молекулы, 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, триэтаноламин 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 лекарственного средства-линкера Формулы (V), (VI), (VII) или (VIII) в раствор, содержащий восстановленные связывающие клетки молекулы, реакционную смесь инкубируют при температуре от 4 °C до 45 °C, желательно при 15 °C - температуре окружающей среды. За ходом реакции можно следить, измеряя уменьшение поглощения на определенной длине волны УФ-излучения, например, при 254 нм, или увеличение поглощения на определенной длине волны УФ-излучения, например, 280 нм, или другой подходящей длине волны. После завершения реакции выделение модифицированного клеточно-связывающего агента можно проводить обычным способом, используя, например, гель-фильтрационную хроматографию, ионообменную хроматографию, адсорбционную хроматографию или колоночную хроматографию на силикагеле или оксиде алюминия, кристаллизацию, препаративную тонкослойную хроматографию, ионообменную (катион или анион) 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 масс-спектрометрии СВЭЖХ-QTOF (QTOF - Micromass Quadrupole Time-of-Flight - времяпролётный квадрупольный микромасс-спектрометр) или капиллярного электрофореза - масс-спектрометрии (КЭ-МС). Мостиковые перекрестные линкеры, описанные в данном документе, имеют разнообразные функциональные группы, которые могут реагировать с любыми лекарственными средствами, предпочтительно цитотоксическими агентами, которые обладают подходящим заместителем. Например, модифицированные молекулы, связывающиеся с клеткой, несущие амино- или гидроксильный заместитель, могут приводится в контакт с лекарственными средствами, содержащими сложный эфир N-гидроксисукцинимида (NHS), модифицированные молекулы, связывающиеся с клеткой, несущие тиольный заместитель, могут приводится в контакт с лекарственными средствами, содержащими малеимидную или галогенацетильную группу. Кроме того,

модифицированные молекулы, связывающиеся с клеткой, содержащие карбонильный (кетоновый или альдегидный) заместитель, могут реагировать с лекарственными средствами, содержащими гидразид или алкоксиамин. Специалист в данной области техники может легко определить, какой линкер использовать, основываясь на известной реакционной способности доступной функциональной группы линкера.

АГЕНТЫ, СВЯЗЫВАЮЩИЕСЯ С КЛЕТКОЙ

Молекула, связывающаяся с клеткой, Cb или Q, которая содержит конъюгаты и модифицированные агенты, связывающиеся с клеткой, по настоящему изобретению, может быть любого типа, известного в настоящее время, или который станет известным, молекула, которая связывается, образует комплексы или реагирует с некоторой частью популяция клеток, которую требуется терапевтически или иным образом биологически модифицировать.

Агенты, связывающиеся с клеткой, включают в себя, но не ограничиваются ими, белки с большой молекулярной массой, такие как, например, антитело, антитело-подобный белок, полноразмерные антитела (поликлональные антитела, моноклональные антитела, димеры, мультимеры, мультиспецифичные антитела (например, биспецифичные антитела, триспецифичные антитела или тетраспецифичные антитела); одноцепочечные антитела; фрагменты антител, такие как Fab, Fab', $F(ab')_2$, F_v, [Parham, J. Immunol. 131, 2895-902 (1983)], фрагменты, полученные из библиотеки экспрессии Fab, антиидиотипические (анти-Id) антитела, CDR, диатело, триатело, тетратело, миниантитело, проантитело, фрагмент проантитела, малые иммунные белки (SIP - small immune proteins) и эпитоп-связывающие фрагменты любого из вышеперечисленного, которые иммуно-специфически связываются с антигенами раковых клеток, вирусными антигенами, микробными антигенами или белком, генерируемым иммунной системой, который способен распознавать, связываться с конкретным антигеном или проявлять желаемую биологическую активность (Miller et al (2003) J. of Immunology 170: 4854-61); интерфероны (например, I, II, III типа); пептиды; лимфокины, такие как IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13 , IL-14, IL-5, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, GM-CSF, интерферон-гамма (IFN-γ); гормоны, такие как инсулин, TRH (тиреотропин-рилизинг-гормоны), MSH (меланоцит-стимулирующий гормон), стероидные гормоны, такие как андрогены и эстрогены, меланоцит-стимулирующий гормон (MSH); факторы роста и колониестимулирующие факторы, такие как эпидермальные факторы роста (EGF), гранулоцитарно-макрофагальный 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, 155-8 (1984)]; факторы роста коровьей оспы (VGF); факторы роста фибробластов (FGFs); белки с меньшей молекулярной массой, полипептиды, пептиды и пептидные гормоны, такие как бомбезин, гастрин, пептид, высвобождающий гастрин; факторы роста тромбоцитов; интерлейкин и цитокины, такие как интерлейкин-2 (IL-2), интерлейкин-6 (IL-6), факторы ингибирования лейкемии, фактор, стимулирующий колонии гранулоцитов-макрофагов (GM-CSF); витамины, такие как фолат; апопротеины и гликопротеины, такие как трансферрин [O'Keefe et al, 260 J. Biol. Chem. 932-7 (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); биоактивные 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, 2, 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).

Обычно, моноклональное антитело является предпочтительным в качестве агента связывающегося с поверхностным клеточным рецептором, если подходящее моноклональное антитело доступно. И антитело может быть мышиным, человеческим, гуманизированным, химерным или полученным из других видов.

Производство антител, используемых в настоящем изобретении, включает процедуры in vivo или in vitro, или их комбинации. Способы получения поликлональных антирецепторных пептидных антител хорошо известны в данной области техники, например, в патенте США № 4493795 (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: 495-7). Подробные процедуры описаны в «Antibodies--A Laboratory Manual», Harlow and Lane, eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (1988), которая включена в настоящий документ посредством 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, чтобы гибридома секретировала 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 эксклюзионная хроматография (в частности, по сродству к специфическому антигену после белка А и хроматографии на колонке, разделяющей молекулы по размеру); 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., Virol. 8, 396 (1959)) с добавлением 4,5 г/л глюкозы, 0-20 мМ глютамина, 0-20% фетальной сыворотки теленка, нескольких м.ч. тяжелых металлов, таких как Cu, Mn, Fe или Zn, и т. д., или/и других тяжелых металлов, добавленных в форме их солей и с антипенообразователем, таким как блок-сополимер полиоксиэтилена-полиоксипропилена.

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-Барра (EBV, также называемый герпесвирусом человека 4 (HHV-4)) или герпесвирус, связанный с саркомой Капоши (KSHV). См., патенты США № 4341761; 4399121; 4427783; 4444887; 4451570; 4466917; 4472500; 4491632; 4493890. Моноклональное антитело также может быть получено через антирецепторный пептид или пептиды, содержащие карбоксильный конец, что хорошо известно в данной области техники. См., Niman et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80: 4949-53 (1983); Geysen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 178-82 (1985); Lei et al. Biochemistry 34(20): 6675-88, (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: 264-8 (1991); Huse et al., Science 246: 1275-81 (1989).

Моноклональные антитела, полученные методом гибридомы от другого вида, кроме человека, такого как мышь, могут быть гуманизированы, чтобы избежать выработки анти-мышиных человеческих антител 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 № 5859205 и 6797492; Liu et al., Immunol Rev. 222: 9-27 (2008); Almagro et al, Front Biosci. 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 посредством 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/Amgen), HuMAb-Mouse (Medarex/BMS), VelociMouse (Regeneron), см. также патенты США № 6596541, 6207418, 6150584, 6111166, 6075181, 5922545, 5661016, 5545806, 5436149 и 5569825. 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 посредством 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.

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 той же методики, что используются для антител в фаговогом дисплее (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, но не ограничиваясь ими, альбумин, полимер, липосома, наночастица, дендример, при условии, что такое присоединение позволяет пептиду или белку сохранить его антигенсвязывающую специфичность.

Примеры антител, используемых для конъюгации лекарственных средств через линкеры этой профилактики для лечения рака, аутоиммунного заболевания и/или инфекционного заболевания, включают, но не ограничиваются ими, 3F8 (анти-GD2), абаговомаб (анти-CA-125), абциксимаб. (анти-CD41 (интегрин альфа-IIb), адалимумаб (анти-TNF-α), адекатумумаб (анти-EpCAM, CD326), афелимомаб (анти-TNF-α); афутузумаб (анти-CD20), алацизумаб пегол (анти-VEGFR2)), ALD518 (анти-IL-6), алемтузумаб (Campath, MabCampath, анти-CD52), алтумомаб (анти-CEA), анатумомаб (анти-TAG-72), анрукинзумаб (IMA-638, анти-IL-13), аполизумаб (анти-HLA-DR), аркитумомаб (анти-CEA), азелизумаб (анти-L-селектин (CD62L), атлизумаб (тоцилизумаб, Актемра, RoActemra, анти-IL-6 рецептор), аторолимумаб (анти-Резус фактор), бапинеузумаб (анти бета-амилоид), базиликсимаб (Simulect, анти-CD25 (α-цепь IL-2

рецептор), бавитуксимаб (антифосфатидилсерин), бектумомаб (LymphoScan, анти-CD22), белимумаб (Benlysta, LymphoStat-B, анти-BAFF), бенрализумаб (анти-CD125), бертилимумаб (анти-CCL11 (эотаксин-1)), бесилесомаб (Scintimun, анти-CEA-связанный антиген), бевацизумаб (Авастин, анти-VEGF-A), бициромаб (FibriScint, бета-цепь анти-фибрина II), биватузумаб (анти-CD44 v6), блинатумомаб (BiTE, анти-CD19), брентуксимаб (cAC10, анти-CD30 TNFRSF8), бриакинумаб (анти-IL-12, IL-23), канакинумаб (Ilaris,, анти-IL-1), кантузумаб (C242, анти-CanAg), капромаб, катумаксомаб (ремоваб, анти-EpCAM, анти-CD3), CC49 (анти-TAG-72), целизумаб (анти-CD4), цертолизумаб пегол (Cimzia anti-TNF-α), цетуксимаб (эрбитукс, IMC-C225, анти-EGFR), цитатузумаб богатокс (анти-EpCAM), циксутумумаб (анти-IGF-1), кленоликсимаб (анти-CD4), кливатузумаб (анти-MUC1), конатумумаб (анти-TRAIL-R2), CR6261 (против гриппа A гемагглютинин), дацетузумаб (анти-CD40), даклизумаб (Zenapax, анти-CD25 (α-цепь рецептора IL-2)), даратумумаб (анти-CD38 (циклическая гидролаза АДФ-рибозы), деносумаб (Prolia, анти-RANKL), детумомаб (против B-клеточной лимфомы), дорлимомаб, дорликсизумаб, экромексимаб (анти-GD3 ганглиозид), экулизумаб (Soliris, анти-C5), эдобакомаб (антиэндотоксин), эдреколомаб (Panorex, MAb17-1A, анти-EpCAM), эфализумаб (Raptiva, анти-LFA-1 (CD11a), эфунгумаб (Mycograb, анти-Hsp90), элотузумаб (анти-SLAMF7), элсилимомаб (анти-IL-6), энлимомаб пегол (анти-ICAM-1 (CD54)), эпитумомаб (анти-эписиалин), эпратузумаб (анти-CD22), эрлизумаб (анти-ITGB2 (CD18)), эртумаксомаб (Rexomun, анти-HER2/neu, CD3), этарацизумаб (Abegrin, анти-интегрин $\alpha_v\beta_3$), эксбивирумаб (поверхностные антитела к гепатиту B), фанолезомаб (NeutroSpec, анти-CD15), фаралимомаб (анти-интерфероновый рецептор), фарлетузумаб (антифолатный рецептор 1), фелвизумаб (анти-респираторный синцитиальный вирус), фезакинумаб (анти-IL-22), фигитумумаб (рецептор анти-IGF-1), фонтолизумаб (анти-IFN-γ), форавирумаб (гликопротеин вируса бешенства), фрезолимумаб (анти-TGF-β), галиксимаб (анти-CD80), гантенерумаб (анти-бета-амилоид), гавилимомаб (анти-CD147 (базигин)), гемтузумаб (анти-CD33), гирентуксимаб (антитела к карбоангидразе 9), глембатумумаб (CR011, анти-GPNMB), голимумаб (Simponi, анти-TNF-α), гомиликсимаб (анти-CD23 (рецептор IgE)), ибализумаб (анти-CD4), ибритумомаб (анти-CD20), иговомаб (Indimacis-125 , анти-CA-125), имциромаб (Myoscint, анти-кардиальный миозин), инфликсимаб (Remicade, анти-TNF-α), интетумумаб (анти-CD51), инолимомаб (анти-CD25 (α-цепь рецептора IL-2), инотузумаб (анти-CD22), ипилимумаб (анти-CD152), иратумумаб (анти-CD30 (TNFRSF8)), келиксимаб (анти-CD4), лабетузумаб (CEA-Cide, анти-CEA), лебрикизумаб (анти-IL-13), лемалесомаб (анти-NCA-90 (гранулоцитарный антиген)), лерделимумаб (анти-TGF бета 2), лексатумумаб (анти-TRAIL-R2), либивирумаб

(поверхностные антитела к гепатиту B), линтузумаб (анти-CD33), люкатумумаб (анти-CD40), люмиликсимаб (анти-CD23 (рецептор IgE), мапатумумаб (анти-TRAIL-R1) , маслимомаб (анти-Т-клеточный рецептор), матузумаб (анти-EGFR), меполизумаб (Bosatria, анти-IL-5), метелимумаб (анти-TGF бета 1), милатузумаб (анти-CD74), минретумомаб (анти-ТАГ-72), митумомаб (BEC-2, ганглиозид анти-GD3), моролимумаб (анти-резус-фактор), мотавизумаб (Numax, антиреспираторно-синцитиальный вирус), муромонаб-CD3 (Orthoclone OKT3, анти-CD3), наколомаб (анти-С242), наптумомаб (анти-5Т4) , натализумаб (Tysabri, анти-интегрин α4), небакумаб (анти-эндотоксин), нецитумумаб (анти-EGFR), нерелимомаб (анти-TNF-α), нимотузумаб (Theracim, Theraloc, анти-EGFR), нофетумомаб , окрелизумаб (анти-CD20), одулимомаб (Afolimomab, анти-LFA-1 (CD11a)), офатумумаб (Arzerra, анти-CD20), оларатумаб (анти-PDGF-R α), омализумаб (Xolair, область Fc анти-IgE), опортузумаб (анти-EpCAM), ореговомаб (OvaRex, анти-СА-125), отеликсизумаб (анти-CD3), пагибаксимаб (анти-липотейхоевая кислота), паливизумаб (Synagis, Abbosynagis, антиреспираторно-синцитиальный вирус), панитумумаб (Vectibix, ABX-EGF, анти-EGFR), панобакумаб (анти-Pseudomonas aeruginosa), пасколизумаб (анти-IL-4), пемтумомаб (Theragyn, анти-MUC1), пертузумаб (Omnitarg, 2С4, анти-HER2/neu), пекселизумаб (анти-С5), пинтумомаб (антиген антиаденокарциномы), приликсимаб (анти- CD4), притумумаб (антивиментин), PRO 140 (анти-CCR5), ракотумомаб (1Е10, анти-(N-гликолилнейраминовая кислота (NeuGc, NGNA)-ганглиозиды GM3)), рафивирумаб (гликопротеин вируса бешенства), рамуцирумаб (анти-VEGFR2), ранибизумаб (Lucentis, анти-VEGF-A), раксибакумаб (антитело против токсина сибирской язвы, защитный антиген), регавирумаб (анти-цитомегаловирусный гликопротеин B), реслизумаб (анти-IL-5), рилотумумаб (анти-HGF), ритуксимаб (MabThera, Rituxanmab, анти-CD20), робатумумаб (анти-IGF-1 рецептор), ронтализумаб (анти-IFN-α), ровелизумаб (LeukArrest, анти-CD11, CD18), руплизумаб (Antova, анти-CD154 (CD40L)), сатумомаб (анти-TAG-72), севирумаб (анти-цитомегаловирус), сибротузумаб (анти-FAP), сифалимумаб (анти-IFN-α), силтуксимаб (анти-IL-6) , сиплизумаб (анти-CD2), (Smart) MI95 (анти-CD33), соланезумаб (анти-бета-амилоид), сонепцизумаб (анти-сфингозин-1-фосфат), сонтузумаб (анти-эписиалин), стамулумаб (анти-миостатин), сулесомаб (LeukoScan, (анти-NCA-90 (гранулоцитарный антиген), такатузумаб (анти-альфа-фетопротеин), тадоцизумаб (анти-интегрин $\alpha_{IIb}\beta_3$), тализумаб (анти-IgE), танезумаб (анти-NGF), таплитумомаб (анти-CD19), тефибазумаб (Aurexis, (против фактора слипания А), телимомаб, тенатумомаб (антитела к тенасцину С), тенеликсимаб (анти-CD40), теплизумаб (анти-CD3), TGN1412 (анти-CD28), тицилимумаб (Tremelimumab, (анти- CTLA-4), тигатузумаб (анти-TRAIL-R2), TNX-650 (анти-IL-13),

тоцилизумаб (Atlizumab, Actemra, RoActemra, (анти-IL-6 рецептор), торализумаб (анти-CD154 (CD40L)), тозитумомаб (анти-CD20), трастузумаб (герцептин, (анти-HER2/neu), тремелимумаб (анти-CTLA-4), тукотузумаб целмолейкин (анти-EpCAM), тувирумаб (анти-вирус гепатита B), уртоксазумаб (антитела против кишечной палочки), устекинумаб (Stelara, анти-IL-12, IL-23), вапаликсимаб (анти-AOC3 (VAP-1)), ведолизумаб (анти-интегрин $\alpha_4\beta_7$), велтузумаб (анти-CD20), вепалимомаб (анти-AOC3 (VAP -1), визилизумаб (Nuvion, анти-CD3), витаксин (антиваскулярный интегрин avb3), волоциксимаб (анти-интегрин $\alpha_5\beta_1$), вотумумаб (HumaSPECT, противоопухолевый антиген CTAA16.88), залутумумаб (HuMax-EGFr, (анти-EGFR), занолимумаб (HuMax-CD4, анти-CD4), зиралимумаб (анти-CD147 (базигин)), золимомаб (анти-CD5), этанерцепт (Enbrel®), алефацепт (Amevive®), абатацепт (Orencia®), рилонацепт (Arcalyst), 14F7 [анти-IRP-2 (белок , регулирующий железо 2)], 14G2a (анти-ганглиозид GD2, из Национального института рака для меланомы и солидных опухолей), J591 (анти-PSMA, Медицинская школа Weill Cornell для рака простаты), 225.28S [анти-HMW-MAA (Антиген, ассоциированный с высокомолекулярной меланомой), Sorin Radiofarmaci SRL (Милан, Италия) для меланомы], COL-1 (анти-CEACAM3, CGM1, от Нац. Рак Инст. США для колоректального и желудочного рака), CYT-356 (Онколтад®, для рака простаты), HNK20 (Ора Вакс Инк. для респираторно-синцитиального вируса), иммураит (от Иммуномедикс для НХЛ), Lym-1 (анти-HLA-DR10, Перегрин Фарм. для онкологических заболеваний), MAK-195F [анти-TNF (фактор некроза опухоли; TNFA, TNF-альфа; TNFSF2), от Аббот/Кнолл для сепстического токсического шока], MEDI-500 [T10B9, анти-CD3, TR$\alpha\beta$ (T клеточный рецептор альфа/бета), комплексный, от МедИммьюн Инк. для реакции «трансплантат против хозяина», RING SCAN [анти-TAG 72 (связанный с опухолью гликопротеин 72), от Неопроб Корп. для рака молочной железы, толстой кишки и прямой кишки], авицидин (анти-EPCAM (молекула адгезии эпителиальных клеток), анти-TACSTD1 (кальциевый сигнальный преобразователь 1, связанный с опухолью), анти-GA733-2 (белок, ассоциированный с опухолью желудочно-кишечного тракта 2), анти-EGP-2 (эпителиальный гликопротеин 2); KSA; KS1/4-антиген; M4S; опухолевый антиген 17-1A; CD326 от НеоРикс Корп. для рака толстой кишки, яичников, предстательной железы и НХЛ]; лимфоцид (Иммуномедикс, Нью Джерси), смарт ID10 (Протеин Дизайн Лэбс), онколим (Текниклон Инк., Калифорния), алломюн (БиоТрансплант, Калифорния), анти-VEGF (Генентек, Калифорния); CEAcide (Иммуномедикс, Нью Джерси), IMC-1C11 (ИмКлон, Нью Джерси) и цетуксимаб (ИмКлон, Нью Джерси).

Другие антитела в качестве молекул/лигандов, связывающихся с клеткой включают, но не ограничиваются ими, антитела к следующим антигенам: аминопептидаза N (CD13),

аннексин A1, B7-H3 (CD276, различные виды рака), CA125 (яичники), CA15-3 (карциномы), CA19-9 (карциномы), L6 (карциномы), Lewis Y (карциномы), Lewis X (карциномы), альфа-фетопротеин (карциномы), CA242 (колоректальный), плацентарная щелочная фосфатаза (карциномы), простат-специфический антиген (рак простаты), простатическая кислотная фосфатаза (рак простаты), эпидермальный фактор роста (карциномы), CD2 (болезнь Ходжкина, НХЛ лимфома, множественная миелома), CD3-эпсилон (Т-клеточная лимфома, рак легких, рак молочной железы, рак яичников, аутоиммунные заболевания, злокачественный асцит), CD19 (злокачественные опухоли В-клеток), CD20 (неходжкинская лимфома), CD22 (лейкоз, лимфома, множественная миелома, СКВ), CD30 (лимфома Ходжкина), CD33 (лейкоз, аутоиммунные заболевания), CD38 (множественная миелома), CD40 (лимфома, множественная миелома, лейкоз (CLL)), CD51 (метастатическая меланома, саркома), CD52 (лейкоз), CD56 (мелкоклеточный рак легких, рак яичников, клеточная карцинома Меркеля и жидкая опухоль, множественная миелома), CD66e (рак), CD70 (метастатический почечно-клеточный рак и неходжкинская лимфома), CD74 (множественная миелома), CD80 (лимфома), CD98 (рак), муцин (карцинома), CD221 (солидные опухоли), CD227 (рак молочной железы, рак яичников), CD262 (НМРЛ и другие виды рака), CD309 (рак яичников), CD326 (солидные опухоли), CEACAM3 (колоректальный рак, рак желудка), CEACAM5 (карциноэмбриональный антиген; CEA, CD66e) (рак молочной железы, колоректальный рак и рак легких), DLL3 (delta-подобный-3), DLL4 (delta-подобный-4), EGFR (рецептор эпидермального фактора роста, различные виды рака), CTLA4 (меланома), CXCR4 (CD184 , гемоонкология, солидные опухоли), эндоглин (CD105, солидные опухоли), EPCAM (молекула адгезии эпителиальных клеток, рак мочевого пузыря, головы, шеи, толстой кишки, предстательной железы, НХЛ и яичников), ERBB2 (рецептор эпидермального фактора роста 2; рак легких, молочной железы, простаты), FCGR1 (аутоиммунные заболевания), FOLR (рецептор фолата, рак яичников), ганглиозид GD2 (рак), G-28 (антиген гликолипида клеточной поверхности, меланома), идиотип GD3 (рак), белки теплового шока (рак), HER1 (рак легких, рак желудка), HER2 (рак молочной железы, легких и яичников), HLA-DR10 (НХЛ), HLA-DRB (НХЛ, В-клеточный лейкоз), хорионический гонадотропин человека (карцинома), IGF1R (рецептор инсулиноподобного фактора роста 1, солидные опухоли, рак крови), рецептор IL-2 (рецептор интерлейкина 2, Т-клеточный лейкоз и лимфомы), IL-6R (рецептор интерлейкина 6, множественная миелома, RA, болезнь Кастелмана, IL6-зависимые опухоли), интегрины (αvβ3, α5β1, α6β4, αIIβ3, α5β5, αvβ5, для различных видов рака), MAGE-1 (карциномы), MAGE-2 (карциномы), MAGE-3 (карциномы), MAGE 4 (карциномы), рецептор анти-трансферрина (карциномы), p97 (меланома), MS4A1

(мембранного охвата 4-х доменный член 1 подсемейства A, мелкоклеточный рак легких, НХЛ), нуклеолин, онкогенный продукт Neu (карциномы), P21 (карциномы), паратоп анти-(N-гликолилнейраминовой кислоты, рак молочной железы, меланома), PLAP-подобная щелочная фосфатаза яичка (рак яичников, рак яичка), PSMA (опухоли простаты), PSA (рак простаты), ROBO4, TAG 72 (ассоциированный с опухолью гликопротеин 72, AML, рак желудка, колоректальный рак, рак яичников), Т-клеточный трансмембранный белок (рак), Tie (CD202b), TNFRSF10B (член суперсемейства рецепторов фактора некроза опухолей 10B, рак), TNFRSF13B (член суперсемейства рецепторов фактора некроза опухолей 13B, множественная миелома, НХЛ, другие виды рака, RA и SLE), TPBG (гликопротеин трофобласта,
почечно-клеточная карцинома), TRAIL-R1 (рецептор 1 лиганда индуцирующего некроз апоптоз опухоли, лимфома, НХЛ, колоректальный рак, рак легких), VCAM-1 (CD106, меланома), VEGF, VEGF-A, VEGF-2 (CD309) (различные виды рака). Были рассмотрены некоторые другие опухоль ассоциированные антигены, распознаваемые антителами (Gerber, et al, mAbs 1:3, 247-53 (2009); Novellino et al, Cancer Immunol Immunother. 54(3), 187-207 (2005). Franke, et al, Cancer Biother Radiopharm. 2000, 15, 459-76).

Агенты, связывающиеся с клеткой, более предпочтительные антитела, могут представлять собой любые агенты, которые способны связываться с опухолевыми клетками, инфицированными вирусом клетками, инфицированные микроорганизмами клетками, инфицированные паразитом клетками, аутоиммунными клетками, активированными клетками, миелоидными клетками, активированными Т-клетками, В-клетками или меланоцитами. Более конкретно, агенты, связывающиеся с клеткой могут быть любыми агентами/молекулами, способными связываться с любым из следующих антигенов или рецепторов: 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, CD211, CD212, CD213a1, CD213a2, CD214, CD215, CD216, CDw217, CDw218a, CDw218b, CD219, CD220, CD221, CD222, CD223, CD224, CD225, CD226, CD227, CD228, CD229, CD230, CD231, CD232, CD233, CD234, CD235a, CD235ab, CD235b, CD236, CD236R, CD237, CD238, CD239, CD240, CD240CE, CD240D, CD241, CD242, CD243, CD244, CD245, CD246, CD247, CD248, CD249, CD250, CD251, CD252, CD253, CD254, CD256, CD257, CD258, CD259, CD260, CD261, CD262, CD263, CD264, CD265, CD266, CD267, CD268, CD269, , CD270, CD271, CD272, CD273, CD274, CD275, CD276 (B7-H3), CD277, CD278, CD279, CD280, CD281, CD282, CD283, CD284, CD285, CD286, CD287, CD288, CD289, CD290, CD291, CD292, CDw293, CD294, CD295, CD296, CD297, CD298, CD299, CD300a, CD300c, CD300e, CD301, CD302, CD303, CD304, CD305, CD306, CD307, CD308, CD309, CD310, CD311, CD312, CD314, CD315, CD316, CD317, CD318, CD319, CD320, CD321, CD322, CD323, CD324, CDw325, CD326, CDw327, CDw328, CDw329, CD330, CD331, CD332, CD333, CD334, CD335, CD336, CD337, CDw338, CD339, 4-1BB, 5AC, 5T4 (Гликопротеин трифобласта, TPBG, 5T4, Wnt-активируемый ингибирующий фактор 1 or WAIF1), Аденокарциномаантиген, AGS-5, AGS-22M6, активин-рецептор-подобная киназа 1, AFP, AKAP-4, ALK, альфа-интергрин, Alpha v beta6, аминопептидаза N, амилоид бета, рецептор андрогенов, ангиопоэтин 2, ангиопоэтин 3, аннексин A1, сибирская язва токсин-защитный антиген, рецептор против трансферрина, AOC3 (VAP-1), B7-H3, Bacillus anthracisanthrax, BAFF (фактор активации B-клеток), клетка B-лимфомы, bcr-abl, Bombesin, BORIS, C5, антиген C242, CA125 (углеводный антиген 125, MUC16), CA-IX (или CAIX, карбоангидраза 9) , CALLA, CanAg, Canis lupus familis IL31, Карбоангидраза IX, сердечный миозин, CCL11 (хемокин с

мотивом CC 11), CCR4 (хемокиновый рецептор CC типа 4, CD194), CCR5, CD3E (эпсилон), CEA (карциноэмбриональный антиген), CEACAM3, CEACAM5 (карциноэмбриональный антиген), CFD D), Ch4D5, холецистокинин 2 (CCK2R), CLDN18 (Claudin-18), фактор слипания A, CRIPTO, FCSF1R (рецептор колониестимулирующего фактора 1, CD115), CSF2 (колониестимулирующий фактор 2, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF)), CTLA4 (белок, ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами 4), опухолевый антиген CTAA16.88, CXCR4 (CD184), хемокиновый рецептор CXC типа 4, циклическая рибозогидролаза ADP, циклин B1, CYP1B1, цитомегаловирус, гликопромегаловирус Дабигатран, DLL3 (дельта-подобный лиганд 3), DLL4 (дельта-подобный лиганд 4), DPP4 (дипептидил-пептидаза 4), DR5 (Рецептор смерти 5), E. coli токсин шига типа-1, E. coli токсин шига типа-2, ED-B, EGFL7 (EGF-подобный домен, содержащий белок 7),, EGFR, EGFRII, EGFRvIII, эндоглин (CD105), рецептор эндотелина B, эндотоксин, EpCAM (молекула адгезии эпителиальных клеток), EphA2, эписиалин, ERBB2 (рецептор эпидермального фактора роста 2), ERBB3, ERG (гибридный ген TMPRSS2 ETS), Escherichia coli, ETV6-AML, FAP (протеинальфа активации фибробластов), FCGR1, альфа-фетопротеин, фибрин II, бета-цепь, дополнительный домен-B фибронектина, FOLR (рецептор фолиевой кислоты), альфа-рецептор фолиевой кислоты, фолат-гидролаза, Fos-родственный антиген 1, белок F респираторно-синцитиального вируса, рецептор Frizzled, фукозил GM1, ганглиозид GD2 , G-28 (гливолипид антигена клеточной поверхности), идиотип GD3, GloboH, Glypican 3, N-гликолилнейраминовая кислота, GM3, α-цепь рецептора GMCSF, фактор дифференцировки роста 8, GP100, GPNMB (трансмембранный гликопротеин NMB), GUCY2C (гуанилат циклаза 2C, гуанилилциклаза C (GC-C), кишечная гуанилатциклаза, рецептор гуанилатциклазы-C, термостабильный рецептор энтеротоксина (hSTAR)), белки теплового шока, гемагглютинин, поверхностный антиген гепатита B, вирус гепатита B, HER1 (рецептор эпидермального фактора роста человека 1), HER2, HER2/neu , HER3 (ERBB-3), IgG4, HGF/SF (фактор роста гепатоцитов/фактор рассеяния), HHGFR, ВИЧ-1, гистоновый комплекс, HLA-DR (человеческий лейкоцитарный антиген), HLA-DR10, HLA-DRB, HMWMAA, Хорионический гонадотропин человека, HNGF, Киназа рецептора фактора рассеяния 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 гриппа, IgE, область Fc IgE, IGHE, интерлейкины (например, 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, ILGF2 (Инсулиноподобный фактор роста 2),

интегрины (α4, αIIbβ3, αvβ3, α4β7, α5β1, α6β4, α7β7, αIIβ3, α5β5, αvβ5), интерферон гамма-индуцированный белок, ITGA2, ITGB2, KIR2D, LCK, Le, Легумаин, антиген Lewis-Y, LFA-1 (антиген 1, связанный 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 ингибирования миграции макрофагов или гликозилирование- ингибирующий фактор (GIF)), MS4A1 (мембранный 4-доменный член подсемейства A 1), MSLN (мезотелин), MUC1 (муцин 1, связанный с клеточной поверхностью (MUC1) или полиморфный эпителиальный муцин (PEM)), MUC1-KLH, MUC16 (CA125), MCP1 (хемотаксический белок 1 моноцитов), MelanA/MART1, ML-IAP, MPG, MS4A1 (мембранно-охватывающее 4-доменное подсемейство A), MYCN, миелин-ассоциированный гликопротеин, миостатин, NA17, NARP-1, NCA-90 (гранулоцитарный антиген), нектин-4 (ASG-22ME), NGF, протеиназа 1, регулируемая нервным апоптозом, NOGO-A, рецептор Notch, нуклеолин, онкогенный продукт Neu, NY-BR-1, NY-ESO-1, OX-40, OxLDL (окисленный липопротеин низкой плотности), OY-TES1, P21, немутантный p53, P97, Page4, PAP, паратоп анти- (N-гликолилнейраминовой кислоты), PAX3, PAX5, PCSK9, PDCD1 (PD-1, запрограммированная гибель клеток белок 1, CD279), PDGF-Rα (рецептор фактора роста тромбоцитов альфа-типа), PDGFR-β, PDL-1, PLAC1, PLAP-подобная тестикулярная щелочная фосфатаза, рецептор бета-фактора роста тромбоцитов, ко-переносчик фосфата натрия, PMEL 17, полисиаловая кислота, протеиназа 3 (PR1), карцинома предстательной железы, PS (фосфатидилсерин), клетки карциномы предстательной железы, синегнойная палочка, PSMA, PSA, PSCA, Гликопротеин вируса бешенства, RHD (полипептид Rh 1 (RhPI), CD240), резус-фактор, RANKL, рецепторы RANTES (CCR1, CCR3, CCR5), RhoC, мутант Ras, RGS5, ROBO4, респираторно-синцитиальный вирус, RON, точки останова при транслокации саркомы, SART3, Склеростин, SLAMF7 (член семейства SLAM 7), Селектин P, SDC1 (Синдекан 1), sLe (a), соматомедин C, SIP (сфингозин-1-фосфат), соматостатин, белок спермы 17, SSX2, STEAP1 (шестимембранный эпителиальный антиген простаты 1), STEAP2, STn, TAG-72 (гликопротеин 72, связанный с опухолью), сурвивин, T-клеточный рецептор, трансмембранный белок T-клеток, TEM1 (эндотелиальный маркер 1 опухоли), TENB2, Тенасцин C (TN-C), TGF-α, TGF-β (трансформирующий фактор роста бета), TGF-β1, TGF-β2 (трансформирующий фактор роста бета 2), Tie (CD202b), Tie2, TIM-1 (CDX -014), Tn, TNF, TNF-α, TNFRSF8, TNFRSF10B (член суперсемейства рецепторов фактора некроза опухолей 10B), TNFRSF13B (член суперсемейства рецепторов фактора некроза опухолей 13B), TPBG (гликопротеин трофобласта), TRAIL-R1 (опухолевый апопротеин лиганд

рецептор 1), TRAILR2 (рецептор смерти 5 (DR5)), ассоциированный с опухолью преобразователь кальциевого сигнала 2, опухоль-специфическое гликозилирование MUC1, рецептор TWEAK, TYRP1 (гликопротеин 75), TROP-2, TRP-2, тирозиназа, VCAM-1 (CD106), VEGF, VEGF-A, VEGF-2 (CD309), VEGFR-1, VEGFR2 или виментин, WT1, XAGE 1 или клетки, экспрессирующие любые рецепторы инсулинового фактора роста или любые рецепторы эпидермального фактора роста.

В другом конкретном варианте осуществления конъюгаты «лиганд, связывающийся с клеткой-лекарственное средство» связанные через мостиковые линкеры по настоящему изобретению используются для нацеленного лечения рака. Целевые раковые заболевания включают, но не ограничиваются ими, адренокортикальную карциному, рак анального канала, 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 гипофарингеальной 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 лифома кожи, болезнь Ходжкина, неходжкинская болезнь), злокачественную мезотелиому, меланому, карциному клеток Меркеля, метастатический плоскоклеточный рак шеи с оккультной 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 Сезары, 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 осуществления конъюгаты « агент, связывающийся с клеткой-лекарственное средство » по данному изобретению используются в согласии с композициями и способами для лечения или профилактики аутоиммунного заболевания. Аутоиммунные заболевания включают в себя, но не ограничиваются ими, 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, атопическую аллергию, атопический 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 синтдомы типов I, II и III, аутоиммунный прогестероновый дерматит, аутоиммунную тромбоцитопеническую пурпуру, аутоиммунный увеит, болезнь Бало/концентрический склероз Бало, синдром Бечетса, болезнь Бержера, энцефалит Бикерстаффа, синдром Блау, буллезный пемфигоид, болезнь Каслмана, болезнь Чага, синдром хронической усталости и иммунной дисфункции, хроническую воспалительную демиелинизирующую полиневропатию, хронический рецидивирующий мультифокальный остомиелит, хроническую болезнь Лайма, хроническую обструктивную болезнь легких, синдром Шурга-Штрауса, рубцовую пемфигоидную болезнь, глютеновую 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 фасциит, приобретённый буллезный эпидермолиз , узловатую эритему, эссенциальную смешанную криоглобулинемию, синдром Эвана, прогрессирующую оссифицирующую

фибродисплазию, фибромиалгию, фибромиозит, фиброзирующий альвеолит, гастрит, гастроинтестинальный пемфигоид, гигантоклеточный артериит, гломерулонефрит, синдром Гудпастюра, болезнь Грейвса, синдром Гийена-Барре, энцефалит Хашимото, тиреоидит Хашимото, гемолитическую анемию, пурпурк Генош-Шонлейна, гестационный герпес, гнойный гидраденит, синдром Хьюза (см. антифосфолипидный синдром), гипогаммаглобулинемию, идиопатические воспалительные демиелинизирующие болезни, идиопатический легочный фиброз, идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру (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 Меньэ, 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, опсо-миоклональный 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-Хант, 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 связанного через бис-линкеры по настоящему изобретению для лечения или профилактики аутоиммунного заболевания, может быть, но не ограничиваясь этим, антиэластиновым антителом; антителом Abys против эпителиальных клеток; антителом против белка базального мембранного коллагена типа IV; антиядерным антителом; антителом к двуспиральной нативной ДНК; антителом к односпиральной нативной ДНК, анти-кардиолипиновым антителом IgM, IgG; анти-целиакновым антителом; анти-фосфолипидным антителом IgK, IgG; анти-SM антителом; анти-митохондриальным антителом; анти-тироидным антителом; микросомальным антителом, антителом Т-клеток; анти-тиреоглобулин антителом; анти-SCL-70; анти-Jo; анти-U.sub.1RNP; анти-La/SSB; анти-SSA; анти-SSB; антителом к перитальным клеткам; анти-гистоновым антителом; анти-RNP; C-ANCA; P-ANCA; анти-центромерным антителом; анти-фибрилларин и анти-GBM антителом, анти-ганглиозидным антителом; анти-десмогеин 3 антителом; анти-p62 антителом; анти-sp100 антителом; анти-митохондриальным (M2) антителом; анти-ревматоидный фактор антителом; анти-MCV антителом; антителом против топоизомеразы; анти-нейтрофил цитоплазматическим (cANCA) антителом.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления связывающая молекула для конъюгата в настоящем изобретении 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, CD25, CD27, CD28, CD30, CD33, CD37, CD38, CD56, CD70, CD79, CD79b, CD90, CD125, CD137, CD138, CD147, CD152/CTLA-4, PD-1, PD-L1 или ICOS), член суперсемейства рецепторов TNF (ФНО) (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 осуществления полезные лиганды, связывающиеся с клеткой, которые являются иммуноспецифичными для вирусного или микробного антигена, представляют собой гуманизированные или человеческие моноклональные

антитела. Используемый в данном документе термин «вирусный антиген» включает в себя, но не ограничивается ими, любой вирусный пептид, полипептидный белок (например, ВИЧ gp120, ВИЧ-nef, гликопротеин RSV F, нейрамимидаза вируса гриппа, гемаглютинин вируса гриппа, HTLV tax, гликопротеин вируса простого герпеса (например, gB, gC, gD и gE) и поверхностный антиген гепатита B)), способный вызывать иммунный ответ. Используемый в данном документе термин «микробный антиген» включает в себя, но не ограничивается ими, 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 вирусной или микробной инфекции, включают в себя, но не ограничиваются ими, 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 B; ПРОТВИР, который представляет собой гуманизированное антитело IgG 1 для лечения цитомегаловируса; и анти-LPS антитела.

Конъюгаты «молекула, связывающаяся с клеткой-лекарственное средство» связанные через бис-линкеры по настоящему изобретению могут быть использованы для лечения инфекционных заболеваний. Данные инфекционные заболевания включают, но не ограничиваются ими, инфекции Acinetobacter, актиномикоз, африканскую сонную болезнь (африканский трипаносомоз), СПИД (синдром приобретенного иммунодефицита), амебиаз, анаплазмоз, сибирскую язву, инфекцию Arcano-bacterium haemolyticum, аргентинскую геморрагическую лихорадку, Ascariasis, аспергиллез, астровирусная инфекция, бабезиоз, инфекцию Bacillus cereus, бактериальную пневмонию, бактериальный вагиноз, бактероидную инфекцию, балантидиаз, инфекцию байлисаскарис, БК-вирусную инфекцию, черную пиедра, бластоцистную гуманистическую инфекцию, бластомикоз, боливианскую геморагическую лихорадку, инфекцию боррелией, ботулизм (и детский ботулизм), бразильскую геморагическую лихорадку, бруцилез, 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 Chlamydophila pneumoniae, холеру, хромобластомикоз, клонорхоз, инфекцию Clostridium difficile, коксидиодомикоз, американскую горную клещевую лихорадку простуду (острый вирусный ринофарингит; острый насморк), болезнь Крейцфельдта-Якоба, конго-

крымскую геморрагическую лихорадку, криптококкоз, криптоспоридиоз, кожные мигрирующие личинки, циклоспориаз, цистикеркоз, цитомегаловирусную инфекцию, лихорадку Денге, диентамебиаз, дифтерию, дифилобосриаз, дракункулиаз, геморагическую лихорадку Эбола, экинококсоз, эрлихиоз, энтеробиоз (острична инфекция), энтерококковую инфекцию, энтеровирусную инфекцию, эпидемический тиф, эритремную инфекцию (Пятая болезнь), внезапную экзантему, фасциолопсиаз, фасциолоз, фатальную семейную бессонницу, филариаз, пищевое отравление Clostridium perfringens, свободно живущую амебную инфекцию, инфекцию Fusobacterium, газовую гангрену (Clostridial myonecrosis), геотрихоз, синдром Герстманна-Штрюсслера-Шейнкера, гиардиаз, сап, гнатостомиаз, гонорею, паховую гранулему (Donovanosis), стрептококковую инфекцию группы A, стрептококковую инфекцию группы B, гемофилическую инфекцию, энтеровирусный везикулярный стоматит (HFMD), хантавирусный легочный синдром, инфекция Helicobacter pylori, гемолитико-уремический синдром, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, гепатит A, гепатит B, гепатит C, гепатит D, гепатит E, простой герпес, гистоплазмоз, анкилостомную инфекцию, бокавирусную инфекцию человека, эрлихиоз человека, гранулоцитный анаплазмос человека, метапневмовирусную инфекцию, моноцитарный эрлихиоз человека, папилломавирусную инфекцию человека, вирусную парагриппозную инфекцию человека, гименолепаз, инфекционный мононуклеоз (моно) вируса 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, микроспоридиоз, контагиозный моллюск, паротит, мышиный тиф (эндемический тиф), микоплазменную пневмонию, мицетому, миаз, неонатальный конъюнктивит (офтальмия новорожденного), (новый) вариант болезни Крейтцфельда-Якоба (vCJD, nvCJD), нокардиоз, онхоцеркоз (речная слепота), паракокцидиоидоз (южноамериканский бластомикоз), парагонимоз, пастереллез, Pediculosis capitis (головные вши), Pediculosis corporis (вши тела), Pediculosis pubis (лобковые вши, крабовые вши), воспаление тазовых органов, пертусит (коклюш), чуму, пневмоококковую 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, риноспоридиоз,

риновирусную инфекцию, риккетсиозную инфекциб, рикцитозную 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, тениаз, 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 (Pityriasor 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 лихорадка, зигомикоз.

Молекулы, связывающиеся с клетками, которые, как более предпочтительно, являются антителами, описанными в данном патенте, против патогенных штаммов которые включают в себя, но не ограничиваются ими, антитела против патогенов Acinetobacter baumannii, Actinomyces israelii, Actinomyces gerencseriae и Propionibacterium propionicus, Trypanosoma brucei, ВИЧ (вирус иммунодефицита человека), Entamoeba histolytica, род Anaplasma, Bacillus anthracis, Arcanobacterium haemolyticum, вирус Junin, Ascaris lumbricoides, род Aspergillus, семья Astroviridae, род Babesia, Bacillus cereus, разнообразные бактерии, род Bacteroides, Balantidium coli, мBaylisascaris, BK вирус, Piedraia hortae, Blastocystis hominis, Blastomyces dermatitides, Machupo вирус, род Borrelia, Clostridium botulinum, Sabia, род Brucella, обычно Burkholderia cepacia и другие виды Burkholderia, Mycobacterium ulcerans, семейство Caliciviridae, род Campylobacter, обычно Candida albicans и другие виды Candida, Bartonella henselae, группа A 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, короновирусы, CJD прион, вирус конго-крымской геморрагической лихорадки, Cryptococcus neoformans, род Cryptosporidium, 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, герпевирус человека 6 и герпевирус человека 7, Fasciolopsis buski, Fasciola hepatica и Fasciola gigantica, FFI прион, Filarioidea суперсемейство, Clostridium perfringens, род Fusobacterium, 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 A и энтеровирус 71, вирус Sin Nombre, Helicobacter pylori, Escherichia coli O157:H7, семейство Bunyaviridae, вирус гепатита A, вирус гепатита B, вирус гепатита C, вирус гепатита D, вирус гепатита E, вирус простого герпеса 1, вирус простого герпеса 2, Histoplasma capsulatum, Ancylostoma duodenale и Necator americanus, Hemophilus influenzae, бокавирус человека, Ehrlichia ewingii, Anaplasma phagocytophilum, метапневмовирус человека, Ehrlichia chaffeensis, вирус папиломы человека, вирус параинфлюенцы человека, Hymenolepis nana и Hymenolepis diminuta, вирус Эпштейна-Барр, семейство Orthomy-xoviridae, Isospora belli, Kingella kingae, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella ozaenas, Klebsiella rhinoscleromotis, прион Kuru, вирус Lassa, Legionella pneumophila, Legionella pneumophila, род Leishmania, Mycobacterium leprae и Mycobacterium lepromatosis, род Leptospira, Listeria monocytogenes, Borrelia burgdorferi и другие виды Borrelia, Wuchereria bancrofti и Brugia malayi, вирус лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), род Plasmodium, марбургский вирус, вирус кори, Burkholderia pseudomallei, Neisseria meningitides, Metagonimus yokagawai, Microsporidia phylum, вирус контагиозного молюска (MCV), вирус паротита, Rickettsia typhi, Mycoplasma pneumoniae, разнообразные представители бактерий (Actinomycetoma) и грибков (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, род Pasteurella, Pediculus humanus capitis, Pediculus humanus corporis, Phthirus pubis, Bordetella pertussis, Yersinia pestis, Streptococcus pneumoniae, Pneumocystis jirovecii, полиовирус, род Prevotella, Naegleria fowleri, вирус JC, Chlamydophila psittaci, Coxiella burnetii, вирус бешенства, Streptobacillus moniliformis и Spirillum minus, респираторно-синцитиальный вирус, Rhinosporidium seeberi, риновирус, род Rickettsia, Rickettsia akari, вирус лихорадки долины Рифт, Rickettsia rickettsii, ротавирус, вирус коревой краснухи, род Salmonella, коронавирус SARS, Sarcoptes scabiei,

род Schistosoma, род Shigella , вирус ветряной оспы, Variola major или Variola minor, Sporothrix schenckii, род Staphylococcus, род Staphylococcus, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Strongyloides stercoralis, Treponema pallidum, род Taenia , Clostridium tetani, род Trichophyton, Trichophyton tonsurans, род Trichophyton, Epidermophyton floccosum, Trichophyton rubrum, и Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton rubrum, Hortaea werneckii, род Trichophyton, род Malassezia, Toxocara canis или Toxocara cati, Toxoplasma gondii, Trichinella spiralis, Trichomonas vaginalis, Trichuris trichiura, Mycobacterium tuberculosis, Francisella tularensis, Ureaplasma urealyticum, вирус венесуэльского энцефалита лошадей, Vibrio colerae, вирус Guanarito, вирус западного Нила, Trichosporon beigelii, 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 pertenue, Treponema carateneum, Borrelia vincentii, Borrelia burgdorferi, Leptospira icterohemorrhagiae, Pneumocystis carinii, Brucella abortus, Brucella suis, Brucella melitensis, Mycoplasma spp., Rickettsia prowazeki, Rickettsia tsutsugumushi, Clamydia spp.; патогенные грибки (Aspergillus fumigatus, Candida albicans, Histoplasma capsulatum); простейшие (Entomoeba histolytica, Trichomonas tenas, Trichomonas hominis, Tryoanosoma gambiense, Trypanosoma rhodesiense, Leishmania donovani, Leishmania tropica, Leishmania braziliensis, Pneumocystis pneumonia, Plasmodium vivax, Plasmodium falciparum, Plasmodium malaria); или гельминты (Schistosoma japonicum, Schistosoma mansoni, Schistosoma haematobium, и анкилостомы).

Другие антитела в качестве лигандов, связывающихся с клетками, используемые в данном изобретении для лечения вирусных заболеваний, включают, но не ограничиваются ими, антитела против антигенов патогенных вирусов, в том числе в качестве неограничивающих примеров: Poxyiridae, Herpesviridae, Adenoviridae, Papovaviridae, Enteroviridae, Picornaviridae, Parvoviridae, Reoviridae, Retroviridae, вирусы гриппа, вирусы парагриппа, паротит, корь, респираторно-синцитиальный вирус, корьевая краснуха, Arboviridae, Rhabdoviridae, Arenaviridae, не-A/не-B вирус гепатита, Rhinoviridae, Coronaviridae, Rotoviridae, онковирус [такой как, HBV (гепатоцеллюлярная карцинома), HPV (рак шейки матки, рак анального канала), ассоциированный с саркомой Капоши герпевирус (саркома Капоши), вирус Эпштейна-Барр (назофарингеальная карцинома, лимфома Беркитта, первичная лимфома центральной нервной системы), MCPyV (рак клеток Меркель), 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 центральной нервной системы: [такой как, JCV (прогрессирующая мультифокальная лейкоэнцефалопатия), MeV (подострый склерозирующий лейкоэнцефалит), LCV (лимфоцитарный хориоменингит), Arbovirus encephalitis, Orthomyxoviridae (возможно) (Encephalitis lethargica), RV (бешенство), вирус Chandipura, герпевирусный менингит, синдром Рамсея-Ханта тип II; поливирус (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) Orthomyxoviridae: вирус гриппа A/B/C (грипп/птичий грипп), парамиксовирус: вирусы парагриппа человека (парагрипп), RSV (респираторный синцитиальный вирус человека), hMPV]; вирус пищеварительной системы [MuV (паротит), цитомегаловирус (цитомегаловирусный эзофагит); аденовирус (аденовирусная инфекция); ротавирус, норовирус, астровирус, коронавирус; HBV (вирус гепатита B), CBV, HAV (вирус гепатита A), HCV (вирус гепатита C), HDV (вирус гепатита D), HEV (вирус гепатита E), HGV (вирус гепатита G)]; урогенитальный вирус [например, вирус BK, MuV (паротит)].

В соответствии с еще одной целью настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим конъюгат по изобретению вместе с фармацевтически приемлемым носителем, разбавителем или вспомогательным веществом для лечения раковых заболеваний, инфекций или аутоиммунных расстройств. Способ лечения раковых заболеваний, инфекций и аутоиммунных расстройств может применяться на практике in vitro, in vivo или ex vivo. 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 гемопоэтических 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

отбирают 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.

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА/ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ АГЕНТЫ ДЛЯ КОНЪЮГИРОВАНИЯ

Лекарственные средства, которые могут быть конъюгированы с молекулой, связывающейся с клеткой, настоящего изобретения, представляют собой низкомолекулярные лекарственные средства, включающие в себя цитотоксические агенты, которые могут быть связаны с или после их модификации для связывания с агентом, связывающимся с клеткой. Термин «низкомолекулярное лекарственное средство» широко используется в настоящем документе для обозначения органического, неорганического или металлоорганического соединения, которое может иметь молекулярную массу, например, от 100 до 4000, более подходящую от 200 до 3000. Низкомолекулярные лекарственные средства хорошо охарактеризованы в данной области техники, например, в WO05058367A2 и в патенте США № 4956303, среди прочего, и включены во всей своей полноте посредством ссылки. Лекарственные средства включают в себя известные лекарственные средства и те, которые могут стать известными лекарственными средствами.

Лекарственные средства, которые известны, включают в себя, но не ограничиваются ими,

1). Химиотерапевтические агенты: а). алкилирующие агенты: такие, как азотистые иприты: хлорамбуцил, хлорнафазин, циклофосфамид, дакарбазин, эстрамустин, ифосфамид, мехлоретамин, мехлорэтамин оксид гидрохлорид, манномустин, митобронитол, мельфалан, митолактол, пипоброман, новембихин, фенестерин, преднимустин, тиотепа, трофосфамид, урацильный иприт; СС-1065 (включая его синтетические аналоги адозелезин, карзелезин и бизелезин); дуокармицин (включая

синтетические аналоги, димеры KW-2189, CBI-TMI и CBI); димеры бензодиазепина (например, димеры пирролобензодиазепина (PBD) или томаймицина, индолинобензодиазепинов, имидазобензотиадиазепинов или оксазолидинобензодиазепинов); нитрозомочевины: (кармустин, ломустин, хлорозотоцин, фотемустин, нимустин, ранимустин); алкилсульфонаты: (бусульфан, треосульфан, импросульфан и пипосульфан); триазены: (дакарбазин); платиносодержащие соединения: (карбоплатин, цисплатин, оксалиплатин); азиридины, такие как бензодопа, карбоквон, метуредопа и уредопа; этиленимины и метиламеламины, включая алтретамин, триэтиленмеламин, триэтиленфосфорамид, триэтилентиофосфорамид и триметилоломеламин]; б) растительные алкалоиды: такие как алкалоиды барвинка: (винкристин, винбластин, виндезин, винорелбин, навелбин); таксоиды: (паклитаксел, доцетаксол) и их аналоги, майтансиноиды (DM1, DM2, DM3, DM4, майтансин и ансамитоцины) и их аналоги, криптофицины (особенно криптофицин 1 и криптофицин 8); эпотилоны, элеутеробин, дискодермолид, бриостатины, долостатины, ауристатины, тубулизины, цефалостатины; панкратистатин; эрбулины; саркодиктиин; спонгистатин; с). ингибиторы ДНК-топоизомеразы: такие как [эпиподофиллины: (9-аминокамптотецин, камптотецин, криснатол, дауномицин, этопозид, этопозид фосфат, иринотекан, митоксантрон, новантрон, ретиноевые кислоты (ретинолы), тенипозид, топотекан, 9-нитрокамптотецин (RFS 2000)); митомицины: (Митомицин С) и его аналоги]; d). анти-метаболиты: такие как {[анти-фолаты: ингибиторы DHFR: (метотрексат, триметрексат, деноптерин, птероптерин, аминоптерин (4-аминоптероевая кислота) или другие аналоги фолиевой кислоты); ингибиторы IMP-дегидрогеназы: (микофеноловая кислота, тиазофурин, рибавирин, EICAR); ингибиторы рибонуклеотидредуктазы: (гидроксимочевина, дефероксамин)]; [аналоги пиримидина: аналоги урацила: (анцитабин, азацитидин, 6-азауридин, капецитабин (кселода), кармофур, цитарабин, дидезоксуридин, доксифлуридин, эноцитабин, 5-фторурацил, флоксуридин, ратитрексед (томудекс)); аналоги цитозина: (цитарабин, цитозинарабинозид, флударабин); аналоги пурина: (азатиоприн, флударабин, меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин)]; восполнитель фолиевой кислоты, такой как фролиновая кислота}; и ингибиторы никотинамидфосфорибозилтрансферазы (NAMPT); е) гормональные терапии: такие как {антагонисты рецепторов: [антиэстрогены: (мегестрол, ралоксифен, тамоксифен); агонисты LHRH: (госкрклин, лейпролид ацетат); антиандрогены: (бикалутамид, флутамид, калустерон, дромостанолон пропионат, эпитиостанол, гозерелин, лейпролид, мепитиостан, нилутамид, тестолактон, трилостан и другие ингибиторы андрогенов)]; ретиноиды/дельтоиды: [аналоги витамина D3: (CB 1093, EB 1089 KH 1060,

холекальциферол, эргокальциферол); фотодинамическая терапия: (вертепорфин, фталоцианин, фотосенсибилизатор Pc4, деметоксигипокреллин 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, пегаптаниб, 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). ингибиторы поли(АДФ-рибозо)полимеразы (ПАРП), такие как олапариб, нирапариб, инипариб, талазопариб, велипариб, велипариб, CEP 9722 (цефалон), E7016 (Эизаи), BGB-290 (БеиГен), 3-аминобензамид;

h) антибиотики, такие как энедииновые антибиотики (например, калихеамицины, особенно калихеамицин γ1, δ1, α1 и β1, см., например, J. Med. Chem., 39 (11), 2103–2117 (1996), Angew Chem Intl. Ed. Engl. 33:183-186 (1994); динемицин, включая динемицин A и дезоксидинемицин; эсперамицин, кедарцидин, C-1027, мадуропептин, а также неокарзиностатиновый хромофор и родственные хромопротеиновые хромофоры энедииновых антиобиотиков), аклациномизины, актиномицин, аутрамицин, азасерин, блеомицины, кактиномицин, карабицин, карминомицин, карзинофилин; хромомицины, дактиномицин, даунорубицин, деторубицин, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцин, доксорубицин, морфолино-доксорубицин, цианоморфолино-доксорубицин, 2-пирролинодоксорубицин и дезоксидоксорубицин, эпирубицин, эзорубицин, идарубицин, марцелломицин, нитомицины, микофенолокислота , ногаламицин, оливомицины, пепломицин, потфиромицин, пуромицин, келамицин, родорубицин, стрептонигрин, стрептозоцин, туберцидин, убенимекс, зиностатин, зорубицин; i) другие: такие как поликетиды (ацетогенины), особенно булатацин и булатацинон; гемцитабин, эпоксомицины (например, карфилзомиб), бортезомиб, талидомид, леналидомид, помалидомид, тозедостат, зибрестат, PLX4032, STA-9090, стимувакс, алловектин-7, ксегева, провенж, йервой, ингибиторы изопренилирования (такие как ловастатин), допаминергичные нейротоксины (такие как 1-метил-4-фенилпиридиниевый ион), 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, эрибулин, пирарубицин, зорубицин, метоксантрон, ингибиторы MDR (такие как верапамил), ингибиторы Ca^{2+} -АТФазы (такие как тапсигаргин), ингибиторы

гистондеацетилазы (вориностат, ромидепсин, панобиностат, вальпруевая кислота, моцетиностат (MGCD0103), белиностат, PCI-24781, энтиностат, SB939, ресминостат, гивиностат, AR-42, CUDC-101, сульфорафан, трихостатин A); тапсигаргин, целекоксиб, глитазоны, эпигаллокатехин галлат, дисульфирам, салиноспорамид A .; антиадреналовые средства, такие как аминоглутетимид, митотан, трилостан; ацеглатон; альдофосфамидный гликозид; аминолевулиновая кислота; амсакрин; арабинозид, бестрабуцил; бизантрен; эдатраксат; дефофамин; демеколцин; диазиквон; эфлорнитин (DFMO), эльфомитин; эллиптиния ацетат, этоглюцид; нитрат галлия; гацитозин, гидроксимочевина; ибандронат, лентинан; лонидамин; митогуазон; митоксантрон; мопидамол; нитракрин; пентостатин; фенамет; пирарубицин; подофиллиновая кислота; 2-этилгидразид; прокарбазин; полисахарид-К (PSK®); разоксан; ризоксин; сизофиран; спирогерманий; тенуазоновая кислота; триазиквон; 2,2',2''-трихлортриэтиламин; трихотецены (особенно токсин Т-2, веррукарин А, роридин А и ангуидин); уретан, миРНК, антисмысловые лекарственные средства и нуклеолитический фермент.

2). Агент против аутоиммуных заболеваний включает в себя, но не ограничивается ими, циклоспорин, циклоспорин А, аминокапроновую кислоту, азатиоприн, бромокриптин, хлорамбуцил, хлорохин, циклофосфамид, кортикостероиды (например, амцинониды, бетаметазон, будезониды, гидрокортизон, флунизолид, флутиказон пропионат, флуокортолон даназол, дексаметазон, триамцинолона ацетонид, беклометазона дипропионат), DHEA (ДГЭА), энанерцепт, гидроксихлорохин, инфликсимаб, мелоксикам, метотрексат, мофетил, микофенилат, преднизон, сиролимус, такролимус.

3). Агент против инфекционного заболевания включает в себя, но не ограничивается ими, a). аминогликозиды: амикацин, астромицин, гентамицин (нетилмицин, сизомицин, изепамицин), гигромицин B, 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: биапенем, дорипенем, эртапенем, имипенем/циластатин, меропенем, панипенем; e). Цефемы: карбацефем (лоракарбеф), цефацетрил, цефаклор, цефрадин, цефадроксил, цефалониум, цефалоридин, цефалотин или цефалосин, цефалексин, цефалоглицин, цефамандол, цефапирин, цефатризин, цефазафлур, цефаседон, 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, цефуроксим, цефузонам, цефамицин (цефокситин, цефотетан, цефметазол), оксацефем (фломоксеф, латамоксеф); f). гликопептиды: блеомицин, ванкомицин (оритаванцин, телаванцин), тейкопланин (далбаванцин), рамопланин; g). Глицилциклины: например. тигециклин; g). Ингибиторы β-лактамаз: 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, флуритромицин, 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 B; 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). стрептограмины: пристинамицин, хинупристин/дальфопристин); r). сульфонамиды: мафенид, пронтозил, сульфацетамид, сульфаметизол, сульфанилимид, сульфасалазин, сульфизоксазол, триметоприм, триметоприм-сульфаметоксазол (котримоксазол); s). стероидные антибактериальные средства: например, фузидиевая кислота; t). тетрациклины: доксициклин, хлортетрациклин, кломоциклин, 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, эпотилон, 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). Антивирусные лекарственные средства: a). ингибиторы входа/слияния: аплавирок, маравирок, викривирок, gp41 (энфувиртид), PRO 140, CD4 (ибализумаб); b). ингибиторы интегразы: ралтегравир, элвитегравир, глобоиднан A; c). ингибиторы созревания: бевиримат, вивекон; d). ингибиторы нейраминидазы **:** осельтамивир, занамивир, перамивир; e). Нуклеозиды и нуклеотиды: абакавир, ацикловир, адефовир, амдоксовир, априцитабин, бривудин, цидофовир, клевудин, дексельвуцитабин, диданозин (ddI), элвуцитабин, 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-l-2'-дезоксицитидин), пенцикловир, рацивир, рибавирин, стампидин, ставудин (d4T), тарибавирин (вирамидин), телбивудин, тенофовир, трифлуридин валацикловир, валганцикловир, зальцитабин (ddC), зидовудин (AZT); f). Не-нуклеозиды: амантадин, атевиридин, каправирин, диарилпиримидины (этравирин, рилпивирин), делавирдин, докозанол, эмивирин, эфавиренц, фоскарнет (фосфономуравьина кислота), имиквимод, интерферон-альфа, ловирид, 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, телапревир (VX-950), типранавир; h). Другие типы антивирусных лекарственных средств: абзим, арбидол, каланолид A, церагенин, циановирин-н, диарилпиримидины, эпигаллокатехин галлат (EGCG), фоскарнет, гриффитсин, тарибавирин (вирамидин), гидроксимочевина, KP-1461, милтефозин, плеконарил, комбинированные гибридные ингибиторы рибавирин, селицилиб.

5). Лекарственные средства, используемые для конъюгатов, соединенных через бис-линкер, по настоящему изобретению, также включают радиоизотопы. Примерами радиоизотопов (радионуклидов) являются ^{3}H, ^{11}C, ^{14}C, ^{18}F, ^{32}P, ^{35}S, ^{64}Cu, ^{68}Ga, ^{86}Y, ^{99}Tc, ^{111}In, ^{123}I, ^{124}I, ^{125}I, ^{131}I, ^{133}Xe, ^{177}Lu, ^{211}At или ^{213}Bi. Радиоизотопно-меченные антитела полезны в экспериментах по нацеленной визуализации рецепторов, или могут быть

использованы для нацеленного лечения, такого как конъюгаты антитело-лекарственное средство по изобретению (Wu et al (2005) Nature Biotechnology 23(9): 1137-46). Молекулы, связывающиеся с клеткой, например, антителом, могут быть меченными реагентами лигандами через мостиковые линкеры по настоящему патенту, которые связывают, хелатируют или иным образом образуют комплекс с радиоактивным изотопом металла, используя методики, описанные в Current Protocols in Immunology, Volumes 1 and 2, Coligen et al, Ed. Wiley-Interscience, New York, Pubs. (1991). Хелатирующие лиганды, которые могут образовывать комплекс с ионом металла, включают в себя DOTA, DOTP, DOTMA, DTPA и TETA (Macrocyclics, Даллас, Техас, США).

6). Фармацевтически приемлемые соли, кислоты, производные, гидратная или гидратированная соль; или кристаллическая структура; или оптический изомер, рацемат, диастереомер или энантиомер любого из вышеуказанных лекарственных средств.

В другом варианте осуществления молекула лекарственного средства/цитотоксическая молекула в Формуле (I) и/или (II) может представлять собой молекулу хромофора, таким образом конъюгат можно использовать для обнаружения, мониторинга или изучения взаимодействия молекулы, связывающейся с клеткой, с клеткой-мишенью. Молекулы хромофора представляют собой соединения, которые обладают способностью поглощать свет, такой как УФ-свет, флуоресцентный свет, ИК-свет, ближний ИК-свет, визуальный свет; Молекула хроматофоров включает класс или подкласс ксантофоров, эритрофоров, иридофоров, лейкофоров, меланофоров и цианофоров; класс или подкласс молекул флуорофоров, которые представляют собой флуоресцентные химические соединения, повторно излучающие свет на свет; класс или подкласс молекул зрительной фототрансдукции; класс или подкласс молекул фотофоров; класс или подкласс люминесцентных молекул; и класс или подкласс соединений люциферина.

Молекула хромофора может быть выбрана из, но не ограничиваясь ими, небелковых органических флуорофоров, такими как: производные ксантена (флуоресцеин, родамин, орегоновый зеленый, эозин и техаский красный); производных цианина: (цианин, индокарбоцианин, оксакарбоцианин, тиакарбоцианин и мероцианин); производных скварина и замещенных в кольце сквараинов, включая красители Seta, SeTau и Square; производных нафталина (производные дансила и продана); производных кумарина; производных оксадиазола (пиридилоксазол, нитробензоксадиазол и бензоксадиазол); производных антрацена (антрахиноны, включая DRAQ5, DRAQ7 и CyTRAK Orange); производных пирена (каскадный синий и др.); производных оксазина (нильский красный, нильский синий, крезиловый фиолетовый, оксазин 170 и т. д.), производных акридина

(профлавин, акридиновый оранжевый, акридиновый желтый и др.), производных арилметина (аурамин, кристаллический фиолетовый, малахитовый зеленый), производных тетрапиррола (порфин, фталоцианин, билирубин).

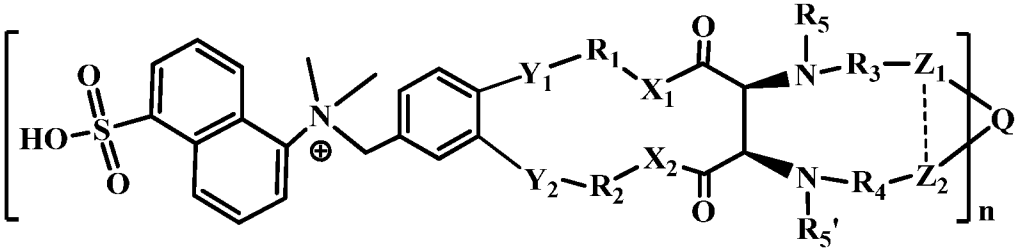
Или молекула хромофора может быть выбрана из любых аналогов и производных следующих флуорофорных соединений: CF краситель (Biotium), зонды DRAQ и CyTRAK (BioStatus), BODIPY (Invitrogen), Alexa Fluor (Invitrogen), DyLight Fluor (Thermo Scientific, Pierce), Atto и Tracy (Sigma Aldrich), FluoProbes (Interchim), красители Abberior (Abberior), красители DY и MegaStokes (Dyomics), красители Sulfo Cy (Cyandye), HiLyte Fluor (AnaSpec), красители Seta, SeTau и Square (SETA BioMedicals), красители Quasar и Cal Fluor (Biosearch Technologies), красители SureLight (APC, RPEPerCP, Phycobilisomes) (Columbia Biosciences), APC, APCXL, RPE, BPE (Phyco-Biotech).

Примеры широко используемых флуорофорных соединений, которые являются реакционноспособными или конъюгируемыми с линкерами по изобретению, представляют собой: аллофикоцианин (APC), аминокумарин, конъюгаты APC-Cy7, BODIPY-FL, Cascade Blue, Cy2, Cy3, Cy3.5, Cy3B, Cy5, Cy5.5, Cy7, флуоресцеин, FluorX, гидроксикумарин, IR-783, лисамин родамин B, люциферинoвый желтый, метоксикумарин, NBD, Pacific Blue, Pacific Orange, конъюгаты PE-Cy5, конъюгаты PE-Cy7, PerCP, R-фикоэритрин (PE), красный 613, Seta-555-азид, Seta-555-DBCO, Seta-555-NHS, Seta-580-NHS, Seta-680-NHS, Seta-780-NHS, Seta-APC-780, Seta-PerCP-680, Seta-R-PE-670, SeTau-380-NHS, SeTau-405-малеимид, SeTau-405-NHS, SeTau-425-NHS, SeTau-647-NHS, техаский красный, TRITC, TruRed, X-родамин.

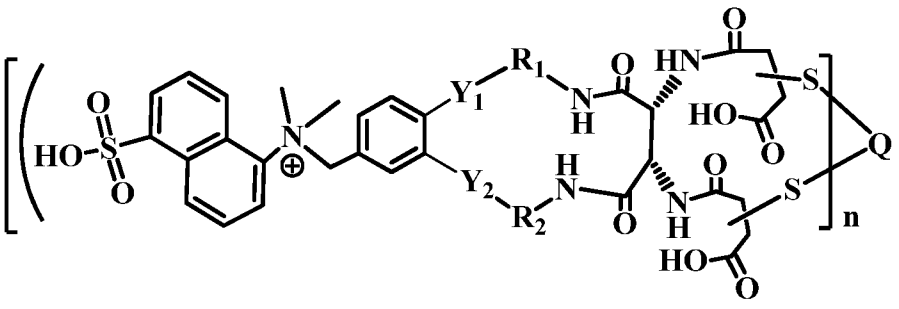
Флуорофорные соединения, которые могут быть связаны с линкерами по изобретению для исследования нуклеиновых кислот или белков, выбраны из следующих соединений или их производных: 7-AAD (7-аминоактиномицин D, CG-селективный), акридиновый оранжевый, хромомицин A3, CyTRAK оранжевый (Biostatus, красный свет возбуждения темный), DAPI, DRAQ5, DRAQ7, бромид этидия, Hoechst33258, Hoechst33342, LDS 751, митрамицин, пропидиум йодид (PI), SYTOX Blue, SYTOX Green, SYTOX Orange, тиазольный оранжевый, TO-PRO: цианиновый мономер, TOTO-1, TO-PRO-1, TOTO-3, TO-PRO-3, YOSeta-1, YOYO-1. Флуорофорные соединения, которые могут быть связаны с линкерами по изобретению для исследования клеток, выбраны из следующих соединений или их производных: DCFH (2'7'-дихородигидрофлуоресцеин, окисленная форма), DHR (дигидрородамин 123, окисленная форма, свет катализирует окисление), Fluo-3 (AM сложный эфир: pH > 6), Fluo-4 (AM сложный эфир pH 7.2), Indo-1 (AM сложный эфир, низкий/высокий уровень кальция (Ca2+)) и SNARF (pH 6/9). Предпочтительные флуорофорные соединения, которые могут быть связаны с линкерами по изобретению для

исследования белков/антител, выбраны из следующих соединений или их производных: аллофикоцианин (APC), AmCyan1 (тетрамер, Clontech), AsRed2 (тетрамер, Clontech), Azami Green (мономер, MBL), азурит, B-фикоэритрин (BPE), Cerulean, CyPet, мономер DsRed (Clontech), DsRed2 («RFP», Clontech), EBFP, EBFP2, ECFP, EGFP (слабый димер, Clontech), Emerald (слабый димер, Invitrogen), EYFP (слабый димер, Clontech), GFP (мутация S65A), GFP (мутация S65C), GFP (S65L мутация), GFP (мутация S65T), GFP (мутация Y66F), GFP (мутация Y66H), GFP (мутация Y66W), GFPuv, HcRed1, J-Red, Katusha, Kusabira Orange (мономер, MBL), mCFP, mCherry, mCitrine , Midoriishi Cyan (димер, MBL), mKate (TagFP635, мономер, Evrogen), mKeima-Red (мономер, MBL), mKO, mOrange, mPlum, mRaspberry, mRFP1 (мономер, Tsien lab), mStrawberry, mTFP1, mTurquoise2, P3 (комплекс фикобилизомы), Peridinin Chlorophyll (PerCP), R-фикоэритрин (RPE), T-Sapphire, TagCFP (димер, Evrogen), TagGFP (димер, Evrogen), TagRFP (димер, Evrogen), TagYFP (димер, Evrogen), tdTomato (тандемный димер), Topaz, TurboFP602 (димер, Evrogen), TurboFP635 (димер, Evrogen), TurboGFP (димер, Evrogen), TurboRFP (димер, Evrogen), TurboYFP (димер, Evrogen), Venus, GFP дикого типа, YPet, ZsGreen1 (тетрамер, Clontech), ZsYellow1 (тетрамер, Clontech).

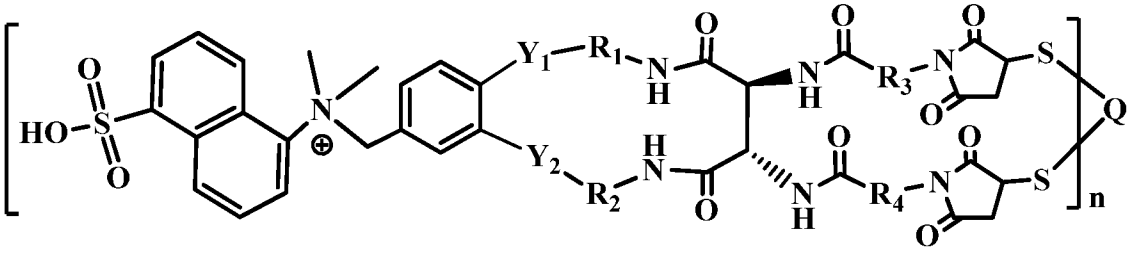
Примеры структуры конъюгатов молекул антитело-хромофор через мостиковый линкер представляют собой следующие: Ac01, Ac02, Ac03, Ac04, Ac05, Ac06 и Ac07, Ac08, Ac09, Ac010 и Ac11:



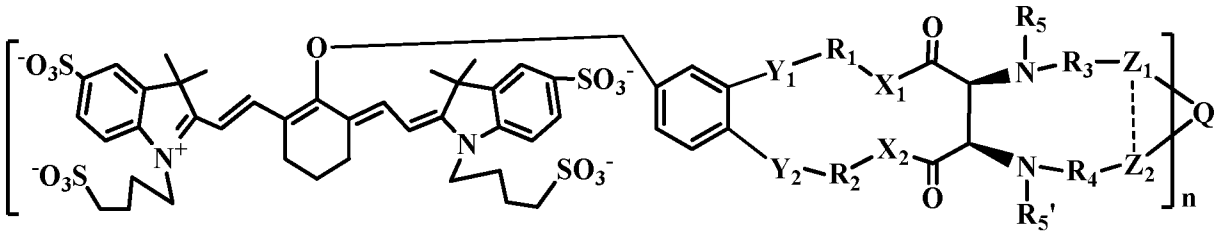
Ac01,



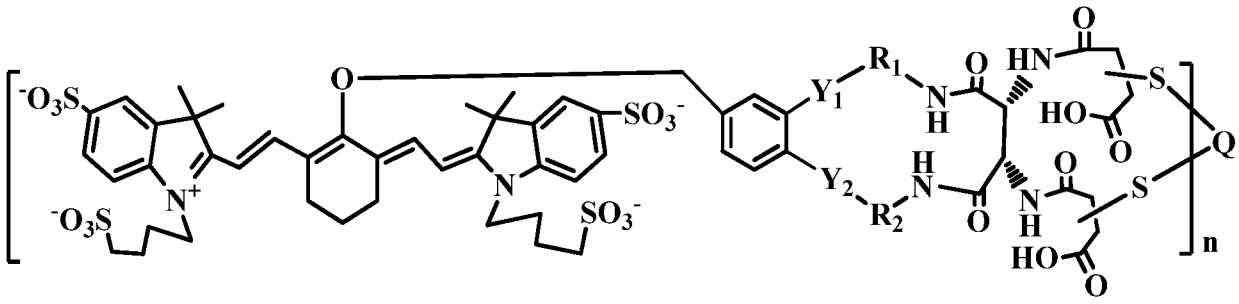
Ac02,



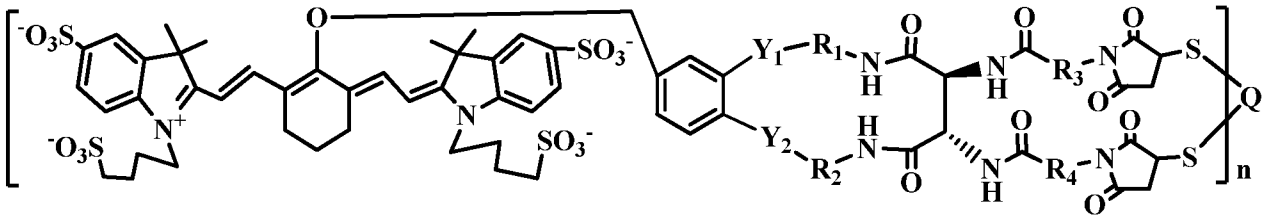
Ac03,



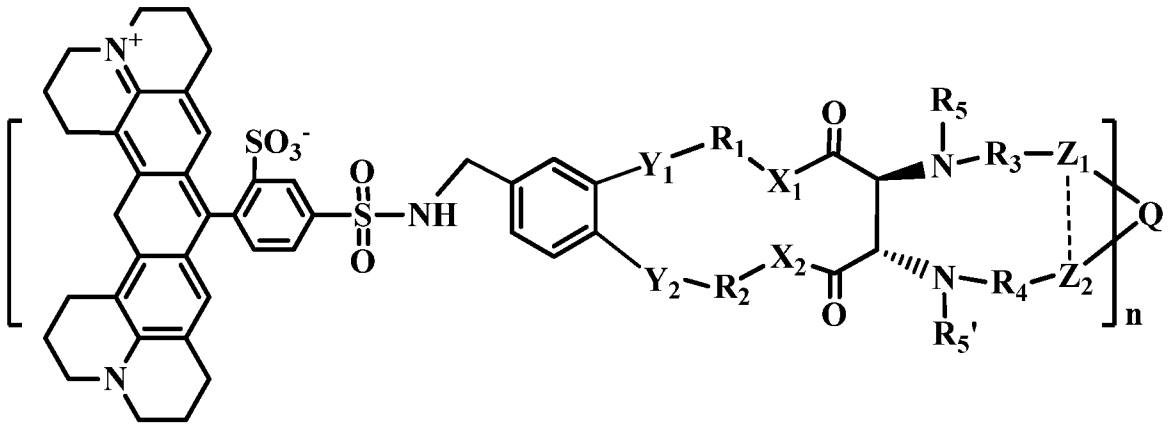
Ac04,



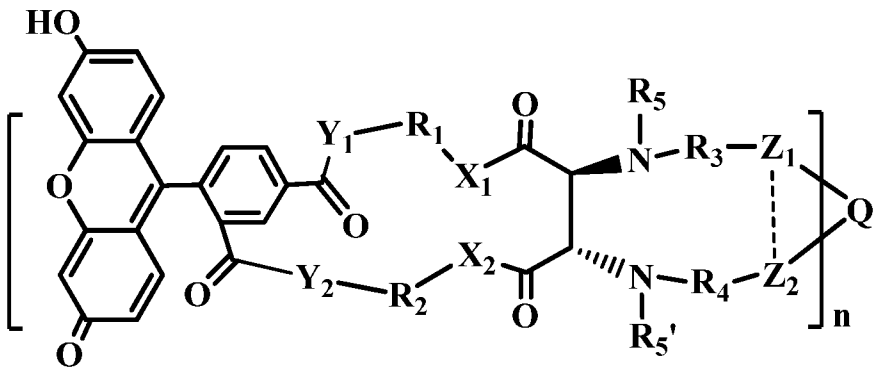
Ac05,



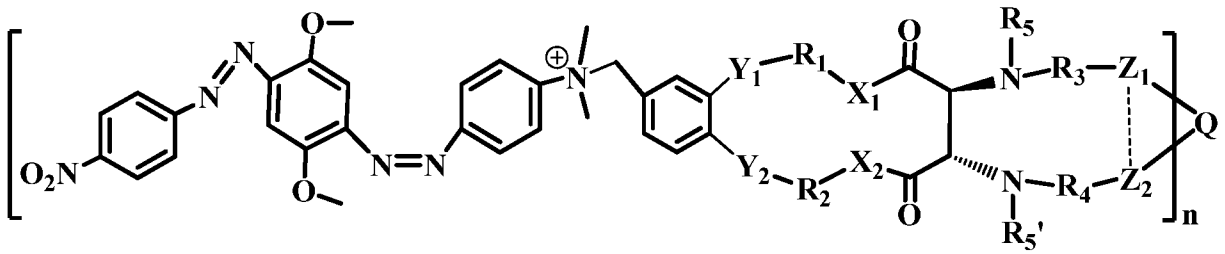
Ac06,



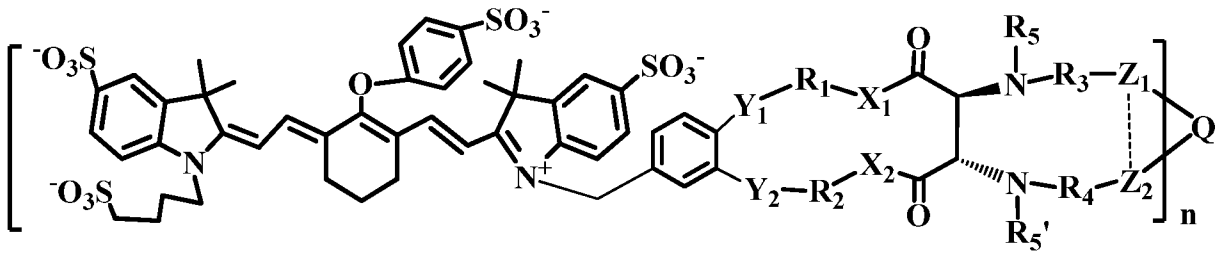
Ac07,,



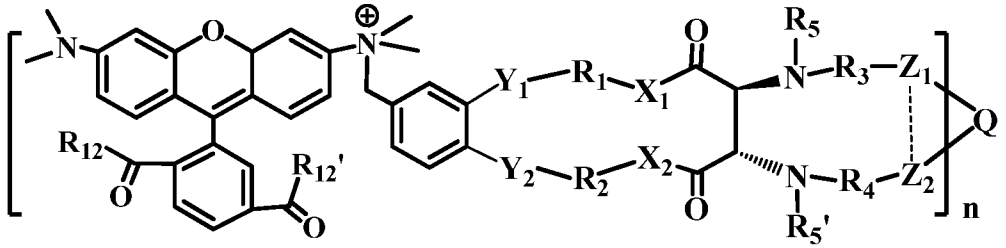
Ac08,



Ac09,



Ac10 (конъюгат IR800CW)



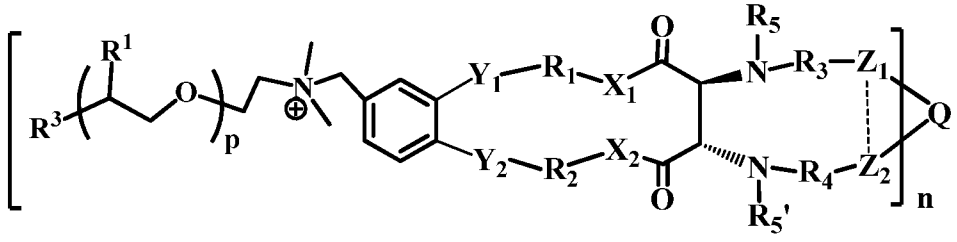
Ac11,

где"-----", Q, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, и n определены так же, как указано выше; R_{12} и R_{12}' независимо представляют собой OH, NH_2, NHR_1, $NHNH_2$, NHNHCOOH, O-R_1-COOH, NH-R_1-COOH, NH-$(Aa)_n$COOH, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2OH$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2COOH$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2COOH$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHSO_3H$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHSO_3H$, R_1-$NHSO_3H$, NH-R_1-$NHSO_3H$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, R_1-$NHPO_3H_2$, R_1-OPO_3H_2, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2OPO_3H_2$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, OR_1-$NHPO_3H_2$, NH-R_1-$NHPO_3H_2$, NH-Ar-COOH, NH-Ar-NH_2, где p = 0-5000, Aa представляет собой аминокислоту, $(Aa)_n$ содержит одинаковые или разные, природные или неприродные аминокислоты, n = 1-30.

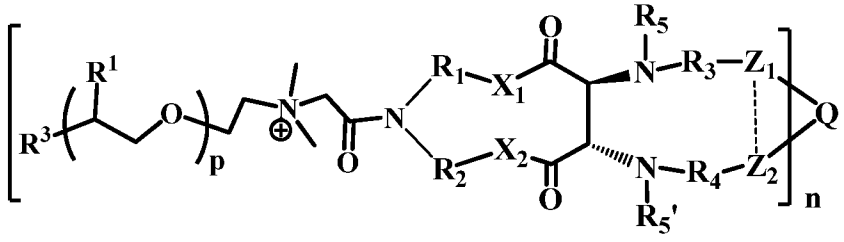
В другом варианте реализации лекарственное средство Формулы (I), (II), (III) и (IV) может представлять собой полиалкиленгликоли, которые используются для увеличения периода полужизни связывающей клетки молекулы при введении млекопитающему. Полиалкиленгликоли включают в себя, но не ограничиваются ими, поли(этиленгликоли) (ПЭГ), поли(пропиленгликоль) и сополимеры этиленоксида и пропиленоксида; особенно предпочтительными являются ПЭГ, и более особенно предпочтительными являются монофункционально активированные гидроксиПЭГ (например, гидроксильные ПЭГ,

активированные на одном конце, включая реакционноспособные сложные эфиры гидроксиПЭГ-монокарбоновых кислот, гидроксиПЭГ-моноальдегиды, гидроксиПЭГ-моноамины, гидроксиПЭГ-моногидразиды, , гидроксиПЭГ-монокарбазаты, гидроксиПЭГ-моноиодоацетамиды, гидроксиПЭГ-мономалеимиды, гидроксиПЭГ-моноортопиридилдисульфиды, гидроксиПЭГ-монооксимы, гидроксиПЭГ-монофенилкарбонаты, гидроксиПЭГ-монофенилглиоксали, гидроксиПЭГ-монотиазолидин-2-оны, гидроксиПЭГ-монотиосложные эфиры, гидроксиПЭГ-монотиолы, гидроксиПЭГ-монотриазины и гидроксиПЭГ-моновинилсульфоны).

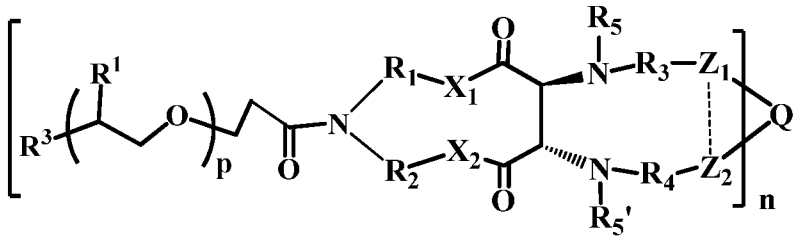
В некоторых таких вариантах осуществления полиалкиленгликоль имеет молекулярную массу от около 10 Дальтон до около 200 кДа, предпочтительно от около 88 Да до около 50 кДа; две ветви, каждая с молекулярной массой от около 88 Да до около 50 кДа; и более предпочтительно две ветви, каждая от около 88 Да до около 20 кДа. В одном конкретном варианте осуществления полиалкиленгликоль представляет собой поли(этилен)гликоль и имеет молекулярную массу около 10 кДа; около 20 кДа или около 40 кДа. В конкретных вариантах осуществления ПЭГ представляет собой ПЭГ 10 кДа (линейный или разветвленный), ПЭГ 20 кДа (линейный или разветвленный) или ПЭГ 40 кДа (линейный или разветвленный). В ряде патентов США раскрыто получение линейных или разветвленных «неантигенных» ПЭГ полимеров и их производных или конъюгатов, например, в патентах США № 5428128; 5621039; 5622986; 5643575; 5728560; 5730990; 5738846; 5811076; 5824701; 5840900; 5880131; 5900402; 5902588; 5919455; 5951974; 5965119; 5965566; 5969040; 5981709; 6011042; 6042822; 6113906; 6127355; 6132713; 6177087 и 6180095. Структура конъюгатов антитело-полиалкиленгликоль связанных через мостиковый линкер является следующей: Pg01, Pg02 и Pg03.



Pg01



Pg02



Pg03

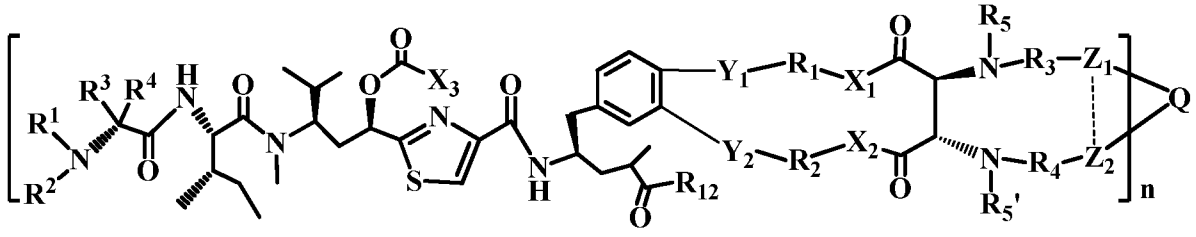
где "-----", Q, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, и n определены так же, как и выше; Предпочтительно Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, S, C(O)O, C(O)NH, OC(O)NH, OC(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)S, OC(O)N(R_1), N(R_1)C(O)N(R_1), CH, C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1; p равно 1-5000; R^1 и R^3 определены так же, как, как R^1 выше, и предпочтительно R^1 и R^3 независимо представляют собой H, OH, OCH_3, CH_3 или OC_2H_5.

В еще одном варианте предпочтительными цитотоксическими агентами, которые конъюгированы с клеточно-связывающей молекулой через мостиковый линкер по этому патенту, являются тубулизины, майтанзиноиды, таксаноиды (таксаны), аналоги CC-1065, соединения даунорубицина и доксорубицина, аматоксины (включая аманитины), индолкарбоксамид, бензодиазепиновые димеры (например, димеры пирролобензодиазепин (PBD), томаймицин, антрамицин, индолинобензодиазепины, имидазобензотиадиазепины или оксазолидинобензодиазепины, калихеамицины и энедииновые антибиотики, актиномицин, азасеринсиринсоцинма, эпитамицины, мазеринсиринсоцин, блеомицин, мезеринсиринсодержащий каучук ауристатин PYE, ауристатин TP, ауристатины 2-AQ, 6-AQ, EB (AEB) и EFP (AEFP) и их аналоги), дуокармицины, гелданамицины или другие HSP90 ингибиторы, центанамицин, метотрексаты, тиотепа, виндезины, винкристины, эрбулины, гемиастерлины, назумамиды, микрогинины, радиозумины, стрептонигтин, SN38 или другие аналоги или метаболиты камптотекинов, альтеробактины, микросклеродермины, теонелламиды, эсперамицины, PNU-159682; и их аналоги или производные, фармацевтически приемлемые соли, кислоты, производные, гидрат или гидратированная соль; или кристаллическая структура; или оптический изомер, рацемат, диастереомер или энантиомер любого из указанных выше лекарственных средств.

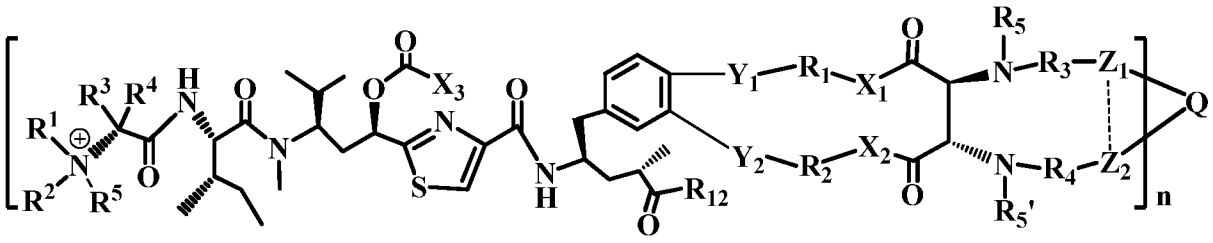
Тубулизины, которые являются предпочтительными для конъюгирования в настоящем изобретении, хорошо известны в данной области техники и могут быть выделены из природных источников в соответствии с известными способами или получены синтетически в соответствии с известными способами (например, Balasubramanian R., et al. J. Med. Chem., 2009, 52, 238–40; Wipf, P., et al. Org. Lett., 2004, 6, 4057–60; Pando, O., et al. J. Am. Chem. Soc., 2011, 133, 7692–5; Reddy, J. A., et al. Mol.

Pharmaceutics, 2009, 6, 1518–25; Raghavan, B., et al. J. Med. Chem., 2008, 51, 1530–33; Patterson, A. W., et al. J. Org. Chem., 2008, 73, 4362–9; Pando, O., et al. Org. Lett., 2009, 11 (24), 5567–9; Wipf, P., et al. Org. Lett., 2007, 9 (8), 1605–7; Friestad, G. K., Org. Lett.,2004, 6, 3249–52; Peltier, H. M., et al. J. Am. Chem. Soc., 2006, 128, 16018–9; Chandrasekhar, S., et al J. Org. Chem., 2009, 74, 9531–4; Liu, Y., et al. Mol. Pharmaceutics, 2012, 9, 168–75; Friestad, G. K., et al. Org. Lett., 2009, 11, 1095–8; Kubicek, K., et al., Angew Chem Int Ed Engl, 2010.49: 4809-12; Chai, Y., et al., Chem Biol, 2010, 17: 296-309; Ullrich, A., et al., Angew Chem Int Ed Engl, 2009, 48, 4422-5; Sani, M., et al. Angew Chem Int Ed Engl, 2007, 46, 3526-9; Domling, A., et al., Angew Chem Int Ed Engl, 2006, 45, 7235-9; Patent applications: Zanda, M., et al, Can. США Appl. CA 2710693 (2011); Chai, Y., et al. Eur. США Appl. 2174947 (2010), WO 2010034724; Leamon, C. et al, WO2010033733, WO 2009002993; Ellman, J., et al, PCT WO2009134279; WO 2009012958, US appl. 20110263650, 20110021568; Matschiner, G., et al, WO2009095447; Vlahov, I., et al, WO2009055562, WO 2008112873; Low, P., et al, WO2009026177; Richter, W., WO2008138561; Kjems, J., et al, WO 2008125116; Davis, M.; et al, WO2008076333; Diener, J.; et al, U.S. Pat.Appl. 20070041901, WO2006096754; Matschiner, G., et al, WO2006056464; Vaghefi, F., et al, WO2006033913; Doemling, A., Ger. Offen. DE102004030227, WO2004005327, WO2004005326, WO2004005269; Stanton, M., et al, U.S. Pat. Appl. Publ. 20040249130; Hoefle, G., et al, Ger. Offen. DE10254439, DE10241152, DE10008089; Leung, D., et al, WO2002077036; Reichenbach, H., et al, Ger. Offen. DE19638870; Wolfgang, R., US20120129779; Chen, H., US appl. 20110027274. Предпочтительные структуры тубулизинов для конъюгирования молекул, связывающихся с клеткой, описаны в патентной заявке PCT/IB2012/053554.

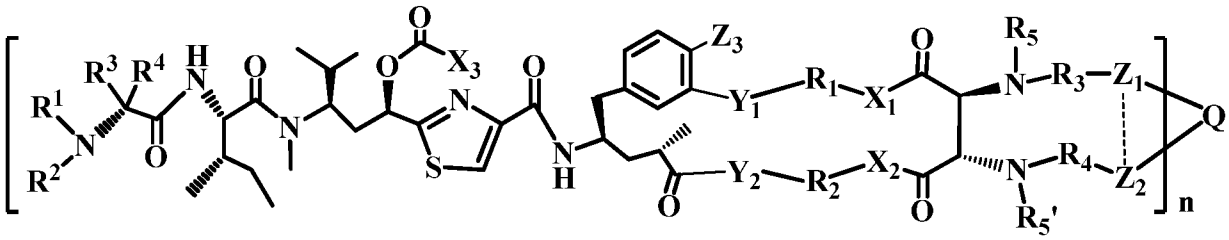
Примеры структур конъюгатов аналогов антитело-тубулизин через бис-линкер являются T01, T02, T03, T04, T05, T06 T07, T08, T09, T10, T11, T12, T13, T14, T15, T16 T017 , T18, T19, T20, T21, T22 и T23 указанные ниже:



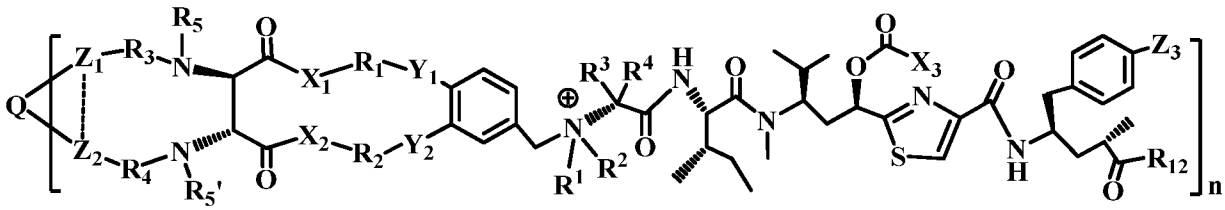
T01,



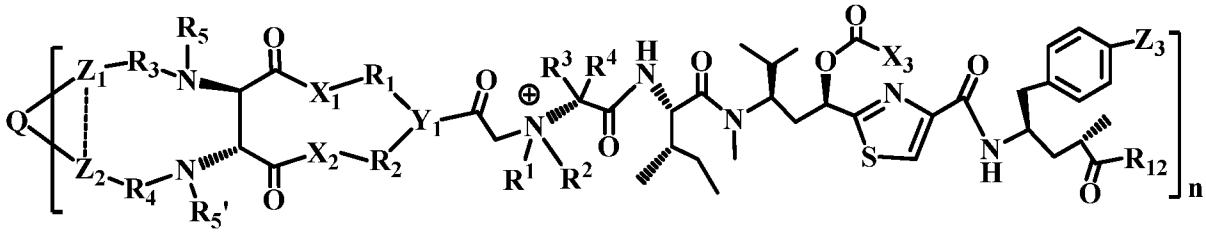
T02,



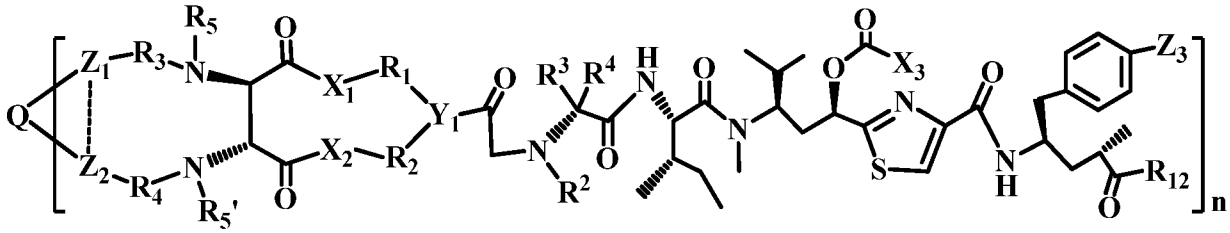
T03,



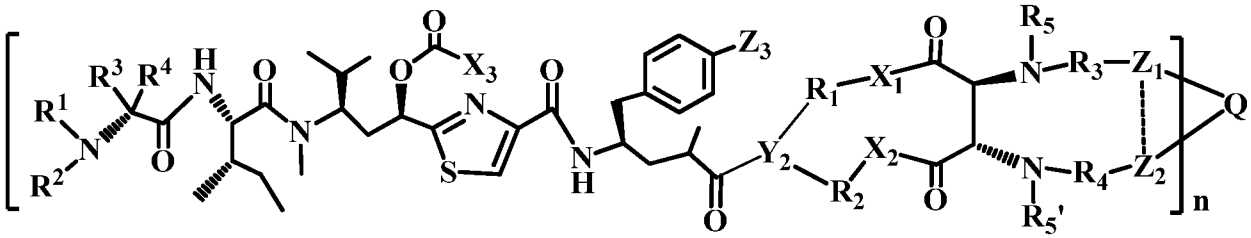
T04,



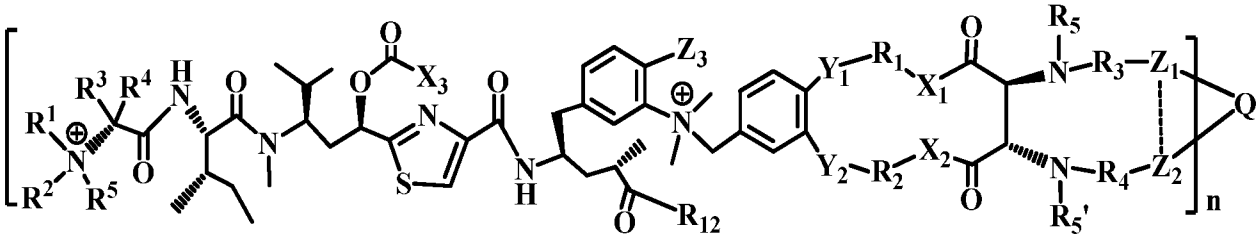
T05



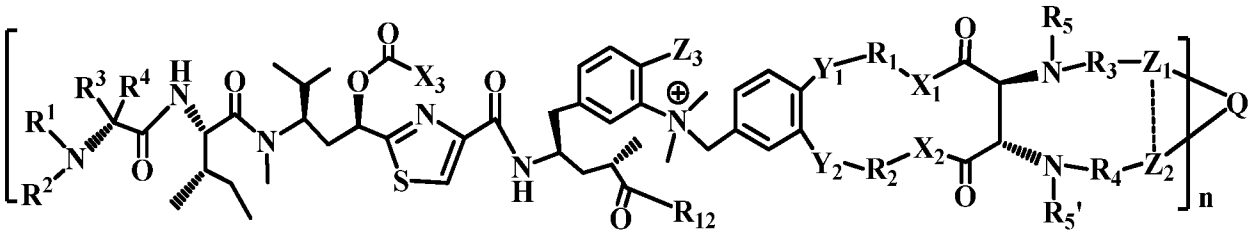
T06



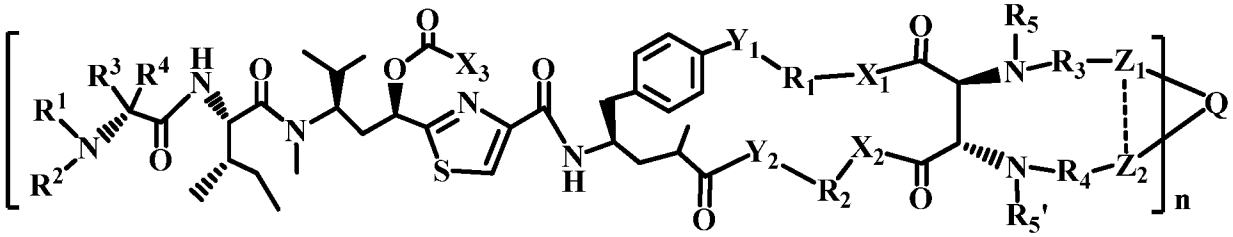
T07



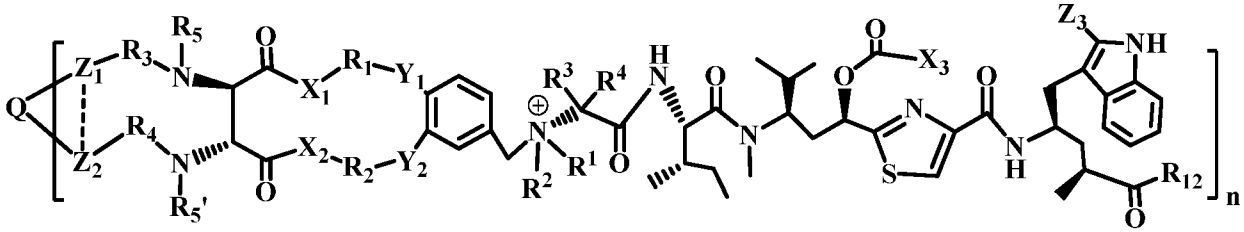
T08



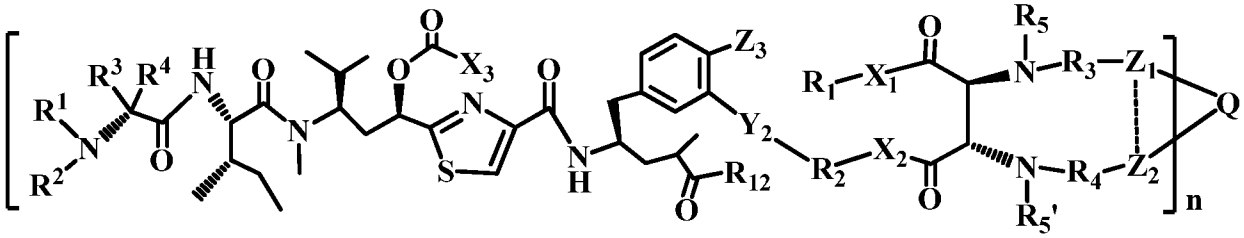
T09



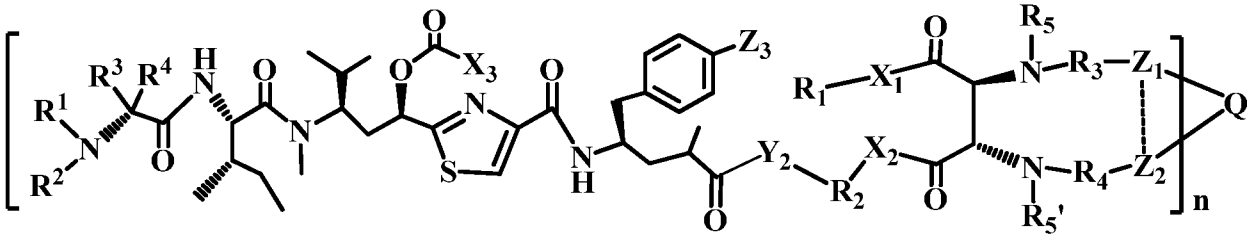
T10



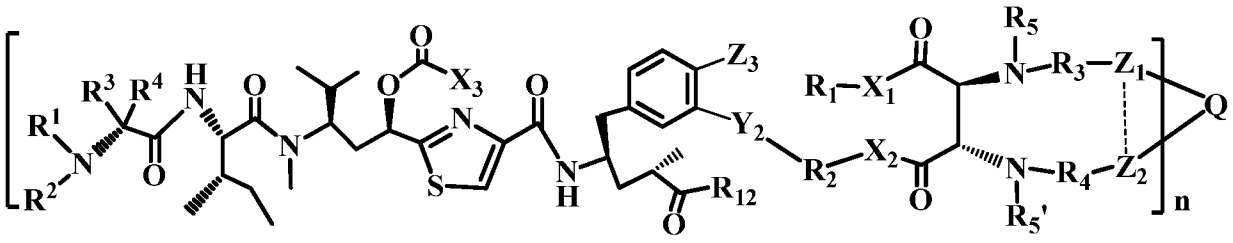
T11,



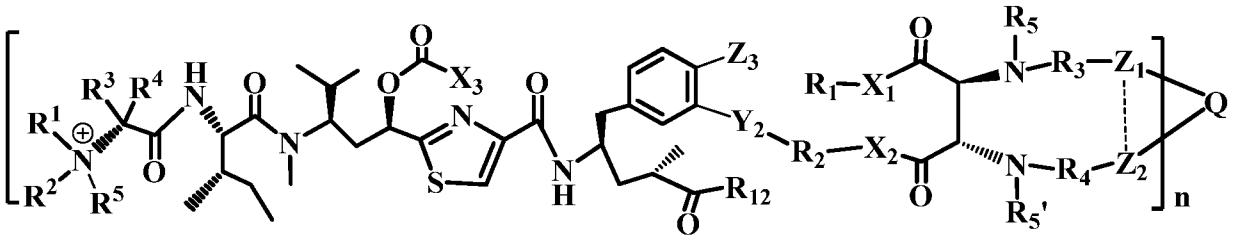
T12,



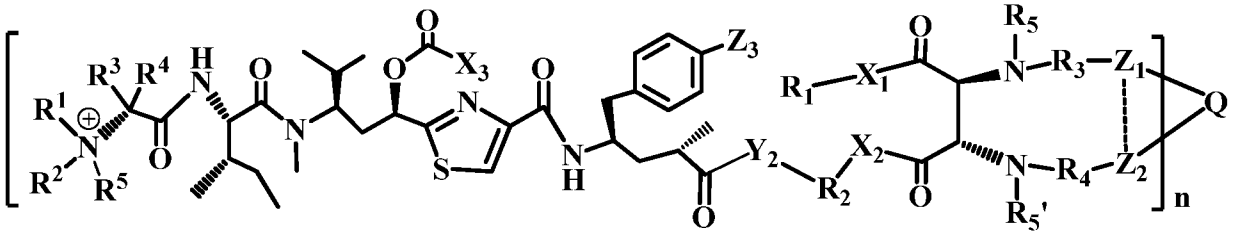
T13,



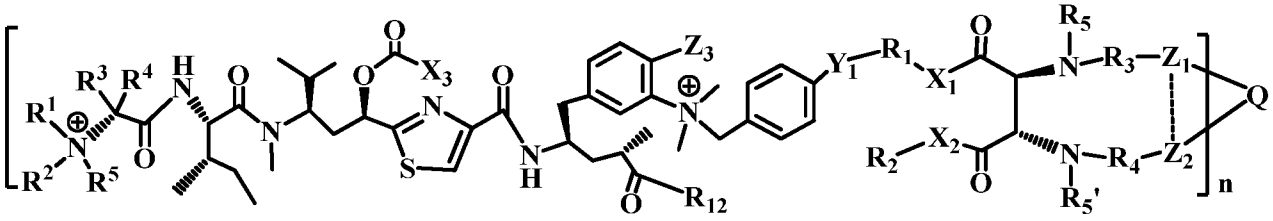
T14,



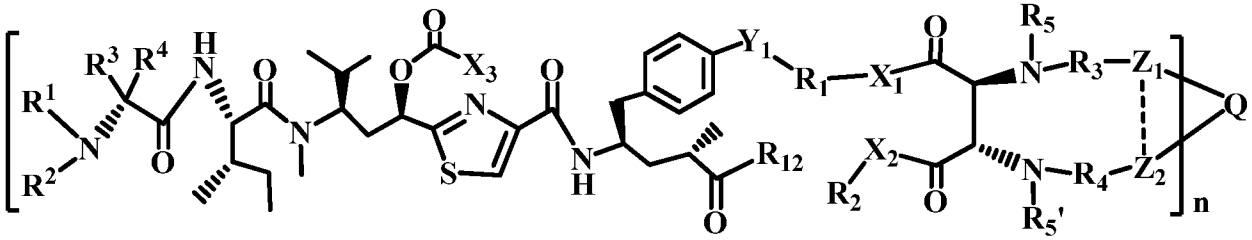
T15,



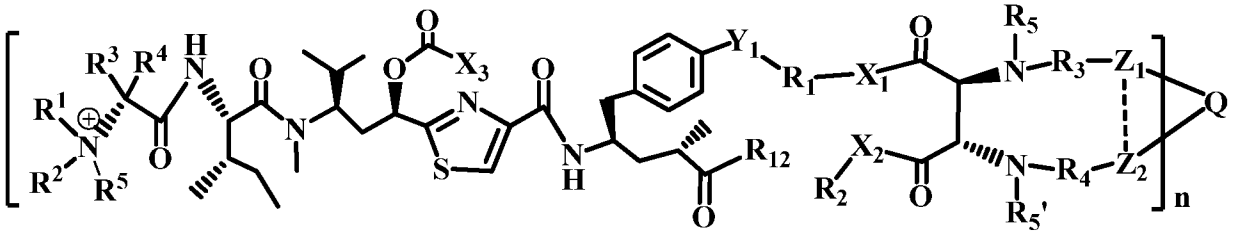
T16,



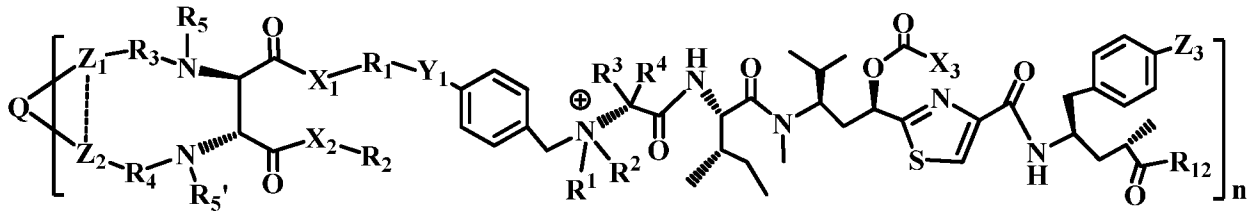
T17,



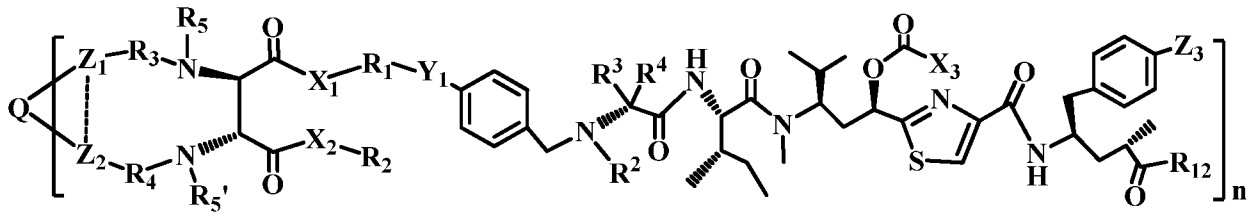
T18,



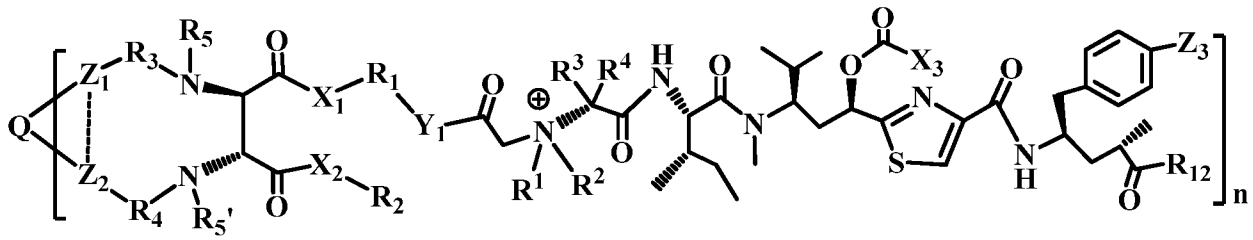
T19,



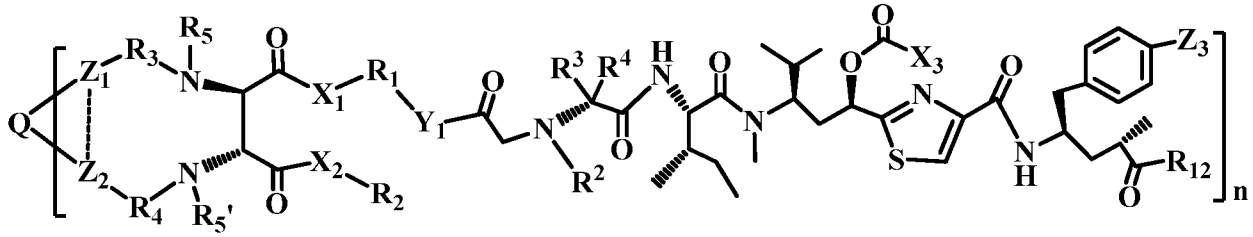
T20,



T21,



T22,

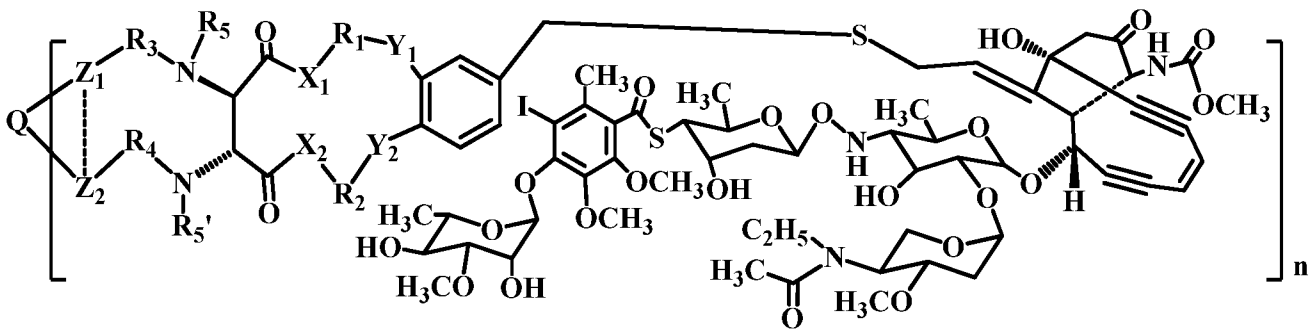


T23,

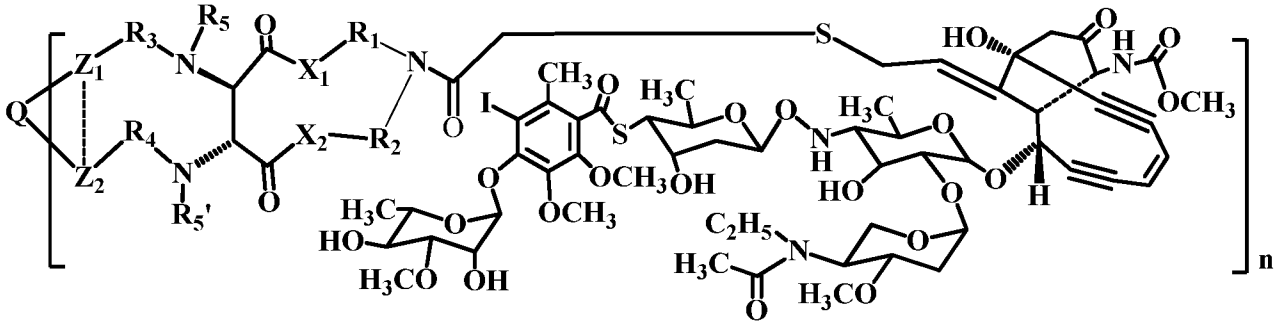
где "-----", Q, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, и n определены так же, как и выше; Предпочтительно Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, S, C(O)O, C(O)NH, OC(O)NH, OC(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)S, OC(O)N(R_1), N(R_1)C(O)N(R_1), CH, C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1; mAb представляет собой антитело, предпочтительно моноклональное антитело; R_{12} представляет собой OH, NH_2, NHR_1, $NHNH_2$, NHNHCOOH, O-R_1-COOH, NH-R_1-COOH, NH-$(Aa)_n$COOH, O$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2OH$, O$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, NH$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, NR_1R_1', NHOH, NHOR_1, O$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2COOH$, NH$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2COOH$, NH-Ar-COOH, NH-Ar-$NH_2$, O$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHSO_3H$, NH$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHSO_3H$, R_1-$NHSO_3H$, NH-R_1-$NHSO_3H$, O$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, NH$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, O$R_1$, R_1-$NHPO_3H_2$, R_1-OPO_3H_2, O$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2OPO_3H_2$, O$R_1$-$NHPO_3H_2$, NH-$R_1$-$NHPO_3H_2$, NH$(CH_2CH_2NH)_pCH_2CH_2NH_2$, NH$(CH_2CH_2S)_pCH_2CH_2NH_2$, NH$(CH_2CH_2NH)_pCH_2CH_2OH$, NH$(CH_2CH_2S)_pCH_2CH_2OH$, NH-$R_1$-$NH_2$, или NH$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, где Aa

представляет собой 1-8 аминокислоты; n равно 1-20; p равно 1-5000; R^1, $R^{1'}$, R^2, R^3, R^4 и R^5 независимо представляют собой H, C_1-C_8 линейный или разветвленный алкил, амид или амины; C_2-C_8 арил, алкенил, алкинил, гетероарил, гетероалкил, алкилциклоалкил, сложный эфир, простой эфир, гетероциклоалкил или ацилоксиламины; или пептиды, содержащие 1-8 аминокислот, или полиэтиленокси-звено, имеющее формулу $(OCH_2CH_2)_p$ или $(OCH_2CH(CH_3))_p$, где p равно целому числу от 1 до около 5000; Два Rs: R^1R^2, R^2R^3, R^1R^3 или R^3R^4 могут образовывать 3-8-членное циклическое кольцо из алкильной, арильной, гетероарильной, гетероалкильной или алкилциклоалкильной группы; X_3 представляет собой H, CH_3, CH_2CH_3, C_3H_7, или $X_1'R_1'$, где X' представляет собой NH, $N(CH_3)$, NHNH, O или S; R_1' представляет собой H или C_1-C_6 линейный или разветвленный алкил, арил, гетероарил, гетероалкил, алкилциклоалкил или ацилоксиламины; R_3' представляет собой H или C_1-C_6 линейный или разветвленный алкил; Z_3 представляет собой H, $COOR_1$, NH_2, NHR_1, OR_1, $CONHR_1$,$NHCOR_1$, $OCOR_1$, $OP(O)(OM_1)(OM_2)$, $OCH_2OP(O)(OM_1)(OM_2)$, OSO_3M_1, R_1, O-гликозид (глюкозид, галактозид, маннозид, глюкуронозид/глюкуронид, аллозид, фруктозид и др.), NH-гликозид, S-гликозид или CH_2-гликозид; M_1 и M_2 независимо представляют собой H, Na, K, Ca, Mg, NH_4, $NR_1R_2R_3$..

Калихеамицины и родственные им энедииновые антибиотики, которые являются предпочтительными для конъюгатов «молекула, связывающаяся с клеткой-лекарственное средство» по настоящему патенту, описаны в: Nicolaou, K. C. et al, Science 1992, 256, 1172-1178; Proc. Natl. Acad. Sci USA. 1993, 90, 5881-8), патенты США № 4970198; 5053394; 5108912; 5264586; 5384412; 5606040; 5712374; 5714586; 5739116; 5770701; 5770710; 5773001; 5877296; 6015562; 6124310; 8153768. Примерами структур конъюгатов антитело-калихеамициновый аналог, связанных через бис-линкер, являются C01 и C02:



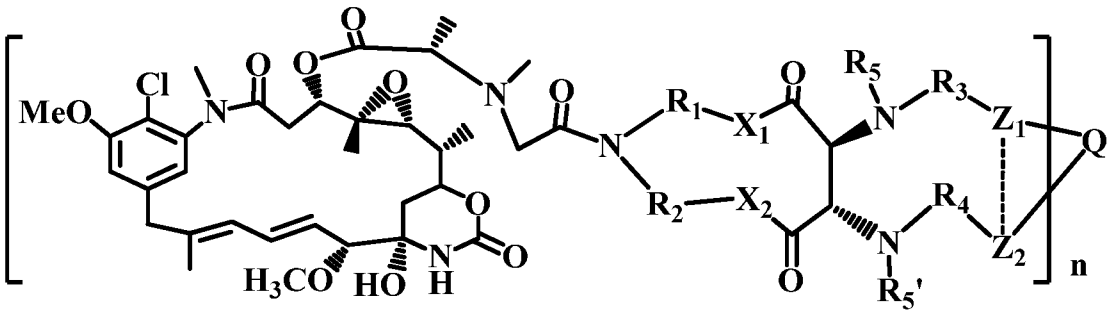
C01.



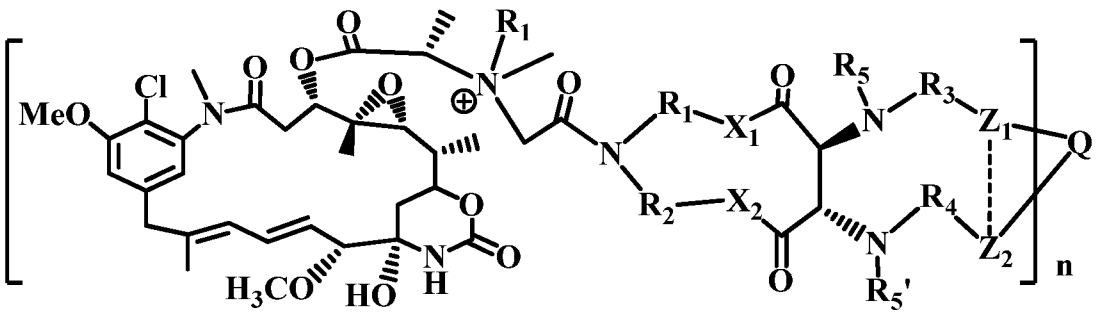
C02

где "-----", Q, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, и n определены так же, как и выше;; Предпочтительно X_1 X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, 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, C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1; Q предпочтительно представляет собой моноклональное антитело.

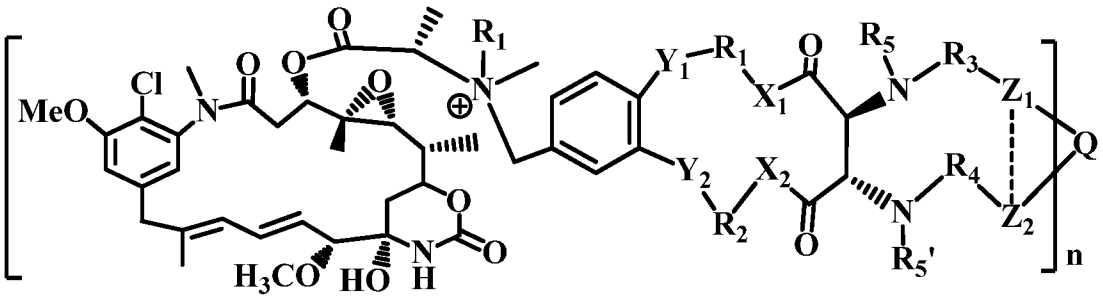
Майтанзиноиды, которые являются предпочтительными для использования в настоящем изобретении, включают в себя майтанзинол и его аналоги, и описаны в патентах США №4256746, 4361650, 4307016, 4294757, 4294757, 4371533, 4424219, 4331598, 4450254, 4364866, 4313946, 4315929, 4362663, 4322348, 4371533, 4424219, 5208020, 5416064, 5208020; 5416064; 6333410; 6441163; 6716821, 7276497, 7301019, 7303749, 7368565, 7411063, 7851432 и 8163888. Пример структуры конъюгата антитело-майтанзиноиды через линкер по патенту является как представлено ниже My01, My02, My03, My04, My05, My06, My07 и My08:



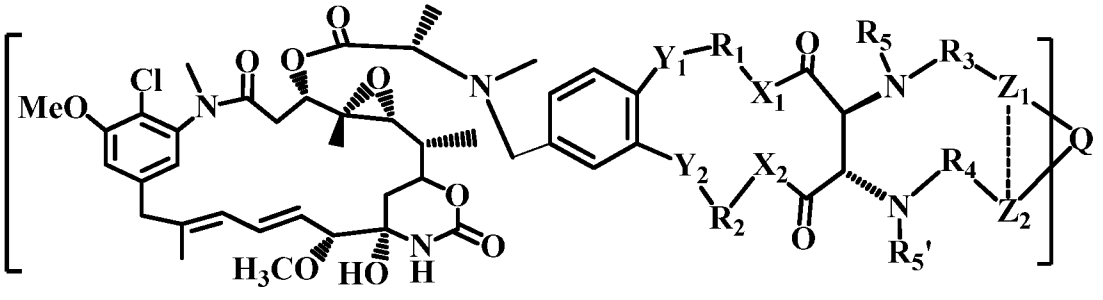
My01,



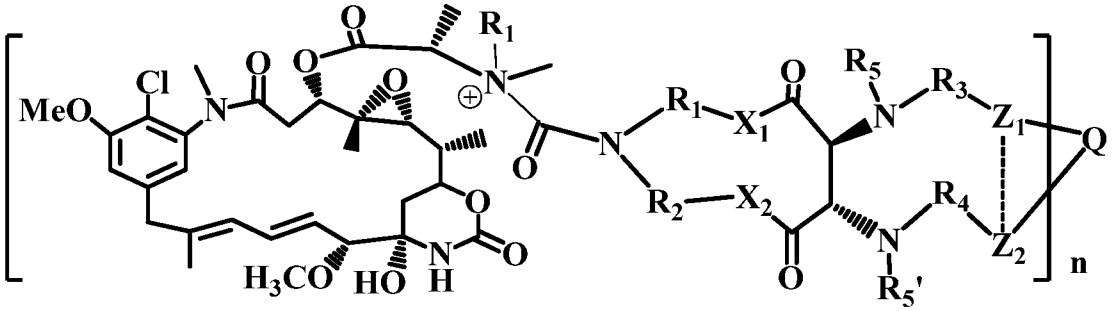
My02,



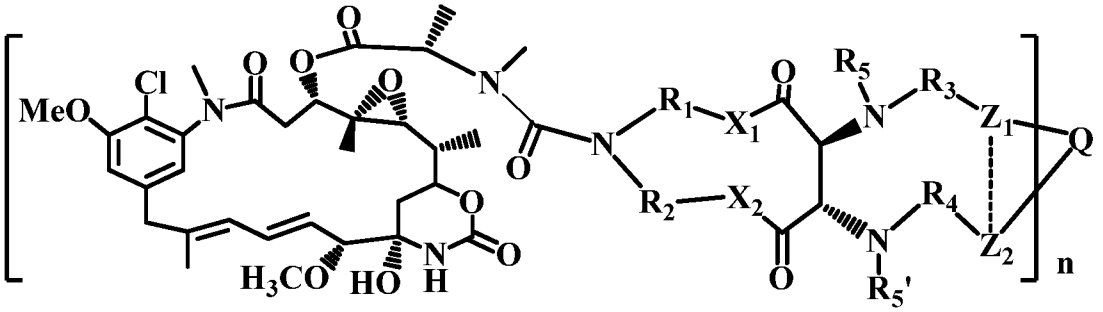
My03,



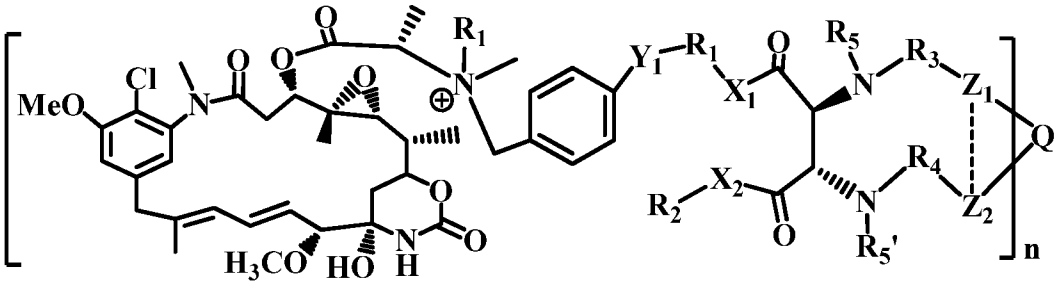
My04,



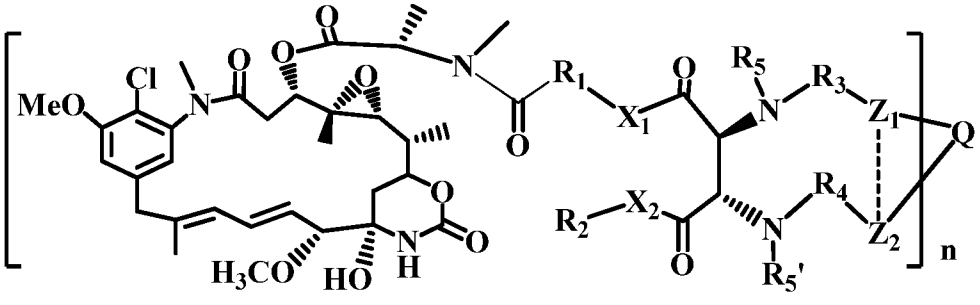
My05,



My06,



My07,

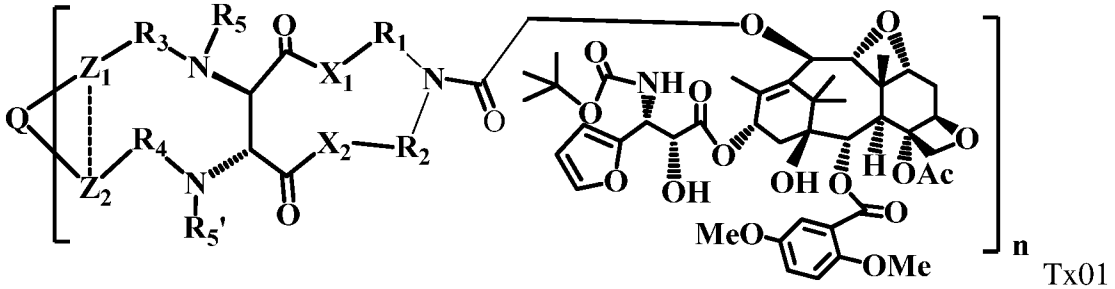


My08,

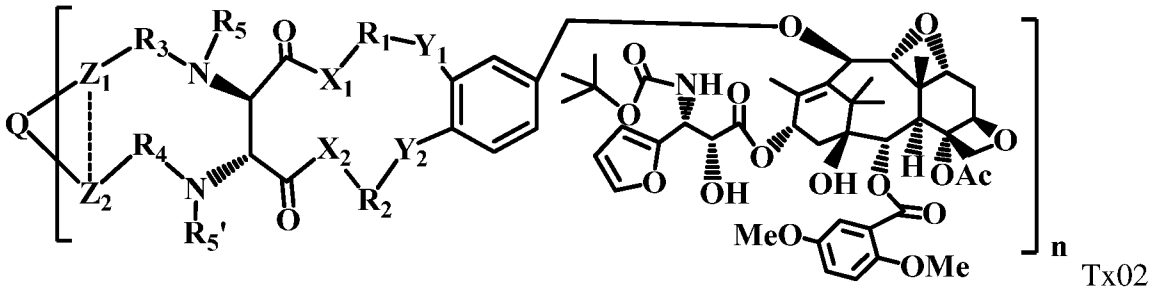
где "-----", Q, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, и n определены так же, как и выше;; Предпочтительно X_1 X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, S, C(O)O, C(O)NH, OC(O)NH, OC(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)S, OC(O)N(R_1), N(R_1)C(O)N(R_1), CH_2C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1; Q предпочтительно представляет собой моноклональное антитело.

Таксаны, которые включают в себя паклитаксел (таксол), цитотоксический природный продукт и доцетаксел (таксотер), полусинтетическое производное и их аналоги, которые являются предпочтительными для конъюгирования, приводятся в следующих примерах: K C. Nicolaou et al., J. Am. Chem. Soc. 117, 2409-20, (1995); Ojima et al, J. Med. Chem. 39: 3889-3896 (1996); 40: 267-78 (1997); 45, 5620-3 (2002); Ojima et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 96:4256-61 (1999); Kim et al., Bull. Korean Chem. Soc., 20, 1389-90 (1999); Miller, et al. J. Med. Chem., 47, 4802-5(2004); патенты США № 5475011 5728849, 5811452; 6340701; 6372738; 6391913, 6436931; 6589979; 6596757; 6706708; 7008942; 7186851; 7217819; 7276499; 7598290; и 7667054.

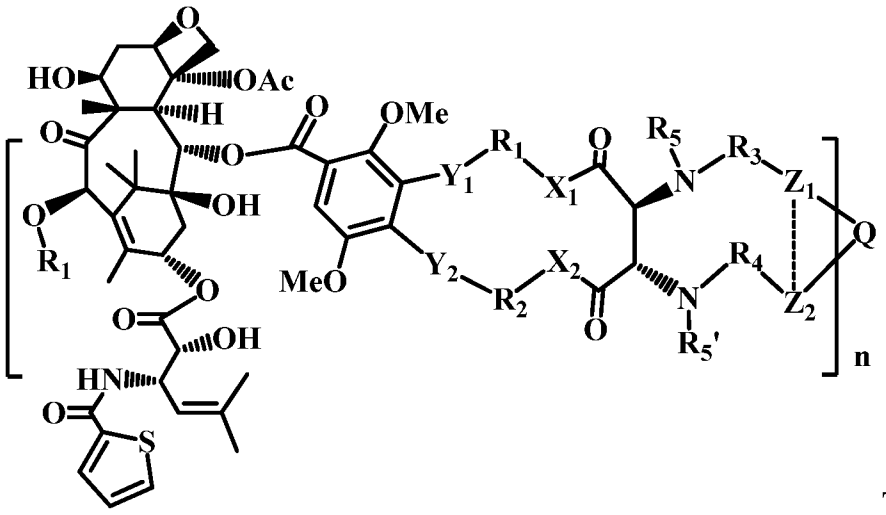
Примерами структур конъюгата «антитело-таксаны», связанных через линкер согласно настоящему патенту являются Tx01, Tx02 и Tx03.



Tx01



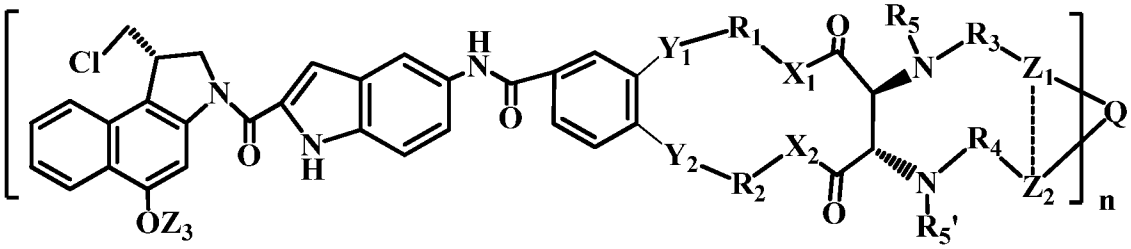
Tx02



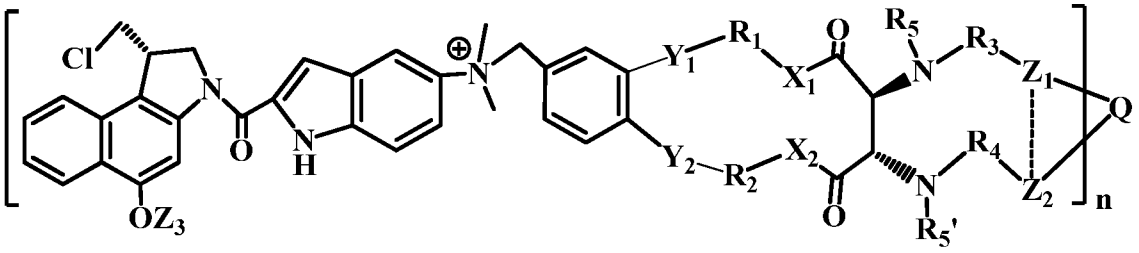
Tx03

где "-----", Q, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, и n определены так же, как и выше;; Предпочтительно X_1 X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, 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, C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1; Q предпочтительно представляет собой моноклональное антитело.

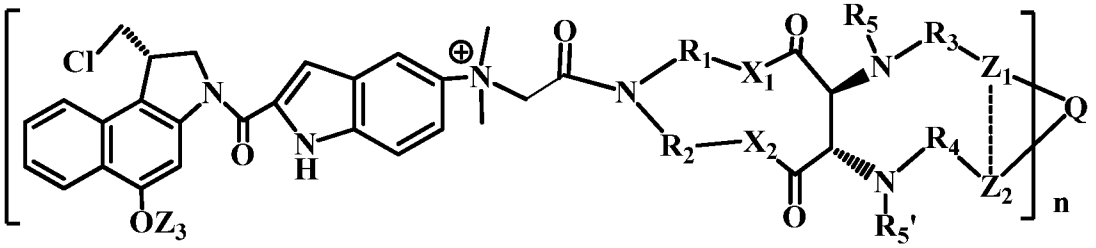
Аналоги CC-1065 и аналоги докармицина также являются предпочтительными для использования в конъюгате, содержащем бис-мостиковый линкер по настоящему патенту. Примеры аналогов CC-1065 и аналогов доукармицина, а также их синтез описаны, например, в: Warpehoski, et al, J. Med. Chem. 31:590-603 (1988); D. Boger et al., J. Org. Chem; 66; 6654-61, 2001; патенты США №: 4169888, 4391904, 4671958, 4816567, 4912227, 4923990, 4952394, 4975278, 4978757, 4994578, 5037993, 5070092, 5084468, 5101038, 5117006, 5137877, 5138059, 5147786, 5187186, 5223409, 5225539, 5288514, 5324483, 5332740, 5332837, 5334528, 5403484, 5427908, 5475092, 5495009, 5530101, 5545806, 5547667, 5569825, 5571698, 5573922, 5580717, 5585089, 5585499, 5587161, 5595499, 5606017, 5622929, 5625126, 5629430, 5633425, 5641780, 5660829, 5661016, 5686237, 5693762, 5703080, 5712374, 5714586, 5739116, 5739350, 5770429, 5773001, 5773435, 5786377 5786486, 5789650, 5814318, 5846545, 5874299, 5877296, 5877397, 5885793, 5939598, 5962216, 5969108, 5985908, 6060608, 6066742, 6075181, 6103236, 6114598, 6130237, 6132722, 6143901, 6150584, 6162963, 6172197, 6180370, 6194612, 6214345, 6262271, 6281354, 6310209, 6329497, 6342480, 6486326, 6512101, 6521404, 6534660, 6544731, 6548530, 6555313, 6555693, 6566336, 6586618, 6593081, 6630579, 6756397, 6759509, 6762179, 6884869, 6897034, 6946455, 7049316, 7087600, 7091186, 7115573, 7129261, 7214663, 7223837, 7304032, 7329507, 7329760, 7388026, 7655660, 7655661, 7906545 и 8012978. Примеры структур конъюгата аналогов антитело-CC-1065 через линкер по патенту следующие: CC01, CC02, CC03, CC04, CC05, CC06 и CC07.



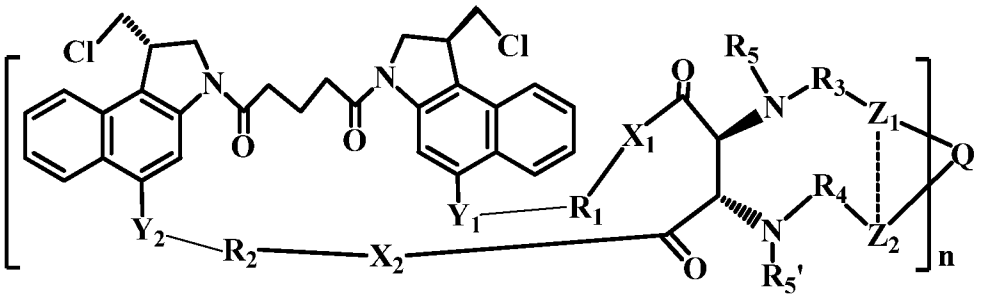
CC01,



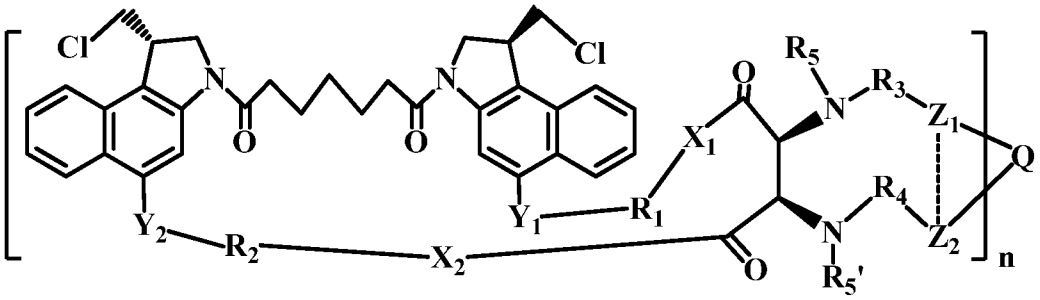
CC02,



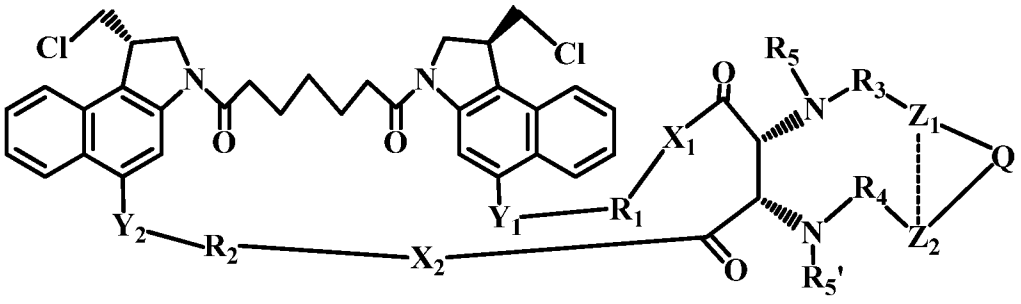
CC03,



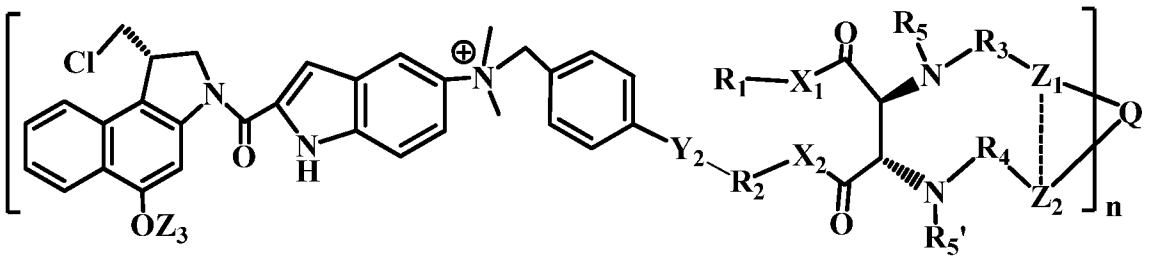
CC04,



CC05,



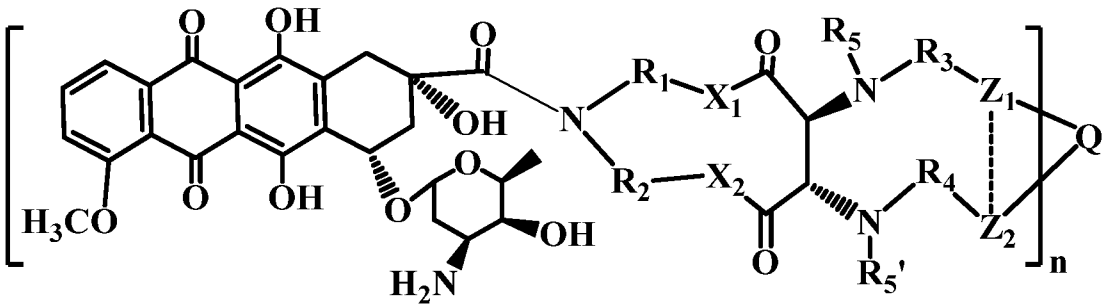
CC06,



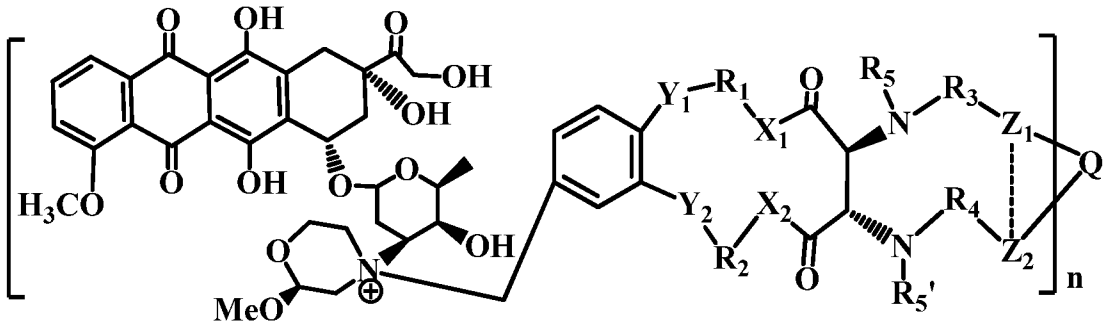
CC07,

где "-----", Q, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, и n определены так же, как и выше;; Предпочтительно X_1 X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, 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, C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1; Q предпочтительно представляет собой моноклональное антитело; Z_3 ispредставляет собой H, PO(OM_1)(OM_2), SO_3M_1, $CH_2PO(OM_1)(OM_2)$, $CH_3N(CH_2CH_2)_2NC(O)$-, $O(CH_2CH_2)_2NC(O)$-, R_1, или гликозид.

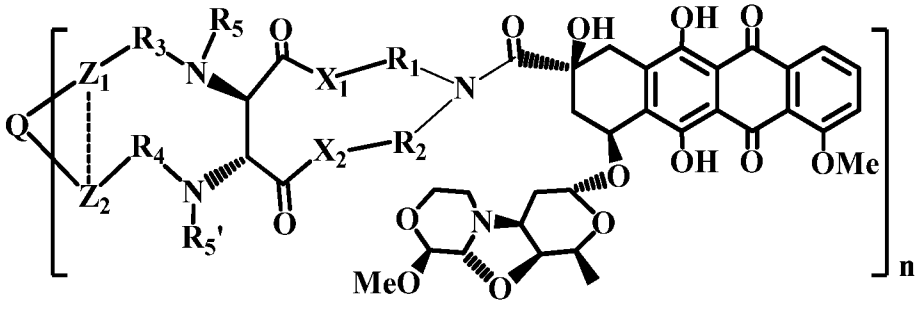
Аналоги даунорубицина/доксорубицина также предпочтительны для конъюгирования, через бис-линкер согласно настоящему патенту. Предпочтительные структуры, а также их синтез приведены в следующих примерах: Hurwitz, E., et al., Cancer Res. 35, 1175-81 (1975). Yang, H. M., and Reisfeld, R. A., Proc. Natl. Acad. Sci. 85, 1189-93 (1988); Pietersz, C. A., E., et al., E., et al.," Cancer Res. 48, 926-311 (1988); Trouet, et al., 79, 626-29 (1982); Z. Brich et al., J. Controlled Release, 19, 245-58 (1992); Chen et al., Syn. Comm., 33, 2377-90, 2003; King et al., Bioconj. Chem., 10, 279-88, 1999; King et al., J. Med. Chem., 45, 4336-43, 2002; Kratz et al., J Med Chem. 45, 5523-33, 2002; Kratz et al., Biol Pharm Bull. Jan. 21, 56-61, 1998; Lau et al., Bioorg. Med. Chem. 3, 1305-12, 1995; Scott et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 6, 1491-6, 1996; Watanabe et al., Tokai J. Experimental Clin. Med. 15, 327-34, 1990; Zhou et al., J. Am. Chem. Soc. 126, 15656-7, 2004; WO 01/38318; Патенты США №№ 5106951; 5122368; 5146064; 5177016; 5208323; 5824805; 6146658; 6214345; 7569358; 7803903; 8084586; 8053205. Примеры структур конъюгата аналогов антитело-CC-1065 через линкер по патенту представляют собой следующие DA01, Da02, Da03, DA04, Da05, Da06, Da07, Da08, Da09, DA10 и DA11.



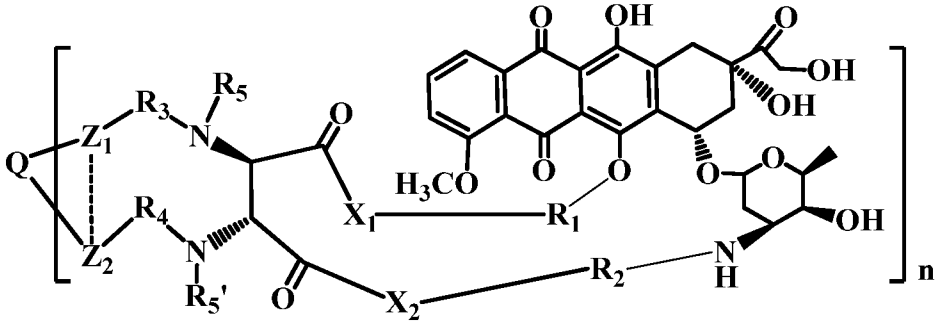
Da01,



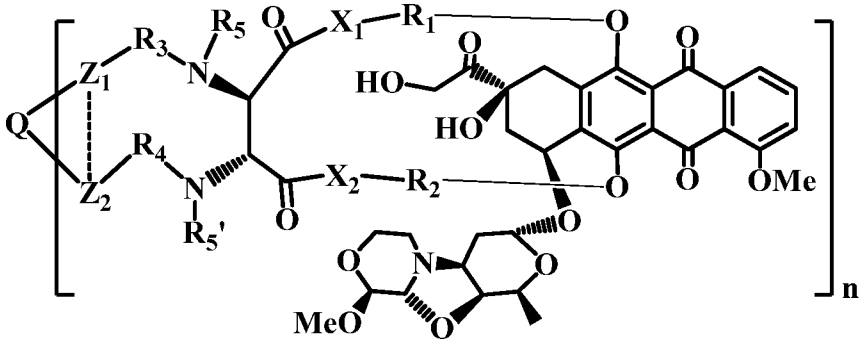
Da02,



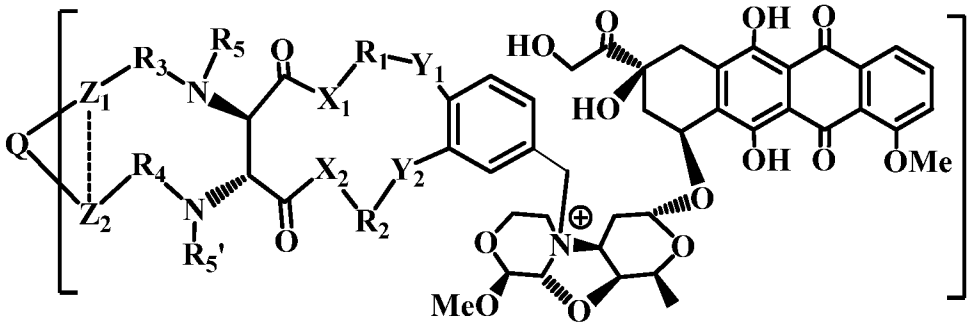
Da03,



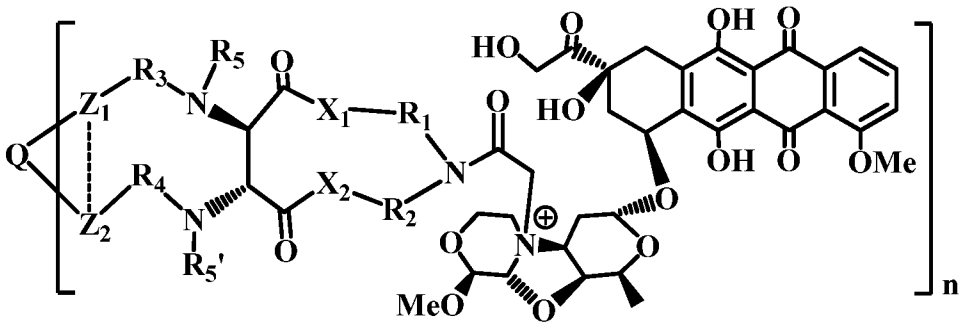
Da04,



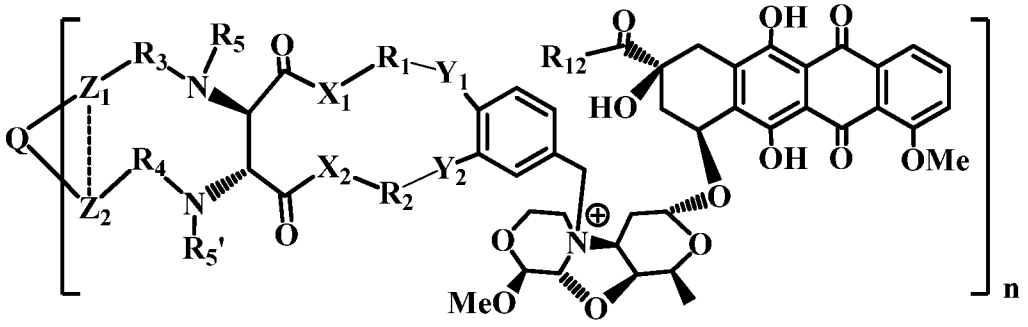
Da05,



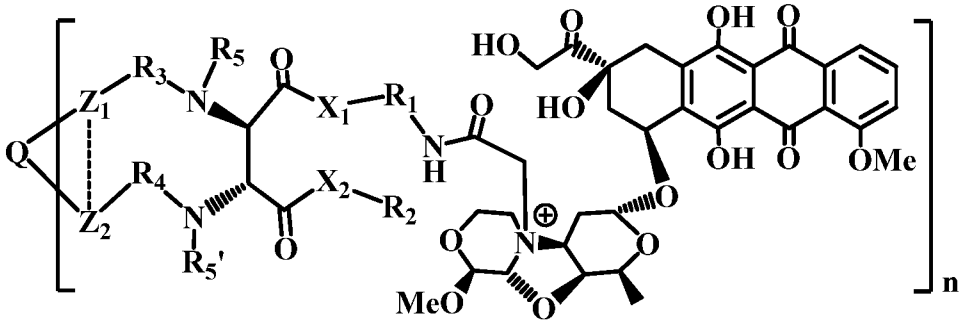
Da06,



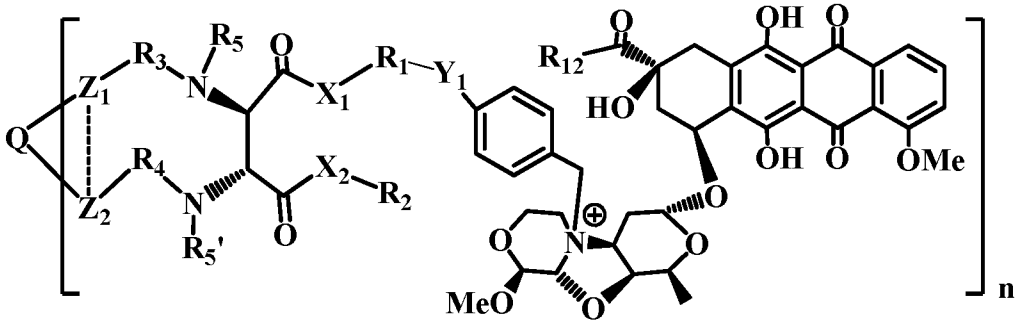
Da07,



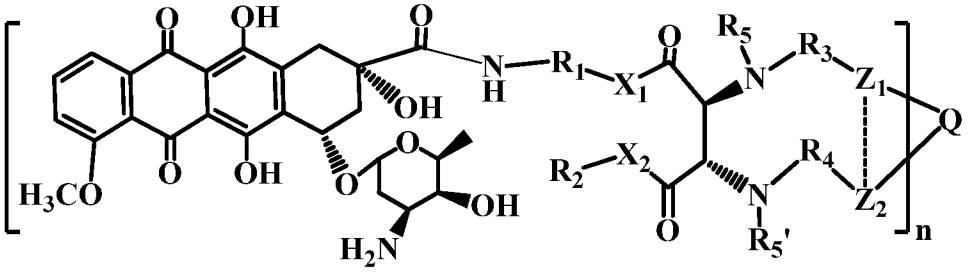
Da08,



Da09,



Da10,



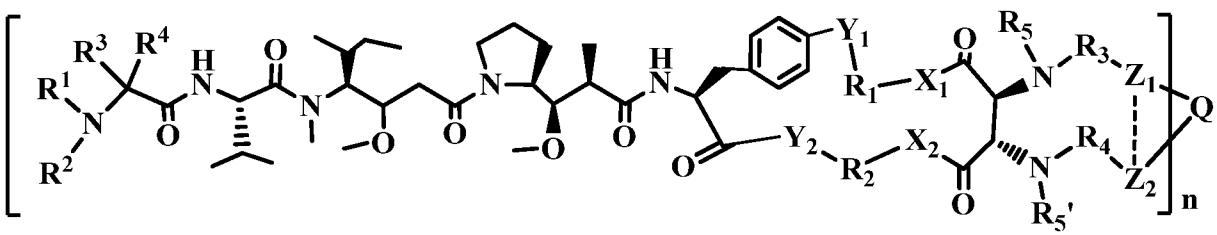
Da11,

где "-----", Q, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2 и n определены так же, как и выше;

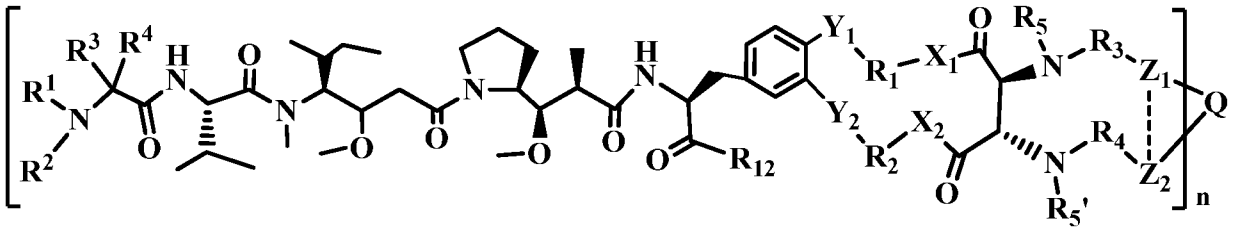
Предпочтительно X_1, X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, S, C(O)O, C(O)NH, OC(O)NH, OC(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)S, OC(O)N(R_1), N(R_1)C(O)N(R_1), CH, C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1; R_{12} представляет собой OH, NH_2, N$H R_1$, $NHNH_2$,

NHNHCOOH, O-R_1-COOH, NH-R_1-COOH, NH$(Aa)_n$COOH, O$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2OH$, O$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, NH$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, NR_1R_1', NHOH, $NHOR_1$, O$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2COOH$, NH$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2COOH$, NH-Ar-COOH, NH-Ar-$NH_2$, O$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH$-$SO_3H$, NH$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH$-$SO_3H$, R_1-$NHSO_3H$, NH-R_1-$NHSO_3H$, O$(CH_2CH_2O)_pCH_2$-$CH_2NHPO_3H_2$, NH$(CH_2CH_2O)_pCH_2$-$CH_2NHPO_3H_2$, OR_1, R_1-$NHPO_3H_2$, R_1-OPO_3H_2, O$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2OPO_3H_2$, OR_1-$NHPO_3H_2$, NH-R_1-$NHPO_3H_2$, NH$(CH_2CH_2NH)_pCH_2$-CH_2NH_2, NH$(CH_2CH_2S)_pCH_2CH_2NH_2$, NH$(CH_2CH_2NH)_pCH_2CH_2OH$, NH$(CH_2CH_2S)_pCH_2$-$CH_2OH$, NH-$R_1$-$NH_2$, или NH$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, где Aa представляет собой 1-8 аминокислоты; p равно 1-5000; Q представляет собой антитело, предпочтительно моноклональное антитело.

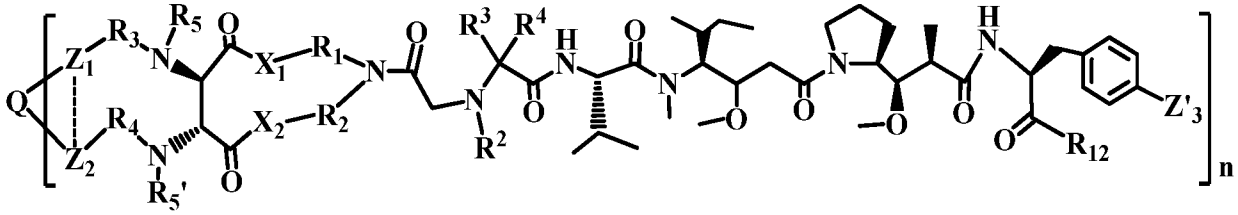
Ауристатины и доластатины являются предпочтительными при конъюгировании включающем бис-линкеры согласно настоящему патенту. Ауристатины (например, ауристатин E (AE), ауристатин EB (AEB), ауристатин EFP (AEFP), монометилауристатин E (MMAE), монометилауристатин (MMAF), ауристатин F фенилендиамин (AFP)) и синтетический фенилаланильный вариант MMAE), которые представляют собой синтетические варианты аналогов доластатинов, описаны в Int. J. Oncol. 15: 367-72 (1999); Molecular Cancer Therapeutics, vol. 3, No. 8, pp. 921-32 (2004); патентах заявках США №. 11134826, 20060074008, 2006022925. патентах США № 4414205, 4753894, 4764368, 4816444, 4879278, 4943628, 4978744, 5122368, 5165923, 5169774, 5286637, 5410024, 5521284, 5530097, 5554725, 5585089, 5599902, 5629197, 5635483, 5654399, 5663149, 5665860, 5708146, 5714586, 5741892, 5767236, 5767237, 5780588, 5821337, 5840699, 5965537, 6004934, 6033876, 6034065, 6048720, 6054297, 6054561, 6124431, 6143721, 6162930, 6214345, 6239104, 6323315, 6342219, 6342221, 6407213, 6569834, 6620911, 6639055, 6884869, 6913748, 7090843, 7091186, 7097840, 7098305, 7098308, 7498298, 7375078, 7462352, 7553816, 7659241, 7662387, 7745394, 7754681, 7829531, 7837980, 7837995, 7902338, 7964566, 7964567, 7851437, 7994135. Примеры структур конъюгата антитело-ауристатины через линкер по патенту следующие: Au01, Au02, Au03, Au04, Au05, Au06, Au07, Au08, Au09, Au10, Au11, Au12, Au13, Au14, Au15, Au16, Au17, Au18, Au19, Au20, Au21, Au22, Au23, Au24, Au25, Au26 и Au27:



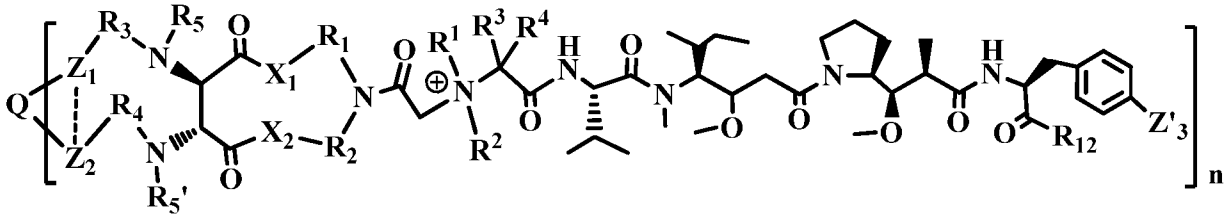
Au01,



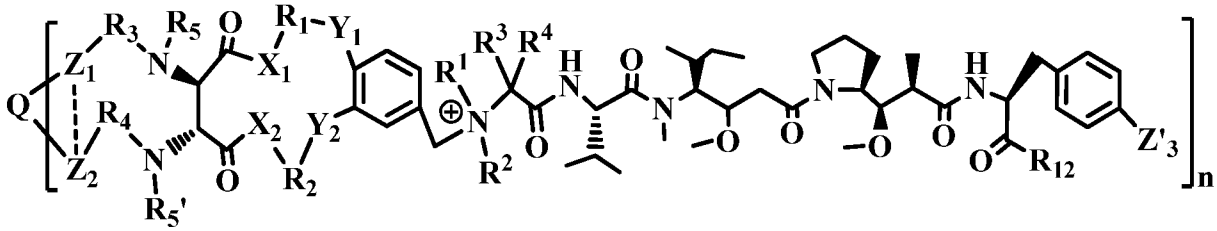
Au02,



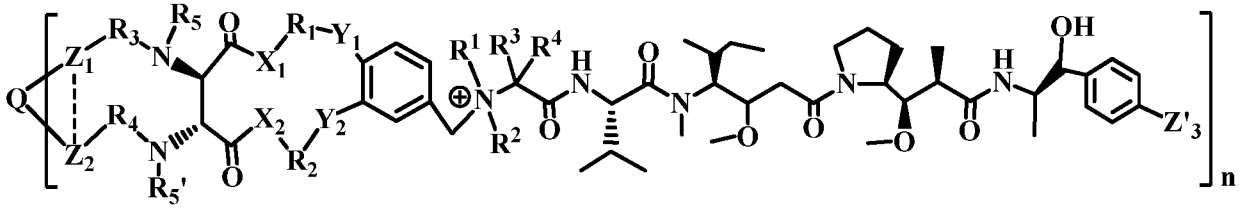
Au03,



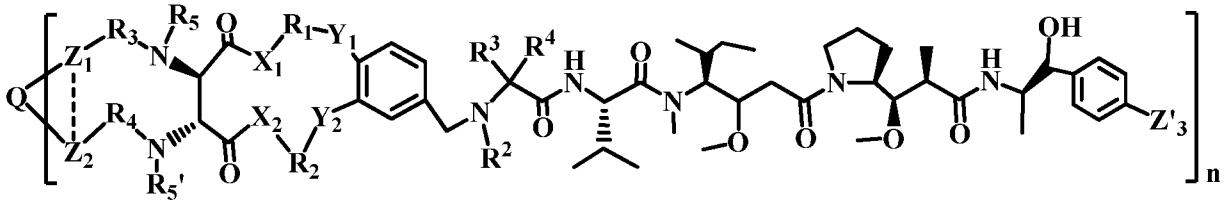
Au04,



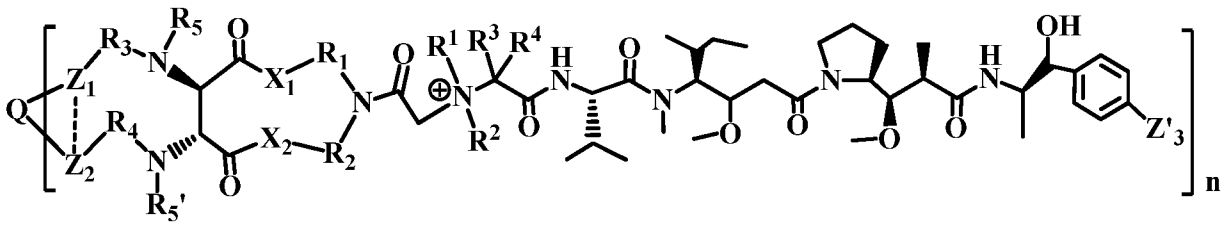
Au05，



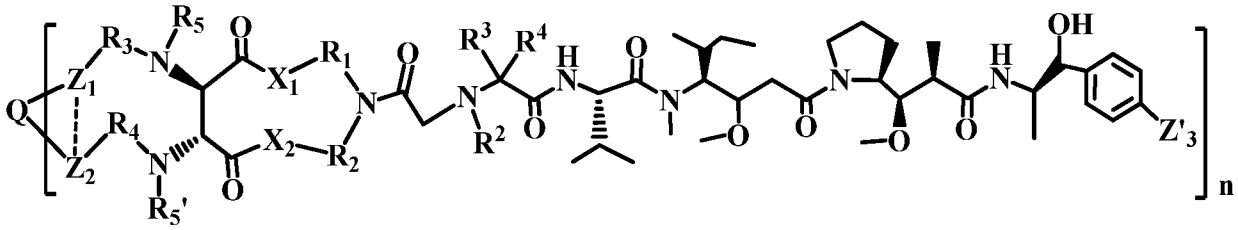
Au06,



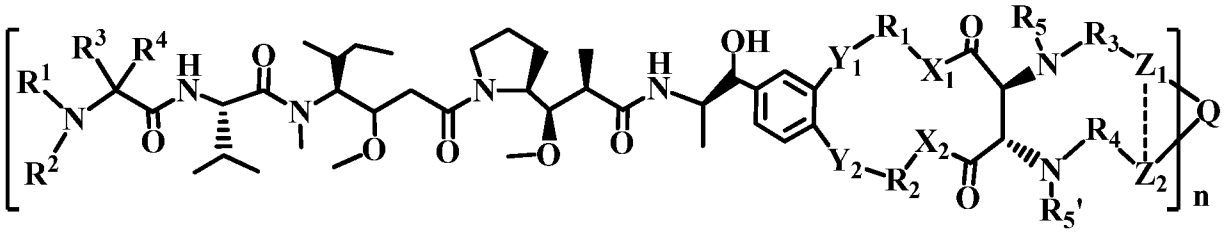
Au07，



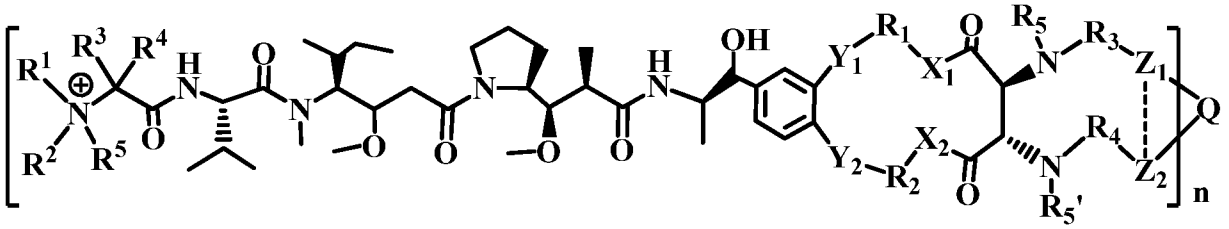
Au08,



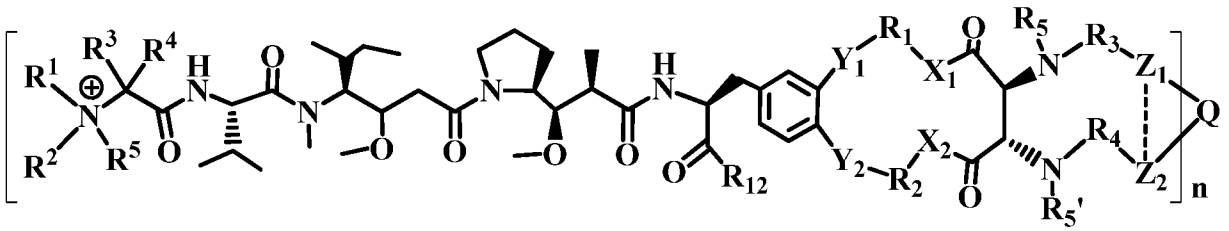
Au09,



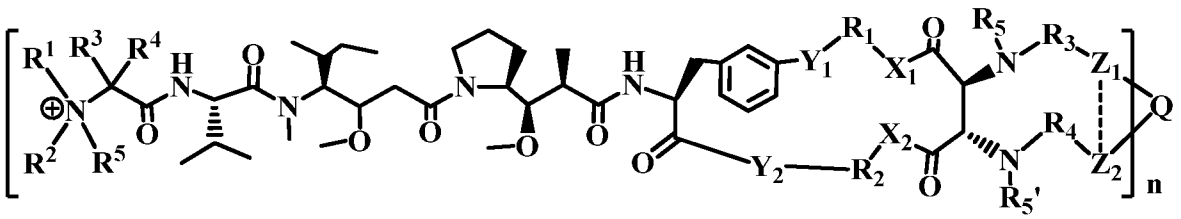
Au10,



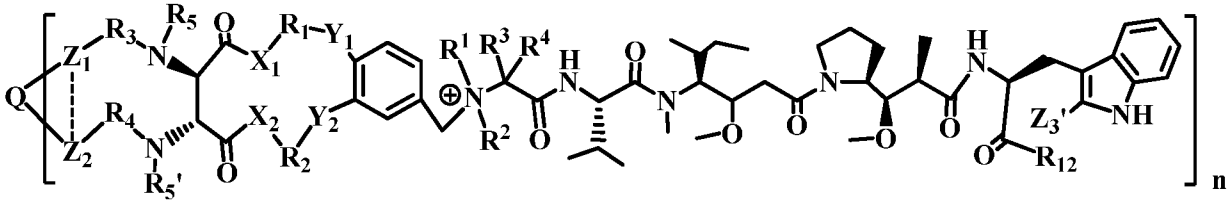
Au11,



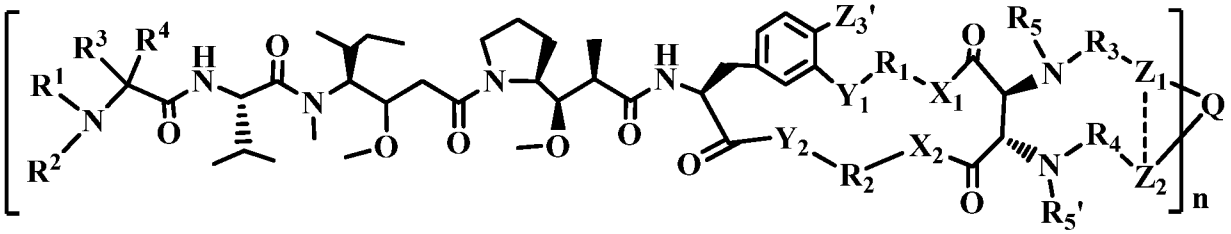
Au12,



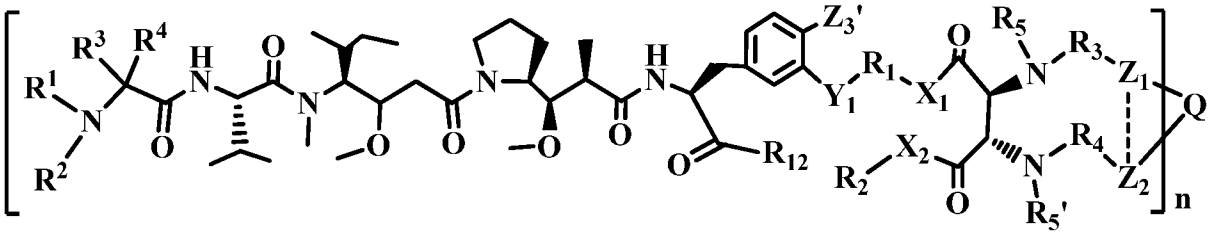
Au13,



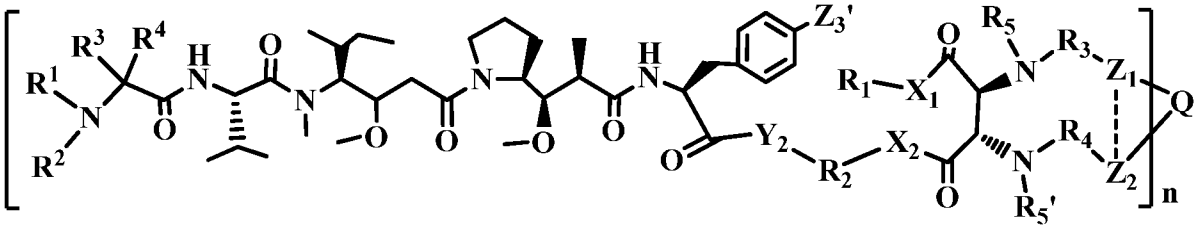
Au14,



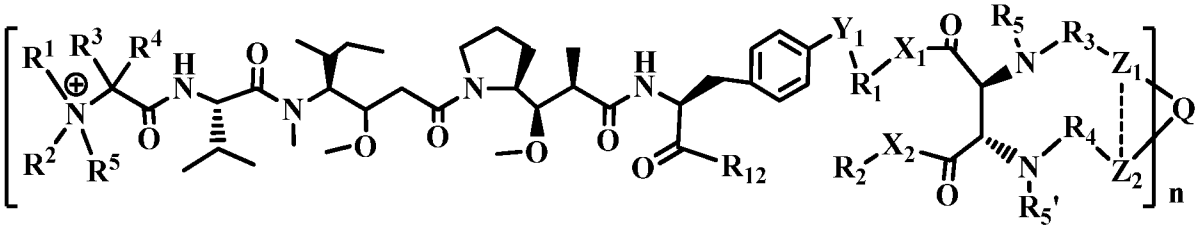
Au15,



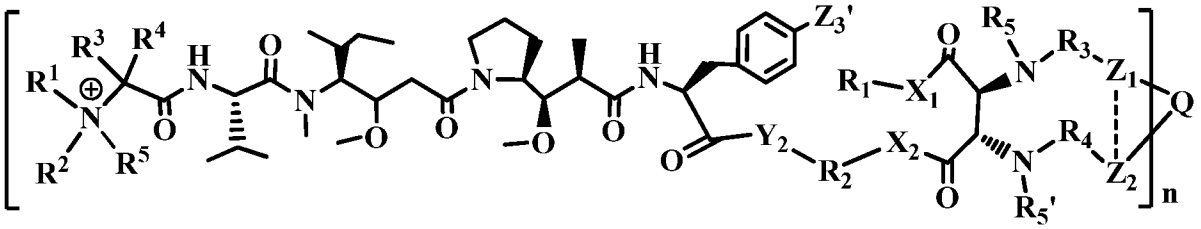
Au16,



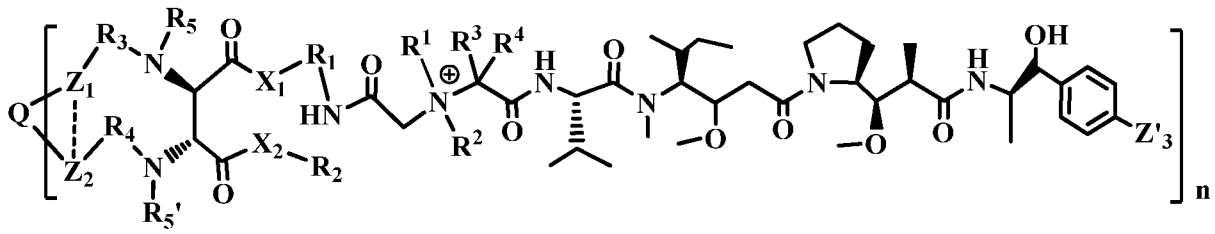
Au17,



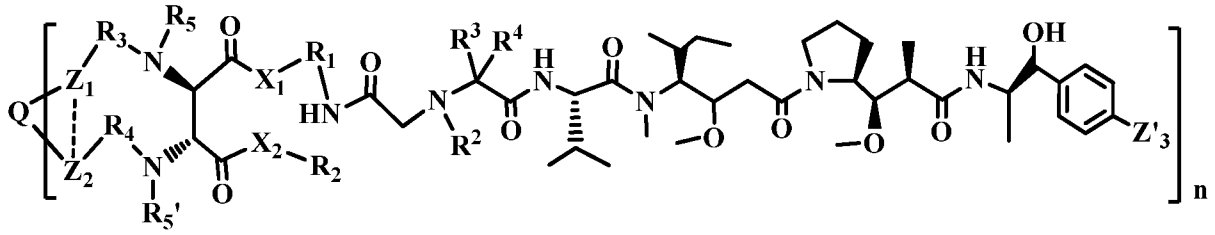
Au18,



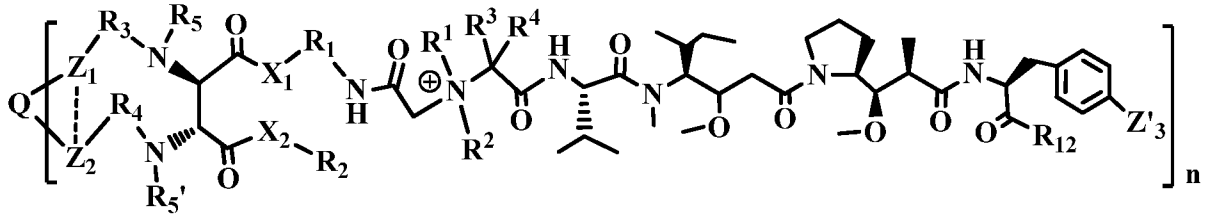
Au19,



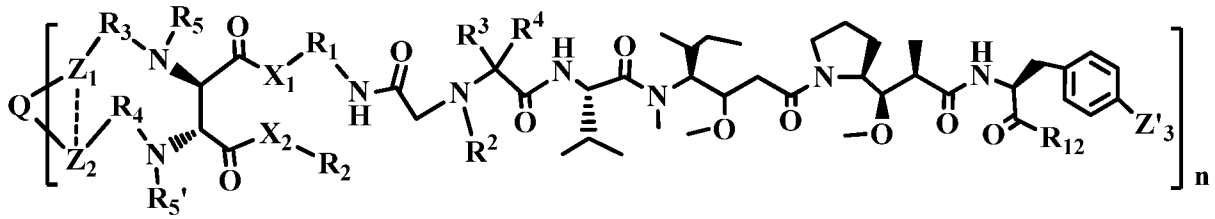
Au20,



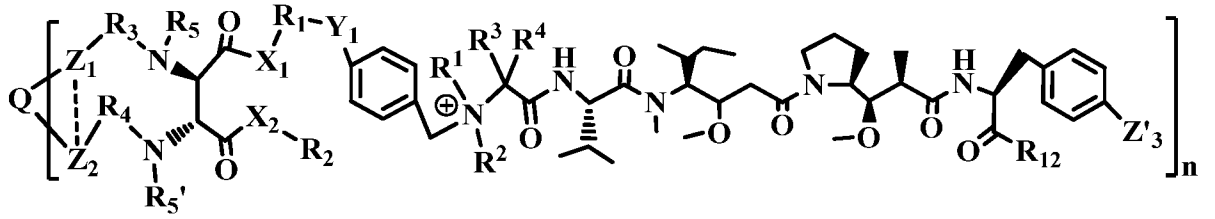
Au21,



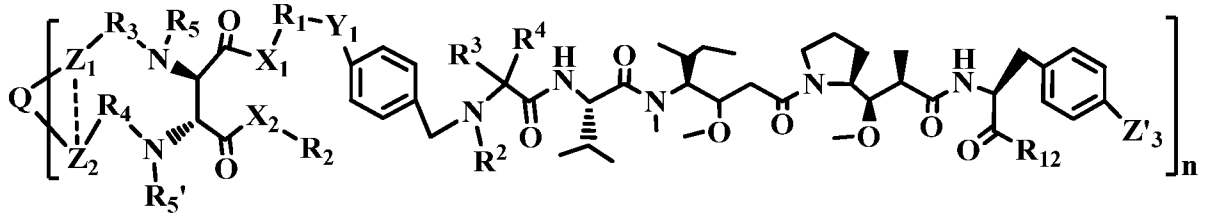
Au22,



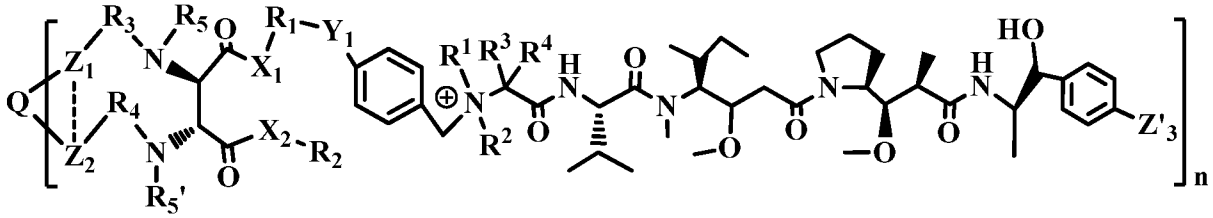
Au23,



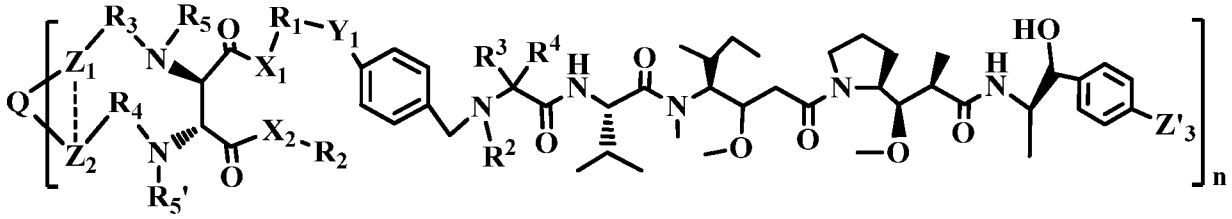
Au24,



Au25,



Au26,

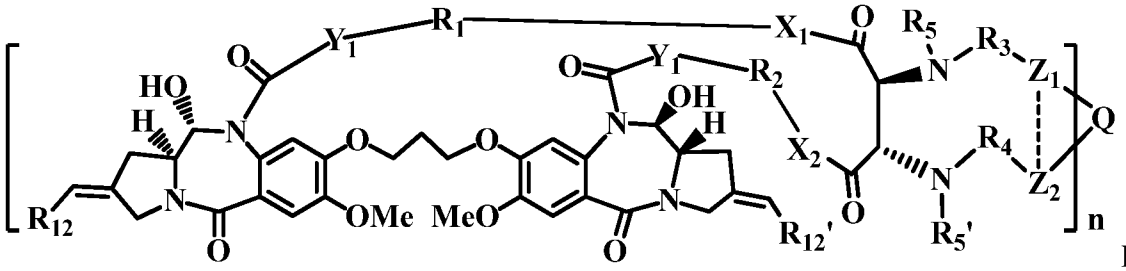


Au27,

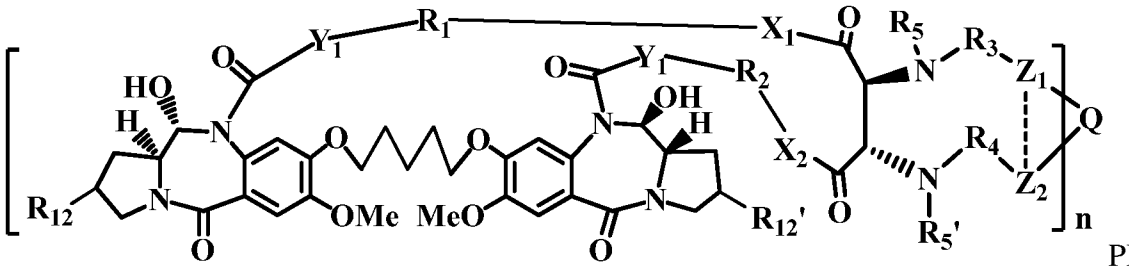
где "-----", Q, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, и n определены так же, как и выше; Предпочтительно X_1, X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, S, C(O)O, C(O)NH, OC(O)NH, OC(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)S, $OC(O)N(R_1)$, $N(R_1)C(O)N(R_1)$, CH, C(O)NHNHC(O) и $C(O)NR_1$; R_{12} представляет собой OH, NH_2, NHR_1, $NHNH_2$, NHNHCOOH, O-R_1-COOH, NH-R_1-COOH, NH-$(Aa)_n$COOH, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2OH$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, NR_1R_1', NHOH, $NHOR_1$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2COOH$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2COOH$, NH-Ar-COOH, NH-Ar-$NH_2$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH$-SO_3H, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHSO_3H$, R_1-$NHSO_3H$, NH-R_1-$NHSO_3H$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2$-$CH_2NHPO_3H_2$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, OR_1, R_1-$NHPO_3H_2$, R_1-OPO_3H_2, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2OPO_3H_2$, OR_1-$NHPO_3H_2$, NH-R_1-$NHPO_3H_2$, $NH(CH_2CH_2NH)_pCH_2$-CH_2NH_2, $NH(CH_2CH_2S)_pCH_2CH_2NH_2$, $NH(CH_2CH_2NH)_pCH_2CH_2OH$, $NH(CH_2CH_2S)_pCH_2$-CH_2OH, NH-R_1-NH_2, или $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, где Aa представляет собой 1-8 аминокислот; p равно 1-5000; Q предпочтительно представляет собой моноклональное антитело; R^1, R^2, R^3, R^4 и R^5 независимо представляют собой H; C_1-C_8 линейный или разветвленный алкил, арил, гетероарил, гетероалкил, алкилциклоалкил, сложный эфир, простой эфир, амид, амины, гетероциклоалкил или ацилоксиламины; или пептиды, содержащие 1-8 аминокислот, или полиэтиленокси- звено, имеющее формулу $(OCH_2CH_2)_p$ или $(OCH_2CH(CH_3))_p$, где p представляет собой целое число от 1 до около 5000. Два R: R^1R^2, R^2R^3, R^1R^3 или R^3R^4 могут образовывать 3-8-членное циклическое кольцо из алкильной, арильной, гетероарильной, гетероалкильной или алкилциклоалкильной группы; X_3 представляет собой H, CH_3 или X_1'R_1', где X_1' представляет собой NH, $N(CH_3)$, NHNH, O, или S, и R_1' представляет собой H или C_1-C_8 линейный или разветвленный алкил, арил, гетероарил, гетероалкил, алкилциклоалкил, ацилоксиламины; R_3'представляет собой H или C_1-C_6 линейный или разветвленный алкил;

Z_3' представляет собой H, $COOR_1$, NH_2, NHR_1, OR_1, $CONHR_1$,$NHCOR_1$, $OCOR_1$, $OP(O)(OM_1)(OM_2)$, $OCH_2OP(O)(OM_1)(OM_2)$, OSO_3M_1, R_1, или O-гликозид (глюкозид, галактозид, маннозид, глюкуронозид/глюкуронид, аллозид, фруктозид и др.), NH-гликозид, S-гликозид или CH_2-гликозид; M_1 и M_2 независимо представляют собой H, Na, K, Ca, Mg, NH_4, $NR_1R_2R_3$.

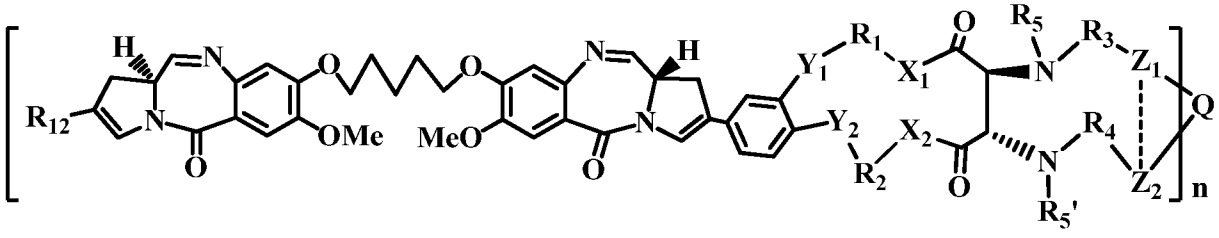
Димеры бензодиазепина (например, диммеры пирролобензодиазепина (PBD) или (томаймицина), индолинобензодиазепинов, имидазобензотиадиазепинов или оксазолидинобензодиазепинов), которые являются предпочтительными цитотоксическими агентами, согласно настоящему изобретению, описаны в литературе: патенты США № 8163736; 8153627; 8034808; 7834005; 7741319; 7704924; 7691848; 7678787; 7612062; 7608615; 7557099; 7528128; 7528126; 7511032; 7429658; 7407951; 7326700; 7312210; 7265105; 7202239; 7189710; 7173026; 7109193; 7067511; 7064120; 7056913; 7049311; 7022699; 7015215; 6979684; 6951853; 6884799; 6800622; 6747144; 6660856; 6608192; 6562806; 6977254; 6951853; 6909006; 6344,451; 5880122; 4935362; 4764616; 4761412; 4723007; 4723003; 4683230; 4663453; 4508647; 4464467; 4427587; 4000304; патентные заявки США 20100203007, 20100316656, 20030195196. Примеры структур конъюгата димеров антитело-бензодиазепин через мостиковый линкер представляют собой следующие: PB01, PB02, PB03, PB04, PB05, PB06, PB07, PB08, PB09, PB10, PB11, PB12, PB13, PB14, PB15. , PB16, PB17, PB18, PB19, PB20, PB21, PB22, PB23, PB24, PB25, PB26, PB27, PB28, PB29, PB30, PB31 и PB32.



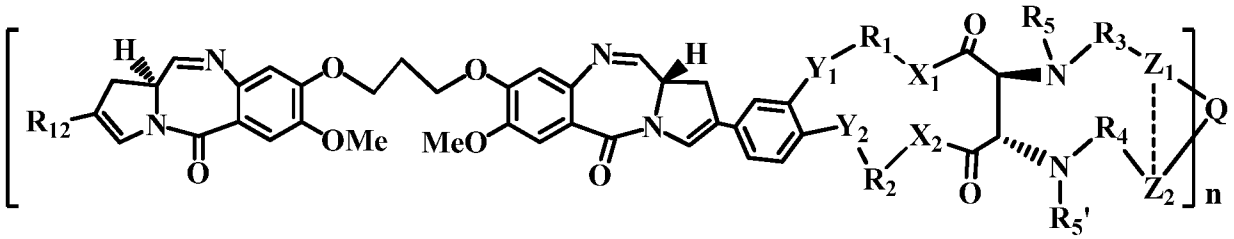
PB01,



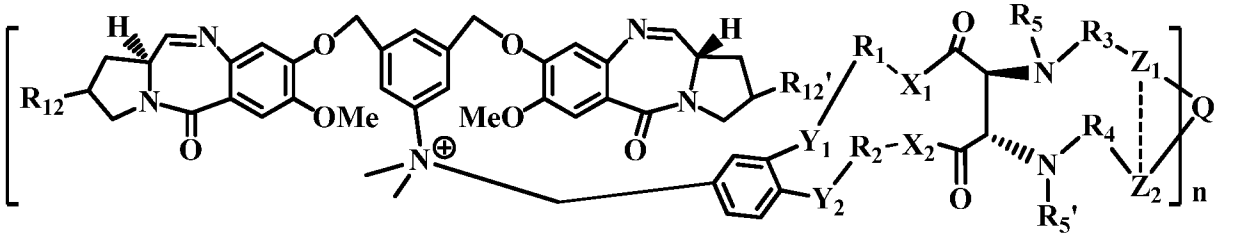
PB02,



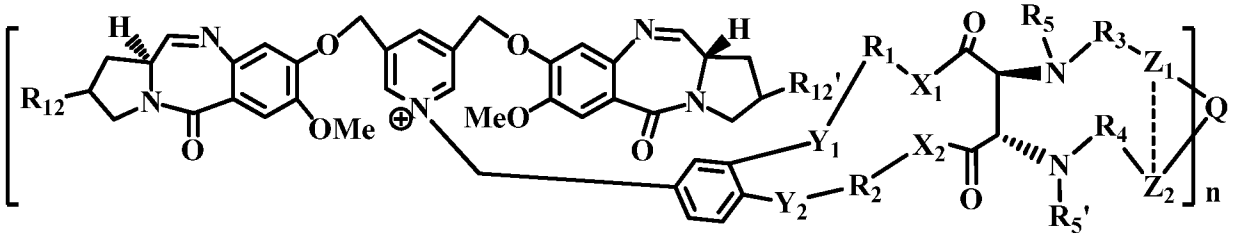
PB03,



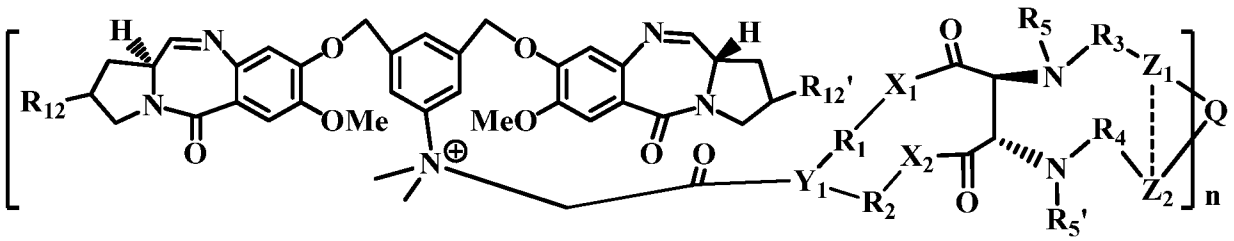
PB04,



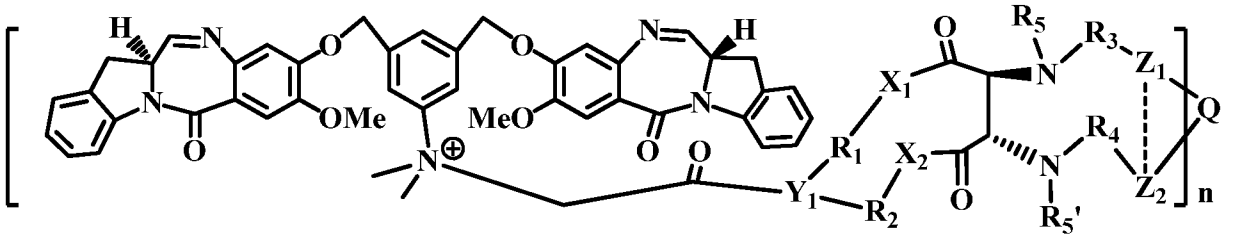
PB05,



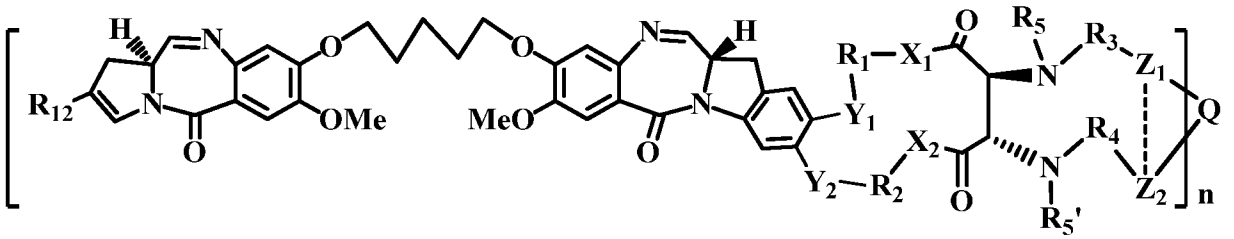
PB06,



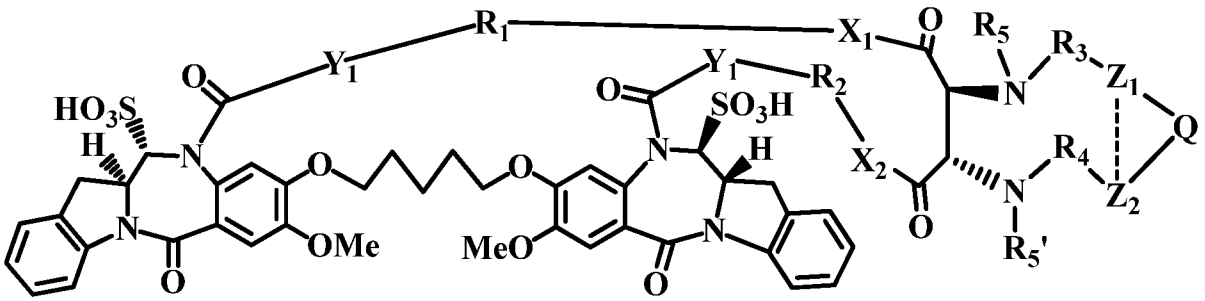
PB07,



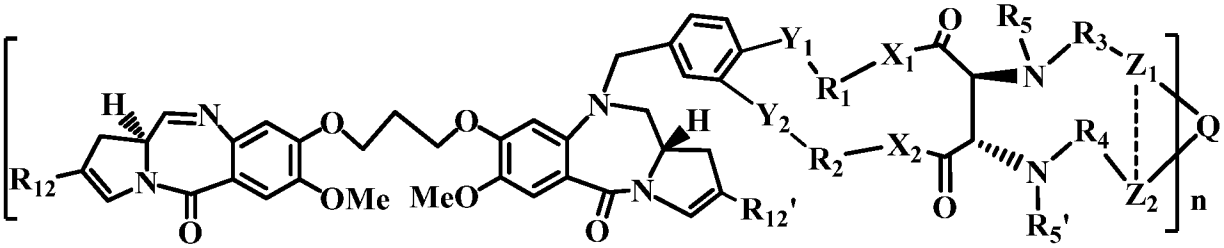
PB08,



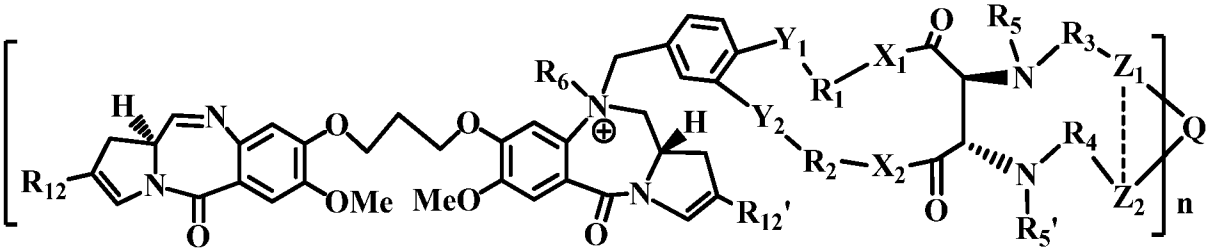
PB09,



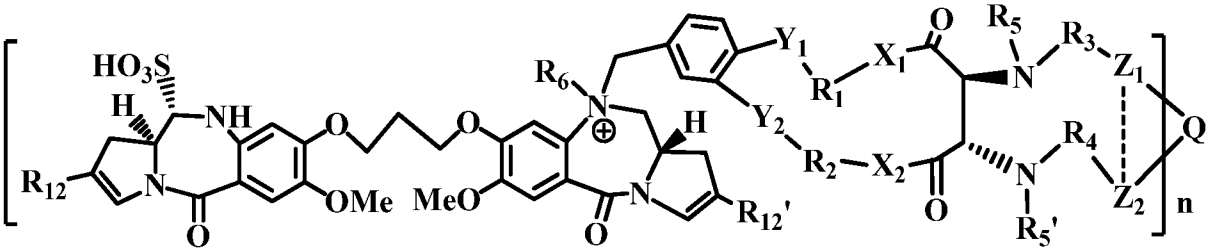
PB10,



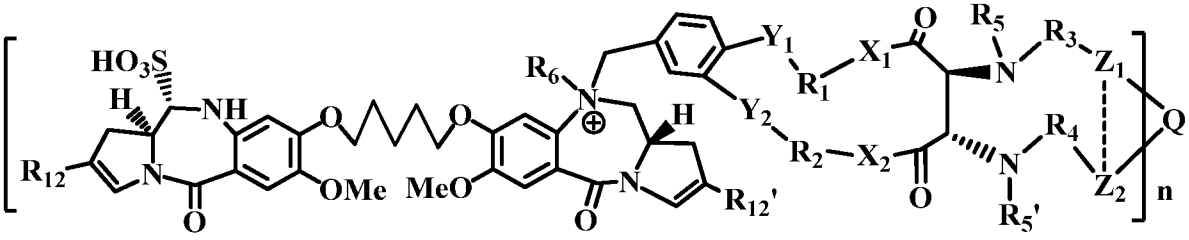
PB11,



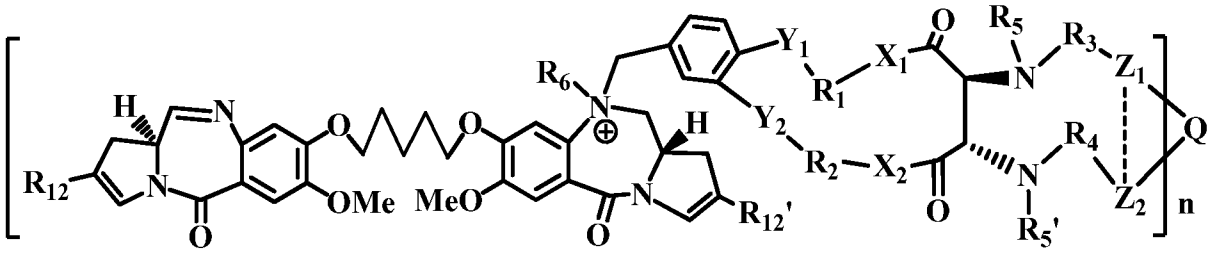
PB12,



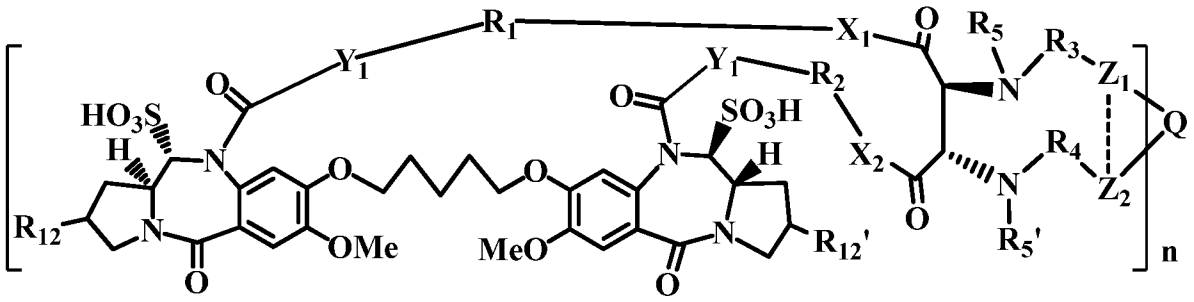
PB13,



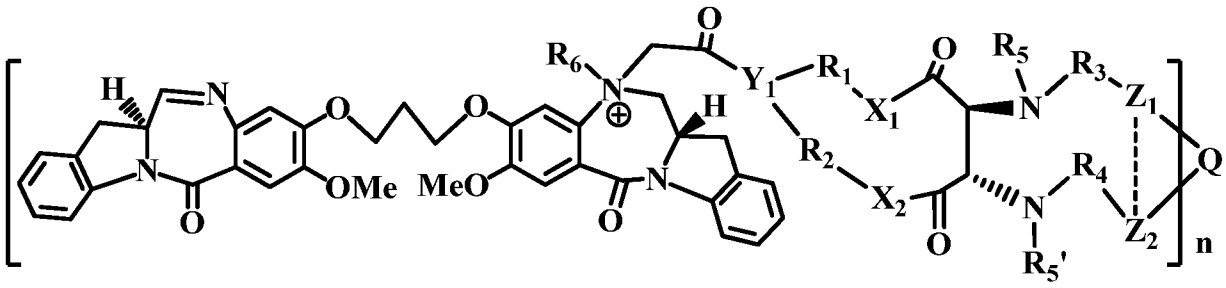
PB14,



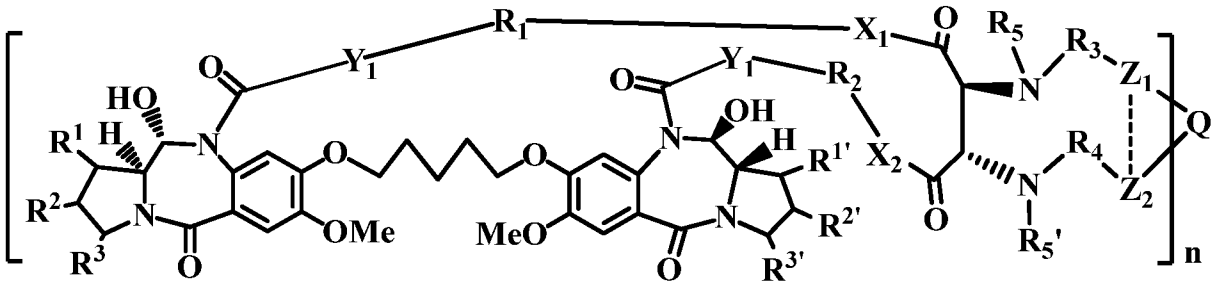
PB15,



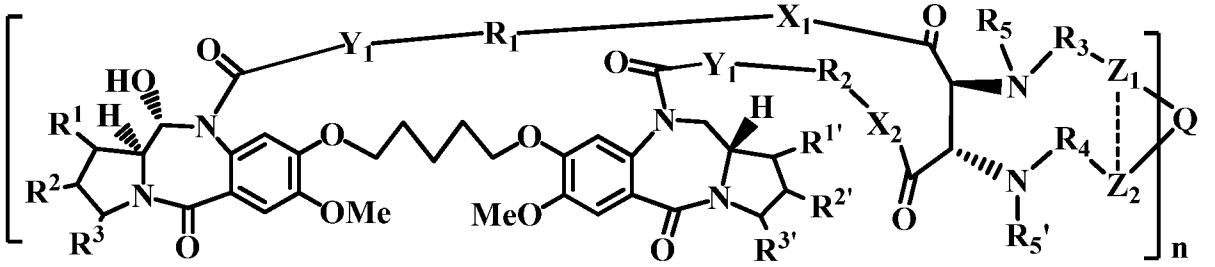
PB16,



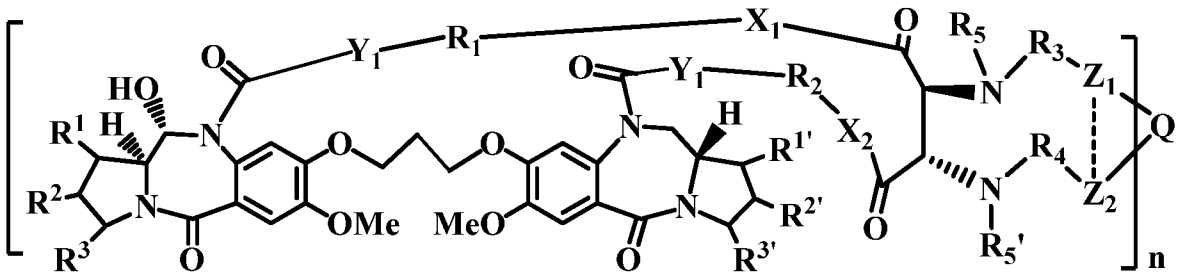
PB17,



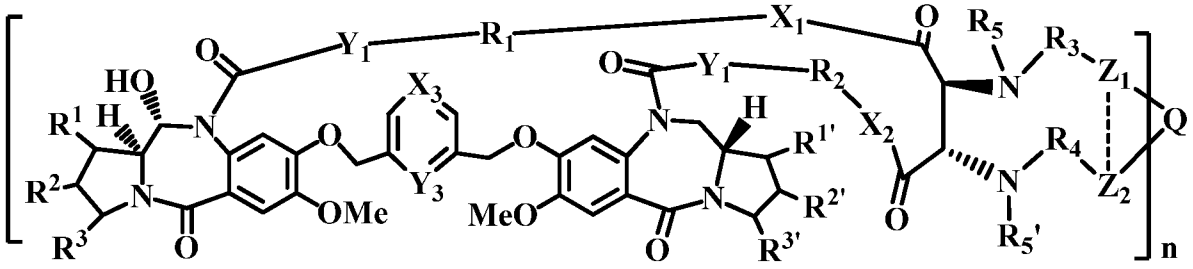
PB18,



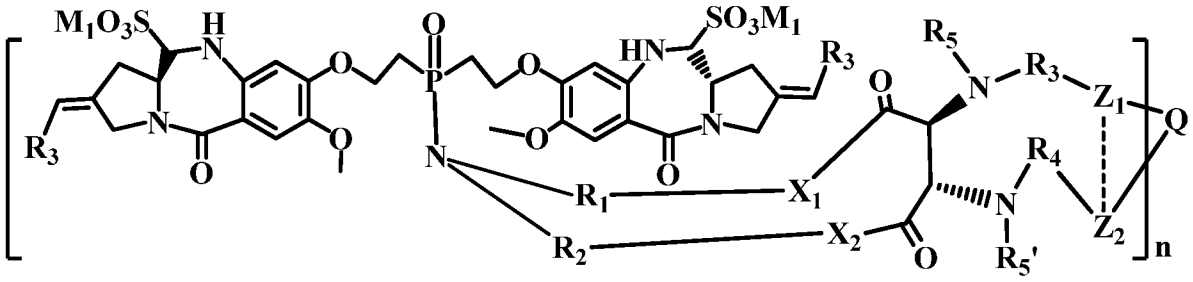
PB19,



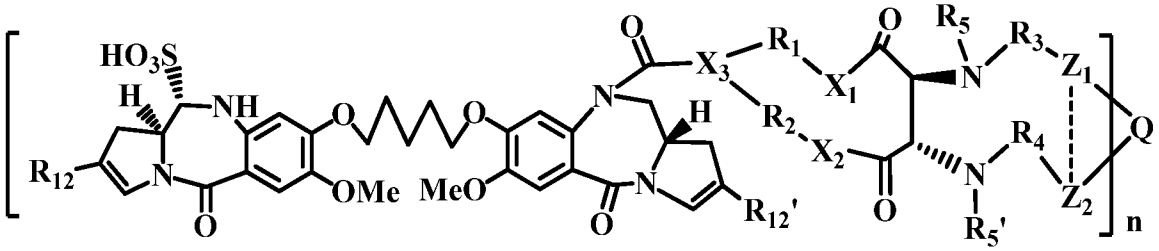
PB20,



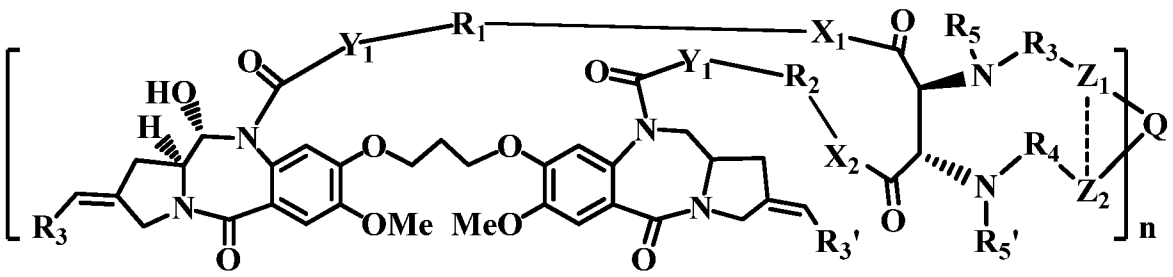
PB21,



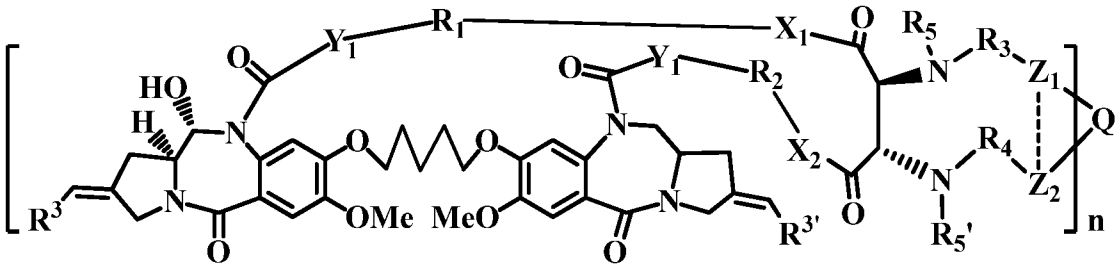
PB22,



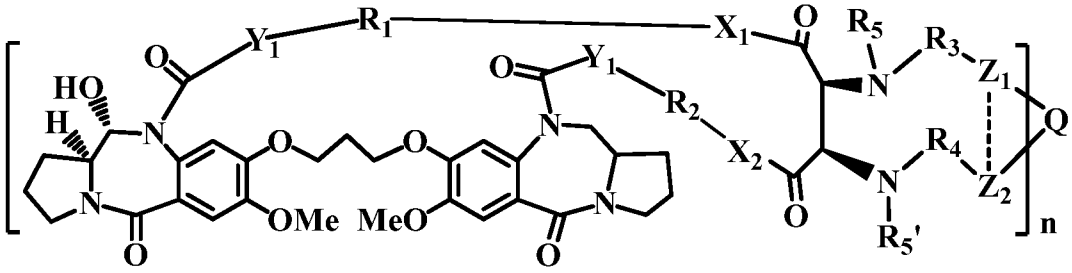
PB23,



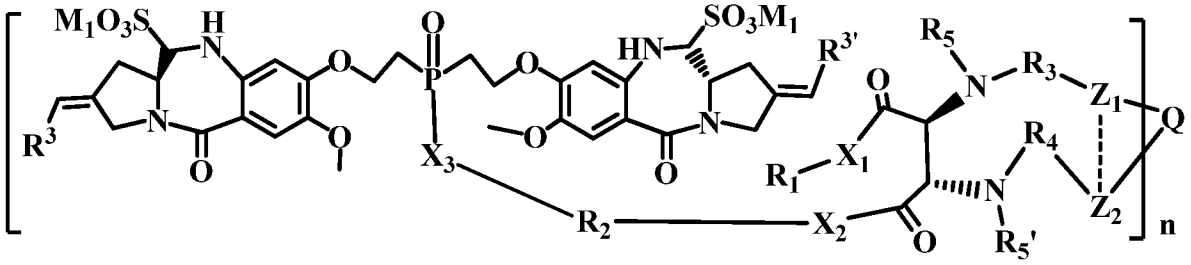
PB24,



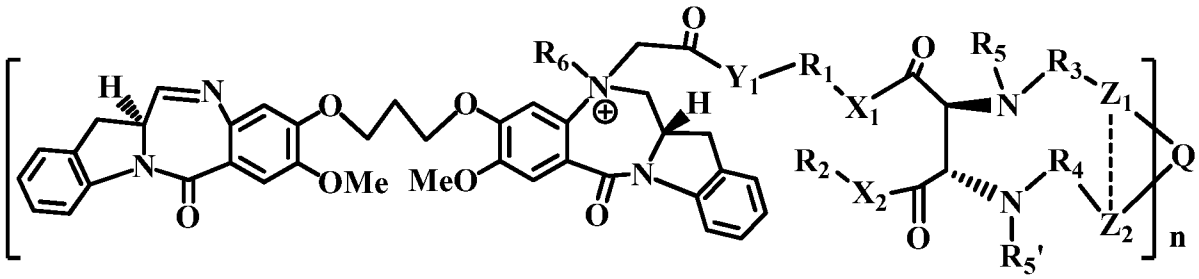
PB25,



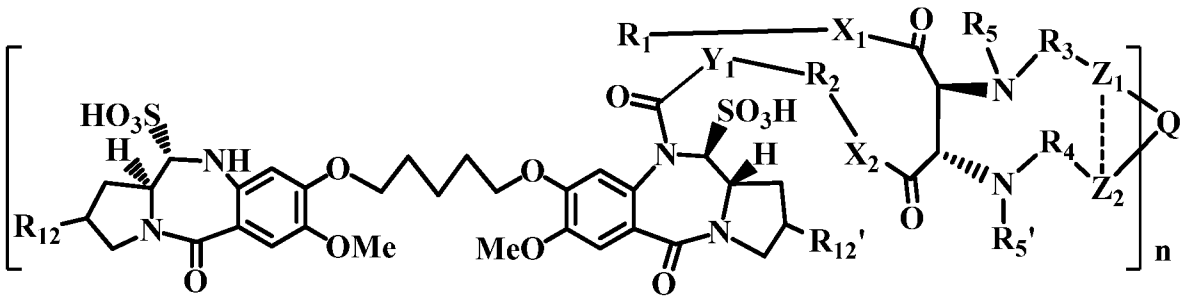
PB26,



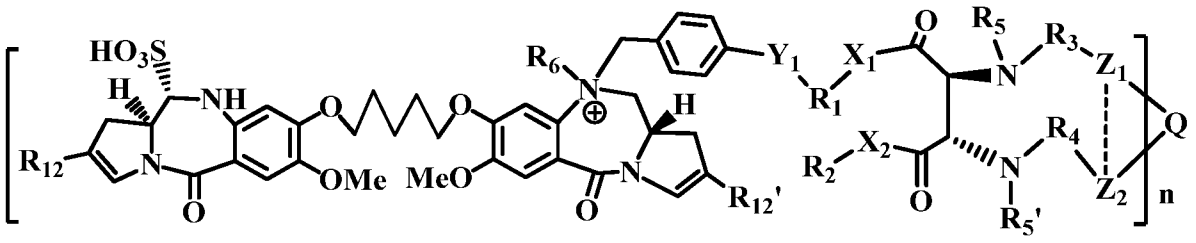
PB27,



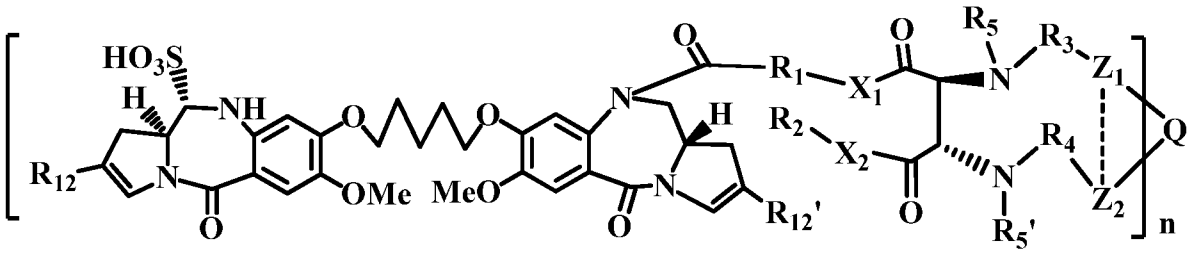
PB28,



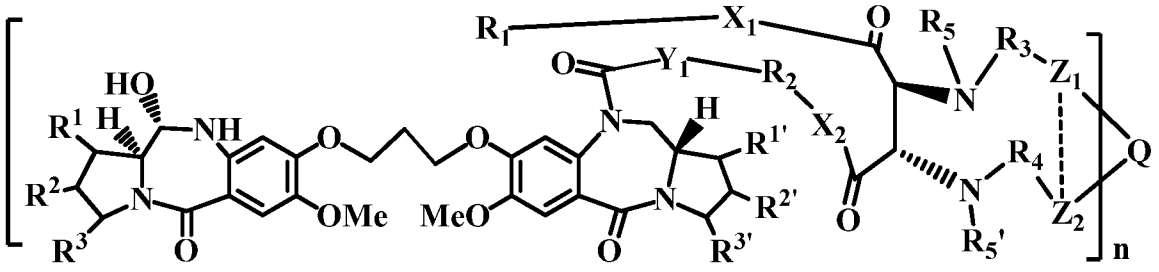
PB29,



PB30,



PB31,



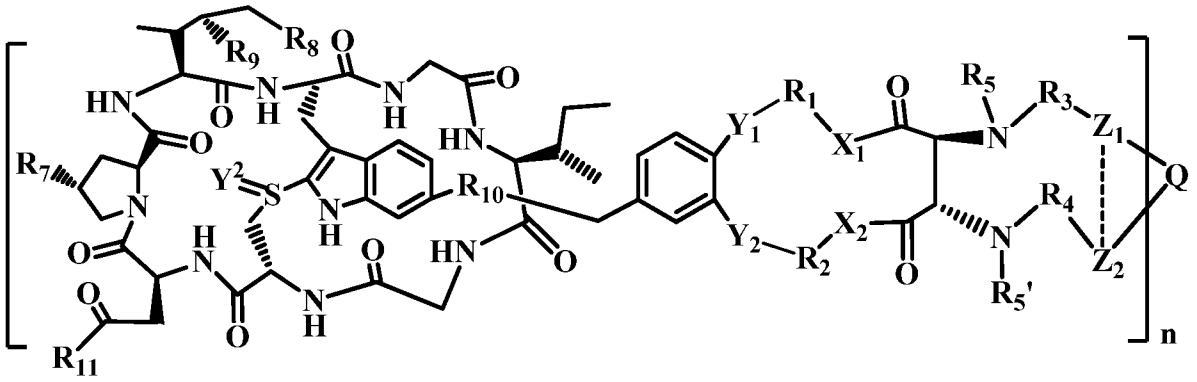
PB32,

где "-----", Q, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, и n определены так же, как и выше; Предпочтительно X_1, X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, N, NH, NHNH, NR_5, 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, C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1; R^1, R^2, R^3, $R^{1'}$, $R^{2'}$, и $R^{3'}$ независимо представляют собой H; F; Cl; =O; =S; OH; SH; C_1-C_8 линейный или разветвленный алкил, арил, алкенил, гетероарил, гетероалкил, алкилциклоалкил, сложный эфир ($COOR_5$ или – OC (O) R_5), простой эфир (OR_5), амид ($CONR_5$), карбамат ($OCONR_5$), амины (NHR_5, NR_5R_5'), гетероциклоалкил или ацилоксиламины (-C(O)NHOH, -ONHC(O)R_5); или пептиды, содержащие 1-20 природных или неприродных аминокислот, или полиэтиленокси-звено формулы (OCH_2CH_2) p или $(OCH_2CH\ (CH_3))_p$, где p равно целому числу от 1 до около 5000. ' Два R: R^1R^2, R^2R^3, R^1R^3, $R^{1'}R^{2'}$, $R^{2'}R^{3'}$, или $R^{1'}R^{3'}$ могут независимо образовывать 3-8-членное циклическое кольцо из алкильной, арильной, гетероарильной, гетероалкильной или алкилциклоалкильной группы; X_3 и Y_3 независимо представляют собой N, NH, CH_2 или CR_5, где R_5, R_6, R_{12} и R_{12} независимо представляют собой H, OH, NH_2, $NH(CH_3)$, $NHNH_2$, COOH, SH, OZ_3, SZ_3, F, Cl, или C_1-C_8 линейный или разветвленный алкил, арил, гетероарил, гетероалкил, алкилциклоалкил, ацилоксиламины; Z_3 представляет собой H, $OP(O)(OM_1)(OM_2)$, $OCH_2OP(O)(OM_1)(OM_2)$, OSO_3M_1, или O-гликозид (глюкозид, галактозид, маннозид, глюкуронозид/ глюкуронид, аллозид,

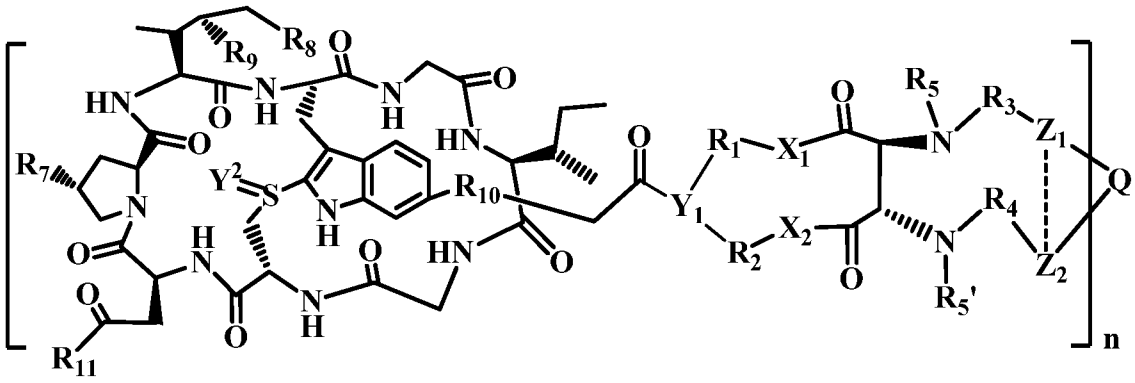
фруктозид и т. д.), NH-гликозид, S-гликозид или CH_2-гликозид; M_1 и M_2 независимо представляют собой H, Na, K, Ca, Mg, NH_4, $NR_1R_2R_3$.

Аматоксины, которые представляют собой подгруппу по меньшей мере из десяти токсических соединений, первоначально найденных в нескольких родах ядовитых грибов, в частности Amanita phalloides и некоторых других видов грибов, также являются предпочтительными для конъюгирования согласно настоящему патенту. Указанные десять аматоксинов, называемых α-аманитином, β-аманитином, γ-аманитином, ε-аманитином, аманулином, аманулиновой кислотой, аманинамидом, аманином, проаманулином, представляют собой жесткие бициклические пептиды, которые синтезируются в виде пропротеинов из 35 аминокислот, из которых последние восемь аминокислот расщепляются пролилолигопептидазой (Litten, W. 1975 Scientific American232 (3): 90–101;H. E. Hallen, et al 2007 Proc. Nat. Aca. Sci. USA 104, 19097–101; K. Baumann, et al, 1993 Biochemistry 32 (15): 4043–50; Karlson-Stiber C, Persson H. 2003, Toxicon 42 (4): 339–49; Horgen, P. A. et al. 1978 Arch. Microbio. 118 (3): 317-9). Аматоксины убивают клетки, ингибируя РНК-полимеразу II (Pol II), останавливая транскрипцию генов и биосинтез белка (Brodner, O. G. and Wieland, T. 1976 Biochemistry,15(16): 3480–4; Fiume, L., Curr Probl Clin Biochem, 1977, 7: 23-8; Karlson-Stiber C, Persson H. 2003, Toxicon 42(4): 339–49; Chafin, D. R. , Guo, H. & Price, D. H. 1995 J. Biol. Chem. 270 (32): 19114–19; Wieland (1983) Int. J. Pept. Protein Res. 22(3): 257-76.). Аматоксины могут быть получены из собранных грибов Amanita phalloides (Yocum, R. R. 1978 Biochemistry 17(18): 3786-9; Zhang, P. et al, 2005, FEMS Microbiol. Lett.252(2), 223-8), или путем ферментации с использованием базидиомицета (Muraoka, S. and Shinozawa T., 2000 J. Biosci. Bioeng. 89(1): 73-6) или путем ферментации с использованием A. fissa (Guo, X. W., et al, 2006 Wei Sheng Wu Xue Bao 46(3): 373-8), или путем культивирования Galerina fasciculata или Galerina helvoliceps, штамма принадлежащего роду (WO/1990/009799, JP11137291). Однако выходы из выделения и ферментации были довольно низкими (менее 5 мг/л культуры). За последние три десятилетия сообщалось о нескольких способах получения аматоксинов и их аналогов (W. E. Savige, A. Fontana, Chem. Commun. 1976, 600–1; Zanotti, G., et al, Int J Pept Protein Res, 1981. 18(2): 162-8; Wieland, T., et al, Eur. J. Biochem. 1981, 117, 161–4; P. A. Bartlett, et al, Tetrahedron Lett. 1982, 23, 619–22; Zanotti, G., et al., Biochim Biophys Acta, 1986. 870(3): 454-62; Zanotti, G., et al., Int. J. Peptide Protein Res. 1987, 30, 323–9; Zanotti, G., et al., Int. J. Peptide Protein Res. 1987, 30, 450–9; Zanotti, G., et al., Int J Pept Protein Res, 1988. 32(1): 9-20; G. Zanotti, T. et al, Int. J. Peptide Protein Res. 1989, 34, 222–8; Zanotti, G., et al., Int J Pept Protein Res, 1990. 35(3): 263-70; Mullersman, J. E. and J. F. Preston, 3rd, Int J Pept Protein Res, 1991. 37(6): 544-

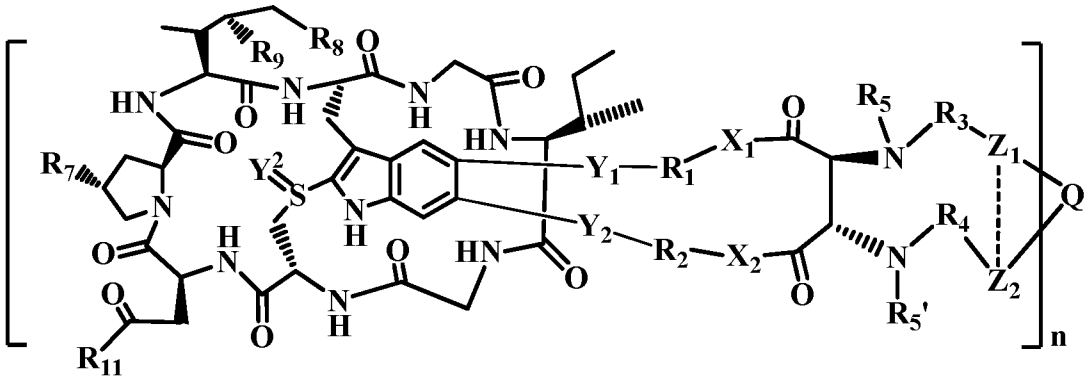
51; Mullersman, J.E., et al, Int J Pept Protein Res, 1991. 38(5): 409-16; Zanotti, G., et al, Int J Pept Protein Res, 1992. 40(6): 551-8; Schmitt, W. et al, J. Am. Chem. Soc. 1996, 118, 4380–7; Anderson, M.O., et al, J. Org. Chem., 2005, 70(12): 4578-84; J. P. May, et al, J. Org. Chem. 2005, 70, 8424–30; F. Brueckner, P. Cramer, Nat. Struct. Mol. Biol. 2008, 15, 811–8; J. P. May, D. M. Perrin, Chem. Eur. J. 2008, 14, 3404–9; J. P. May, et al, Chem. Eur. J. 2008, 14, 3410–17; Q. Wang, et al, Eur. J. Org. Chem. 2002, 834–9; May, J. P. and D. M. Perrin, Biopolymers, 2007. 88(5): 714-24; May, J. P., et al., Chemistry, 2008. 14(11): 3410-7; S. De Lamo Marin, et al, Eur. J. Org. Chem. 2010, 3985–9; Pousse, G., et al., Org Lett, 2010. 12(16): 3582-5; Luo, H., et al., Chem Biol, 2014. 21(12): 1610-7; Zhao, L., et al., Chembiochem, 2015. 16(10): 1420-5) и большая часть этих способов являлась частичным синтезом. Из-за их чрезвычайно сильной активности и уникального механизма цитотоксичности, аматоксины использовались в качестве полезных нагрузок для конъюгирования (Fiume, L., Lancet, 1969. 2 (7625): 853-4; Barbanti-Brodano, G. and L. Fiume, Nat New Biol, 1973. 243(130): 281-3; Bonetti, E., M. et al, Arch Toxicol, 1976. 35(1): p. 69-73; Davis, M. T., Preston, J. F. Science 1981, 213, 1385–1388; Preston, J.F., et al, Arch Biochem Biophys, 1981. 209(1): 63-71; H. Faulstich, et al, Biochemistry 1981, 20, 6498–504; Barak, L.S., et al., Proc Natl Acad Sci U S A, 1981. 78(5): 3034-8; Faulstich, H. and L. Fiume, Methods Enzymol, 1985. 112: 225-37; Zhelev, Z., A. et al, Toxicon, 1987. 25(9): 981-7; Khalacheva, K., et al, Eksp Med Morfol, 1990. 29(3): 26-30; U. Bermbach, H. Faulstich, Biochemistry 1990, 29, 6839–45; Mullersman, J. E. and J. F. Preston, Int. J. Peptide Protein Res. 1991, 37, 544–51; Mullersman, J.E. and J.F. Preston, Biochem Cell Biol, 1991. 69(7): 418-27; J. Anderl, H. Echner, H. Faulstich, Beilstein J. Org. Chem. 2012, 8, 2072–84; Moldenhauer, G., et al, J. Natl. Cancer Inst. 2012, 104, 622–34; A. Moshnikova, et al; Biochemistry 2013, 52, 1171–8; Zhao, L., et al., Chembiochem, 2015. 16(10): 1420-5; Zhou, B., et al., Biosens Bioelectron, 2015. 68: 189-96; WO2014/043403, патент США20150218220, патент Европы 1661584). Мы работали над конъюгированием аматоксинов в течение некоторого времени. Примеры структур конъюгата антитело-аматоксины через мостиковый линкер являются предпочтительными в качестве следующих структур Am01, Am02, Am03, Am04, Am05, Am06, Am07, Am08 и Am09:



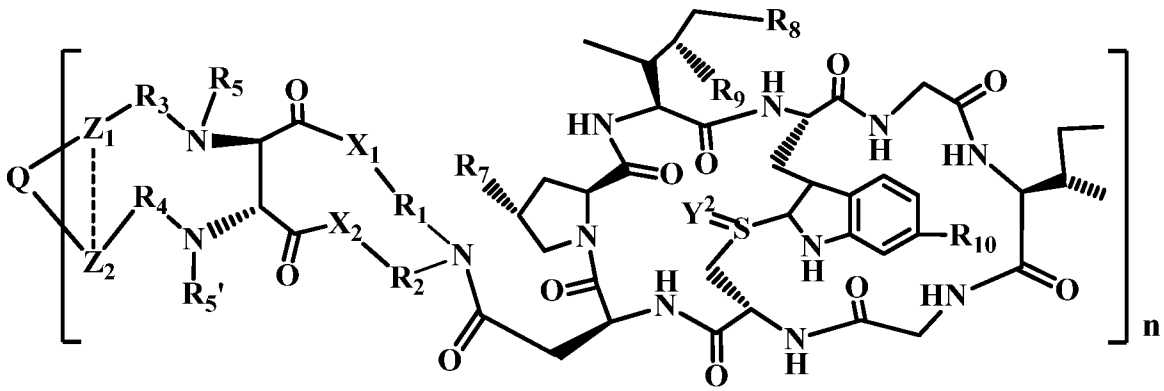
Am01,



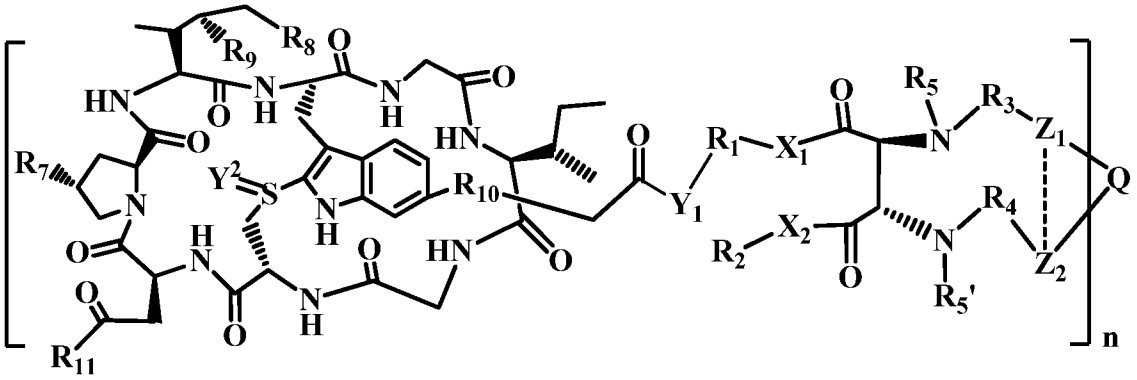
Am02,



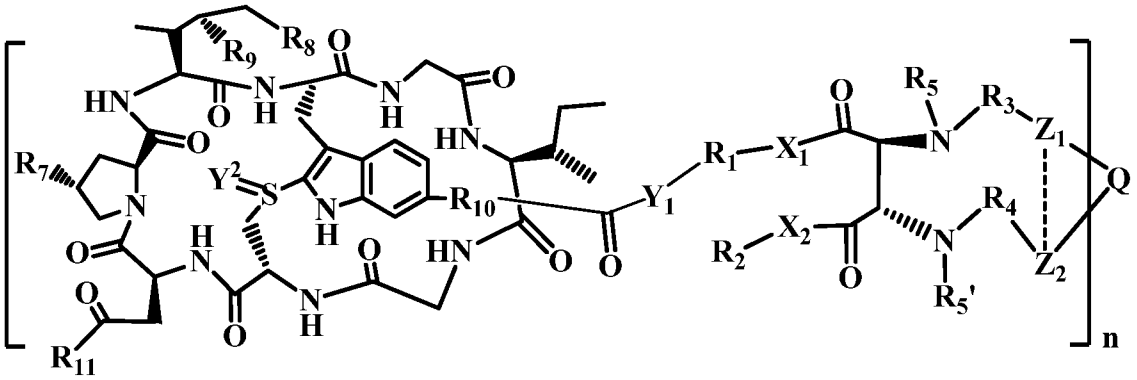
Am03



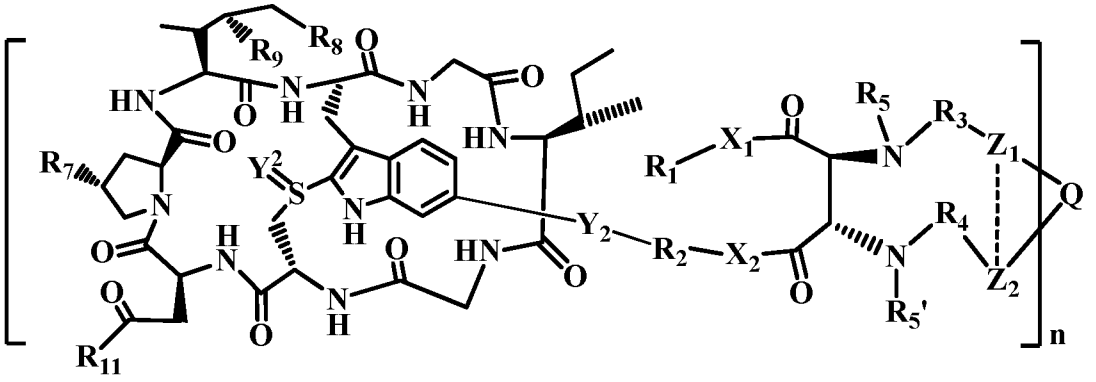
Am04,



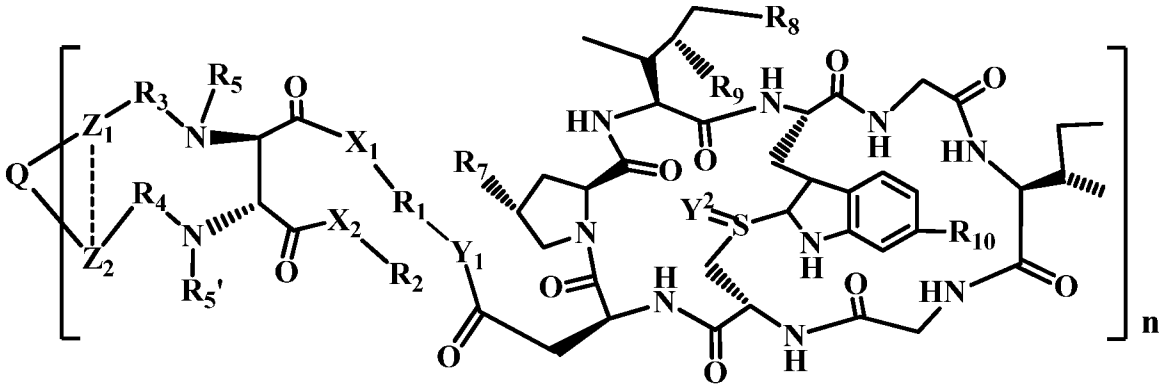
Am05,



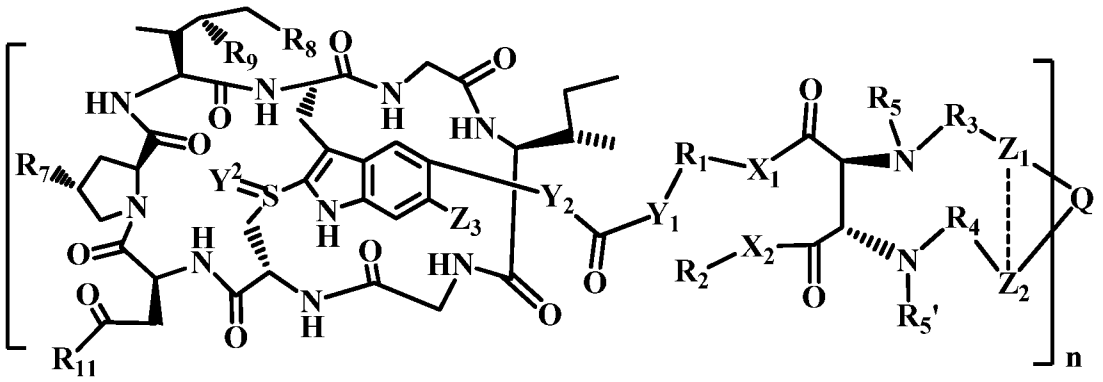
Am06,



Am07,



Am08,

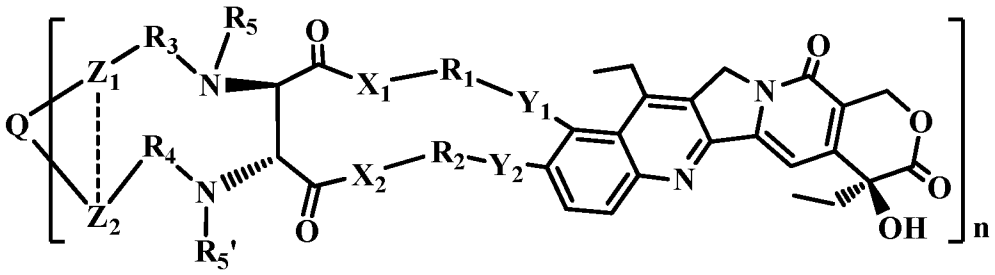


Am09,

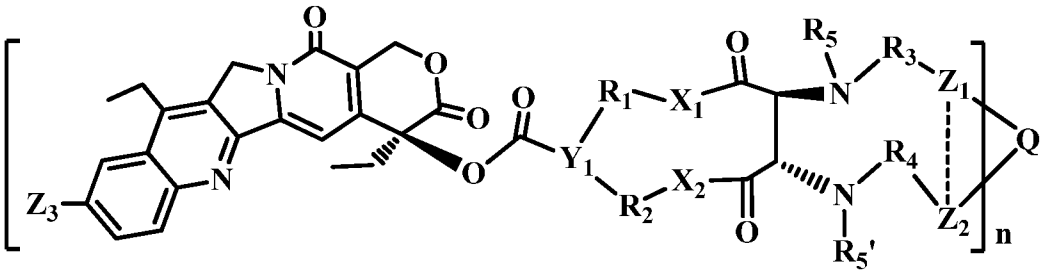
где "-----", X_1, X_2, Q, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, и n определены так же, как и выше; Предпочтительно X_1, X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, N, NH, NHNH, NR_5, S, C(O)O, C(O)NH, OC(O)NH, OC(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)S, OC(O)N(R_1), N(R_1)C(O)N(R_1), CH, C(O)NH-NHC(O), C(O)NR_1 или отсутствует; R_7, R_8, и R_9 независимо представляют собой H, OH, OR_1, NH_2, NHR_1, C_1-C_6 алкил, или отсутствует; Y^2 представляет собой O, O_2, NR_1, NH, или отсутствует; R_{10} представляет собой CH_2, O, NH, NR_1, NHC(O), NHC(O)NH, NHC(O)O, OC(O)O, C(O), OC(O), OC(O)(NR_1), (NR_1)C(O)(NR_1), C(O)R_1 или отсутствует; R_{11} представляет собой OH, NH_2, NHR_1, $NHNH_2$, NHNHCOOH, O-R_1-COOH, NH-R_1-COOH, NH-$(Aa)_n$COOH, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2OH$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, NR_1R_1', $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2COOH$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2$-CH_2COOH, NH-Ar-COOH, NH-Ar-NH_2, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHSO_3H$, $NH(CH_2CH_2$-$O)_pCH_2CH_2NHSO_3H$, R_1-$NHSO_3H$, NH-R_1-$NHSO_3H$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, OR_1, R_1-$NHPO_3H_2$, R_1-OPO_3H_2, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2C$-$H_2OPO_3H_2$, OR_1-$NHPO_3H_2$, NH-R_1-$NHPO_3H_2$, или $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, где Aa представляет собой 1-20 аминокислот; n и m_1 независимо равны 1-30; p равно 1-5000; Z_3 представляет собой H, OH, $COOR_1$, NH_2, NHR_1, OR_1, $CONHR_1$,$NHCOR_1$, $OCOR_1$, $OP(O)(OM_1)(OM_2)$, $OCH_2OP(O)(OM_1)(OM_2)$, OSO_3M_1, R_1, или O-гликозид (глюкозид, галактозид, маннозид, глюкуронозид/ глюкуронид, аллозид, фруктозид и т.д.), NH-гликозид, S-гликозид или CH_2-гликозид; M_1 и M_2 независимо представляют собой H, Na, K, Ca, Mg, NH_4, $NR_1R_2R_3$.

Камптотецин (CPT) и его производное SN-38, Топотекан, Иринотекан (CPT-11), Силатекан (DB-67, AR-67), Козитекан (BNP-1350), Этиринотекан, Экзатекан, Луртотекан, Гиматекан (ST1481), Белотекан (CKD-602) и рубитекан являются ингибиторами топоизомеразы, которые предотвращают повторное лигирование ДНК и, следовательно, вызывают повреждение ДНК, что приводит к апоптозу. К настоящему времени одобрены два аналога CPT, топотекан и иринотекан, которые используются в химиотерапии рака (Palakurthi, S., Expert Opin Drug Deliv. 2015; 12 (12): 1911-21), и некоторые из них, такие как SN-38 и Exatecan, были успешно использованы в качестве полезной нагрузки для

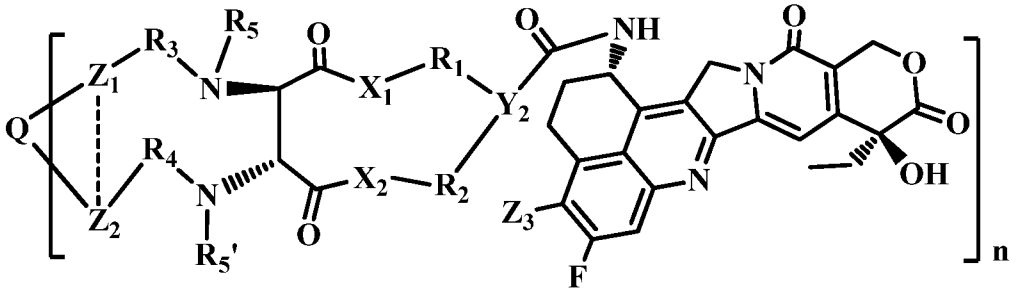
конъюгатов ADC в клинических испытаниях (Ocean, A.J. et al, Cancer. 2017, 123(19): 3843-3854; Starodub, A. N., et al, Clin Cancer Res. 2015, 21(17): 3870-8; Cardillo, T. M., et al, Bioconjug Chem. 2015, 26(5): 919-31; Ogitani, Y. et al, Bioorg Med Chem Lett. 2016, 26(20): 5069-5072; Takegawa, N. et al,Int J Cancer. 2017 Oct 15;141(8):1682-1689. Патенты США 7591994; 7999083, 8080250, 8268317; Заявки на патенты США 20130090458, 20140099258, 20150297748, 20160279259). Примеры структур конъюгата антитело-аналоги камптотецина через мостиковый линкер предпочтительны в качестве следующих структур CP01, CP02, CP03, CP04, CP05 и CP06:



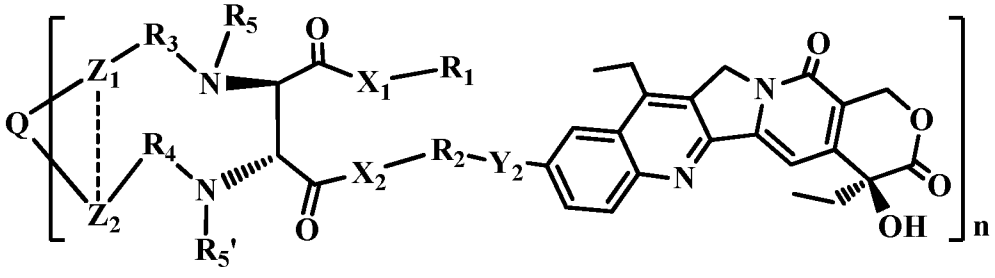
CP01,



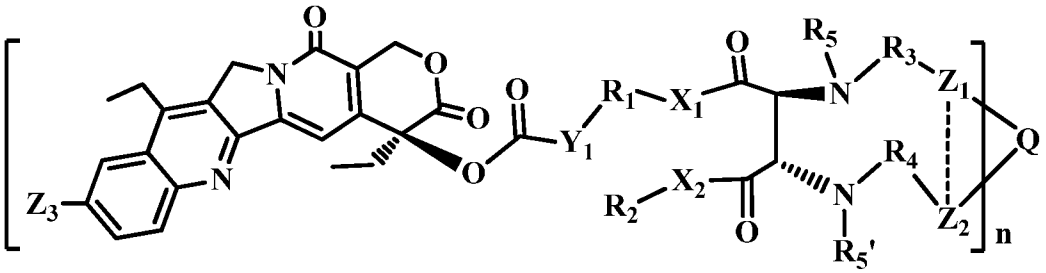
CP02,



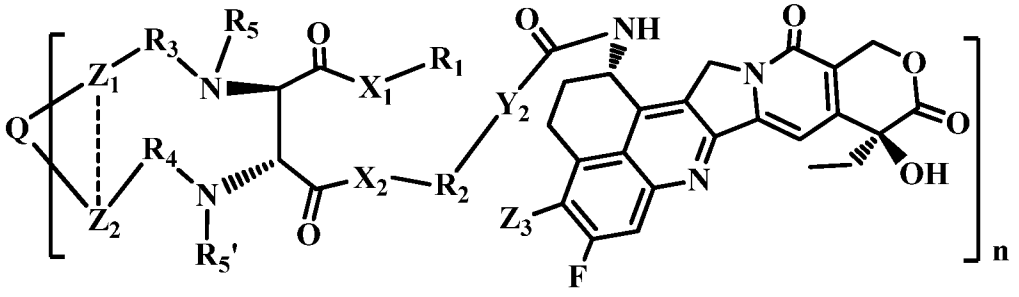
CP03,



CP04,



CP05,

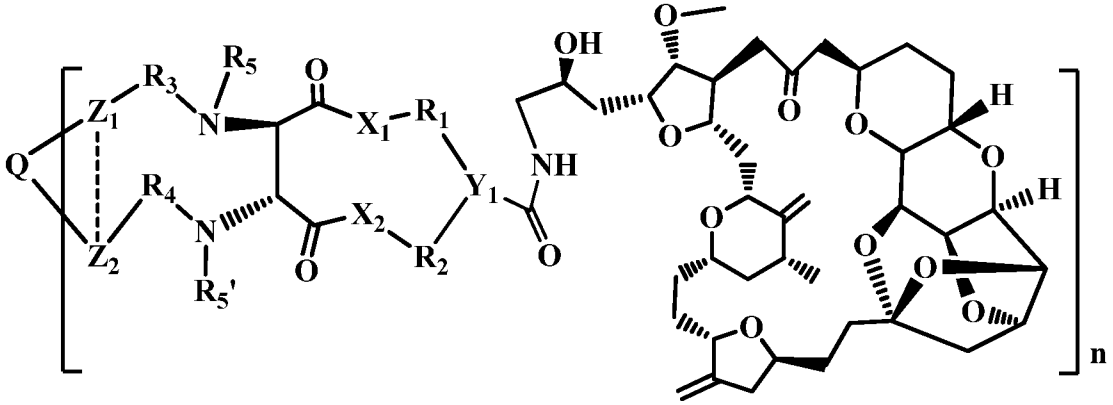


CP06,

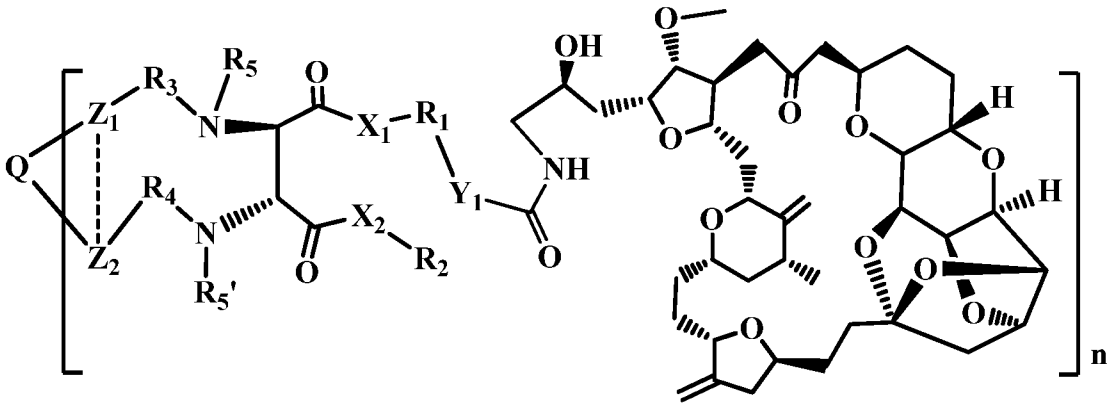
где "-----", Q, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, и n определены так же, как и выше; Предпочтительно X_1, X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, N, NH, NHNH, NR_5, S, C(O)O, C(O)NH, OC(O)NH, OC(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)S, OC(O)N(R_1), N(R_1)C(O)N(R_1), CH, CH_2, C(O)NHNHC(O), C(O)NR_1 или отсутствует; Z_3 представляет собой H, OH, $COOR_1$, NH_2, NHR_1, OR_1, CH_3, $CONHR_1$,$NHCOR_1$, $OCOR_1$, $OP(O)(OM_1)(OM_2)$, $OCH_2OP(O)(OM_1)(OM_2)$, OSO_3M_1, R_1, или O-гликозид (глюкозид, галактозид, маннозид, глюкуронозид/ глюкуронид, аллозид, фруктозид и т.д.), NH-гликозид, S-гликозид или CH_2-гликозид; M_1 и M_2 независимо представляют собой H, Na, K, Ca, Mg, NH_4, $NR_1R_2R_3$.

Эрибулин, который связывается преимущественно с небольшим количеством высокоаффинных сайтов на плюс-концах существующих микротрубочек, имеет как цитотоксические, так и нецитотоксические механизмы действия. Его цитотоксические эффекты связаны с его антимитотической активностью, при которой апоптоз раковых клеток индуцируется после длительной и необратимой митотической блокады (Kuznetsov, G. et al, Cancer Research. 2004, 64(16): 5760–6.; Towle, M. J, et al, Cancer Research. 2010, 71(2): 496-505). В дополнение к его цитотоксическим механизмам, основанным на антимитотиках, доклинические исследования на моделях рака груди человека показали, что эрибулин также оказывает комплексное воздействие на биологию выживших раковых клеток и остаточных опухолей, что, по-видимому, не связано с его антимитотическим действием. Эрибулин был одобрен FDA США для лечения метастатического рака молочной железы у пациентов, которые ранее получали как минимум два режима химиотерапии для поздних стадий заболевания, включая химиотерапию на основе антрациклина и таксана, а также для лечения липосаркомы (специфический тип саркомы мягких тканей), которая не может быть удалена хирургическим путем (неоперабельная)

или прогрессирующая (метастатическая). Эрибулин использовался в качестве полезной нагрузки для конъюгатов ADC (US 20170252458). Примеры структур конъюгата антитело-эрибулины через мостиковый линкер предпочтительны в качестве следующих структур Eb01 и Eb02.



Eb01,

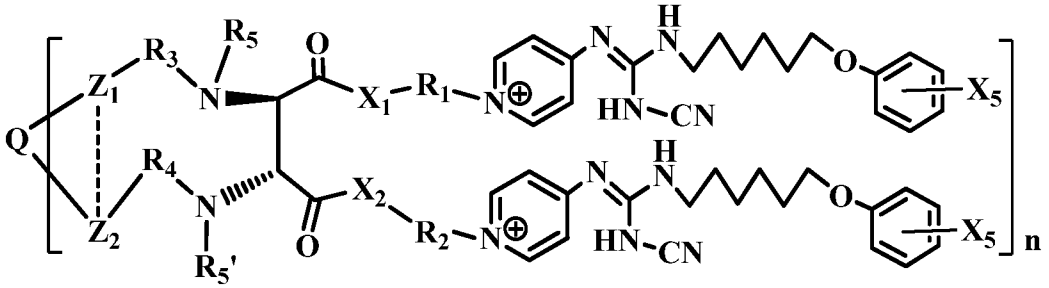


Eb02,

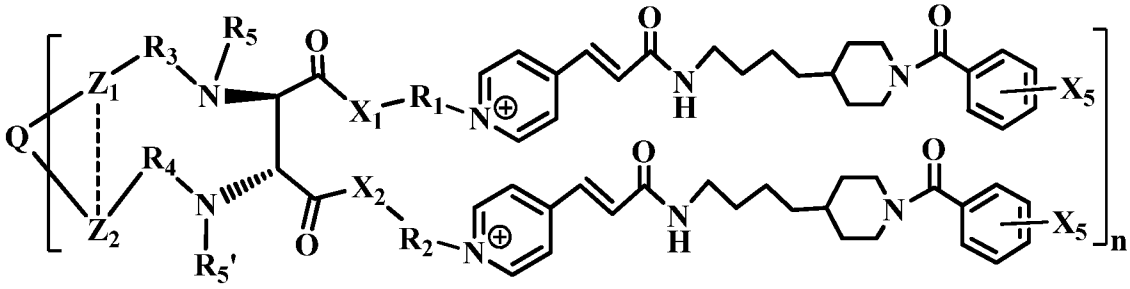
где "-----", Q, X_1, X_2, Y_1, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, и n определены так же, как и выше; Предпочтительно X_1, X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, N, NH, NHNH, NR_5, S, C(O)O, C(O)NH, OC(O)NH, OC(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)S, OC(O)N(R_1), N(R_1)C(O)N(R_1), CH, CH_2, C(O)NHNHC(O), C(O)NR_1 или отсутствует

Ингибиторы никотинамидфосфорибозилтрансферазы (NAMPT) представляют собой интересную полезную нагрузку для ADC из-за их уникальных механизмов высокой активности (Sampath D, et al, Pharmacol Ther **2015**; 151, 16-31). NAMPT регулирует уровни никотинамидадениндинуклеотида (NAD) в клетках, где NAD играет роль важного окислительно-восстановительного кофактора для поддержки энергетического и анаболического метаболизма. NAD играет несколько важных ролей в метаболизме. Он действует как кофермент в окислительно-восстановительных реакциях, как донор фрагментов АДФ-рибозы в реакциях АДФ-рибозилирования, как предшественник второй молекулы-мессенджера циклической АДФ-рибозы, а также как субстрат для бактериальных ДНК-лигаз и группы ферментов, называемых сиртуинами, которые используют NAD^+ для удаления ацетильных групп из белков. В дополнение к этим

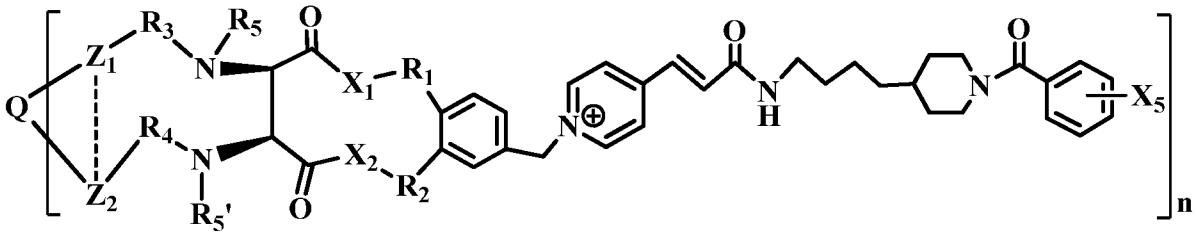
метаболическим функциям NAD^+ появляется как адениновый нуклеотид, который может высвобождаться из клеток спонтанно и с помощью регулируемых механизмов (Smyth L.M et al., J. Biol. Chem. 2004, 279 (47), 48893–903; Billington R. A, et al, Mol Med. 2006, 12, 324–7), и поэтому может играть важную внеклеточную роль (Billington R. A, et al, Mol Med. 2006, 12, 324–7) Когда присутствуют ингибиторы NAMPT, уровни NAD снижаются ниже уровня, необходимого для метаболизма, что приводит к энергетическому кризису и, следовательно, к гибели клеток. Пока что клинические кандидаты в ингибиторы NAMPT FK-866, CHS-828 и GMX-1777 прошли клинические испытания, но каждый из них столкнулся с ограничивающей дозу токсичностью до получения каких-либо объективных ответов (Holen K., et al, Invest New Drugs 2008, 26, стр. 45-51; Hovstadius, P., et al, Clin Cancer Res 2002, 8, 2843-50; Pishvaian, MJ, et al, J Clin Oncol 2009, 27, 3581). Таким образом, использование ADC для нацеленной доставки ингибиторов NAMPT может обойти системную токсичность для достижения гораздо более широкого терапевтического индекса. Примеры структур конъюгата антитело-ингибиторы NAMPT через мостиковый линкер являются предпочтительными, как следующие структуры NP01, NP02, NP03, NP04, NP05, NP06, NP07, NP08 и NP09:



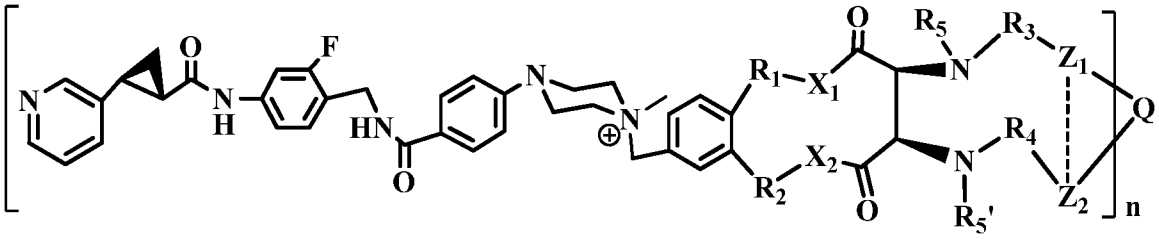
NP01,



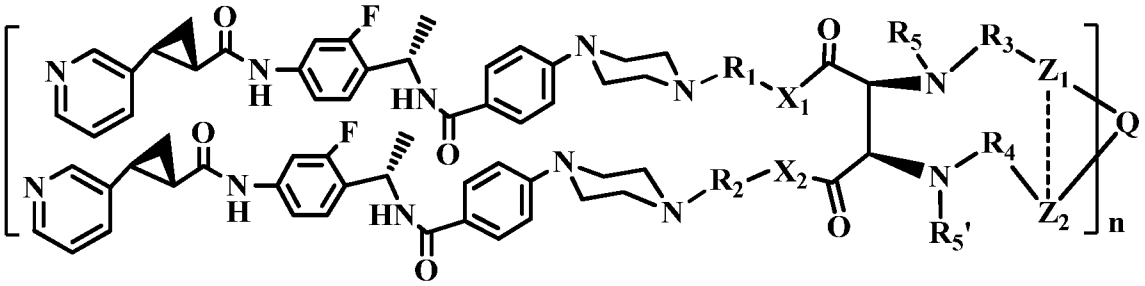
NP02,



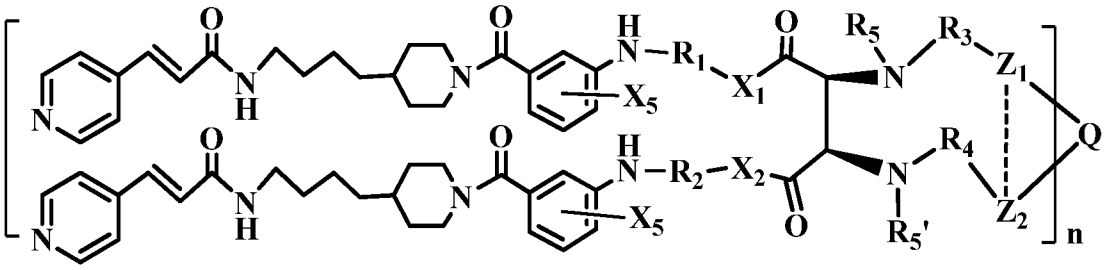
NP03,



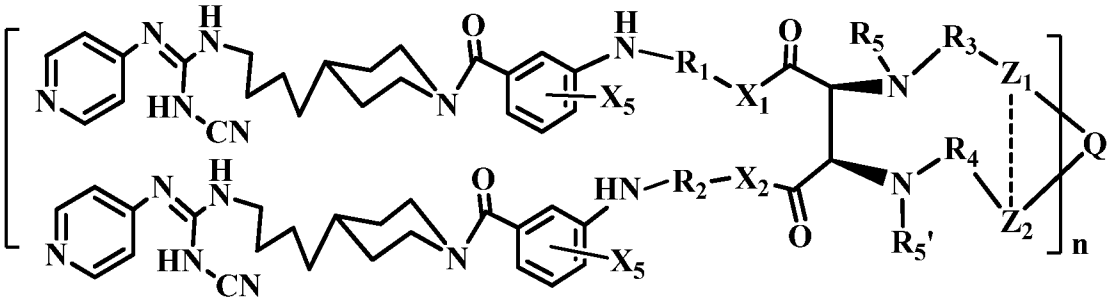
NP04,



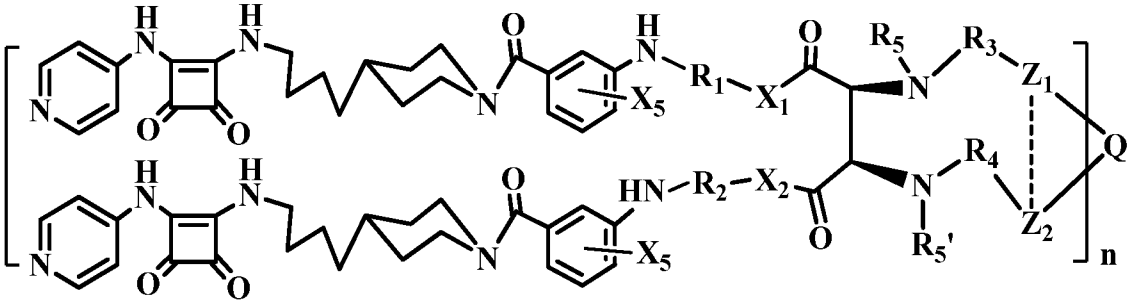
NP05,



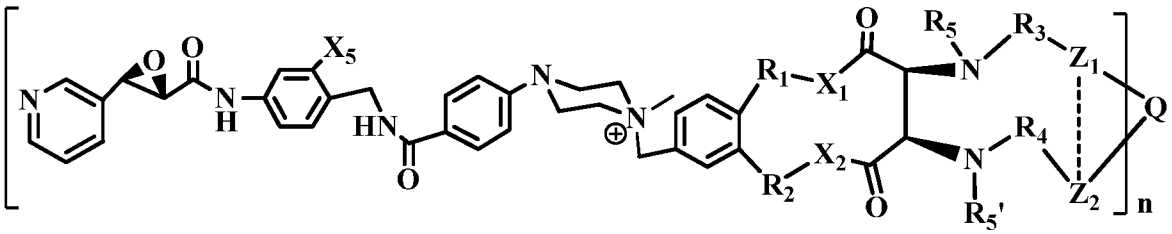
NP06,



NP07,



NP08，



NP09,

где "-----", Q, X_1, X_2, Y_1, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, и n определены так же, как и выше; X_5 представляет собой F, Cl, Br, I, OH, OR_1, R_1, OPO_3H_2, OSO_3H, NHR_1, $OCOR_1$, $NHCOR_1$; Предпочтительно X_1, X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, N, NH, NHNH, NR_5, 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, CH_2, C(O)NHNHC(O), C(O)NR_1 или отсутствуют.

В еще одном варианте осуществления иммунотоксин может быть конъюгирован с молекулой, связывающейся с клеткой, через бис-линкер согласно настоящему патенту. Иммунотоксин в данном описании представляет собой макромолекулярное лекарственное средство, которое обычно представляет собой цитотоксический белок, полученный из бактериального или растительного белка, такого как дифтерийный токсин (DT), холерный токсин (CT), трихосантин (TCS), диантин, экзотоксин Pseudomonas A (ETA'), эритрогенные токсины, дифтерийный токсин, токсины AB, экзотоксины типа III и др. Также это может быть высокотоксичный бактериальный порообразующий протоксин, который требует протеолитической обработки для активации. Примером такого протоксина является проаэролизин и его генетически модифицированная форма, топсализин. Топсализин представляет собой модифицированный рекомбинантный белок, который был разработан для селективной активации ферментом в предстательной железе, что приводит к локализованной гибели клеток и разрушению тканей без повреждения соседних тканей и нервов.

В еще одном варианте осуществления лиганды, связывающиеся с клеткой или агонисты клеточных рецепторов могут быть конъюгированы с молекулой, связывающейся с клеткой через бис-линкер согласно настоящему патенту. Такие конъюгированные лиганды, связывающиеся с клеткой, или агонисты клеточных рецепторов, в частности, конъюгаты «антитело-рецептор», могут не только работать в качестве нацеливающего проводника/ориентанта для доставки конъюгата в злокачественные клетки, но также использоваться для модуляции или костимуляции желаемого иммунного ответа или изменения сигнальных путей.

В иммунотерапии лиганды, связывающиеся с клеткой, или агонисты клеточных рецепторов, предпочтительны для конъюгирования с антителом TCR (Т-клеточных рецепторов) Т-клеток или CAR (химерных антигенных рецепторов) Т-клеток или В-клеточных рецепторов (BCR), естественных клеток-киллеров (NK) или цитотоксических клеток. Такое антитело предпочтительно представляет собой анти-CD3, CD4, CD8, CD16 (FcγRIII), CD27, CD40, CD40L, CD45RA, CD45RO, CD56, CD57, CD57bright, TNFβ, лиганд Fas, молекулы MHC класса I (HLA-A, B, C), либо NKR-P1. Лиганды, связывающиеся с клеткой или агонисты рецепторов выбраны из, но не ограничены этим: производных

фолата (связываются с фолатным рецептором, белком, сверхэкспрессируемым при раке яичников и других злокачественных новообразованиях) (Low, P. S. et al 2008, Acc. Chem. Res. 41, 120-9); производных мочевино глутаминовой кислоты (связываются с специфичным мембранным антигеном предстательной железы, поверхностным маркером клеток рака предстательной железы) (Hillier, S.Metal, 2009, Cancer Res. 69, 6932-40); Соматостатин (также известный как гормон, ингибирующий гормон роста (GHIH) илифактор, ингибирующий высвобождение соматотропина (SRIF)) илигормон, ингибирующий высвобождение соматотропина) и его аналоги, такие как октреотид (Сандостатин) и ланреотид (Соматулин) (особенно для нейроэндокринных опухолей, аденома гипофиза, продуцирующая GH, параганглиома, нефункционирующая аденома гипофиза, феохромоцитомы) (Ginj, M., et al, 2006, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 103, 16436-41). В целом, соматостатин и подтипы его рецепторов (sst1, sst2, sst3, sst4 и sst5) были обнаружены во многих типах опухолей, таких как нейроэндокринные опухоли, в частности в GH-секретирующие гипофизеаденомы (Reubi J. C., Landolt, A. M. 1984 J. Clin. Endocrinol Metab 59: 1148–51; Reubi J. C., Landolt A. M. 1987 J Clin Endocrinol Metab 65: 65–73; Moyse E, et al, J Clin Endocrinol Metab 61: 98–103) и гастроэнтеропанкреатические опухоли (Reubi J. C., et al, 1987 J Clin Endocrinol Metab 65: 1127–34; Reubi, J. C, et al, 1990 Cancer Res 50: 5969–77), феохромоцитомы (Epel-baum J, et al 1995 J Clin Endocrinol Metab 80:1837–44; Reubi J. C., et al, 1992 J Clin Endocrinol Metab 74: 1082–9), нейробластомы (Prevost G, 1996 Neuroendocrinology 63:188–197; Moertel, C. L, et al 1994 Am J Clin Path 102:752–756), медуллярный рак щитовидной железы (Reubi, J. C, et al 1991 Lab Invest 64:567–573), мелкоклеточный рак легких (Sagman U, et al, 1990 Cancer 66:2129–2133), не-нейроэндокринные опухоли, включая опухоли головного мозга, такие как менингиомы, медуллобластомы или глиомы (Reubi J. C., et al 1986 J Clin Endocrinol Metab 63: 433–8; Reubi J. C., et al 1987 Cancer Res 47: 5758–64; Fruhwald, M. C, et al 1999 Pediatr Res 45: 697–708), карциномы молочной железы (Reubi J. C., et al 1990 Int J Cancer 46: 416–20; Srkalovic G, et al 1990 J Clin Endocrinol Metab 70: 661–669), лимфомы (Reubi J. C., et al 1992, Int J Cancer50: 895–900), почечно-клеточный рак (Reubi J. C., et al 1992, Cancer Res 52: 6074–6078), мезенхимальные опухоли (Reubi J. C., et al 1996 Cancer Res 56: 1922–31), опухоли предстательной железы (Reubi J. C., et al 1995, J. Clin. Endocrinol Metab 80: 2806–14; et al 1989, Prostate 14:191–208; Halmos G, et al J. Clin. Endo-crinol Metab 85: 2564–71), яичников (Halmos, G, et al, 2000 J Clin Endocrinol Metab 85: 3509–12; Reubi J. C., et al 1991 Am J Pathol 138:1267–72), желудка (Reubi J. C., et al 1999, Int J Cancer 81: 376–86; Miller, G. V, 1992 Br J Cancer 66: 391–95), гепатоцеллюлярный рак (Kouroumalis E, et al., 1998, Gut 42: 442–7; Reubi J. C., et al 1999 Gut 45: 66–774) и назофарингеальные карциномы (Loh K. S, et

al, 2002 Virchows Arch 441: 444-8); некоторые ароматические сульфонамиды, специфичные для карбоангидразы IX (маркер гипоксии и почечно-клеточного рака) (Neri, D., et al, Nat. Rev. Drug Discov. 2011, 10, 767-7); Пептиды, активирующие аденилатциклазу гипофиза (PACAP) (PAC1) для феохромоцитом и параганглиом; Вазоактивные кишечные пептиды (VIP) и их подтипы рецепторов (VPAC1, VPAC2) для рака легких, желудка, толстой кишки, прямой кишки, груди, простаты, протоков поджелудочной железы, печени, мочевого пузыря и эпителиальных опухолей; рецепторы α-меланоцит-стимулирующего гормона (α-MSH) для различных опухолей; рецепторы холецистокинина (CCK)/гастрина и их подтипы рецепторов (CCK1 (ранее CCK-A) и CCK2 для мелкоклеточного рака легких, медуллярных карцином щитовидной железы, астроцитом, инсулином и рака яичников; бомбезин(Pyr-Gln-Arg-Leu-Gly- Asn-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH_2)/гастрин-высвобождающий пептид (GRP) и их подтипы рецепторов (BB1, подтип рецептора GRP (BB2), BB3 и BB4) для почечных клеток, груди, легких, желудка и предстательной железы карцином и нейробластомы (и нейробластома (Ohlsson, B., et al, 1999, Scand. J. Gastroenterology 34 (12): 1224–9; Weber, H. C., 2009, Cur. Opin. Endocri. Diab. Obesity 16(1): 66–71, Gonzalez N, et al, 2008, Cur. Opin. Endocri. Diab. Obesity 15(1), 58-64); рецепторы нейротензина и подтипы его рецепторов (NTR1, NTR2, NTR3) для мелкоклеточного рака легких, нейробластомы, рака поджелудочной железы, толстой кишки и саркомы Юинга; рецепторы вещества P и подтипы его рецепторов (такие как рецептор NK1 для глиальных опухолей, Hennig I. M., et al 1995 Int. J. Cancer 61, 786–792); рецепторы нейропептида Y (NPY) и подтипы его рецепторов (Y1 – Y6) для карцином молочной железы; хоминг пептиды включают RGD (Arg-Gly-Asp), NGR (Asn-Gly-Arg), димерные и мультимерные циклические пептиды RGD (например, cRGDfV), которые распознают рецепторы (интегрины) на поверхности опухоли (Laakkonen P, Vuorinen K. 2010, Integr Biol (Camb). 2(7–8): 326–337; Chen K, Chen X. 2011, Theranostics. 1:189–200; Garanger E, et al, Anti-Cancer Agents Med Chem. 7 (5): 552–558; Kerr, J. S. et al, Anticancer Research, 19(2A), 959-968; Thumshirn, G, et al, 2003 Chem. Eur. J. 9, 2717- 2725), и TAASGVRSMH или LTLRWVGLMS (рецептор хондроитинсульфата протеогликана NG2) и пептиды F3 (пептид из 31 аминокислоты, который связывается с рецептором нуклеолина, экспрессируемым на клеточной поверхности) (Zitzmann, S., 2002 Cancer Res., 62, 18, pp. 5139–5143, Temminga, K., 2005, Drug Resistance Updates, 8, 381–402; P. Laakkonen and K. Vuorinen, 2010 Integrative Biol, 2(7-8), 326–337; M. A. Burg, 1999 Cancer Res., 59(12), 2869–2874; K. Porkka, et al 2002, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 99(11), 7444-9); пептиды, проникающие в клетки (CPP) (Nakase I, et al, 2012, J. Control Release. 159 (2), 181–188); Пептидные гормоны, такие как агонисты и антагонисты высвобождающего

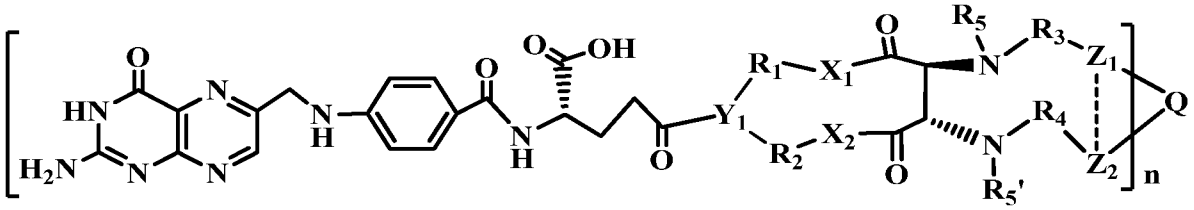
гормона лютеинизирующего гормона (LHRH) и агонист гонадотропин-высвобождающего гормона (GnRH) действуют путем нацеливания на фолликулостимулирующий гормон (FSH) и лютеинизирующий гормон (LH), а также продукцию тестостерона, например бусерелин (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser (OtBu) -Leu-Arg-Pro-NHEt), гонадорелин (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly- NH_2), гозерелин (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser (OtBu) -Leu-Arg-Pro-AzGly-NH2), гистрелин (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-His (N-бензил)-Leu-Arg-Pro-NHEt), лейпролид (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-Leu-Leu-Arg-Pro-NHEt), нафарелин (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr- 2Nal-Leu-Arg-Pro-Gly-NH_2), трипторелин (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH_2), нафарелин, деслорелин, абареликс (Ac-D- 2Nal-D-4-хлорPhe-D-3-(3-пиридил)Ala-Ser-(N-Me) Tyr-D-Asn-Leu-изопропилLys-Pro-DAla-NH_2), цетрореликс (Ac-D-2Nal-D-4-хлор-Phe-D-3-(3-пиридил) Ala-Ser-Tyr-D-Cit-Leu-Arg-Pro-D-Ala-NH_2), дегареликс (Ac-D-2Nal-D-4-хлорPh-D-3-(3-пиридил)Ala-Ser-4-аминоPhe (L-гидрооротил)-D-4-аминоPhe (карба-моил) -Leu-изопропилLys-Pro-D-Ala-NH_2) и ганиреликс (Ac-D-2Nal-D-4-хлорPhe-D-3-(3-пиридил)Ala-Ser-Tyr-D-(N9, N10-диэтил)-homoArg-Leu-(N9,N10-диэтил) -homoArg-Pro-D-Ala-NH_2) (Thundimadathil, J., J. Amino Acids, 2012, 967347, doi: 10,1155/201 2/967347; Boccon-Gibod, L .; et al, 2011 г., Терапевтические достижения в урологии 3(3): 127–140; Debruyne, F., 2006, Future Oncology, 2(6), 677–696; Schally A. V; Nagy, A. 1999 Eur J Endocrinol 141:1–14; Koppan M, et al 1999 Prostate 38:151–158); и рецепторы распознавания патернов (PRR), такие как Toll-подобные рецепторы (TLR), лектины C-типа и Nodlike-рецепторы (NLRs) (Fukata, M., et al, 2009, Semin. Immunol. 21, 242–253; Maisonneuve, C., et al, 2014, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 111, 1–6; Botos, I., et al, 2011, Structure 19, 447–459; Means, T. K., et al, 2000, Life Sci. 68, 241–258), которые варьируются по размеру от малых молекул (имиквимод, гуанизин и аналоги аденозина) до больших и сложных биомакромолекул, таких как липополисахарид (LPS), нуклеиновые кислоты (CpG DNA, polyI: C) и липопептиды (Pam3CSK4) (Kasturi, S. P., et al, 2011, Nature 470, 543–547; Lane, T., 2001, J. R. Soc. Med. 94, 316; Hotz, C., and Bourquin, C., 2012, Oncoimmunology 1, 227−228; Dud□k, □. Z., □t □l, 2007, □lin. □□n□□r R□s. 13, 7119–25); рецепторы кальцитонина, которые представляют собой нейропептид из 32 аминокислот, участвующий в регуляции уровней кальция, в основном благодаря его воздействию на остеокласты и почки (Zaidi M, et al, 1990 Crit Rev Clin Lab Sci 28, 109–174; Gorn, A. H., et al 1995 J Clin Invest 95:2680–91); и рецепторы интегрина и подтипы его рецепторов (такие как $\alpha v\beta_1$, $\alpha v\beta_3$, $\alpha v\beta_5$, $\alpha v\beta_6$, $\alpha_6\beta_4$, $\alpha_7\beta_1$, $\alpha_L\beta_2$, $\alpha_{IIb}\beta_3$ и т. д.), которые обычно играют важную роль в ангиогенезе, экспрессируются на поверхностях различных клеток, в частности, остеокластов, эндотелиальных клеток и опухолевых клеток (Ruoslahti, E. et al, 1994 Cell 77, 477-8; Albelda, S. M. et al, 1990 Cancer Res., 50, 6757-64). Короткие пептиды,

GRGDSPK и циклические пентапептиды RGD, такие как цикло(RGDfV) (L1) и его производные [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)] продемонстрировали высокую аффинность связывания рецепторов интергрина (Dechantsreiter, M. A. et al, 1999 J. Med. Chem. 42, 3033-40, Goodman, S. L., et al, 2002 J. Med. Chem. 45, 1045-51).

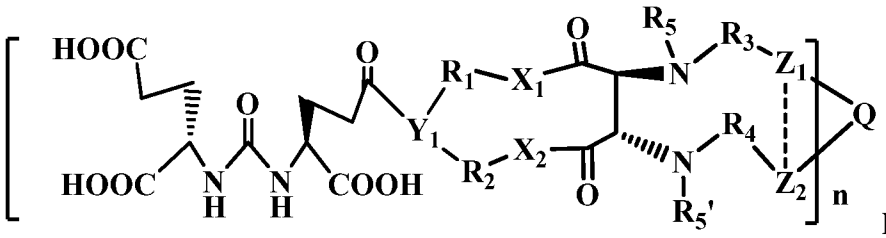
Лиганды, связывающиеся с клеткой или агонисты клеточных рецепторов могут представлять собой белковые каркасные молекулы на основе Ig и не на основе Ig. Каркасы на основе Ig могут быть выбраны, но не ограничены, из нанотела (производного VHH (Ig верблюдовых)) (Muyldermans S., 2013 Annu Rev Biochem. 82, 775–97); доменных антител (dAb, производное домена VH или VL) (Holt, L. J, et al, 2003, Trends Biotechnol. 21, 484–90); биспецифический рекрутер Т-клеток (BiTE, биспецифическое диатело) (Baeuerle, P. A, et al, 2009, Curr. Opin. Mol. Ther. 11, 22–30); переориентирующееся антитело с двойной аффинностью (DART, биспецифическое диатело) (Moore P. A. P, et al. 2011, Blood 117(17), 4542–51); четырехвалентные тандемные антитела (TandAb, димеризованное биспецифичное диатело) (Cochlovius, B, et al. 2000, Cancer Res. 60(16):4336-4341). Каркасы не на основе Ig могут быть выбраны, но не ограничены, 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 A/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).

Примеры структур конъюгата «антитело-лиганд, связывающийся с клеткой» или агонистов клеточных рецепторов, или лекарственных средств, связанных через бис-линкер согласно патентной заявки, перечислены ниже: LB01 (конъюгат с фолатом), LB02 (конъюгат с лигандом PMSA), LB03 (конъюгат с лигандом PMSA), LB04 (конъюгат с лигандом PMSA), LB05 (конъюгат с соматостатином), LB06 (конъюгат с соматостатином), LB07 (октреотид, конъюгата аналога соматостатина), LB08 (ланреотид, конъюгата аналога

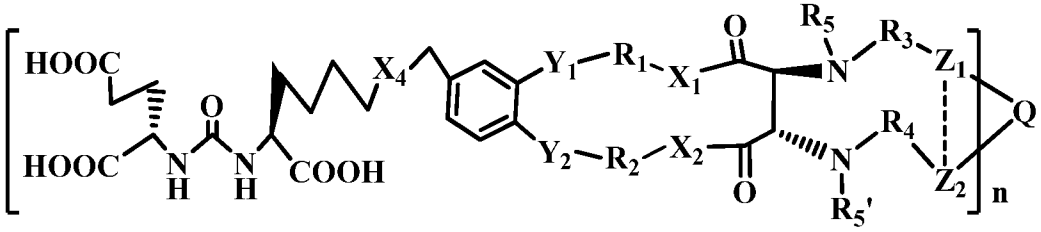
соматостатина), LB09 (вапреотид(санвар), конъюгат аналога соматостатина), LB10 (конъюгат с лигандом CAIX), LB11 (конъюгат с лигандом CAIX), LB12 (рецептор высвобождающего гастрин пептида (GRPr), конъюгат MBA) LB13 (конъюгат лиганд рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) и GnRH), LB14 (конъюгат лиганд рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) и GnRH-лиганда), LB15 (антагонист GnRH, абареликс конъюгат), LB16 (кобаламин, конъюгат аналога витамина B12), LB17 (кобаламин, конъюгат аналога витамина B12), LB18 (пентапептидный циклический RGD конъюгат для рецептора интегрина $\alpha_v\beta_3$), LB19 (конъюгат гетеро-двухвалентного пептидного лиганда рецептора VEGF), LB20 (конъюгат нейромедина B), LB21 (конъюгат бомбезина для рецептора, сопряженного с G-белком), LB22 (конъюгат TLR_2 для Toll-подобного рецептора), LB23 (для рецептора андрогена), LB24 (циленгитид/цикло(-RGDfV-) конъюгат для рецептора интергрина α_v), LB23 (конъюгат с флудрокортизоном), LB25 (конъюгат с аналогом рифабутина), LB26 (конъюгат с аналогом рифабутина), LB27 (конъюгат с аналогом рифабутина), LB28 (конъюгат с флудрокортизоном), LB29 (конъюгат с дексаметазоном), LB30 (конъюгат с флутиказоном пропионатом), LB31 (конъюгат с беклометазоном дипропионатом), LB32 (конъюгат с триамцинолоном ацетонидом), LB33 (конъюгат с преднизоном), LB34 (конъюгат с преднизолоном), LB35 (конъюгат с метилпреднизолоном), LB36 (конъюгат с бетаметазоном), LB37 (конъюгат с аналогом иринотекана), LB38 (конъюгат с аналогом кризотиниба), LB39 (конъюгат с аналогом бортезомиба), LB40 (конъюгат с аналогом карфилзомиба), LB41 (конъюгат с аналогом карфилзомиба), LB42 (конъюгат с аналогом лейпролида), LB43 (конъюгат с аналогом трипторелина), LB44 (конъюгат с клиндамицина), LB45 (конъюгат с аналогом лираглутида), LB46 (конъюгат с аналогом семаглутида), LB47 (конъюгат с аналогом ретапамулина), LB48 (конъюгат с аналогом инбулина), LB49 (конъюгат с аналогом винбластина), LB50 (конъюгат с аналогом ликсисенатида), LB51 (конъюгат с аналогом осимертиниба), LB52 (конъюгат с аналогом неуклеозида), LB53 (конъюгат с аналогом эрлотиниба) и LB54 (конъюгат с аналогом лапатиниба), которые представлены следующими структурами:



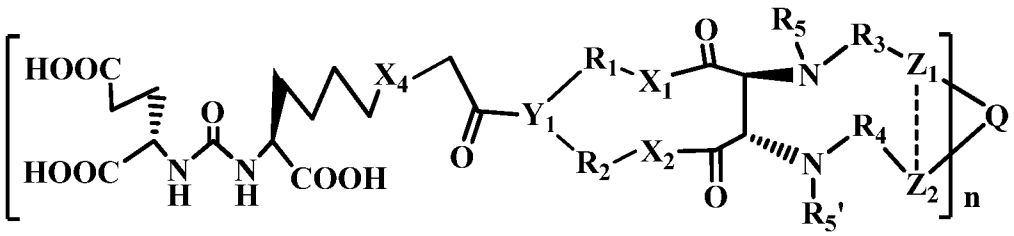
LB01 (конъюгат с фолатом),



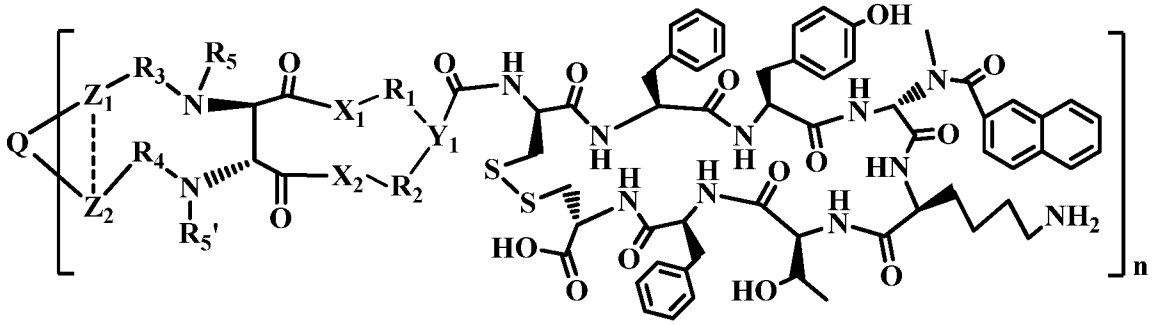
LB02 (конъюгат с лигандом PMSA),



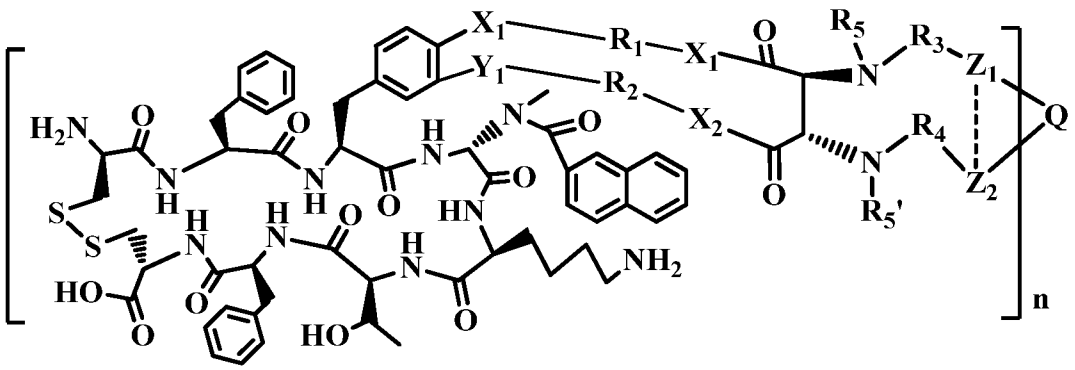
LB03 (конъюгат с лигандом PMSA),



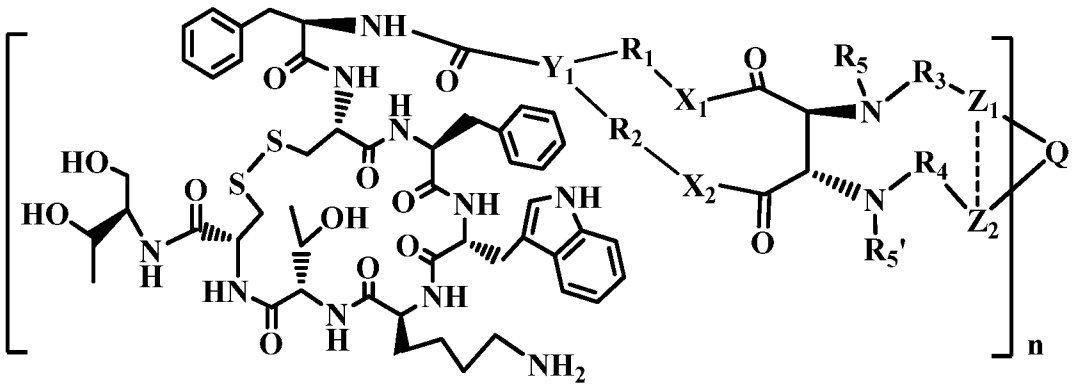
LB04 (конъюгат с лигандом PMSA),



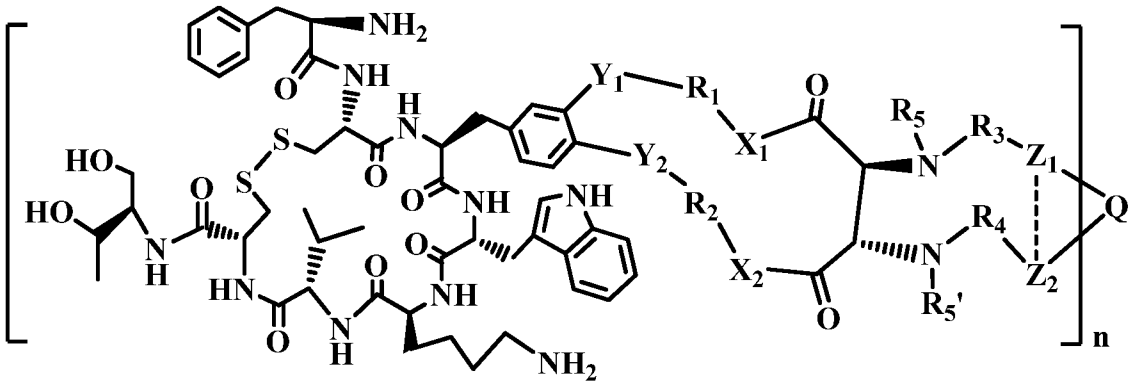
LB05 (конъюгат с соматостатином),



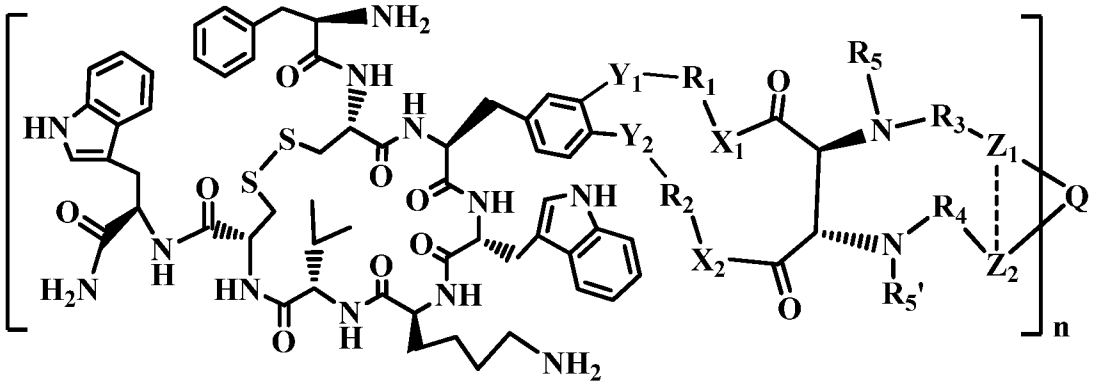
LB06 (конъюгат с соматостатином),



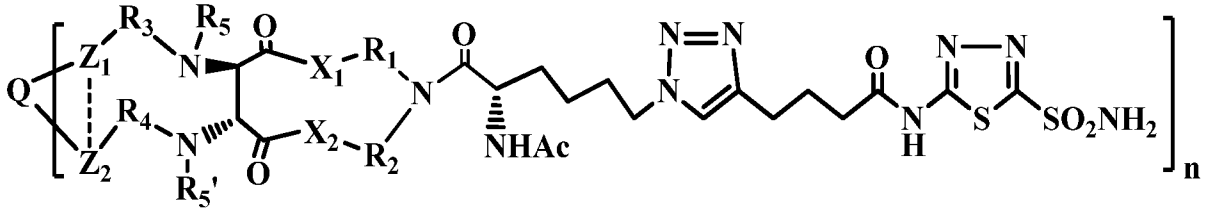
LB07 (октреотид, конъюгата аналога соматостатина),



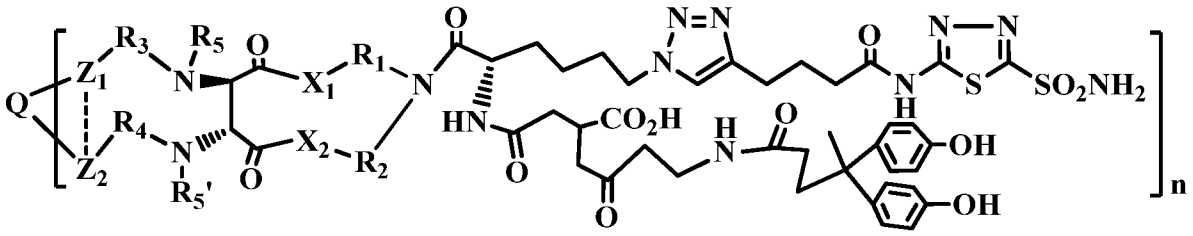
LB08 (ланреотид, конъюгата аналога соматостатина),



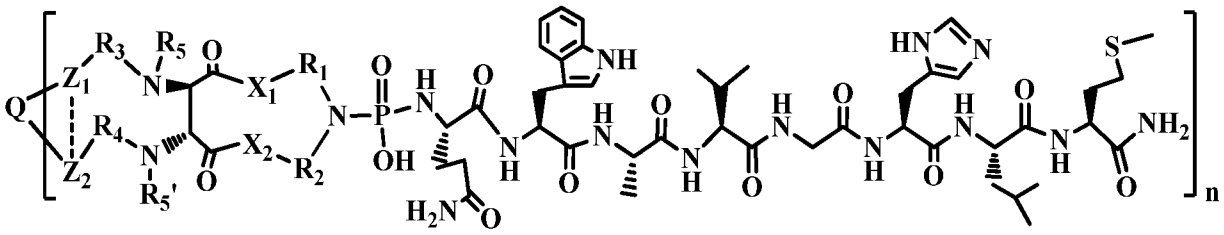
LB09 (вапреотид(санвар), конъюгат аналога соматостатина),



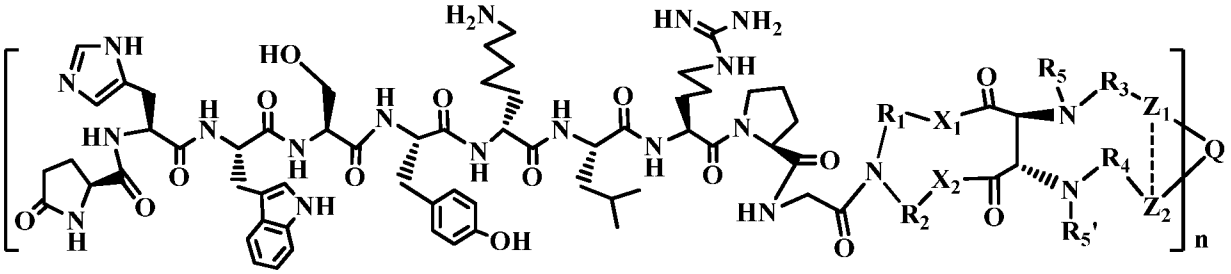
LB10 (конъюгат с лигандом CAIX),



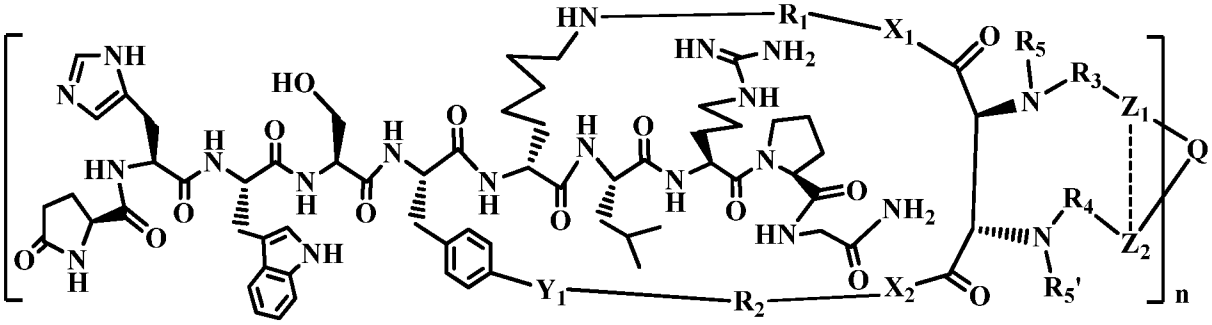
LB11 (конъюгат с лигандом CAIX),



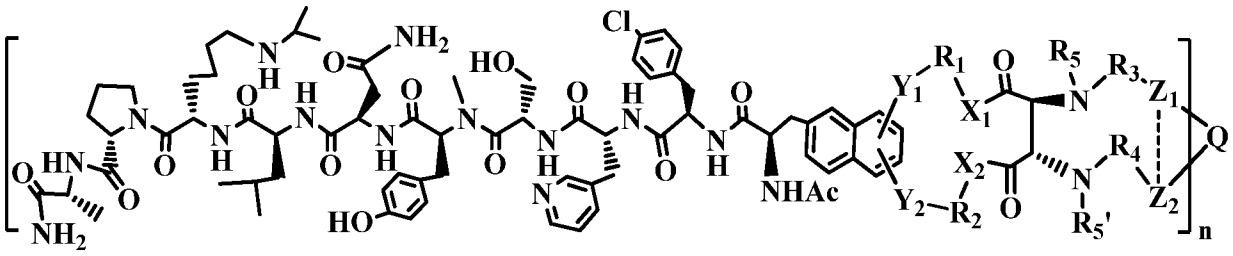
LB12 (рецептор высвобождающего гастрин пептида (GRPr), конъюгат MBA),



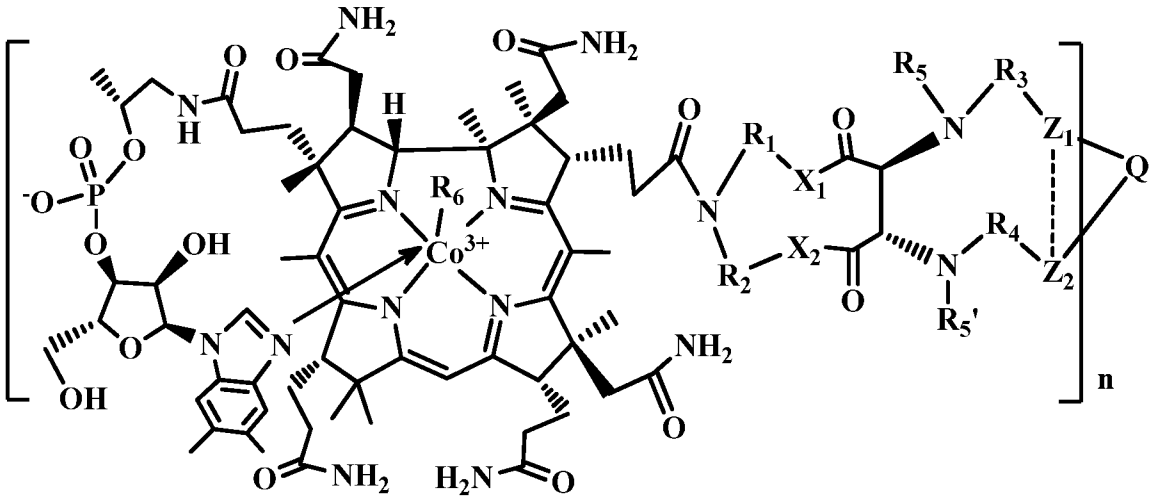
LB13 (конъюгат лиганд рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) и GnRH),



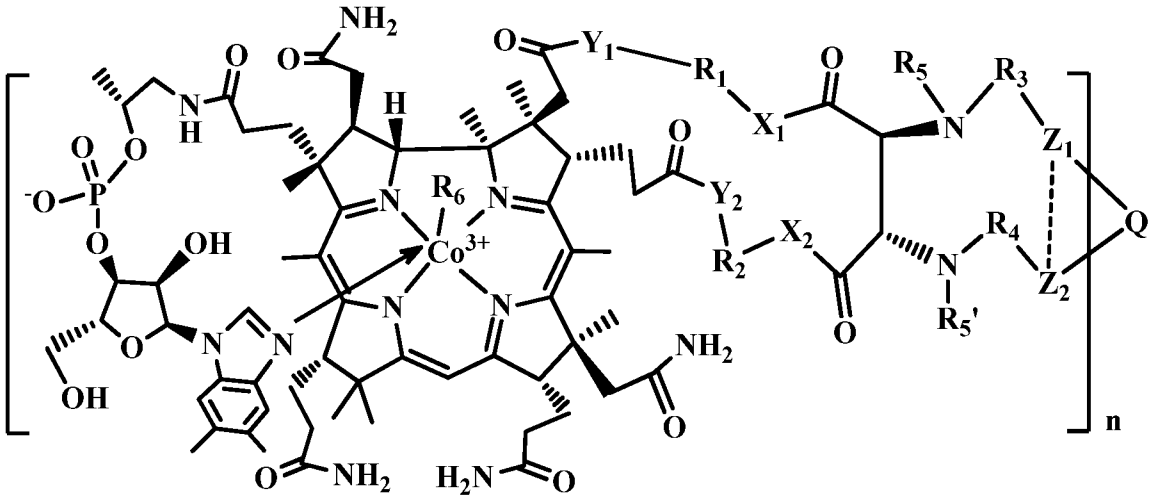
LB14 (конъюгат лиганд рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) и GnRH-лиганда),



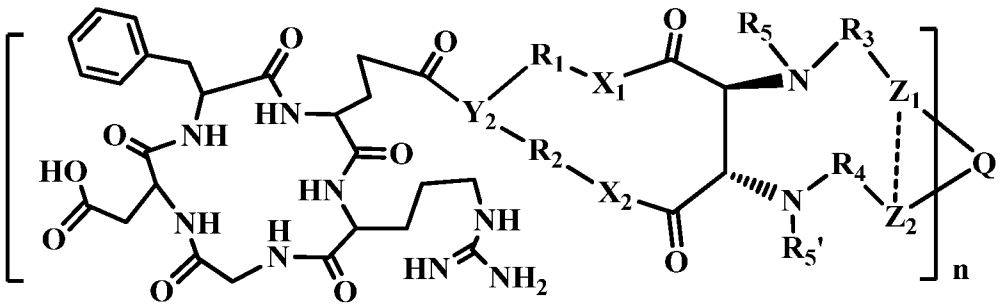
LB15 (антагонист GnRH, абареликс конъюгат),



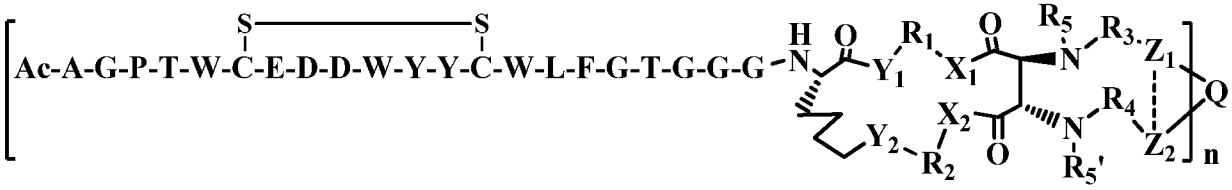
LB16 (кобаламин, конъюгат аналога витамина B12),



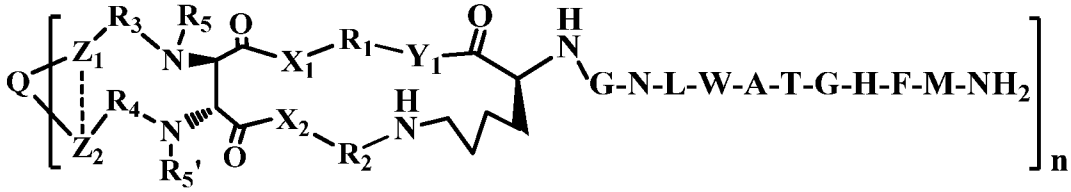
LB17 (кобаламин, конъюгат аналога витамина B12),



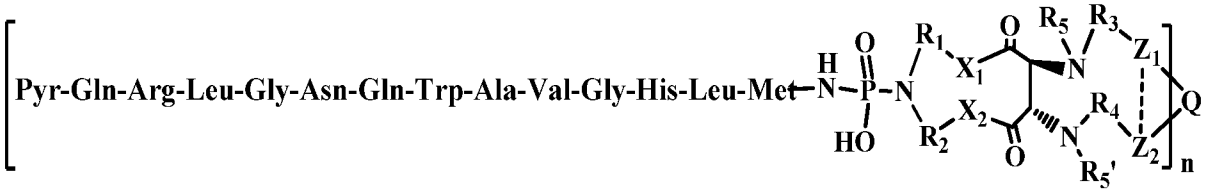
LB18 (пентапептидный циклический RGD конъюгат для рецептора интегрина $\alpha_v\beta_3$),



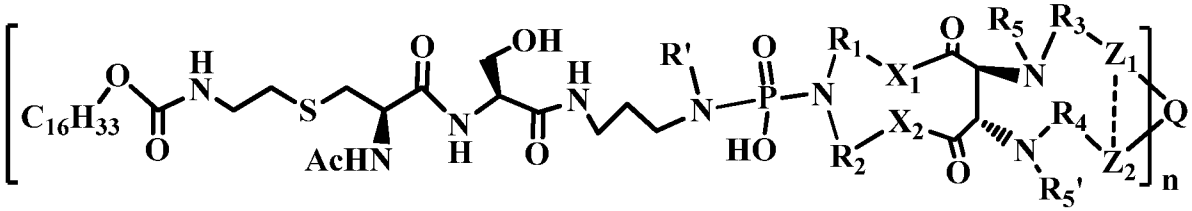
LB19 (конъюгат гетеро-двухвалентного пептидного лиганда рецептора VEGF),



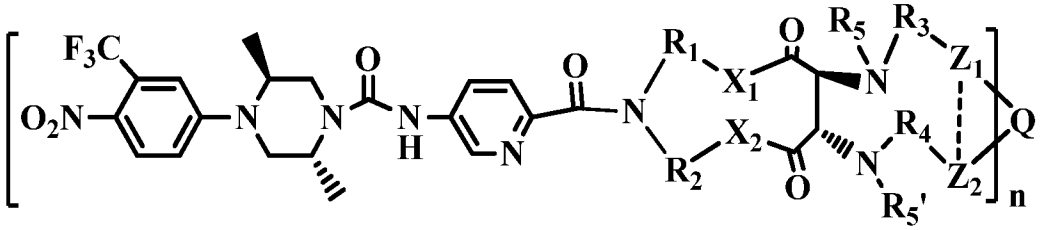
LB20 (конъюгат нейромедина B),



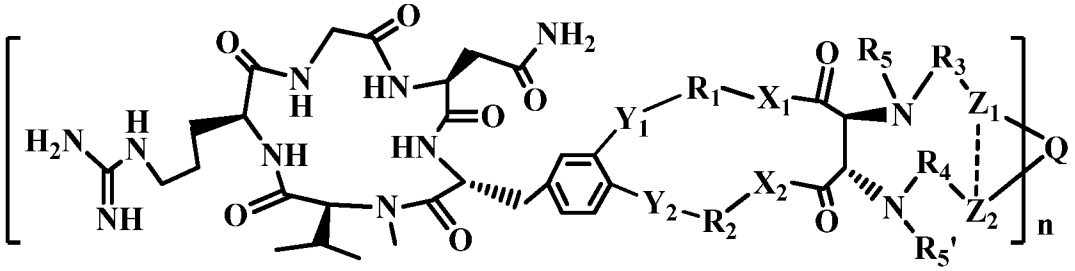
LB21 (конъюгат бомбезина для рецептора, сопряженного с G-белком),



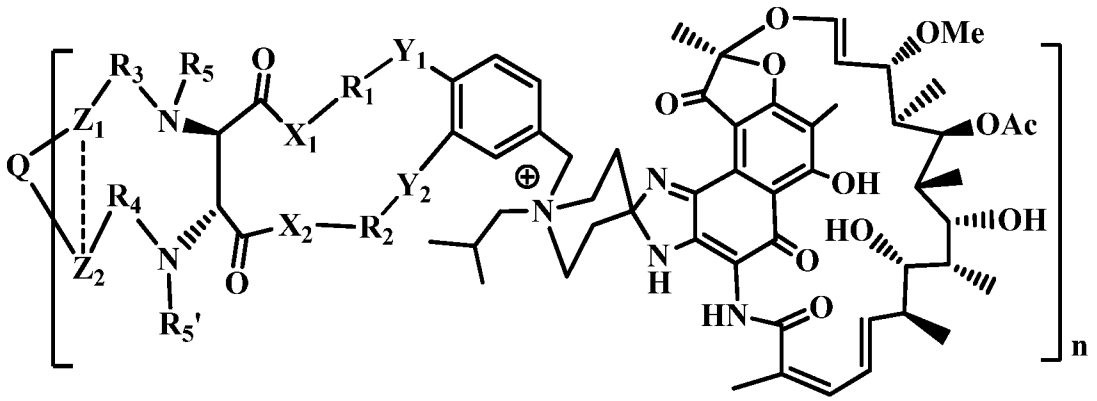
LB22 (конъюгат TLR_2 для Toll-подобного рецептора),



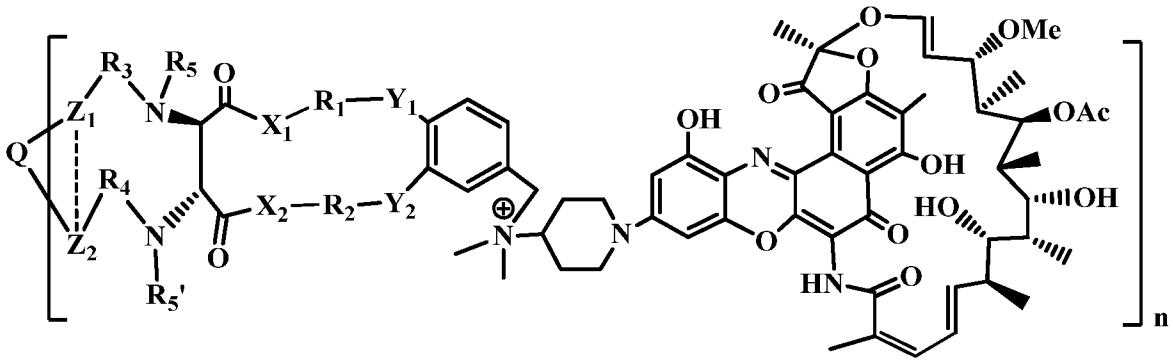
LB23 (для рецептора андрогена),



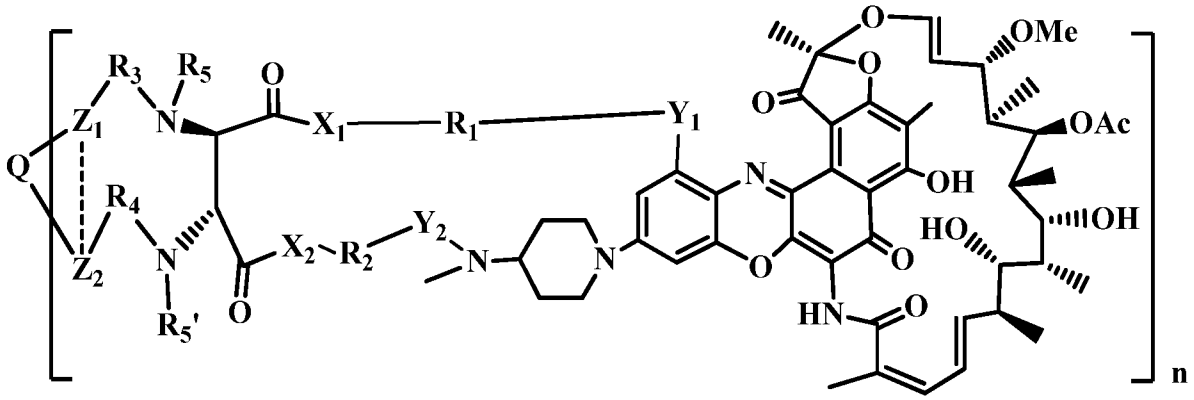
LB24 (циленгитид/цикло(-RGDfV-) конъюгат для рецептора интергрина α_v)



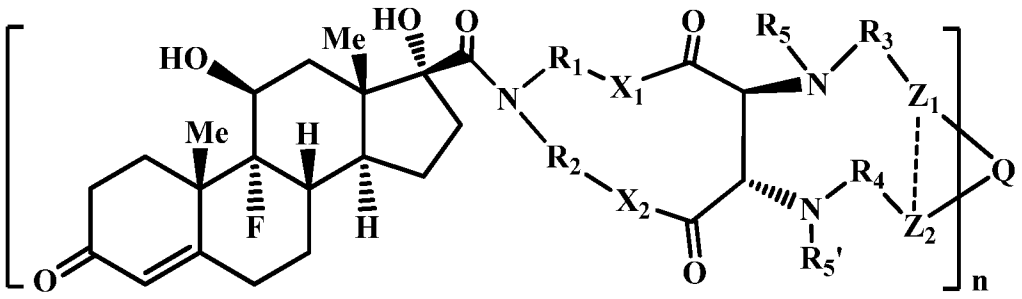
LB25 (конъюгат с аналогом рифабутина),



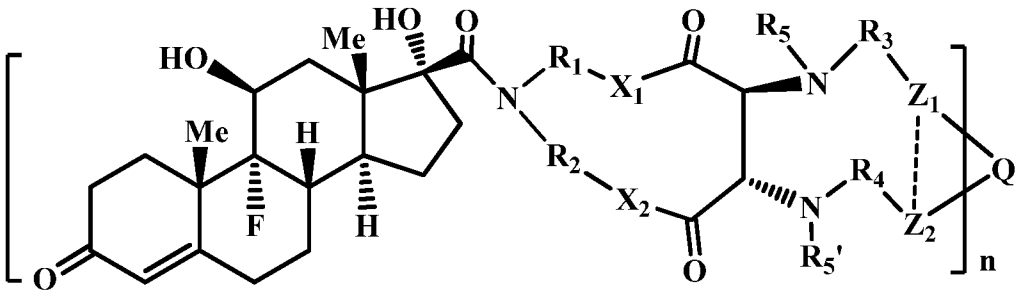
LB26 (конъюгат с аналогом рифабутина),



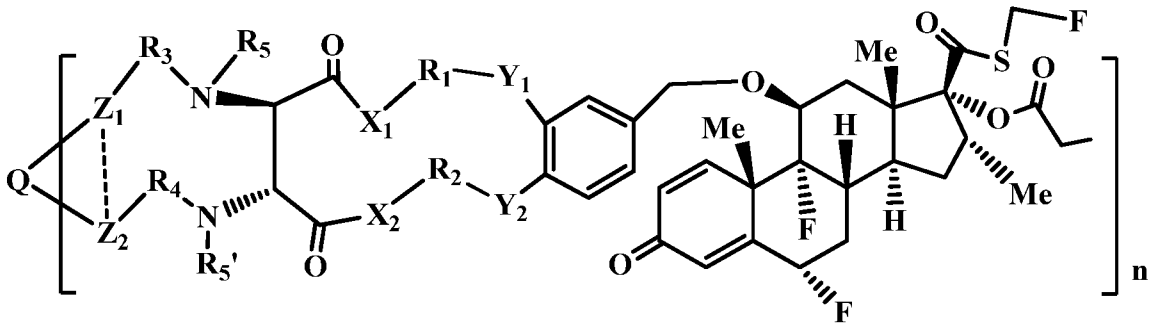
LB27 (конъюгат с аналогом рифабутина),



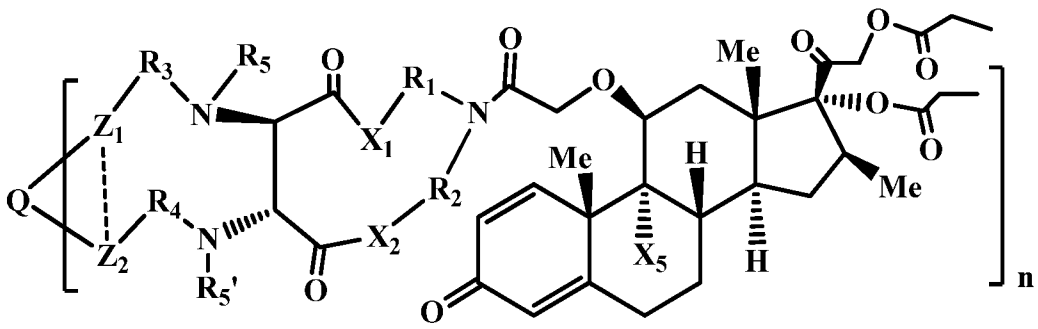
LB28 (конъюгат с флудрокортизоном),



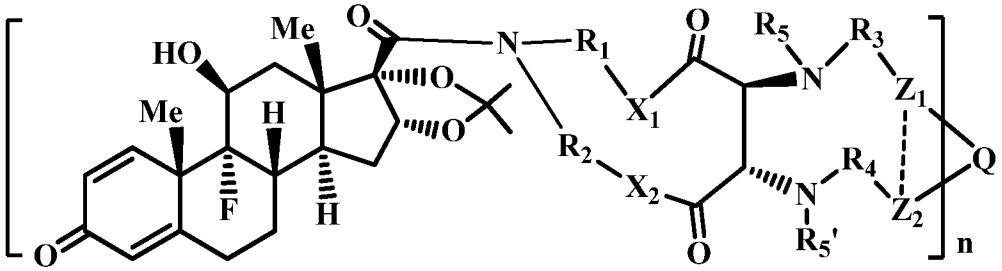
LB29 (конъюгат с дексаметазоном),



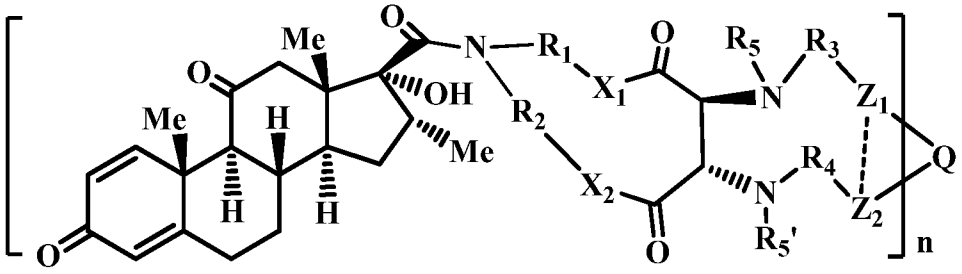
LB30 (конъюгат с флутиказоном пропионатом),



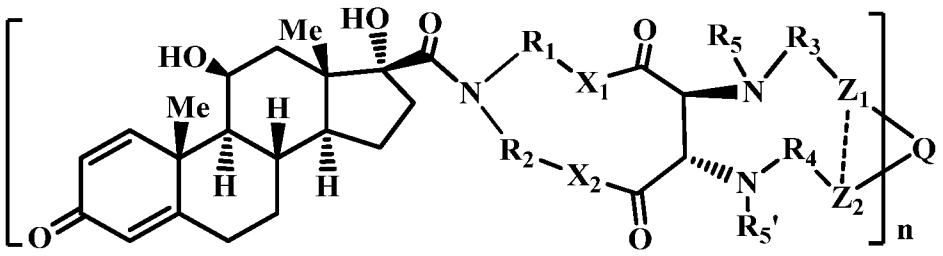
LB31 (конъюгат с беклометазоном дипропионатом),



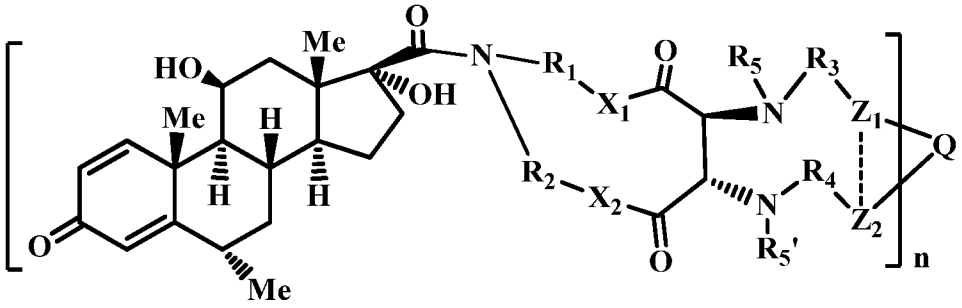
LB32 (конъюгат с триамцинолоном ацетонидом),



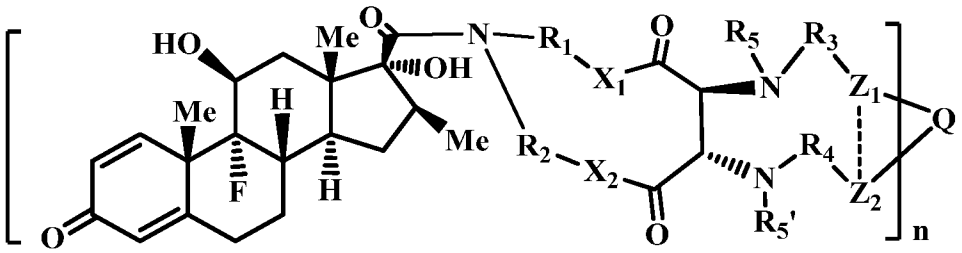
LB33 (конъюгат с преднизоном),



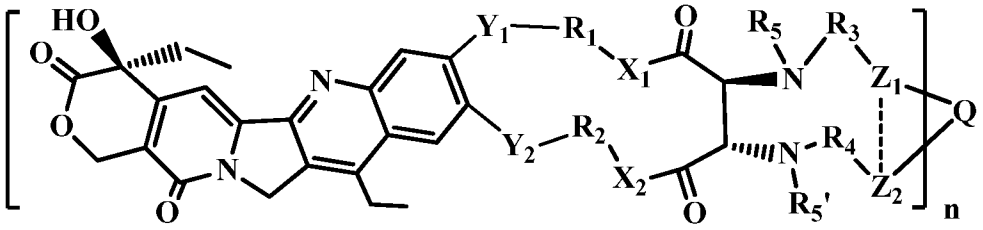
LB34 (конъюгат с преднизолоном),



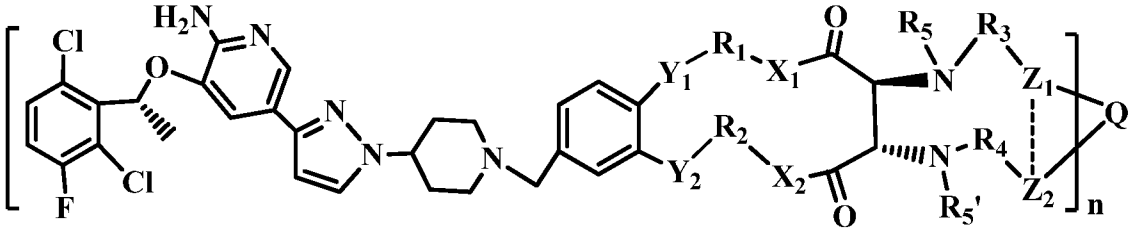
LB35 (конъюгат с метилпреднизолоном),



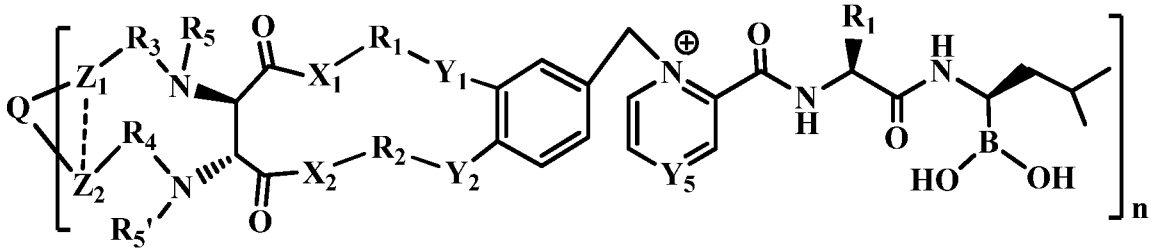
LB36 (конъюгат с бетаметазоном),



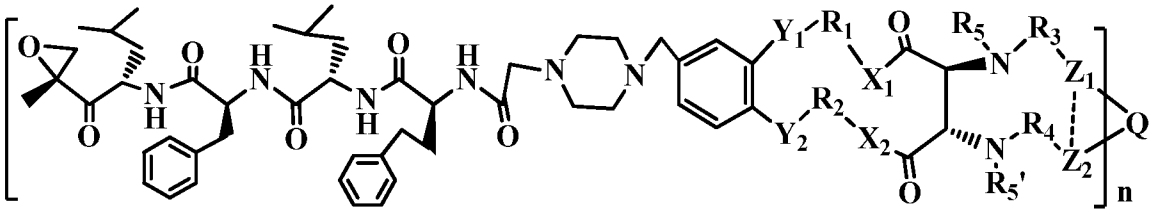
LB37 (конъюгат с аналогом иринотекана),



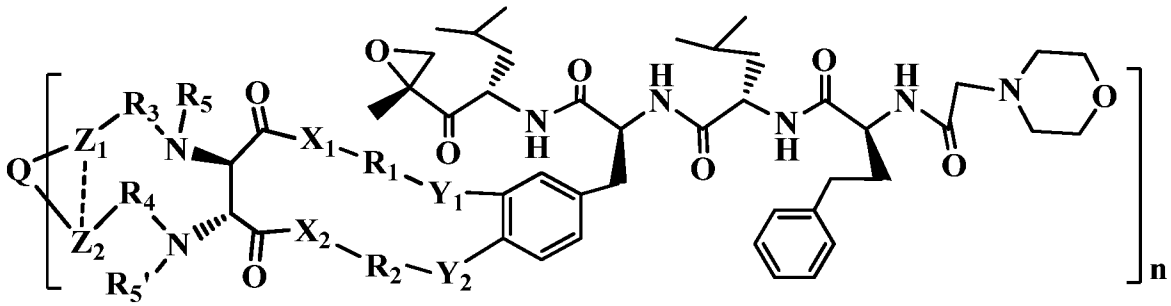
LB38 (конъюгат с аналогом кризотиниба),



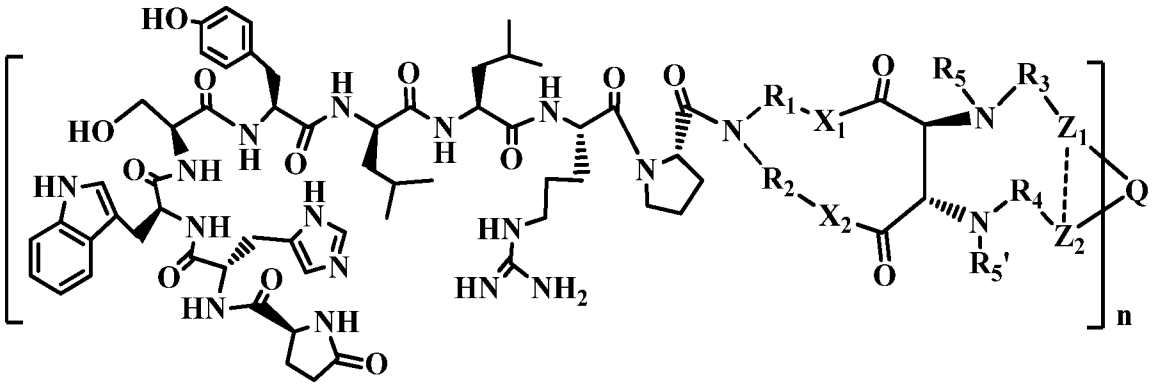
LB39 (конъюгат с аналогом бортезомиба), где Y_5 представляет собой N, CH, C(Cl), $C(CH_3)$ или $C(COOR_1)$; R_1 представляет собой H, C_1-C_6 алкил, C_3-C_8 Ar;



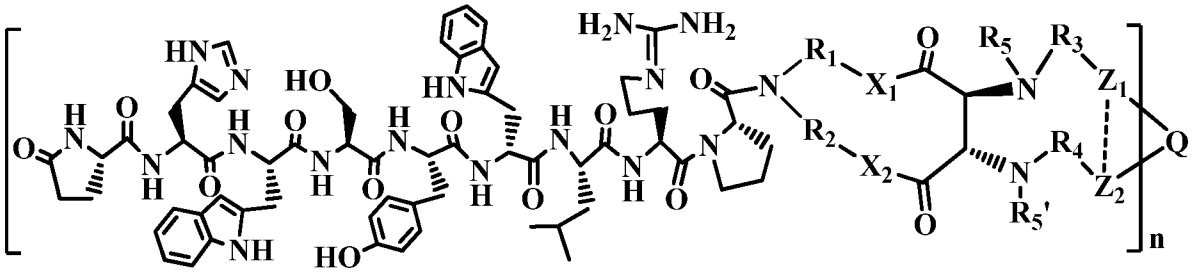
LB40 (конъюгат с аналогом карфилзомиба),



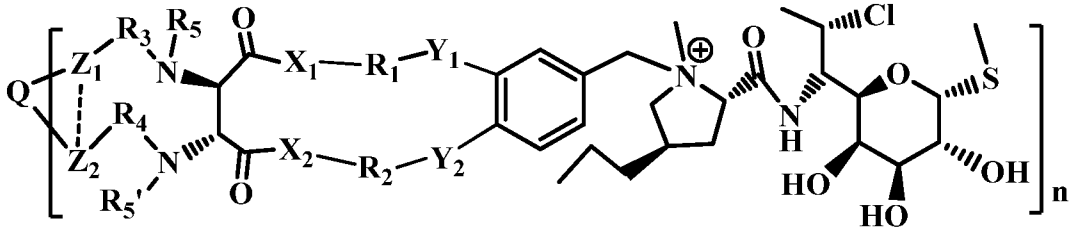
LB41 (конъюгат с аналогом карфилзомиба),



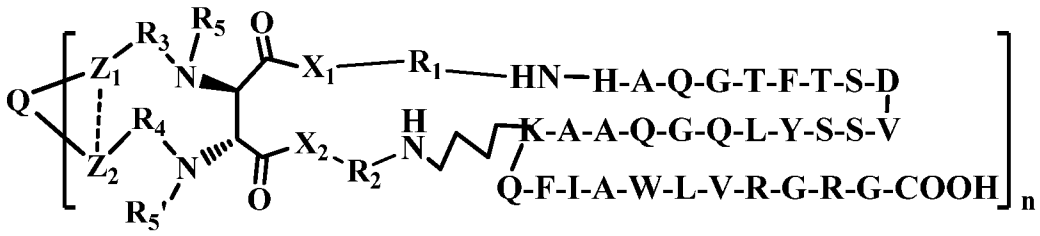
LB42 (конъюгат с аналогом лейпролида),



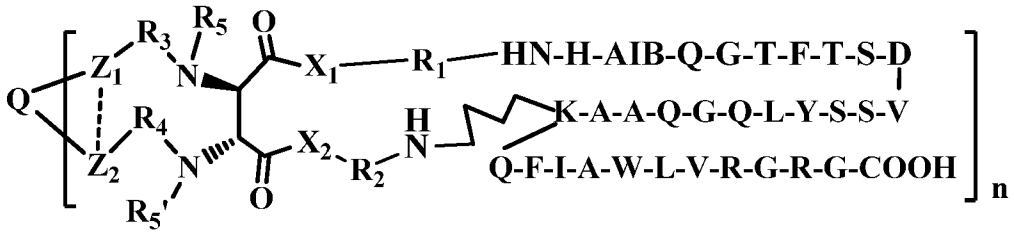
LB43 (конъюгат с аналогом трипторелина),



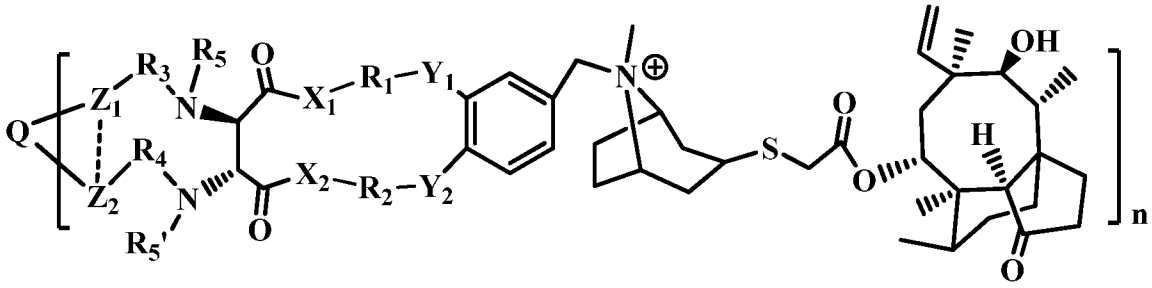
LB44 (конъюгат с клиндамицином),



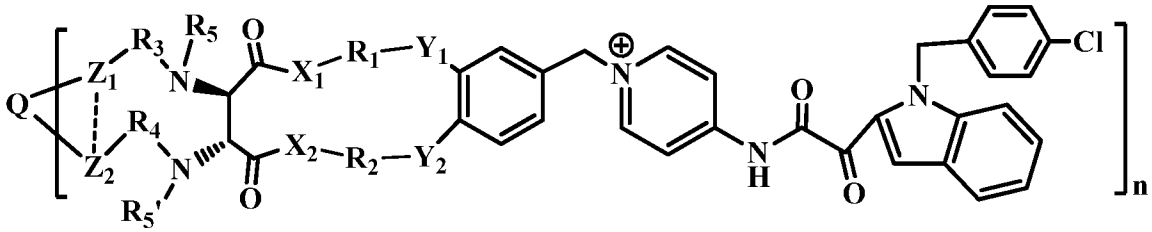
LB45 (конъюгат с аналогом лираглутида),



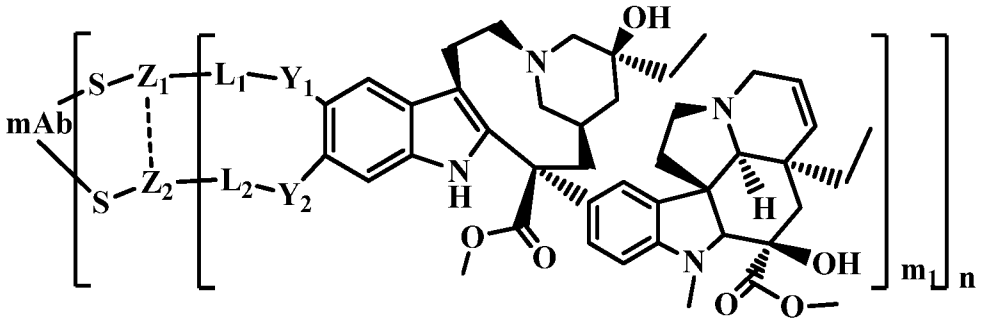
LB46 (конъюгат с аналогом семаглутида),



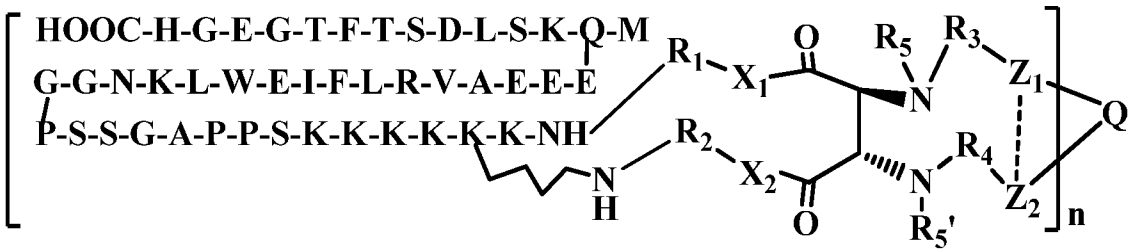
LB47 (конъюгат с аналогом ретапамулина),



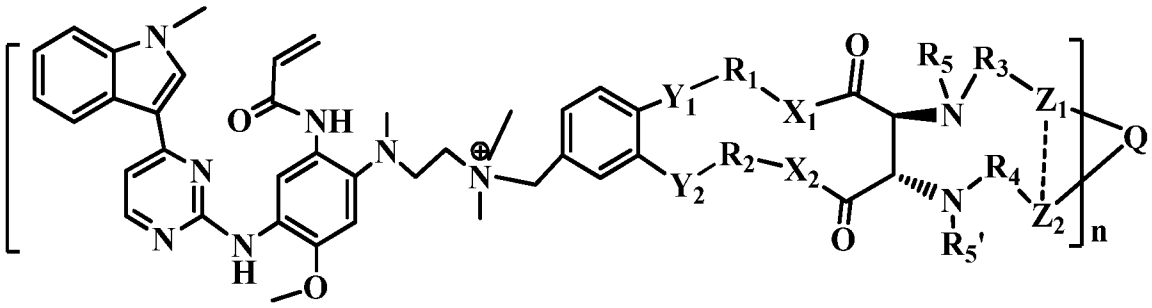
LB48 (конъюгат с аналогом инбулина),



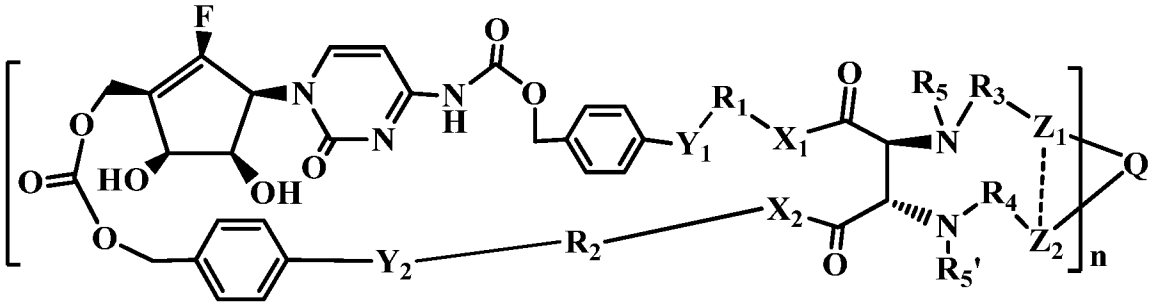
LB49 (конъюгат с аналогом винбластина),



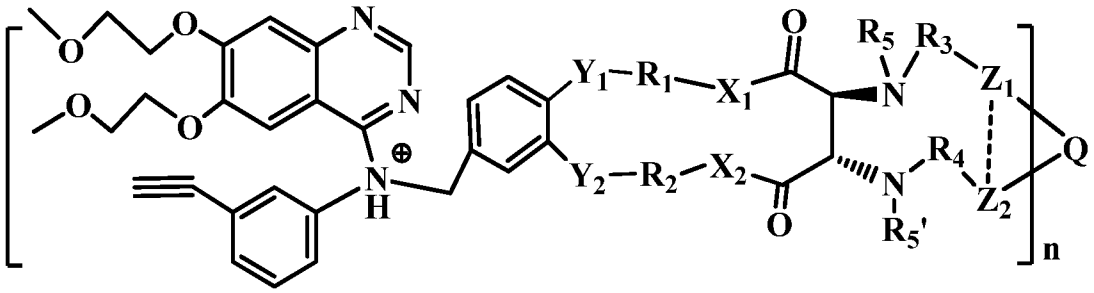
LB50 (конъюгат с аналогом ликсисенатида),



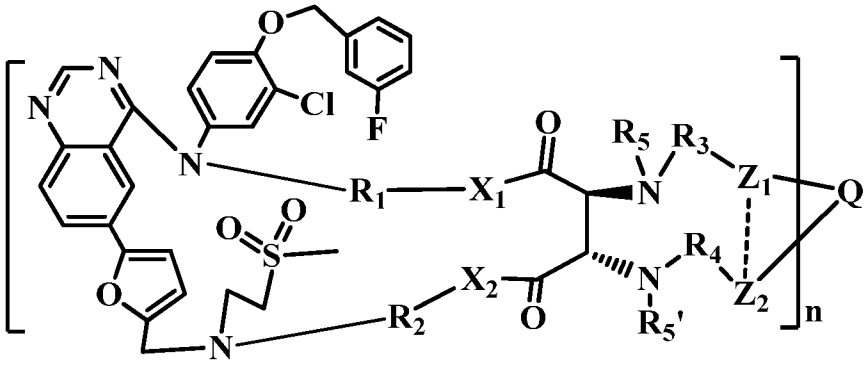
LB51 (конъюгат с аналогом осимертиниба),



LB52 (конъюгат с аналогом неуклеозида),



LB53 (конъюгат с аналогом эрлотиниба),

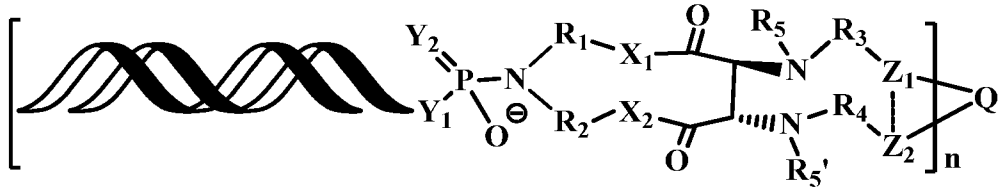


LB54 (конъюгат с аналогом лапатиниба),

где "-----", X_1, X_2, Q, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2 и n определены так же, как указано выше; Предпочтительно X_1 X_2,Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, 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,C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1; X_3 представляет собой CH_2, O, NH, NHC(O), NHC(O)NH, C(O), OC(O), OC(O)(NR_3), R_1, NHR_1, NR_1, C(O)R_1 или отсутствует; X_4 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, $NR_1R_2R_3$; R_6 представляет собой 5'-дезоксиаденозил, Me, OH или CN;

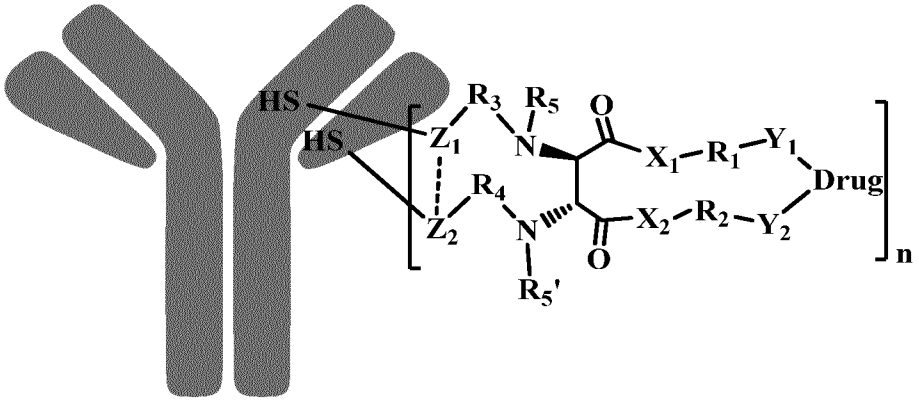
В еще одном варианте осуществления одна, две или более ДНК, РНК, мРНК, малые интерферирующие РНК (миРНК), микроРНК (микроРНК) и PIWI взаимодействующие РНК (пиРНК), предпочтительны для конъюгирования с молекулой, связывающейся с клеткой, через бис-линкер согласно настоящему патенту. Известно, что малые РНК (миРНК, микроРНК, пиРНК) и длинные некодирующие антисмысловые РНК ответственны за эпигенетические изменения в клетках (Goodchild, J (2011), Methods in molecular biology (Clifton, N.J.). 764: 1–15). ДНК, РНК, мРНК, сиРНК, миРНК или пиРНК в данном документе могут быть одноцепочечными или двухцепочечными с нуклеотидными единицами от 3 до 10 миллионов, и некоторые из их нуклеотидов могут быть не природными (синтетическими) формами, такими как олигонуклеотид с фосфоротиоатной связью, например, Фомивирсен, или нуклеотиды связаны с фосфоротиоатными связями, а не с фосфодиэфирными связями природных РНК и ДНК, и части сахара представляют собой дезоксирибозу в средней части молекулы и 2'-*O*-метоксиэтил-модифицированную рибозу на двух концах, как, например, Мипомерсен или олигонуклеотид, полученный с пептидной нуклеиновой кислотой (PNA), морфолино, фосфоротиоатом, тиофосфорамидатом или с 2'-O-метоксиэтилом (MOE), 2'-O-метилом, 2'-фтор, заблокированной нуклеиновой кислотой (LNA) или бициклическая нуклеиновая кислота (BNA) рибозного сахара или нуклеиновых кислот модифицируется для удаления 2'-3 'углеродной связи в сахарном кольце (Whitehead, K. A.; et al (2011), *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering* 2: 77–96; Bennett, C.F.; Swayze, E.E. (2010), *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 50: 259-29). Предпочтительно диапазон длины олигонуклеотидов составляет от около 8 до более 100 нуклеотидов. Пример структуры конъюгатов представлен ниже:



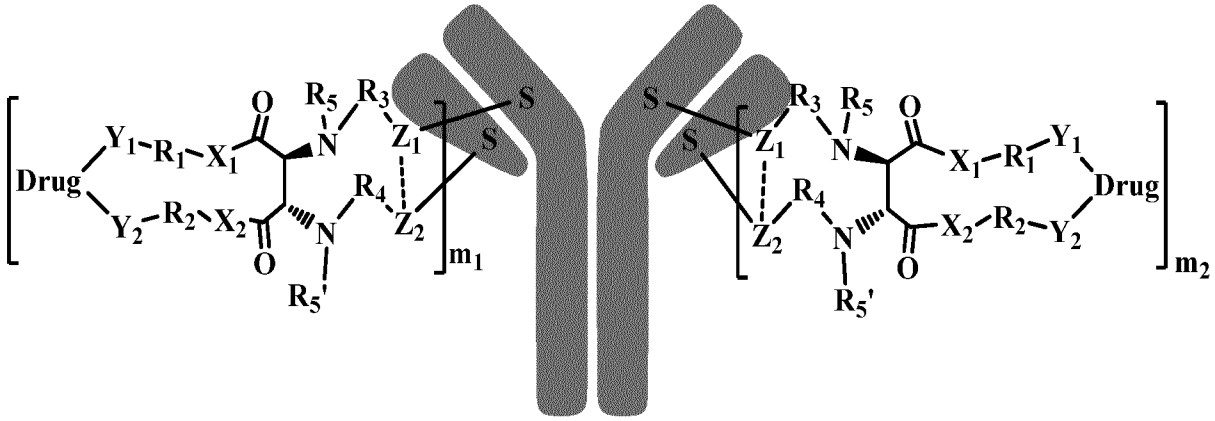
, SI-1

Где "-----", Q, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2 и и n определены так же, как и выше ;; Предпочтительно X_1 X_2, Y_1 и Y_2независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, 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, CH_2, C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1; представляет собой одинарные или двойные цепи ДНК, РНК, мРНК, сиРНК, миРНК или пиРНК.

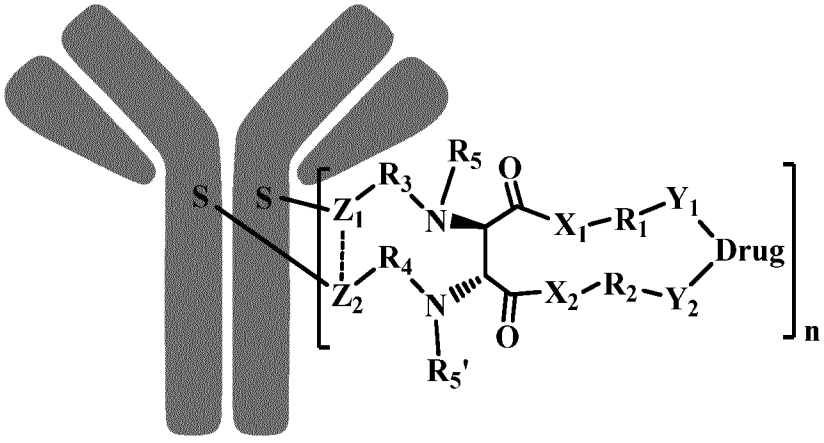
В еще одном варианте осуществления конъюгаты IgG-антитела, конъюгированные с одной, двумя или более различными по функциональности молекулами или лекарственными средствами, предпочтительно, специфически конъюгированы с парой тиолов (посредством восстановления дисульфидных связей) между легкой цепью и тяжелой цепью, верхней дисульфидной связи между двумя тяжелыми цепями и нижней дисульфидной связи между двумя тяжелыми цепями, как представлено в следующей структуре, ST1, ST2, ST3, ST4, ST5 или ST6:



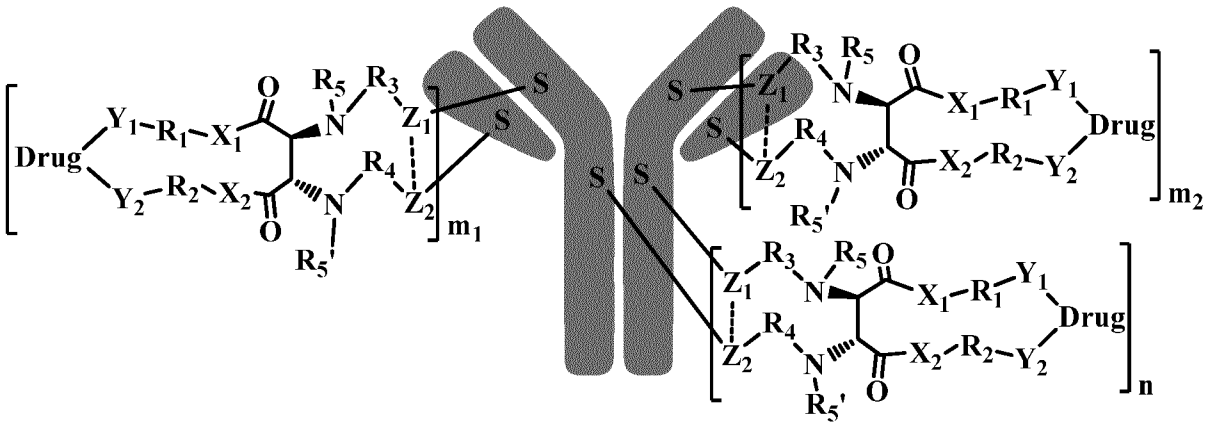
ST1,



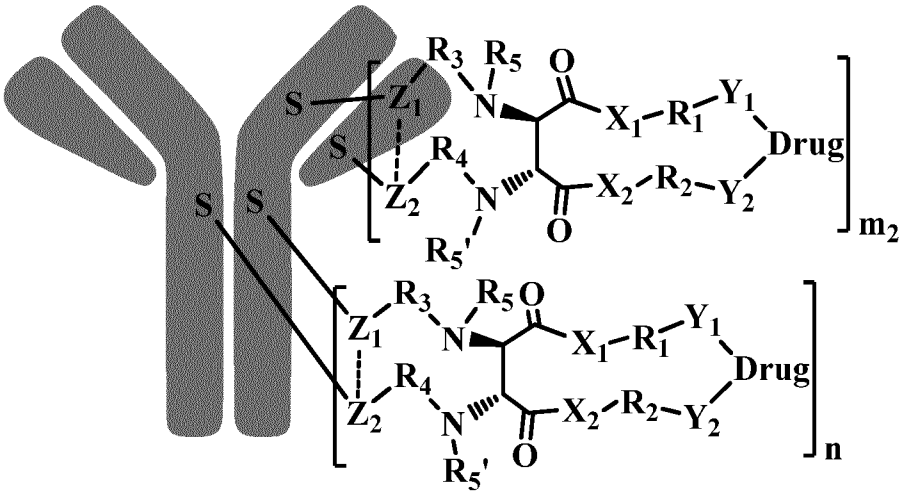
ST2,



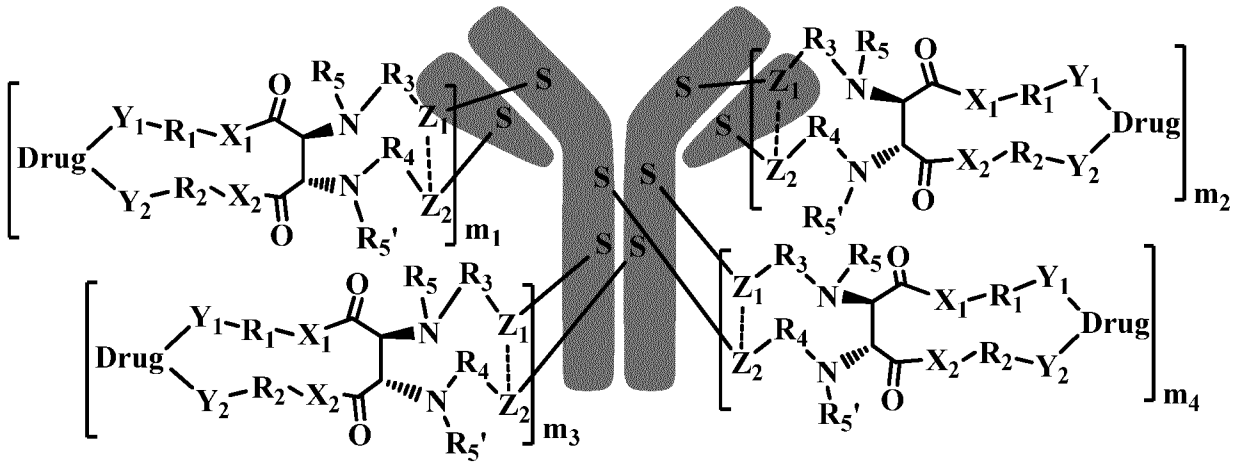
ST3,



ST4,



ST5,



ST6,

Где "-----", Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2 и n определены так же, как и выше ;; Предпочтительно X_1 X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, 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, CH_2, C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1; m_1, m_2, m_3 и m_4 независимо равны 1-30.

Кроме того, лекарственное средство или цитотоксические молекулы Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2 и n в разных сайтах конъюгации клеточно-связывающей молекулы могут быть разными, когда цитотоксические молекулы, содержащие одинаковые или разные

бис-линкеры, последовательно конъюгированы с клеточно-связывающей молекулой, или когда добавляются разные цитотоксические молекулы, содержащие одинаковые или разные бис-линкеры поэтапно в реакционной смеси конъюгации, содержащей связывающую клетку молекулу.

ИЗГОТОВЛЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ И ПРИМЕНЕНИЕ

Конъюгаты заявки на патент составляются в жидком виде или пригодны для лиофилизации, и впоследствии восстанавливаются до жидкого состава. Жидкая композиция, содержащая 0,1 г/л ~ 300 г/л концентрации активного ингредиента конъюгата для доставки пациенту без высоких уровней агрегации антител, может включать один или более полиолов (например, сахаров), буферный агент с pH от 4,5 до 7,5 поверхностно-активное вещество (например, полисорбат 20 или 80), антиоксидант (например, аскорбиновая кислота и/или метионин), агент, регулирующий точность (например, маннит, сорбит или NaCl), хелатирующие агенты, такие как ЭДТА; комплексы металлов (например, комплексы Zn-белок); биоразлагаемые полимеры, такие как сложные полиэфиры; консервант (например, бензиловый спирт) и/или свободную аминокислоту.

Подходящие буферные агенты для использования в составах включают, но не ограничиваются 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, аминокислотные компоненты также могут быть использованы в качестве буферного агента. 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. Составы 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 аминогруппами 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, треитола, 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 20% выбирается в составе, где трегалоза предпочтительнее сахарозы из-за стабильности раствора трегалозы.

Поверхностно-активное вещество, необязательно в составах, выбирают из полисорбата (полисорбат 20, полисорбат 40, полисорбат 65, полисорбат 80, полисорбат 81, полисорбат 85 и тому подобное); полоксамер (например, полоксамер 188, поли(этиленоксид)-поли(пропиленоксид), полоксамер 407 или полиэтилен-полипропиленгликоль и тому подобное); Triton; додецилсульфат натрия (SDS); лаурисульфат натрия; октилгликозид 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, додецилдиметиламиноксид, кокамидопропилбетаин и кокоамфо глицинат; и серии MONAQUAT ™ (например, изостеарилэтилимидония этосульфат); полиэтилгликоль, полипропилгликоль и сополимеры этилена и пропиленгликоля (например, Pluronics, 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», необязательно в составах, представляет собой соединение, которое существенно снижает бактериальное действие в нем. 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 в состав включен в количестве менее чем 5%. Предпочтительно от 0,01 до 1%. В одном варианте осуществления консервант в данном документе представляет собой бензиловый спирт.

Подходящими свободными аминокислотами для необязательного использования в составе, но не ограничиваясь ими, являются аргинин, лизин, гистидин, орнитин, изолейцин, лейцин, аланин, глицин, глутаминовая кислота или аспарагиновая кислота. Включение основной аминокислоты является предпочтительным, то есть аргинина, лизина и/или гистидина. 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 ее 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 15,0%. Предпочтительно от 0,01 до 5%.

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

Конечный состав можно довести до предпочтительного значения pH с помощью корректирующего агента (например, кислоты, такой как HCl, H_2SO_4, уксусной кислоты, H_3PO_4, лимонной кислоты и т. д., или основания, такого как NaOH, KOH, NH_3OH,

этаноламина, диэтаноламина или триэтаноламина, фосфата натрия, фосфата калия, тринатрийцитрата, трометамина и т. д.), и состав следует поддерживать «изотоническим», что означает, что представляющий интерес состав по существу имеет такое же осмотическое давление как человеческая кровь. Изотонические составы будут в общем иметь осмотическое давление от около 250 до 350 мОсм. Изотоничность может быть измерена с использование 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, Pluoronic F-127, целлюлозу, циклодекстрин, декстран (10, 40 и/или 70 кДа), полидекстрозу, мальтодекстрин, фиколл, желатин, гидроксипропилметил, фосфат натрия, фосфат калия, $ZnCl_2$, цинк, оксид цинка, цитрат натрия, тринатрийцитрат, трометамин, медь, фибронектин, гепарин, человеческий сывороточный альбумин, протамин, глицерин, 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 настоящему изобретению, известны в данной области техники, например, как указано в «The Handbook of Pharmaceutical Excipients», 4-е издание, Rowe et al., Eds., American Pharmaceuticals Association (2003) и Remington: the Science and Practice of Pharmacy, 21-е издание, Gennaro, Ed., Lippincott Williams & Wilkins (2005).

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу приготовления состава, включающему стадии: (a) лиофилизации состава, содержащего конъюгаты, вспомогательные вещества и буферную систему, в порошок; и (b) восстановление лиофилизированной смеси со стадии (a) в среде для восстановления, так

что восстановленный состав является стабильным. Состав на стадии (а) может дополнительно содержать стабилизатор и один 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 мМ.

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 (дезамидирование, 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 0–25 °C. Более предпочтительный конъюгат в жидкой форме или в форме лиофилизата должен иметь срок годности более 24 месяцев при 0–25 °C. Наиболее предпочтительный жидкий состав должен иметь срок хранения примерно от 24 до 36 месяцев при 2-8 °C, а рецептура лойфилизата должна иметь срок годности предпочтительно примерно до 60 месяцев при 2-8 °C. И жидкие, и лойфилизатные составы предпочтительно демонстрируют срок годности не менее двух лет при 0-8°C, -20°C или -70°C.

В некоторых вариантах осуществления состав является стабильным после замораживания (например, -20°C или -70°C) 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 капиллярного фокусирования изображения (icIEF) или капиллярного занного электрофореза; анализ аминоконцевой или

карбоксиконцевой последовательности; масс-спектрометрический анализ или матричная лазерная десорбционная ионизация/времяпролетная масс-спектрометрия (MALDI/TOF MS) или ВЭЖХ-MS/MS; CE-SDS или SDS-PAGE 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, дезамидирования (например, Asn дезамидирование), окисление (например, окисление Met), изомеризации (например, изомеризаци Asp), отсечение / гидролиз / фрагментация (например, фрагментация шарнирной области), образование сукцинимида, неспаренный цистеин (ы), удлинение N-конца, обработка C-конца, различия 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, 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.

Фармацевтический контейнер или сосуд используют для хранения фармацевтического состава любого из конъюгатов согласно заявке на патент. Емкость представляет собой флакон, бутылку, предварительно заполненный шприц или предварительно заполненный шприц с автоинжектором.

Для клинического применения in vivo конъюгат через бис-связь по изобретению будет поставляться в виде растворов или в виде лиофилизированного твердого вещества, которое может быть повторно растворено в стерильной воде для инъекций. Примеры подходящих протоколов введения конъюгата следующие. 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). Дозировки будут составлять от 50 мкг/кг до 30 мг/кг массы тела в неделю, каждые две или три недели внутривенно. (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 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 паразитические).

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 через бис-линкеры по настоящему изобретению могут быть предоставлены в водном физиологическом буферном растворе, содержащем 0,1-10% масс./об. конъюгатов для парентерального введения. Типичные диапазоны доз составляют от 1μ 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 30 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 через линкеры по настоящему изобретению также можно вводить в единичных дозированных формах, где термин «единичная доза» означает однократную дозу, которую можно вводить пациенту и которую можно легко обрабатывать и упаковывать, оставаясь в виде физически и химически стабильной стандартной дозы, содержащей либо сам активный конъюгат, либо в виде фармацевтически приемлемой композиции, как описано ниже. Таким образом, типичные суммарные суточные/еженедельные/раз в две недели/месячные дозы составляют от 0,01 до 100 мг/кг массы тела. В качестве общего руководства, стандартные дозы для людей варьируются от 1 мг до 3000 мг в день или в неделю, в течение двух недель (раз в две недели), три недели или в месяц. Предпочтительно диапазон стандартных доз составляет от 1 до 500 мг, вводимых от одного до четырех раз в месяц, и еще более предпочтительно от 1 до 100 мг, один раз в неделю или один раз в две недели или один 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 с единичной дозой могут быть приготовлены для применения пероральным введением, особенно в форме таблеток, простых капсул или мягких гелевых капсул; или интраназально, особенно в форме порошков, капель для носа или аэрозолей; или кожно, например, местно в виде мазей, кремов, лосьонов, гелей или спреев или через трансдермальные пластыри.

В еще одном варианте осуществления, фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество конъюгата Формулы (I) и любых конъюгатов, описанных в настоящей патентной заявке, может быть введена одновременно с другими терапевтическими агентами, такими как химиотерапевтический агент, лучевая терапия, иммунотерапевтические агенты, агенты аутоиммунного расстройства, антиинфекционные агенты или другие конъюгаты для синергетически эффективного лечения или профилактики рака, или аутоиммунного заболевания, или инфекционного заболевания. Синергетические агенты предпочтительно выбраны из одного или более следующих лекарственных средств: Абатацепта, абемациклиба, абиратерона ацетата, абраксана, адуканумаба, ацетаминофен/гидрокодона, акалабрутиниба, адуканумаба, адалимумаба, ADXS31-142, ADXS-HER2, дималеата афатиниба,, альдеслейкина, алектиниба, алемтузумаба, аллитиниба, алитретиноина, адо-трастузумаб эмтанзина, амфетамина/ декстроамфетамина, анастрозола, апатиниба, арипипразола, антрациклинов, арипипразола, атазанавира, атезолизумаба, аторвастатина, авелумаба, AVXS-101, аксикабтагена, цилолейцел, акситиниба, белиностата, BCG Live, Бевацизумаба, бексаротена, блинатумомаба, бортезомиба, босутиниба, брентуксимаб ведотина, бригатиниба, бролуцизумаба будесонида, будесонида/формотерола, бупренорфина, BYL719 (альфа-специфический ингибитор PI3K), кабазитаксела, кабозантиниба, капматиниба, капецитабина, карфилзомиба, Т (CAR-T) -клеток, сконструированных с помощью химерного антигенного рецептора,, целекоксиба, церитиниба, цетуксимаба, , чиаураниба, хидамида, циклоспорина, цинакальцета, кризотиниба, кобиметиниба, козентикса, кризотиниба, тисагенлеклеуцина, дабигатрана, дабрафениба, дакарбазина,даклизумаба, дакомотиниба, даптомицина,даратумумаба, дарбэпоэтина альфа, дарунавира, дазатиниба, денилейкин дифтитокса, деносумаба, депакота, декслансопразола, дексметилфенидата, дексаметазона, системы охлаждения DigniCap, ,L-3,4-дигидроксифенилаланина, динутуксимаба, дорназа альфа, доксициклина, дулоксетина, дувелисиба, дурвалумаба, элотузумаба, эмицизумаба, эмтрицибина/рилпивирина/тенофовира, дизопроксил фумарата, эмтрицитбина/тенофовира/эфавиренца, эноксапарина, энсартиниба, энзалутамида,

эпитиниба, эпоэтина альфа, эрлотиниба, эзомепразола, эзопиклона, этанерцепта, эверолимуса, экземестана, эверолимуса, экзенатида ER, эзетимиба, эзетимиба/симвастатина, фамитиниба, фенофибрата, филготиниба, филграстима, финголимода, флуматиниба, флутиказона пропионата, флутиказона/сальметерола, фруквинтиниба, фулвестранта, газива, гефитиниба, глатирамера, гозерелина ацетата, GSK2857916 (BCMA-ADC), генатиниба, икотиниба, иматиниба, ибритумомаб тиуксетана, ибрутиниба, икотиниба, иделалисиба, ифосфамида, инфликсимаба, имиквимода, ImmuCyst, Immuno BCG, инипариба, инсулина аспарт, инсулина детемир, инсулина гларгин, инсулина лиспро, интерферона альфа, интерферона альфа-1b, интерферона альфа-2a, интерферона альфа-2b, интерферона бета, интерферона бета 1a, интерферона бета 1b, интерферона гамма-1a, лапатиниба, ипилимумаба, ипратропия бромида/сальбутамола, иксазомиба, канума, ланаделумаба, ланреотида ацетата, леналидомида, леналиомида,, мезилата ленватиниба, летрозола, левотироксина, Левотироксина, Лидокаина, Линезолида, Лираглутида, Лисдексамфетамина, LN-144 (лимфоциты, инфильтрирующие опухоль), лорлатиниба, люцитаниба/делитиниба, мемантина, метоксиполиэтиленгликоль-эпоэтина бета, метилфенидата, Метопролола, Мекиниста, мерицитабина/Рилпивирина/Тенофовира, Модафинила, Мометазона, Мицидака-С, микофеноловой кислоты, Нецитумумаба, нератиниба, Нилотиниба, нирапариба, Ниволумаба, офатумумаба обинутузумаба, окрелизумаба, олапариба, олмесартана, олмесартана/гидрохлоротиазида, омализумаба, этиловых эфиров омега-3 жирных кислот, онкорина, осельтамивира, осимертиниба, оксикодона, озанимода, палбоциклиба, Паливизумаба, панитумумаба, панобиностата, пазопаниба, пембролизумаба, PD-1 антитела, PD-L1 антитела, Пеметрексед, пертузумаб, Пирфенидон, пневмококковая конъюгированная вакцина, помалидомид, ,Прегабалин, Проскавакс, Пропранолол, пукитиниб, пиротиниб, Кветиапин, Рабепразол, хлорид радия 223, Ралоксифен, Ралтегравир, рамуцирумаб, Ранибизумаб, регорафениб, рибоциклиб, Ризанкизумаб,Ритуксимаб, Ривароксабан, ромидепсин, Розувастатин, руксолитиниб фосфат, Сальбутамол, саволитиниб, семаглутид, Севеламер, Силденафил, силтуксимаб, симотиниб, сипатиниб/ципатиниб, Сипонимод,Сипулеуцел-Т, Ситаглиптин, Ситаглиптин / метформин, Солифенацин, соланезумаб, Сонидегиб, Сорафениб, сульфатиниб, Сунитиниб, такролимус, такримус, Тадалафил, тамоксифен, Тафинлар, Талимоген лахерпарепвек, талазопариб, Телапревир, талазопариб, Темозоломид, темсиролимус, Тенектеплаза, Тенофовир/эмтрицитабин, тенофовир дизопроксил фумарат, гель тестостерона, тезакафтор/ивакафтор, Талидомид, телиатиниб, TICE BCG, Тиотропия бромид, Тисагенлеклейцел, Тоцилизумаб, торемифен, траметиниб, Трастузумаб,

Трабектин (эктеинасцидин 743), траметиниб, тремелимумаб, Трифлуридин/типирацил, Третиноин,, Упадацитиниб, Уро-БЦЖ, Устекинумаб, Валоктокоген роксапарвовец, Валсартан, велипариб, вандетаниб, вемурафениб, венетоклакс, висмодегиб, волитиниб, вориностат, зив-афлиберцепт, Зоставакс и их аналоги, производные, фармацевтически приемлемые соли, носители, разбавители или наполнители, или их комбинация, указанная выше.

Лекарственные средства/цитотоксические агенты, используемые для конъюгирования через мостиковый линкер согласно настоящему патенту, могут представлять собой любые аналоги и/или производные лекарственных средств/молекул, описанных в настоящем патенте. Специалист в области лекарственных средств/цитотоксических агентов легко поймет, что каждое из лекарственных средств/цитотоксических агентов, описанных в настоящем документе, может быть модифицировано таким образом, что получающееся в результате соединение все еще сохраняет специфичность и/или активность исходного соединения. Специалист в данной области техники также поймет, что многие из этих соединений могут быть использованы вместо лекарственных средств/цитотоксических агентов, описанных в данном документе. Таким образом, лекарственные средства/цитотоксические агенты согласно настоящему изобретению включают аналоги и производные соединений, описанных в данном документе.

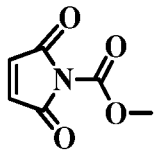
Все ссылки, цитируемые в данном документе и в следующих примерах, непосредственно включены в качестве ссылки во всей их полноте.

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 наивысшего качества и использованы без дальнейшей очистки. Разделение препаративной ВЭЖХ проводили с помощью Varain PreStar ВЭЖХ. Спектры ЯМР регистрировали на приборе Varian Mercury 400 МГц. Химические сдвиги (.дельта.) представлены в частях на миллион (ч/млн) по отношению к тетраметилсилану при 0,00, а

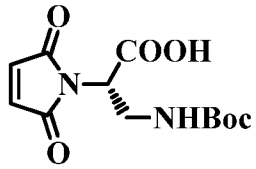
константы взаимодействия (J) указаны в Гц. Данные масс-спектров были получены на масс-спектрометре Waters Xevo QTOF, оборудованном модулем разделения Waters Acquity UPLC и детектором Acquity TUV.

Пример 1. Синтез метил 2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-карбоксилата



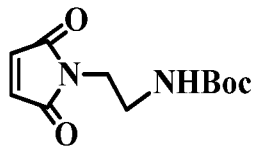
К раствору малеимида (6,35 г, 65,4 ммоль, 1,0 экв.) в EtOAc (120 мл) добавляли N-метилморфолин (8,6 мл, 78,5 ммоль, 1,2 экв.) и метилхлорформиат (6,0 мл, 78,5 ммоль, 1,2 экв.) при 0 °C. Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 30 мин и комнатной температуре 1 ч. Твердое вещество отфильтровывали и фильтрат упаривали. Остаток растворяли в CH_2Cl_2, фильтровали через слой силикагеля и элюировали CH_2Cl_2 для удаления окраски. Соответствующие фракции упаривали и полученное твердое вещество растирали с 10% EtOAc/PE с получением белого твердого вещества указанного в заголовке соединения (9,00 г, выход 89%)

Пример 2. Синтез (S)-3-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропановой кислоты.



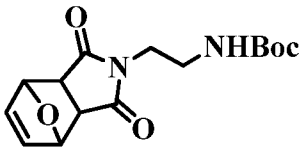
К раствору H-Dap(Boc)-OH (1,00 г, 4,9 ммоль) в насыщенном $NaHCO_3$ (20 мл) при 0 °C добавляли метил 2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-карбоксилат (2,30 г, 14,7 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 1 часа, затем нагревали до комнатной температуры. и перемешивали еще час. Затем добавляли 1 н. $KHSO_4$, чтобы довести pH до ~ 6, и полученную смесь экстрагировали EtOAc (2 × 50 мл). Объединенные органические слои сушили над Na_2SO_4, фильтровали и упаривали с получением указанного в заголовке соединения (0,42 г, выход 30%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{12}H_{15}N_2O_6$ $[M-H]^-$: 283,10, найдено 283,10.

Пример 3. Синтез трет-бутил (2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)этил)карбамата.



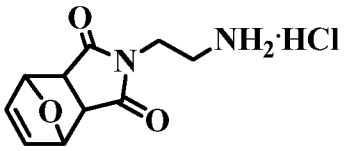
Смесь N-Boc-этилендиамина (5,6 мл, 35,4 ммоль, 1,1 экв.) и насыщенного $NaHCO_3$ (60 мл) охлаждали до 0 °C, при этом метил 2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-карбоксилат (5,00 г, 32,2 ммоль, 1,0 экв.) добавляли частями. После перемешивания при 0 °C в течение 30 минут реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. и перемешивали 1 час. Осадок собирали фильтрованием и промывали холодной водой, затем растворяли в EtOAc и промывали солевым раствором, сушили над безводным Na_2SO_4 и упаривали с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества (6,69 г, выход 87%).

Пример 4. Синтез трет-бутил (2-(1,3-диоксо-3a,4,7,7a-тетрагидро-1H-4,7-эпоксиизоиндол-2(3H)-ил)этил)карбамата.



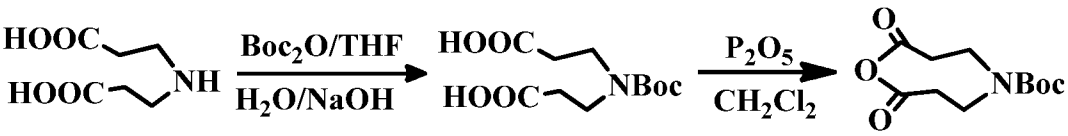
Раствор трет-бутил (2- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)этил)карбамата (6,00 г, 25,0 ммоль), фурана (18,0 мл) в толуоле (120 мл) в трубке высокого давления кипятили с обратным холодильником и перемешивали в течение 16 часов. Бесцветный раствор во время реакции пожелтел. Затем смесь охлаждали до комнатной температуры. и упаривали. Полученное белое твердое вещество растирали с этиловым эфиром, получая указанное в заголовке соединение (6,5 г, выход 84%).

Пример 5. Синтез гидрохлорида 2-(2-аминоэтил)-3a,4,7,7a-тетрагидро-1H-4,7-эпоксиизоиндол-1,3 (2H)-диона.



Раствор трет-бутил (2- (1,3-диоксо-3a,4,7,7a-тетрагидро-1H-4,7-эпоксиизоиндол-2(3H)- ил)этил)карбамата. (9,93 г, 32,2 ммоль) растворяли в диоксане (15 мл) и обрабатывали концентрированной HCl (15 мл) при комнатной температуре в течение 3 часов. Реакционную смесь упаривали и полученное твердое вещество собирали фильтрацией, промывая осадок на фильтре EtOAc. Твердое вещество сушили в печи (50 °C) в течение ночи с получением указанного в заголовке соединения (6,94 г, выход 88%).

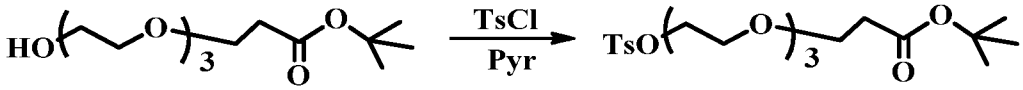
Пример 6. Синтез трет-бутил 2,8-диоксо-1,5-оксазокан-5-карбоксилата.



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, упаривали при пониженном давлении, экстрагировали CH_2Cl_2, сушили над Na_2SO_4, упаривали и очищали с помощью флэш-хроматографии на SiO2, элюируя AcOH/MeOH/CH_2Cl_2 (0,01:1:5) с получением 3,3'-((трет-бутоксикарбонил)азандиил)дипропановой кислоты (13,62 г, 84% выход). ЭСИ МС m/z $C_{11}H_{19}NO_6$ $[M+H]^+$, рассчит. 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 упаривали и растирали с EtOAc/гексан с получением указанного в заголовке соединения (5,64 г, 74% выход). ЭСИ МС m/z $C_{11}H_{17}NO_5$ $[M+H]^+$, рассчит. 244,11, найдено 244,30.

Пример 7. Синтез трет-бутил-3-(2-(2-(2-(тозилокси)этокси)этокси)этокси) пропаноата.



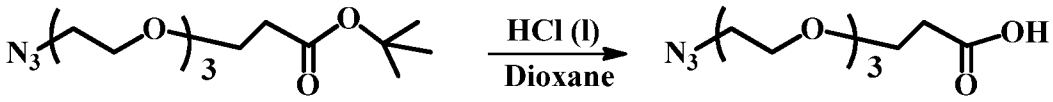
Раствор трет-бутил-3-(2-(2-(2-гидроксиэтокси)этокси)этокси)пропаноата (10,0 г, 35,95 ммоль) в ацетонитриле (50,0 мл) обрабатывали пиридином (20,0 мл). Через капельную воронку по каплям добавляли раствор тозилхлорида (7,12 г, 37,3 ммоль) в 50 мл ацетонитрила в течение 30 минут. Через 5 часов анализ ТСХ показал завершение реакции. Образовавшийся гидрохлорид пиридина отфильтровывали и растворитель удаляли. Остаток очищали на силикагеле, элюируя смесью от 20% этилацетата в гексане до чистого этилацетата, с получением 11,2 г (выход 76%) указанного в заголовке соединения. ^{1}H NMR: 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); МС ЭСИ m/z+ $C_{20}H_{33}O_8S$ (M+H), рассч. 433,18, найдено 433,30.

Пример 8. Синтез трет-бутил-3-(2-(2-(2-азидоэтокси)этокси)этокси)пропаноата.

К 50 мл ДМФА при перемешивании добавляли трет-бутил 3-(2-(2-(2-(тозилокси)этокси)этокси)этокси)пропаноат (4,0 г, 9,25 ммоль) и азид натрия (0,737 г, 11,3 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 80 °С. Через 4 часов анализ ТСХ показал завершение реакции. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и

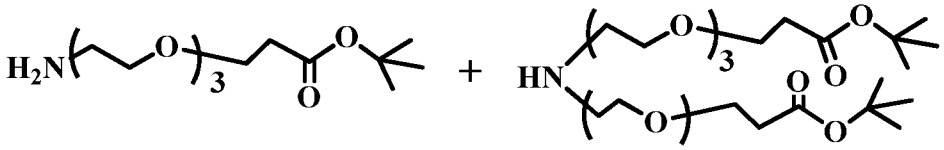
добавляли воду (25 мл). Водный слой отделяли и экстрагировали этилацетатом (3 × 35 мл). Объединенные органические слои сушили над безводным сульфатом магния, фильтровали и удаляли растворитель в вакууме. Неочищенный азид (2,24 г, выход 98%, чистота около 93% по данным ВЭЖХ) использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ^{1}H 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). МС ЭСИ m/z+ $C_{13}H_{26}N_3O_8$ (M+H), расст. 304,18, найдено 304,20.

Пример 9. Синтез 3-(2-(2-(2-азидоэтокси)этокси)этокси)пропановой кислоты.



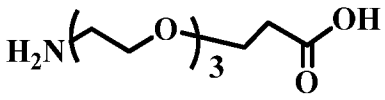
К трет-бутил 3-(2-(2-(2-азидоэтокси)этокси)этокси)пропаноата (2,20 г, 7,25 ммоль) в 1,4-диоксане (40 мл) добавляли HCl (12 М, 10 мл). Смесь перемешивали в течение 40 минут, разбавляли диоксаном (20 мл) и толуолом (40 мл), упаривали и упаривали совместно с диоксаном (20 мл) и толуолом (40 мл) досуха с получением неочищенного указанного в заголовке продукта для следующей стадии без дальнейшей очистки (1,88 г, выход 105%, чистота ~ 92% по данным ВЭЖХ). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_9H_{18}N_3O_5$ $[M+H]^+$ 248,12, найдено 248,40.

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



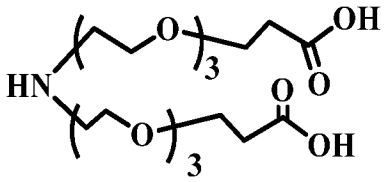
Неочищенный азид 3-(2-(2-(2-азидоэтокси)этокси)этокси)этокси)пропановой кислоты (5,0 г, ~ 14,84 ммоль) растворяли в этаноле (80 мл) и добавляли 300 мг 10% Pd/C. Систему вакуумировали и помещали под 2 атм газообразного водорода через реактор гидрирования при интенсивном перемешивании. Затем реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, ТСХ показал полное израсходование исходных веществ. Неочищенную реакционную смесь пропускали через тонкий слой целита, промывая этанолом. Растворитель удаляли и амин очищали на силикагеле, используя смесь метанола (от 5% до 15%) и 1% триэтиламина в метиленхлориде в качестве элюента с получением трет-бутилового эфира 13-амино-4,7,10-триоксадодекановой кислоты (1,83 г, выход 44%, МС ЭСИ m/z+ $C_{13}H_{27}NO_5$ (M+H), рассч. 278,19, найдено 278,30) и трет-бутилового эфира 13-амино-бис (4,7,10-триоксадодекановой кислоты (2,58 г, 32% выход, МС ЭСИ m/z+ $C_{26}H_{52}NO_{10}$ (M+H), расст. 538,35, найдено 538,40).

Пример 11. Синтез HCl соли 3-(2-(2-(2-аминоэтокси)этокси)этокси)пропановой кислоты.



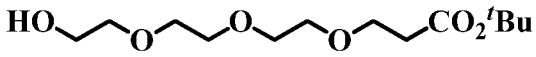
К трет-бутиловому эфиру 13-амино-4,7,10-триоксадодекановой кислоты (0,80 г, 2,89 ммоль) в 30 мл диоксана при перемешивании добавляли 10 мл HCl (36%). Через 0,5 ч анализ ТСХ показал завершение реакции, реакционную смесь упаривали и упаривали совместно с EtOH и EtOH/толуолом с образованием указанного в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

Пример 12. 13-Амино-бис(4,7,10-триоксадодекановая кислота, HCl соль.



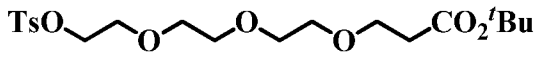
К 13-амино-бис(трет-бутиловому эфиру 4,7,10-триоксадодекановой кислоты) (1,00 г, 1,85 ммоль) в 30 мл диоксана добавляли 10 мл HCl (36%) при перемешивании. Через 0,5 ч анализ ТСХ показала, что реакция завершилась, реакционную смесь выпаривали и выпаривали совместно с EtOH и EtOH/толуолом с образованием указанного в заголовке продукта в виде соли HCl (> 90% чистота, 0,71 г, выход 91%) без дальнейшей очистки. МС ЭСИ m/z+ $C_{18}H_{36}NO_{10}$ (M+H), расст. 426,22, найдено 426,20.

Пример 13. Синтез *трет*-бутил 3-(2-(2-(2-гидроэтокси)этокси)этокси)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, а затем гасили раствором HCl (20,0 мл, 1 н.) при 0 °C. ТГФ удаляли на роторном испарителе, добавляли насыщенный водный раствор хлорида натрия (300 мл) и полученную смесь экстрагировали EtOAc (3 × 100 мл). Органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (3 × 300 мл), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и упаривали, получая бесцветное масло (30,20 г, выход 79,0%), которое использовали без дополнительной очистки. МС ЭСИ m/z рассч. для $C_{13}H_{27}O_6$ $[M + H]^+$ 278,1729, найдено 278,1730.

Пример 14. Синтез *трет*-бутил 3-(2-(2-(2-(тозилокси)этокси)этокси)этокси)пропаноата.

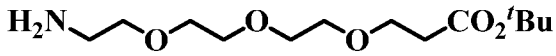


К раствору трет-бутил 3-(2-(2-(2-гидроксиэтокси)этокси)этокси)пропаноата (30,20 г, 108,5 ммоль, 1,0 экв.) и TsCl (41,37 г, 217,0 ммоль, 2,0 экв.) в безводном ДХМ (220 мл) при 0 °C добавляли ТЭА (TEA) (30,0 мл, 217,0 ммоль, 2,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, а затем промывали водой (3 × 300 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (300 мл), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали, упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (смесь изомеров гексана 3:1/EtOAc) с получением бесцветного масла (39,4 г, выход 84,0%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{20}H_{33}O_8S$ $[M + H]^+$ 433,1818, найдено 433,2838.

Пример 15. Синтез *трет*-бутил 3-(2-(2-(2-азидоэтокси)этокси)этокси)пропаноата.

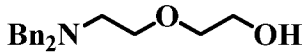
К раствору трет-бутил 3-(2-(2-(2-(тозилокси)этокси)этокси)этокси)пропаноата (39,4 г, 91,1 ммоль, 1,0 экв.) в безводном ДМФА (100 мл) добавляли NaN_3(20,67 г, 316,6 ммоль, 3,5 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли воду (500 мл) и экстрагировали EtOAc (3 × 300 мл). Объединенные органические слои промывали водой (3 × 900 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (900 мл), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (5: 1 смесь изомеров гексана/EtOAc), получая светло-желтое масло (23,8 г, 85,53% выход). МС ЭСИ m/z рассч. для $C_{13}H_{25}O_3N_5Na$ $[M + Na]^+$ 326,2, найдено 326,2.

Пример 16. Синтез *трет*-бутил 3-(2-(2-(2-аминоэтокси)этокси)этокси)пропаноата.



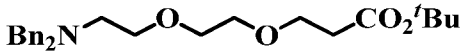
Ni Ренея (7,5 г, суспендированный в воде) промывали водой (три раза) и изопропиловым спиртом (три раза) и смешивали с *трет*-бутил 3-(2-(2-(2-азидоэтокси)этокси)этокси)пропаноатом (5,0 г, 16,5 ммоль) в изопропиловом спирте. Смесь перемешивали в атмосфере H_2 при комнатной температуре в течение 16 часов, а затем фильтровали через слой целита, промывая изопропиловым спиртом. Фильтрат упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии (5-25% MeOH/ДХМ), получая светло-желтое масло (2,60 г, выход 57%). МС ЭСИ m/z рассч. для $C_{13}H_{28}NO_5$ $[M+H]^+$ 279,19; найдено 279,19.

Пример 17. Синтез 2-(2-(дибензиламино)этокси)этанола.



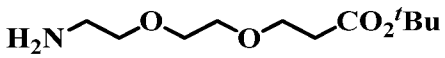
В 2-(2-Аминоэтокси)этанол (21,00 г, 200 ммоль, 1,0 экв.) и K_2CO_3 (83,00 г, 600 ммоль, 3,0 экв.) в ацетонитриле (350 мл) добавляли BnBr (57,0 мл, 480 ммоль, 2,4 экв.). Смесь нагревали до кипения с обратным холодильником в течение ночи. Добавляли воду (1 л) и экстрагировали EtOAc (3 × 300 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (1000 мл), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали, упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (4:1 смесь изомеров гексана/EtOAc), получая бесцветное масло (50,97 г, 89,2% выход). МС ЭСИ m/z вычислено для $C_{18}H_{23}NO_2Na$ $[M + Na]^+$ 309,1729, найдено 309,1967.

Пример 18. Синтез трет-бутил 3-(2-(2-(дибензиламино)этокси)этокси)пропаноата.



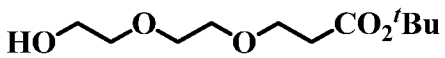
К смеси 2-(2-(дибензиламино)этокси)этанола (47,17 г, 165,3 ммоль, 1,0 экв.) , трет-бутилакрилата (72,0 мл, 495,9 ммоль, 3,0 экв.) и н-Bu_4NI (6,10 г, 16,53 ммоль, 0,1 экв.) в ДХМ (560 мл) добавляли раствор гидроксида натрия (300 мл, 50%). Смесь перемешивали в течение ночи. Органический слой отделяли,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

Пример 19. 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 средство для фильтрования) и фильтрат упаривали с получением бесцветного масла (10,58 г, выход 93,8%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{11}H_{24}NO_4$ $[M + H]^+$ 234,1627, найдено 234,1810.

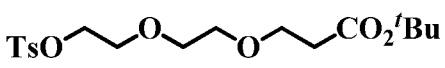
Пример 20. Синтез *трет-бутил* 3-(2-(2-гидроксиэтокси)этокси)пропаноата.



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 до израсходования Na, а затем по каплям добавляли *трет*-бутилакрилат (10,0 мл, 68,9 ммоль, 1,0 экв.). Смесь перемешивали в течение ночи, добавляли насыщенный раствор хлорида натрия (200 мл) и экстрагировали EtOAc (3 × 100 мл). Органические слои промывали насыщенным водным

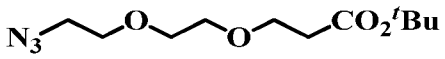
раствором хлорида натрия (3 × 300 мл), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали, упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (1:1 смесь изомеров гексана/EtOAc) с получением бесцветного масла (8,10 г, выход 49,4%). МС ЭСИ m/z рассч. для $C_{11}H_{23}O_5$ $[M+H]^+$ 235,1467, найдено 235,1667.

Пример 21. Синтез *трет-бутил* 3-(2-(2-(тозилокси)этокси)этокси)пропаноата.



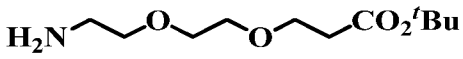
К раствору *трет*-бутил 3-(2-(2-гидроксиэтокси)этокси)пропаноата (6,24 г, 26,63 ммоль, 1,0 экв.) и TsCl (10,15 г, 53,27 ммоль, 2,0 экв.) в безводном ДХМ (50 мл) при 0 °C добавляли пиридин (4,3 мл, 53,27 ммоль, 2,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, а затем промывали водой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

Пример 22. Синтез *трет-бутил* 3-(2-(2-азидоэтокси)этокси)пропаноата.



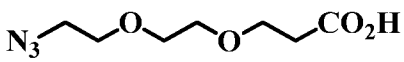
К раствору *трет*-бутил 3-(2-(2-(тозилокси)этокси)этокси)пропаноата (5,80 г, 14,93 ммоль, 1,0 экв.) в безводном ДМФА (20 мл) добавляли NaN_3 (5,02 г, 77,22 ммоль, 5,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли воду (120 мл) и экстрагировали EtOAc (3 × 50 мл). Объединенные органические слои промывали водой (3 × 150 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (150 мл), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали, упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (5:1 смесь изомеров гексана/EtOAc), получая бесцветное масло (3,73 г, выход 69,6%). МС ЭСИ m/z рассч. для $C_{11}H_{22}O_3N_4Na[M + H]^+$ 260,1532, найдено 260,2259.

Пример 23. Синтез *трет-бутил* 3-(2-(2-аминоэтокси)этокси)пропаноата.



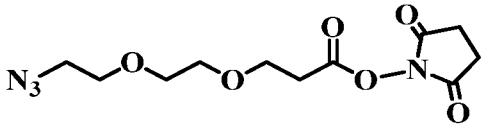
трет-бутил-3-(2-(2-азидоэтокси)этокси)пропаноат (0,18 г, 0,69 ммоль) растворяли в MeOH (3,0 мл, 60 мкл концентрированной HCl) и гидрировали Pd/C (10% масс., 20 мг) в атмосфере H_2 в течение 30 минут. Катализатор отфильтровывали через слой целита, промывая MeOH. Фильтрат упаривали, получая бесцветное масло (0,15 г, выход 93%). МС ЭСИ m/z рассч. для $C_{11}H_{24}NO_4$ $[M+H]^+$ 234,16; найдено 234,14.

Пример 24. Синтез 3-(2-(2-азидоэтокси)этокси)пропановой кислоты.



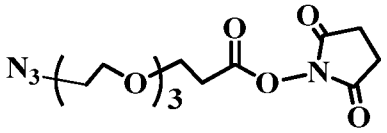
трет-бутил-3-(2-(2-азидоэтокси)этокси)пропаноата (2,51 г, 9,68 ммоль), растворенного в 1,4-диоксане (30 мл), обрабатывали 10 мл HCl (конц.) при комнатной температуре. Смесь перемешивали в течение 35 минут, разбавляли EtOH (30 мл) и толуолом (30 мл), и упаривали в вакууме. Неочищенную смесь очищали на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

Пример 25. Синтез 2,5-диоксопирролидин-1-ил 3-(2-(2-азидоэтокси) этокси)пропаноата.



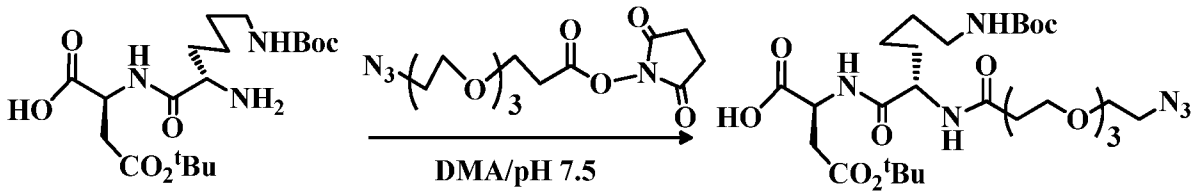
К 3-(2-(2-азидоэтокси)этокси)пропановой кислоте (1,60 г, 7,87 ммоль) в 30 мл дихлорметана добавляли NHS (1,08 г, 9,39 ммоль) и EDC (3,60 г, 18,75 ммоль) при перемешивании. Через 8 часов анализ ТСХ показал завершение реакции, реакционную смесь упаривали и очищали на силикагеле, используя в качестве элюента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

Пример 26. Синтез 2,5-диоксопирролидин-1-ил 3-(2-(2-(2-азидоэтокси)этокси)этокси)пропаноата.



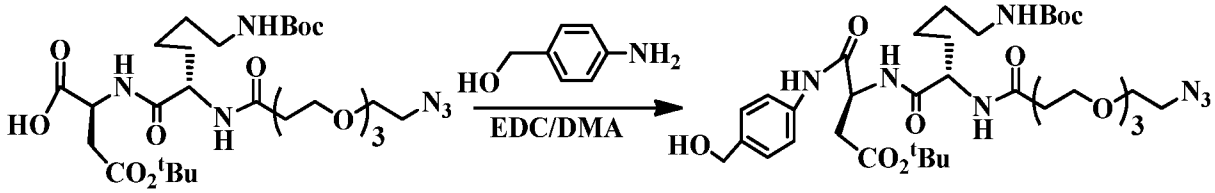
К 3-(2-(2-(2-азидоэтокси)этокси)этокси)пропановой кислоте (4,50 г, 18,21 ммоль) в 80 мл дихлорметана при перемешивании добавляли NHS (3,0 г, 26,08 ммоль) и EDC (7,60 г, 39,58 ммоль). Через 8 часов анализ ТСХ показал завершение реакции, реакционную смесь упаривали и очищали на силикагеле, используя в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

Пример 27. Синтез (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-диазаоктадекан-18-оевой кислоты.



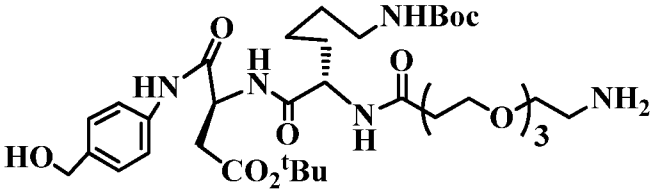
К раствору (S)-2-((S)-2-амино-6-((трет-бутоксикарбонил)амино)гексанамидо)-4-(трет-бутокси)-4-оксобутановой кислоты (2,81 г, 6,73 ммоль) в смеси DMA (70 мл) и 0,1 М NaH_2PO_4 (50 мл, pH 7,5) добавляли 2,5-диоксопирролидин-1-ил 3-(2-(2-(2-азидоэтокси)этокси)этокси)пропаноат (3,50 г, 10,17). Смесь перемешивали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

Пример 28. 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.



(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-диазаоктадекан-18-оновой кислоты (3,30 г, 5,10 ммоль) и (4-аминофенил)метанола (0,75 г, 6,09) в DMA (25 мл) добавляли EDC (2,30 г, 11,97 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали в вакууме, очищали на силикагеле, используя в качестве элюента смесь метанола (от 5% до 8%) в метиленхлориде с получением указанного в заголовке соединения (3,18 г, выход 83%). МС ЭСИ m/z $C_{35}H_{58}N_7O_{11}$ $[M+H]^+$, рассч. 752,41, найдено 752,85.

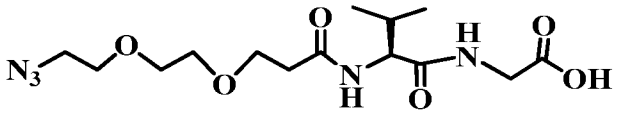
Пример 29. Синтез (14S,17S)-трет-бутил 1-амино-14-(4-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-17-((4-(гидроксиметил)фенил)карбамоил)-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазанонадекан-19-оата.



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-диазанонадекан-19-оата (1,50 г, 1,99 ммоль) в ТГФ (35 мл) добавляли

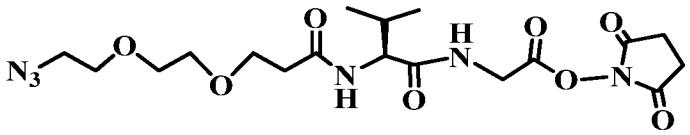
Pd/C (200 мг, 10% Pd, 50% влажности) в сосуде для гидрирования. Смесь встряхивали при давлении 1 атм. H_2 в течение ночи, фильтровали через целит (вспомогательное средство для фильтрации) и фильтрат упаривали, получая указанное в заголовке соединение (1,43 г, выход 99%), которое сразу использовали для следующей стадии без дополнительной очистки. МС ЭСИ m/z $C_{35}H_{60}N_5O_{11}$ $[M+H]^+$, рассч.726,42, найдено 726,70.

Пример 30. Синтез (S)-15-азидо-5-изопропил-4,7-диоксо-10,13-диокса-3,6-диазапентадекан-1-оевой кислоты



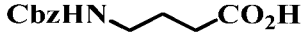
К раствору (S)-2-(2-амино-3-метилбутанамидо)уксусной кислоты (Val-Gly) (1,01 г, 5,80 ммоль) в смеси DMA (50 мл) и 0,1 М NaH_2PO_4 (50 мл, pH 7,5) добавляли 2,5-диоксопирролидин-1-ил 3-(2-(2-азидоэтокси)этокси)пропаноат (1,90 г, 6,33). Смесь перемешивали в течение 4 часов, упаривали в вакууме, очищали на силикагеле, используя в качестве элюента смесь метанола (от 5% до 15%) в метиленхлориде, содержащую 0,5% уксусную кислоту, с получением указанного в заголовке соединения (1,52 г, выход 73%). МС ЭСИ m/z $C_{14}H_{26}N_5O_6$ $[M+H]^+$, рассч. 360,18, найдено 360,40.

Пример 31. Синтез (S)-2,5-диоксопирролидин-1-ил 15-азидо-5-изопропил-4,7-диоксо-10,13-диокса-3,6-диазапентадекан-1-оата



К раствору (S)-15-азидо-5-изопропил-4,7-диоксо-10,13-диокса-3,6-диазапентадекан-1-оевой 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). После 8 часов, ТХМ анализ показал завершение реакции, реакционную смесь упаривали и очищали на силикагеле с использованием смеси этилацетата (от 5% до 20%) в метиленхлориде в качестве элюента с получением указанного в заголовке соединения (1,48 г, 78% выход). ЭСИ МС m/z $C_{18}H_{29}N_6O_8$ $[M+H]^+$, рассчитано для 457,20, найдено 457,50.

Пример 32. Синтез 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутановой кислоты.



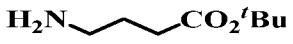
Раствор 4-аминомасляной кислоты (7,5 г, 75 ммоль) и NaOH (6 г, 150 ммоль) в H_2O (40 мл) охлаждали до 0 °C и по каплям добавляли раствор CbzCl (16,1 г, 95 ммоль) в ТГФ (32 мл). После 1 часа, реакционную смеси оставляли нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 часов. ТГФ удаляют в вакууме, pH водного раствора доводили до 1,5 добавлением 6 н HCl. Экстрагировали этилацетатом и органический слой

промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили и упаривали, получая указанное в заголовке соединение (16,4 г, выход 92%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{12}H_{16}NO_5$ $[M+H]^+$238,10, найдено 238,08.

Пример 33. Синтез *трет-бутил* 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутаноата.

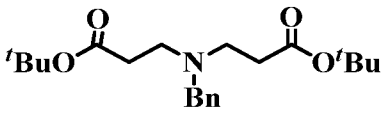
DMAP (0,8 г, 6,56 ммоль) и DCC (17,1 г, 83 ммоль) добавляли к раствору 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутановой кислоты (16,4 г, 69,2 ммоль) и *трет*-BuOH (15,4 г, 208 ммоль) в ДХМ (100 мл). После перемешивания при комнатной температуре в течение ночи, реакционную смесь фильтровали и фильтрат упаривали. Остаток растворяли в этилацетате промывали 1 н HCl, насыщенным водным раствором хлорида натрия и сушили над Na_2SO_4. Упаривание и очистка с помощью колоночной хроматографии (10-50% EtOAc/смесь изомеров гексана) давало указанное в заголовке соединение (7,5 г, 37% выход). МС ЭСИ m/z рассч. для $C_{16}H_{23}NO_4Na$ $[M+Na]^+$ 316,16, найдено 316,13.

Пример 34. Синтез *трет*- бутил 4-аминобутаноата.



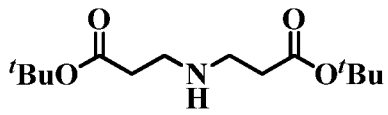
трет-Бутил 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутаноата (560 мг, 1,91 ммоль) растворяли в MeOH (50 мл), и добавляли катализатор Pd/C (10% масс., 100 мг), затем гидрировали (1 атм) при комнатной температуре в течение 3 часов. Катализатор отфильтровывали и все летучие вещества удаляли в вакууме, получая указанное в заголовке соединение (272 мг, 90% выход). МС ЭСИ m/z рассч. для $C_8H_{18}NO_2$ $[M+H]^+$ 160,13, найдено 160,13.

Пример 35. Синтез ди-*трет*-бутил 3,3'-(бензилазандиил)дипропаноата.



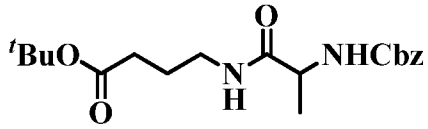
Смесь фенилметанамина (2,0 мл, 18,29 ммоль, 1,0 экв.) и *трет*- бутилакрилата (13,3 мл, 91,46 ммоль, 5,0 экв.) нагревали с обратным холодильником при 80 °C в течение ночи, а затем упаривали. Неочищенный продукт очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (20:1 смесь изомеров гексана/EtOAc), получая указанное в заголовке соединение в виде бесцветного масла (5,10 г, 77% выход). МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{21}H_{34}NO_4$ $[M+H]^+$ 364,2, найдено 364,2. ^{1}H 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 36. Синтез ди-*трет*-бутил 3,3'-азандиилдипропаноата.



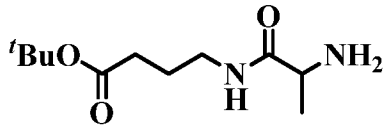
К раствору ди-*трет*-бутил 3,3'-(бензилазандиил)дипропаноата (1,37 г, 3,77 ммоль, 1,0 экв.) в MeOH (10 мл) добавляли Pd/C (0,20 г, 10% Pd/C, влажность 50%) в сосуде для гидрирования. Смесь встряхивали в течение ночи в атмосфере H_2, а затем фильтровали через слой целита. Фильтрат упаривали, получая указанное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

Пример 37. Синтез *трет*- бутил 4-(2-(((бензилокси)карбонил)амино)пропанамидо)-бутаноата.



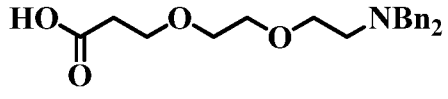
К раствору *трет*-бутил 4-аминобутаноата (1,00 г, 6,28 ммоль, 1,0 экв.) и Z-L-алаина (2,10 г, 9,42 ммоль, 1,5 экв.) в безводном ДХМ (50 мл) при 0 °C добавляли HATU (3,10 г, 8,164 ммоль, 1,3 экв.) и ТЭА (2,6 мл, 18,8 ммоль, 3,0 экв.). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 10 минут, затем нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Смесь разбавляли ДХМ и промывали водой и насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным Na_2SO_4, упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (10:3 петролейный эфир/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения в виде бесцветного масла (1,39 г, 61% выход). МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{19}H_{29}N_2O_5Na$ $[M+H]^+$ 387,2, найдено 387,2.

Пример 38. Синтез трет-бутил 4-(2-аминопропанамидо)бутаноата.



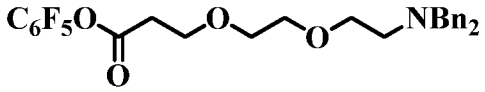
К раствору *трет*-бутил 4-(2-(((бензилокси)карбонил)амино)пропанамидо) бутаноата (1,39 г, 3,808 ммоль, 1,0 экв.) в MeOH (12 мл) добавляли Pd/C (0,20 г, 10% масс., 10% влажности) в склянке для гидрирования. Смесь встряхивали в течение 2 часов, а затем фильтровали через целит (вспомогательное средство для фильтрации), упаривали, получая указанное в заголовке соединение в виде светло-желтого масла (0,838 г, выход 95%). МС ЭСИ m/z: рассч. для $C_{11}H_{23}N_2O_3$ $[M+H]^+$ 231,16, найдено 231,15.

Пример 39. Синтез 3-(2-(2-(дибензиламино)этокси)этокси)пропановой кислоты.



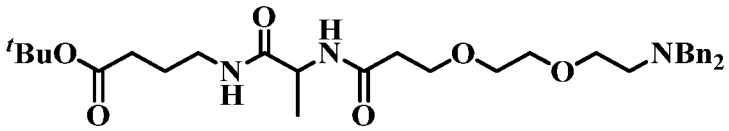
К раствору *трет*-бутил 3-(2-(2-(дибензиламино)этокси)этокси)пропаноата (2,3 г, 5,59 ммоль, 1,0 экв.) в ДХМ (10 мл) при комнатной температуре добавляли ТФК (5 мл). После перемешивания в течение 90 минут, реакционную смесь разбавляли безводным толуолом и упаривали, эту операцию повторяли три раза, получая указанное в заголовке соединение в виде светло-желтого масла (2,0 г, теоретический выход), который непосредственно использовали на следующей стадии. МС ЭСИ m/z рассч. для $C_{21}H_{28}NO_4$ $[M+H]^+$ 358,19, найдено 358,19.

Пример 40. Синтез перфторфенил 3-(2-(2-(дибензиламино)этокси)этокси)пропаноата.



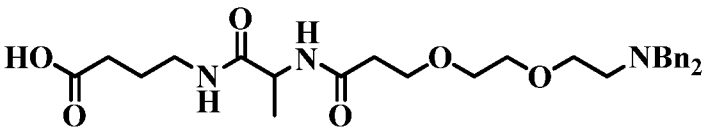
К раствору 3-(2-(2-(дибензиламино)этокси)этокси)пропановой кислоты (2,00 г, 5,59 ммоль, 1,0 экв.) в безводном ДХМ (30 мл) при 0 °C добавляли DIPEA до нейтрального pH, а затем добавляли PFP (1,54 г, 8,38 ммоль, 1,5 экв.) и DIC (1,04 мл, 6,70 ммоль, 1,2 экв.). После 10 минут, реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Смесь фильтровали, упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (15:1 петролейный эфир/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения в виде бесцветного масла (2,10 г, выход 72%). МС ЭСИ m/z: calcd. for $C_{27}H_{27}F_5NO_4$ $[M+H]^+$ 524,2, найдено 524,2.

Пример 41. Синтез *трет*- бутил 2-бензил-13-метил-11,14-диоксо-1-фенил-5,8-диокса-2,12,15-триазанонадекан-19-оата.



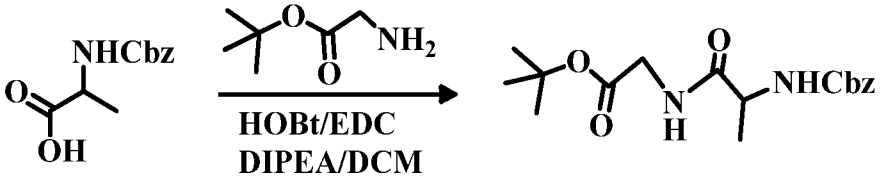
К раствору трет-бутил 4-(2-аминопропанамидо)бутаноата (0,736 г, 3,2 ммоль, 1,0 экв.) и перфторфенил 3-(2-(2-(дибензиламино)этокси)этокси)пропаноата (2,01 г, 3,84 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMA (20 мл) при 0 °C добавляли DIPEA (1,7 мл, 9,6 ммоль, 3,0 экв.). После перемешивания при 0 °C в течение 10 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 насыщенным водным раствором хлорида натрия (200 мл), сушили над Na_2SO_4, фильтровали, упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (25:2 ДХМ/MeOH), получая указанное в заголовке соединение в виде бесцветного масла (1,46 г, выход 80%). МС ЭСИ m/z: calcd. for $C_{32}H_{48}N_3O_6$ $[M+H]^+$ 570,34, найдено570,33.

Пример 42. Синтез 2-бензил-13-метил-11,14-диоксо-1-фенил-5,8-диокса -2,12,15-триазанонадекан-19-оевой кислоты.



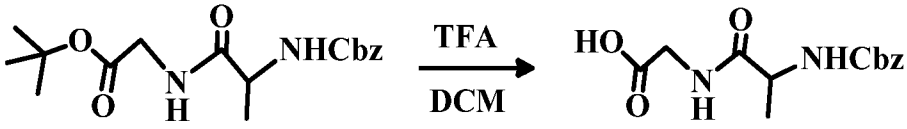
К раствору *трет*- бутил 2-бензил-13-метил-11,14-диоксо-1-фенил-5,8-диокса-2,12,15-триазанонадекан-19-оата (0,057 г, 0,101 ммоль, 1,0 экв) в ДХМ (3 мл) при комнатной температуре добавляли ТФК (1 мл) и перемешивали в течение 40 минут. Реакционную смесь разбавляли безводным толуолом, а затем упаривали. Данную операцию повторяли три раза с получением указанного в заголовке соединения в виде бесцветного масла (0,052 г, теоретический выход), которое использовали непосредственно на следующей стадии. МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{28}H_{40}N_3O_6$ $[M+H]^+$ 514,28, найдено 514,28.

Пример 43. Синтез трет-бутил 2-(2-(((бензилокси)карбонил)амино)пропанамидо)ацетата.



2-(((Бензилокси)карбонил)амино)пропановую 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 DIPEA (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 с SiO_2 с получением указанного в заголовке продукта (0,87 г, 52%). ЭСИ: m/z: рассч. для $C_{17}H_{25}N_2O_5$ $[M+H]^+$: 337,17, найдено 337,17.

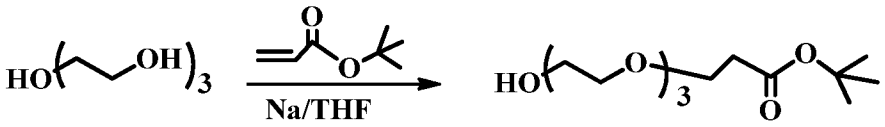
Пример 44. Синтез 2-(2-(((бензилокси)карбонил)амино)пропанамидо)уксусной кислоты.



Трет-бутил 2-(2-(((бензилокси)карбонил)амино)пропанамидо)ацетат (0,25 г, 0,74 ммоль) растворяли в ДХМ (30 мл) с последующим добавлением ТФК (10 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, упаривали, получая указанное

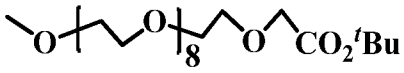
в заголовке соединение, используемое для следующей стадии без дополнительной очистки. ЭСИ: m/z: рассч. для $C_{13}H_{17}N_2O_5$ $[M+H]^+$: 281,11, найдено 281,60.

Пример 45. Синтез трет-бутил 3-(2-(2-(2-гидроксиэтокси)этокси)этокси)пропаноата.



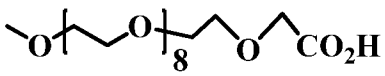
К 350 мл безводного ТГФ при перемешивании добавляли 80 мг (0.0025 моль) металлического натрия и триэтиленгликоля 150,1 г, 1,00 моль). После полного растворения натрия добавляли трет-бутилакрилат (24 мл, 0,33 моль). Раствор перемешивали в течение 20 часов при комнатной температуре и нейтрализовали 8 мл 1,0 М HCl. Растворитель удаляли в вакууме, а остаток суспендировали в насыщенном водном растворе хлорида натрия (250 мл) и экстрагировали этилацетатом (3 × 125 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (100 мл), затем водой (100 мл), сушили над сульфатом натрия и удаляли растворитель. Полученное бесцветное масло сушили в вакууме, получая 69,78 г (выход 76%) указанного в заголовке продукта. ^{1}H NMR: 1,41 (с, 9H), 2,49 (т, 2H, J = 6,4 Гц), 3,59-3,72 (м, 14H). МС ЭСИ m/z- $C_{13}H_{25}O_6$ (M-H), рассч. 277,17, найдено 277,20.

Пример 46. Синтез трет-бутил 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаоксагентриаконтан-31-оата.



NaH (60%, 8,0 г, 200 ммоль) добавляли к раствору 2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаоксаоктакозан-28-ола (42,8 г, 100 ммоль) в ТГФ (1,0 л). После перемешивания при комнатной температуре в течение 30 минут к смеси добавляли *трет*-бутил 2-бромацетат (48,8 г, 250 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Затем смесь выливали в ледяную воду, экстрагировали DCM, и органический слой промывали солевым раствором, сушили над безводным Na_2SO_4. Очистка колоночной хроматографией (от 0% до 5% MeOH: DCM) давало соединение **432** в виде желтого масла (выход 32 г 59%).

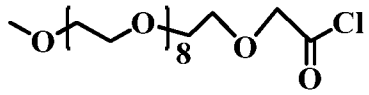
Пример 47. Синтез 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаоксагентриаконтан-31-овой кислоты.



Трет-бутил 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаоксагентриаконтан-31-оат (40,0 г, 73,8 ммоль) растворяли в DCM (400 мл), а затем добавляли муравьиную кислоту (600 мл). Полученный раствор перемешивали при 25 °C в течение ночи. Все летучие вещества

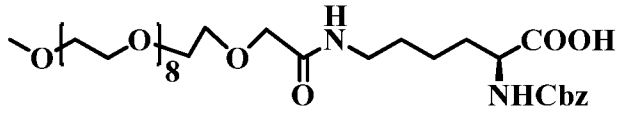
удаляли в вакууме, что давало указанный в заголовке продукт в виде желтого масла (36,0 г теоретический выход). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{21}H_{43}O_{12}$ $[M+H]^+$: 487,27, найдено 487,24.

Пример 48. Синтез 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаоксагентриаконтан- 31-оилхлорида.



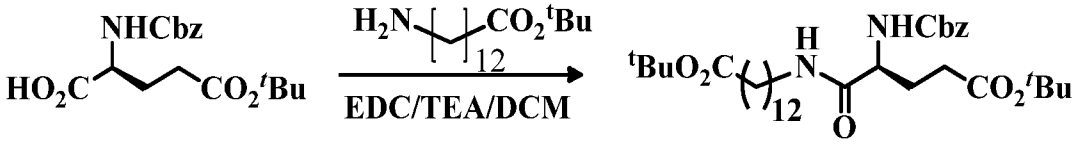
К раствору 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаоксагентриаконтан-31-овой кислоты (36,0 г, 73,8 ммоль), растворенной в DCM (640 мл), прибавляли $(COCl)_2$ (100 мл) и ДМФА (52 г, 0,74 ммоль). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 4 часов. Все летучие вещества удаляли в вакууме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

Пример 49. 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 °C, к которой добавляли раствор 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаоксагентриаконтан-31-оилхлорида (37,2 г, 73,8 ммоль) в ТГФ (20 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение1 часа. ТГФ удаляли в вакууме и к водному раствору добавляли концентрированную HCl до достижения pH 3 при охлаждении льдом. После экстракции DCM органический слой промывали солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и упаривали с получением указанного в заголовке продукта в виде желтого масла (выход 55 г , 99%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{35}H_{60}N_2O_{15}$ $[M+H]^+$: 749,40, найдено 749,39.

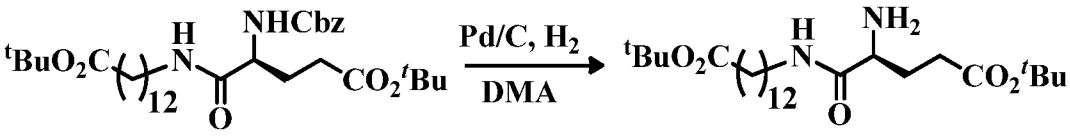
Пример 50. Синтез (S)-трет-бутил 13-(2-(((бензилокси)карбонил)амино)-5- (трет-бутокси)-5-оксопентанамидо)тридеканоата.



К раствору (S)-2-(((бензилокси)карбонил)амино)-5- (трет-бутокси)-5-оксопентановой кислоты (3,50 г, 10,38 ммоль) и трет-бутил 13-аминотридеканоата (3,00 г, 10,51 ммоль) в ДМФА (70 мл) добавляли EDC (10,00 г, 52,08 ммоль) и TEA (1,60 мл, 11,16 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 8 ч, упаривали в вакууме, разбавляли солевым раствором водой (80 мл) и EtOAc (100 мл), разделяли. Водный слой экстрагировали EtOAc (50 мл×3), и объединенные органические

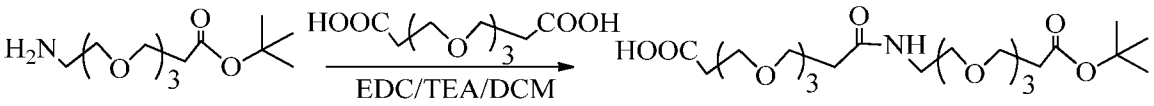
фазы промывали один раз 100 мл насыщенного солевого раствора, затем сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и упаривали. Остаток очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (EtOAc/DCM, 1:15) с получением указанного в заголовке соединения (5,45 г, выход 87%), ЭСИ: m/z: рассч. для $C_{34}H_{57}N_2O_7$ $[M+H]^+$: 605,41, найдено 605,38.

Пример 51. Синтез (S)-трет-бутил 13-(2-амино-5-(трет-бутокси)-5-оксопентанамидо)тридеканоата.



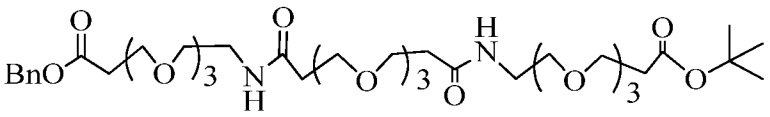
К раствору (S)-трет-бутил 13-(2-(((бензилокси)карбонил)амино)- 5-(трет-бутокси)-5-оксопентанамидо)тридеканоата (2,80 г, 4,63 ммоль) в DMA (100 мл) добавляли 10% Pd/C (0,41 г), смесь перемешивали в атмосфере водорода при комнатной температуре в течение 18 часов. Затем Pd/C удаляли фильтрованием через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

Пример 52. Синтез 2,2-диметил-4,17-диоксо-3,7,10,13,20,23,26-гептаокса-16-азанонакозан-29-овой кислоты.



В раствор трет-бутил 3-(2-(2-(2-аминоэтокси)этокси)этокси) пропаноата (6,00 г, 21,64 ммоль) и 3,3'-((оксибис (этан-2,1-диил))бис(окси))дипропановой кислоты (21,01 г, 84,00 ммоль) в DMA (200 мл) добавляли EDC (18,00 г, 93,75 ммоль) и DIPEA (5,00 г, 38,75 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, затем упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 ($MeOH:CH_2Cl_2$ = от 1:12 до 1:5) с получением указанного в заголовке соединения в виде белого масла (9,15 г, выход 86%). ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{23}H_{44}NO_{11}$ $[M+H]^+$: 510,28, найдено: 510,55.

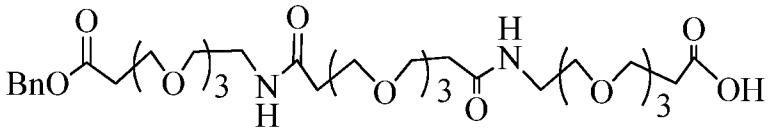
Пример 53. Синтез 1-бензил 39-трет-бутил 14,26-диоксо-4,7,10,17,20,23,30,33,36-нонаокса-13,27-диазанонатриаконтан-1,39-диоата.



В раствор (S)-трет-бутил 13-(2-амино-5-(трет-бутокси)-5-оксопентанамидо)тридеканоата (5,11 г, 10,03 ммоль) и бензил 3-(2-(2-(2-аминоэтокси)этокси)этокси)пропаноата (3,21 г, 10,31 ммоль) в DMA (100 мл) добавляли

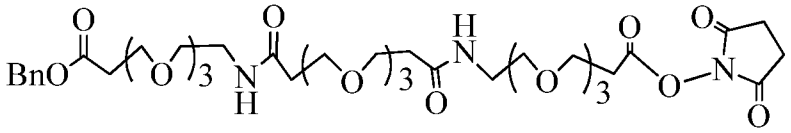
EDC (8,02 г, 41,77 ммоль) и DIPEA (3,00 г, 23,25 ммоль) Смесь перемешивали в течение ночи, затем упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (EtOAc:CH_2Cl_2 = от 1:8 до 1:3) с получением указанного в заголовке соединения в виде белого масла (7,01 г, выход 87%). ЭСИ: m/z: рассч. для $C_{39}H_{67}N_2O_{15}$ $[M+H]^+$: 803,44, найдено: 803,80.

Пример 54. Синтез 3,16,28-триоксо-1-фенил-2,6,9,12,19,22,25,32,35,38-декаокса-15,29-диазагентетраконтан-41-овой кислоты.



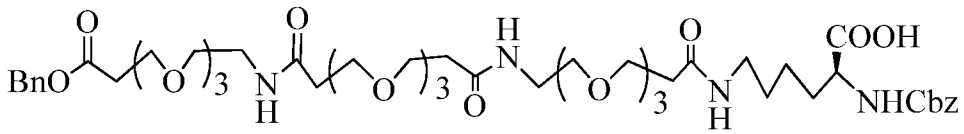
1-бензил 39-трет-бутил 14,26-диоксо-4,7,10,17,20,23,30,33,36-нонаокса-13,27-диазанонатриаконтан-1,39-диоат (6,90 г, 8,60 ммоль) растворяли в HCOOH (50 мл) и перемешивали при 0-4 °C в течение 1 часа. Реакционную смесь разбавляли толуолом (50 мл), упаривали и дважды упаривали с толуолом, а остаток помещали в вакуумный насос для получения указанного в заголовке соединения (6,45 г, выход ~ 101%, неочищенный продукт). ЭСИ: m/z: рассч. для $C_{35}H_{59}N_2O_{15}$ $[M+H]^+$: 747,38, найдено 747,50.

Пример 55. Синтез 1-бензил 39-(2,5-диоксопирролидин-1-ил) 14,26-диоксо-4,7,10,17,20,23,30,33,36-нонаокса-13,27-диазанонатриаконтан-1,39-диоата.



В раствор 3,16,28-триоксо-1-фенил-2,6,9,12,19,22,25,32,35,38-декаокса-15,29-диазагентетраконтан-41-овой кислоты (4,01 г, 5,37 ммоль) и NHS (N-гидроксисукцинимид) (0,68 г, 5,91 ммоль) в DMA (100 мл) добавляли EDC (1,52 г, 7,92 ммоль) и DIPEA (0,50 г, 3,87 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, затем упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (EtOAc:CH_2Cl_2 = от 1:8 до 1:4) с получением указанного в заголовке соединения в виде белой пены (4,17 г, выход 92%). ЭСИ: m/z: рассч. для $C_{39}H_{62}N_3O_{17}$ $[M+H]^+$: 844,40, найдено: 844,85.

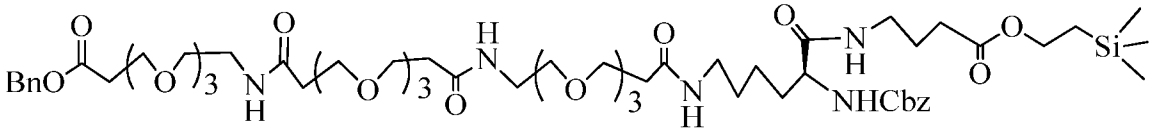
Пример 56. Синтез (S)-47-(((бензилокси)карбонил)амино)-3,16,28,41- тетраоксо-1-фенил-2,6,9,12,19,22,25,32,35,38-декаокса-15,29,42-триазаоктатетраконтан-48-овой кислоты.



В раствор (S)-6-амино-2-(((бензилокси)карбонил)амино) гексановой кислоты (1,38 г, 4,92 ммоль) в DMA (30 мл) и 100 мМ NaH2PO4, буфер pH 7,5 (40 мл) был добавлен 1-бензил 39- (2,5-диоксопирролидин-1-ил) 14,26-диоксо-4,7,10,17,20,23,30,33,36-нонаокса-

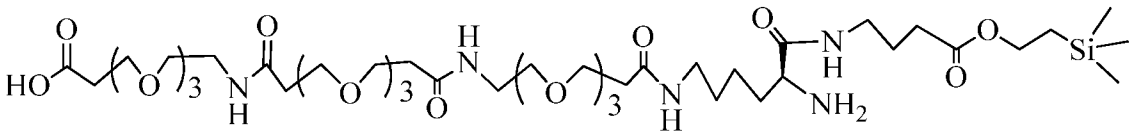
13,27-диазанонатриаконтан-1,39-диоат (4,15 г, 4,92 ммоль) 4 порциями за 2 ч. Смесь перемешивали в течение 4 часов, затем упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (MeOH: CH_2Cl_2 = от 1:7 до 1:4) с получением указанного в заголовке соединения в виде белой пены (4,07 г, выход 82%). ЭСИ: m/z: рассч. для $C_{49}H_{77}N_4O_{18}$ $[M+H]^+$: 1009,51, найдено: 1009,90.

Пример 57. 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-тетраазахенпентаконтан- 1,51-диоата.



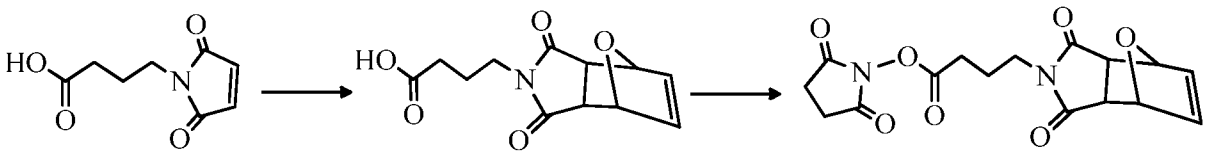
В раствор (S)-47-(((бензилокси)карбонил)амино)-3,16,28,41- тетраоксо-1-фенил-2,6,9,12,19,22,25,32,35,38-декаокса-15,29,42- триазаоктатетраконтан-48-оевой кислоты (4,00 г, 3,96 ммоль) и 2-(триметилсилил)этил 4-аминобутаноата (0,90 г, 4,43 ммоль) в DMA (25 мл). добавляли EDC (2,03 г, 10,57 ммоль). Смесь перемешивали в течение 6 часов, затем упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (MeOH:CH_2Cl_2 = от 1:15 до 1:8) с получением указанного в заголовке соединения в виде белой пены (3,97 г, выход 84%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{58}H_{96}N_5O_{19}S$ $[M+H]^+$: 1194,64, найдено: 1194,90.

Пример 58. 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.



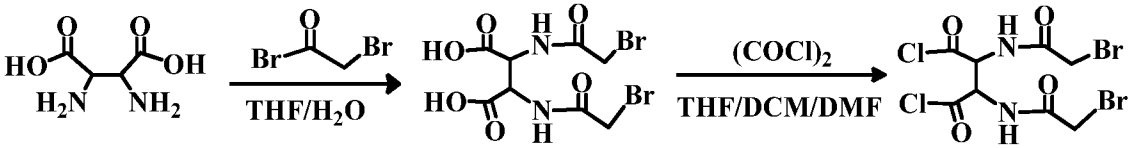
К раствору (S)-1-бензил 51-(2-(триметилсилил)этил) 45-(((бензилокси)карбонил)амино)-14,26,39,46-тетраоксо-4,7,10,17,20,23,30,33,36-нонаокса-13,27,40,47-тетраазахенпентаконтан-1,51-диоата (3,90 г, 3,33 ммоль) в MeOH (40 мл) добавляли Pd/C (10 мас.%, 0,20 г) в сосуде для гидрирования. Смесь встряхивали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

Пример 59. Синтез 2,5-диоксопирролидин-1-ил 4-((3aR,7R,7aS)-1,3-диоксо-3a,4,7,7a-тетрагидро-1H-4,7-эпоксиизоиндол-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 под давлением прогревали при 170 °C в течение 6 часов. Затем раствор охлаждали до комнатной температуры, упаривали в вакууме и кристаллизовали из EtOH/гексана с получением 4-((3aR,7R,7aS)-1,3-диоксо-3a,4,7,7a-тетрагидро- 1H-4,7-эпоксиизоиндол-2(3H)-ил) бутановой кислоты (11,24 г, 44,76 ммоль, выход 82%). Затем к выходу кислотного соединения, повторно растворенного 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 в заголовке соединения в виде белой пены (13,57 г, выход 87%). ЭСИ: m/z: рассч. для $C_{16}H_{17}N_2O_7$ $[M+H]^+$: 349,09, найдено: 349,55.

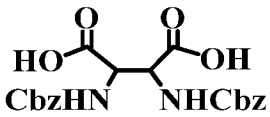
Пример 60. Синтез 2,3-бис(2-бромацетамидо)сукцинилдихлорида.



К 2,3-диаминоянтарной кислоте (5,00 г, 33,77 ммоль) в смеси ТГФ/H_2O/DIPEA (125 мл/125 мл/8 мл) добавляли 2-бромацетилбромид (25,0 г, 125,09 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, выпаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (H_2O/CH_3CN 5:95) с получением 2,3-бис(2-бромацетамидо)янтарной кислоты (9,95 г, выход 76%) в виде светло-желтое масло. ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_8H_{11}Br_2N_2O_6$ $[M+H]^+$ 388,89, найдено 388,68.

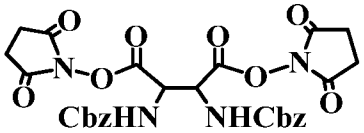
2,3-бис(2-бромацетамидо)янтарную кислоту (3,50 г, 9,02 ммоль) в дихлорметане (80 мл) добавляли оксалилдихлорид (5,80 г, 46,05 ммоль) и ДМФА (0,01 мл). Смесь перемешивали в течение 2,5 часов, разбавляли толуолом, упаривали и совместно упаривали с дихлорэтаном (2 x 20 мл) и толуолом (2 x 15 мл) досуха с получением 2,3-бис (2-бромацетамидо)сукцинилдихлорида в виде неочищенного продукта (который является нестабильным), который использовали для следующей стадии без дополнительной очистки (3,90 г, выход 102%). МС ЭСИ m/z рассч. для $C_8H_9Br_2Cl_2N_2O_4$ $[M+H]^+$ 424,82, найдено 424,90.

Пример 61. Синтез 2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)янтарной кислоты.



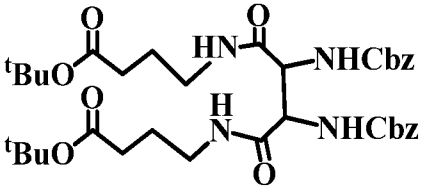
К раствору 2,3-диаминоянтарной кислоты (4,05 г, 27,35 ммоль) в смеси ТГФ (250 мл) и NaH_2PO_4 (0,1 М, 250 мл, pH 8,0) 4 порциями добавляли бензилкарбонохлоридат (15,0 г, 88,23 ммоль) в течение 2 часов. Смесь перемешивали в течение дополнительных 6 часов, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя смесью H_2O/CH_3CN (1:9), содержащей 1% муравьиную кислоту, с получением указанного в заголовке соединения (8,65 г, 76% выход, ~95% чистота). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{20}H_{21}N_2O_8$ $[M+H]^+$ 417,12, найдено 417,60.

Пример 62. Синтез бис(2,5-диоксопирролидин-1-ил) 2,3-бис (((бензилокси)карбонил)амино)сукцината



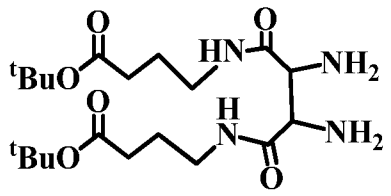
К раствору 2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)янтарной кислоты (4,25 г, 10,21 ммоль) в смеси DMA (70 мл) добавляли NHS (3,60 г, 31,30 ммоль) и EDC (7,05 г, 36,72 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя смесью $EtOAc/CH_2Cl_2$ (1: 6) с получением указанного в заголовке соединения (5,42 г, выход 87%, чистота ~ 95%). МС ЭСИ m/z рассч. Для $C_{28}H_{27}N_4O_{12}$ $[M+H]^+$ 611,15, найдено 611,60

Пример 63. Синтез ди-трет-бутил 4,4'-((2,3-бис(((бензилокси)карбонил) амино)сукцинил)бис(азанедиил))дибутаноата.



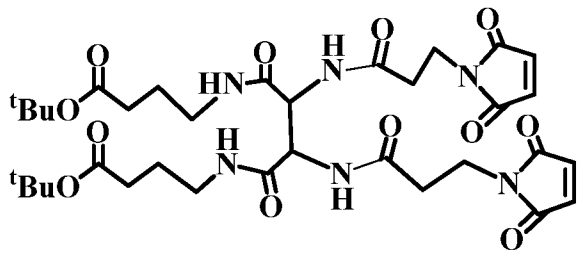
К раствору 2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)янтарной кислоты (4,25 г, 10,21 ммоль) в смеси DMA (70 мл) добавляли трет-бутил 4-аминобутаноат (3,25 г, 20,42 ммоль) и EDC (7,01 г, 36,70 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя $EtOAc/CH_2Cl_2$ (1:10), с получением указанного в заголовке соединения (6,56 г, выход 92%, чистота ~ 95%). МС ЭСИ m/z рассч. Для $C_{36}H_{51}N_4O_{10}$ $[M+H]^+$ 699,35, найдено 699,55

Пример 64. Синтез ди-трет-бутил- 4,4'-((2,3-диаминосукцинил)бис (азандиил))дибутаноата.



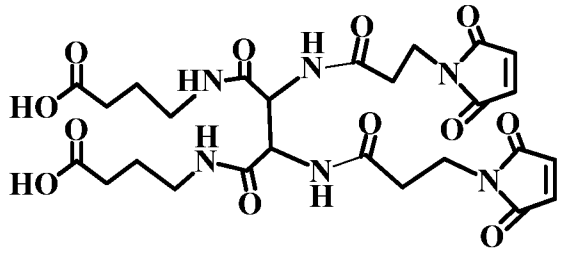
К раствору ди-трет-бутил 4,4'-((2,3-бис(((бензилокси)карбонил) амино)-сукцинил)бис(азанедиил))дибутаноата (2,50 г, 3,58 ммоль) в MeOH (100 мл) добавляли 10% Pd/C (0,30 г, 50% влажность), смесь перемешивали в атмосфере водорода при комнатной температуре в течение 18 часов. Затем Pd/C удаляли фильтрованием через целит и фильтрующий слой промывали MeOH (~ 70 мл). Фильтрат упаривали с получением продукта в виде желтой пены, который использовали в следующей стадии без дополнительной очистки (1,55 г, выход 101%). ЭСИ: m/z: рассч. для $C_{20}H_{39}N_2O_6$ $[M+H]^+$: 431,28, найдено 431,40.

Пример 65. Синтез ди-трет-бутил 4,4'-((2,3-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо) сукцинил)бис(азанедиил))дибутаноата.



К раствору 3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) пропановой кислоты (1,25 г, 7,39 ммоль) в смеси DMA (60 мл) добавляли ди-трет-бутил 4,4'-((2,3-диаминосукцинил)бис (азанедиил))дибутаноат (1,55 г, ~ 3,58 ммоль) и EDC (2,41 г, 12,61 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя $EtOAc/CH_2Cl_2$ (1:10), с получением указанного в заголовке соединения (2,33 г, выход 89%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{34}H_{49}N_6O_{12}$ $[M+H]^+$ 733,33, найдено 733,50.

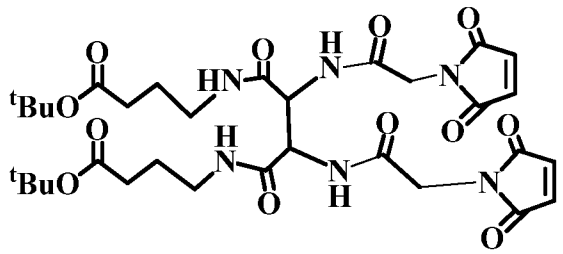
Пример 66. Синтез 4,4'-((2,3-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо) сукцинил)бис(азанедиил))дибутановой кислоты.



К перемешиваемому раствору ди-трет-бутил 4,4'-((2,3-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо) сукцинил)бис(азанедиил))дибутаноата (2,30 г, 3,14 ммоль) в 1,4-диоксане (20 мл) добавляли HCl (36%, 7,0 мл). Смесь перемешивали в

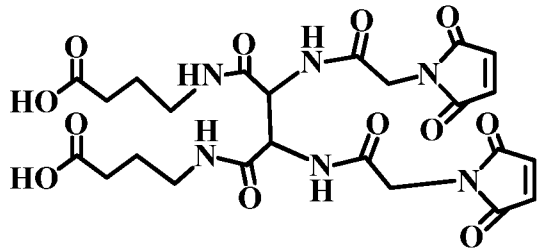
течение 30 минут, разбавляли толуолом (20 мл), упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя смесью MeOH/CH_2Cl_2 (от 1:10 до 1:4), с получением указанного в заголовке соединения (1,67 г, выход 85%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{26}H_{33}N_6O_{12}$ $[M+H]^+$ 621,21, найдено 621,55.

Пример 67. Синтез ди-трет-бутил 4,4'-((2,3-бис(2- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетамидо)сукцинил) бис(азанедиил))дибутаноата.



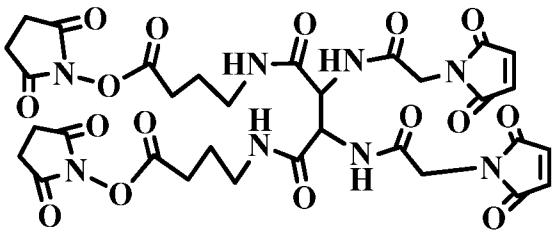
К раствору 2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) уксусной кислоты (1,12 г, 7,22 ммоль) в смеси DMA (60 мл) добавляли ди-трет-бутил 4,4'-((2,3-диаминосукцинил)бис (азанедиил))дибутаноат (1,55 г, ~ 3,58 ммоль) и EDC (2,40 г, 12,56 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя EtOAc/CH_2Cl_2 (1:10), с получением указанного в заголовке соединения (2,27 г, выход 90%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{32}H_{45}N_6O_{12}$ $[M+H]^+$ 704,30, найдено 704,55.

Пример 68. Синтез 4,4'-((2,3-бис(2- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетамидо)сукцинил) бис(азанедиил))дибутановой кислоты.



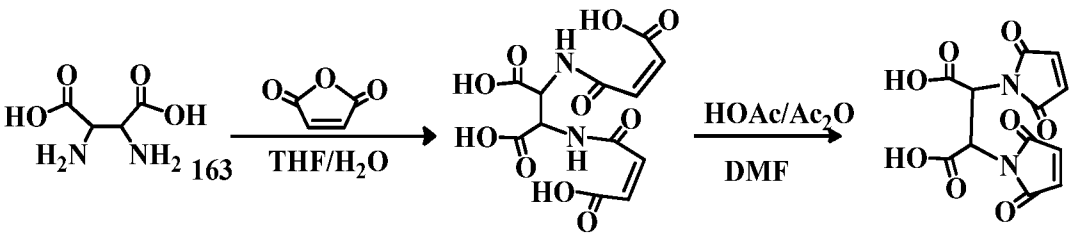
К перемешиваемому раствору ди-трет-бутила 4,4'-((2,3-бис(2- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетамидо)сукцинил) бис(азанедиил))дибутаноата (2,20 г, 3,12 ммоль) в 1,4-диоксане (20 мл) добавляли HCl (36%, 7,0 мл). Смесь перемешивали в течение 30 минут, разбавляли толуолом (20 мл), упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя смесью MeOH/CH_2Cl_2 (от 1:10 до 1:4), с получением указанного в заголовке соединения (1,67 г, выход 85%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{24}H_{29}N_6O_{12}$ $[M+H]^+$ 593,18, найдено 593,50.

Пример 69. Синтез бис(2,5-диоксопирролидин-1-ил) 4,4'-((2,3-бис(2- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетамидо)сукцинил) бис(азанедиил))дибутаноата.



К раствору 4,4'-((2,3-бис (2- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетамидо)сукцинил) бис(азанедиил))дибутановой кислоты (1,10 г, 1,85 ммоль) в смеси DMA (30 мл) добавляли NHS (1-гидроксипирролидин-2,5-дион) (0,55 г, 4,78 ммоль) и EDC (1,25 г, 6,54 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя $EtOAc/CH_2Cl_2$ (1:10), с получением указанного в заголовке соединения (1,28 г, выход 88%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{32}H_{35}N_8O_{16}$ $[M+H]^+$ 787,21, найдено 787,50.

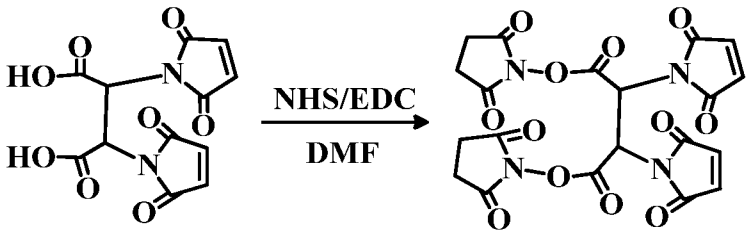
Пример 70. Синтез 2,3-бис(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)янтарной кислоты.



2,3-Диаминоянтарную кислоту (5,00 г, 33,77 ммоль) в смеси ТГФ/H_2O/DIPEA (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. ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{12}H_{13}N_2O_{10}$ $[M+H]^+$ 345,05, найдено 345,35.

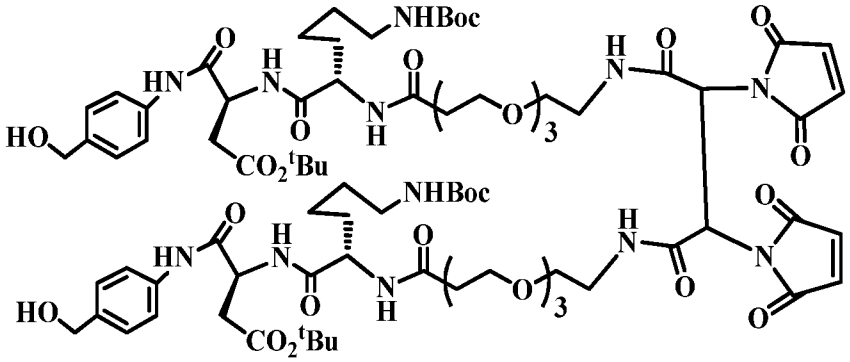
К 2,3-бис((Z)-3-карбоксиакриламидо)янтарной кислоте (11,05 г, 33,43 ммоль) в смеси раствора HOAc (70 мл), ДМФА (10 мл) и толуола (50 мл) добавляли уксусный ангидрид (30 мл). Смесь перемешивали в течение 2 часов, нагревали до кипения с насадкой Дина-Старка при 100 °C в течение 6 часов, упаривали, совместно упаривали с EtOH (2 x 40 мл) и толуолом (2 x 40 мл), и очищали на колонке с SiO_2, элюируя H_2O/CH_3CN (1:10) с получением указанного в заголовке соединения (7,90 г, 76% выход, ~95% чистота). МС ЭСИ m/z рассч. для $C_{12}H_9N_2O_8$ $[M+H]^+$ 309,03, найдено 309,30.

Пример 71. Синтез бис(2,5-диоксопирролидин-1-ил) 2,3-бис(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)сукцината



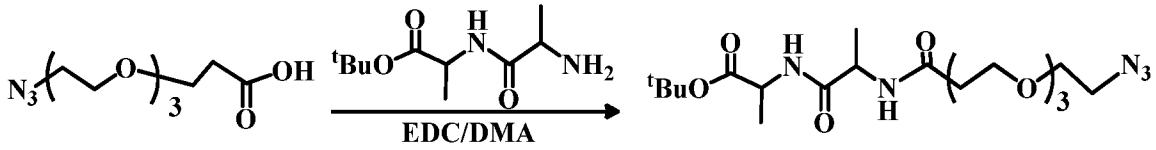
К раствору 2,3-бис(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)янтарной кислоты (4,00 г, 12,98 ммоль) в смеси ДМФА (70 мл) добавляли NHS (3,60 г, 31,30 ммоль) и EDC (7,05 г, 36,72 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя $EtOAc/CH_2Cl_2$ (1: 6), с получением указанного в заголовке соединения (5,73 г, выход 88%, чистота ~ 96% по данным ВЭЖХ). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{20}H_{15}N_4O_{12}$ $[M+H]^+$ 503,06, найдено 503,45.

Пример 72. 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-1H-пиррол-1-ил)-3,42-бис((4-(гидроксиметил)фенил)карбамоил)-5,8,21,24,37,40-гексаоксо-11,14,17,28,31,34-гексаоксо-4,7,20,25,38,41-гексаазатетратетраконтан-1,44-диоата



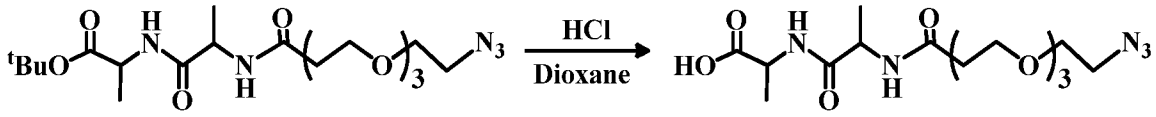
(14S,17S)-трет-бутил 1-амино-14-(4-((трет-бутоксикарбонил) амино)бутил)-17-((4-(гидроксиметил)фенил)карбамоил)-12,15- диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазанонадекан-19-оат (1,43 г, 1,97 ммоль) и 2,3-бис(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) янтарная кислота (0,30 г, 0,97 ммоль) в DMA (25 мл) добавляли EDC (1,30 г, 6,77 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали в вакууме, очищали на силикагеле, используя в качестве элюента смесь метанола (от 5% до 8%) в метиленхлориде с получением указанного в заголовке соединения (1,33 г, выход 80%). МС ЭСИ m/z $C_{82}H_{123}N_{12}O_{28}$ $[M+H]^+$, рассч. 1722,85, найдено 1722,98.

Пример 73. Синтез трет-бутил-1-азидо-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадекан-18-оата



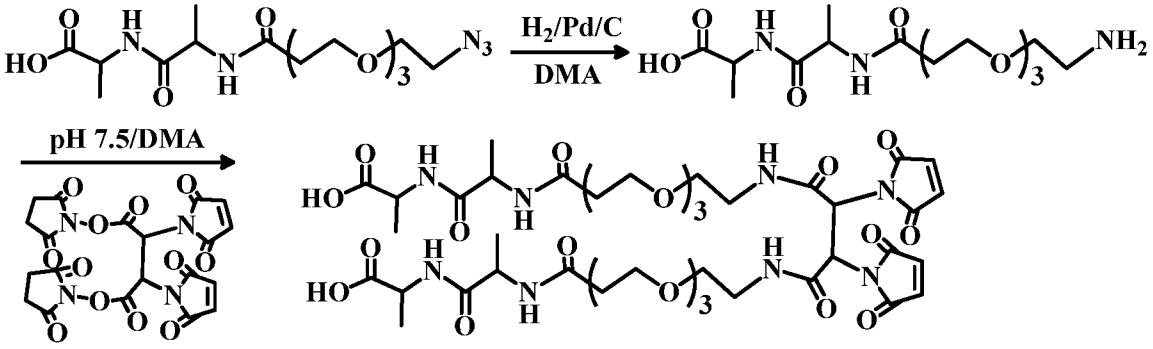
К раствору 3-(2-(2-(2-азидоэтокси)этокси)этокси)этокси)пропановой кислоты (1,55 г, 6,27 ммоль), трет-бутил 2-(2-аминопропанамидо)пропаноата (1,35 г, 6,27 ммоль) в смеси DMA (60 мл) добавляли EDC (3,05 г, 15,88 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя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

Пример 74. Синтез 1-азидо-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадекан-18-оевой 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 выпаривали совместно с диоксаном (20 мл) и толуолом (40 мл) досуха с получением неочищенного указанного в заголовке продукта, который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки (1,92 г, выход 100%, чистота ~ 94% по данным ВЭЖХ). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{15}H_{28}N_5O_7$ $[M+H]^+$ 390,19, найдено 390,45.

Пример 75. 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.

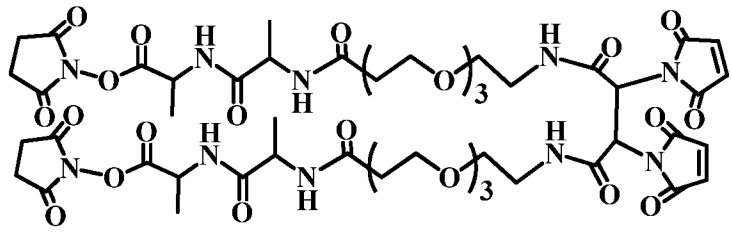


К 1-азидо-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадекан-18-оевой кислоте (1,90 г, 4,88 ммоль) в DMA (40 мл) добавляли Pd/C (0,20 г, 50% влажности). Систему вакуумировали и помещали под 2 атм газообразного водорода через реактор гидрирования при интенсивном перемешивании. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 6 часов при комнатной температуре и ТСХ показала израсходование исходных веществ. Неочищенную реакционную смесь пропускали через тонкий слой целита, промывая 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-оевой кислоты в DMA, который непосредственно использовали на следующей стадии. МС ЭСИ m/z+ $C_{15}H_{30}N_3O_7$ (M+H), расст. 364,20, найдено 364,30.

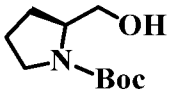
К амину в DMA (~ 30 мл) добавляли 0,1 М NaH2PO4, pH 7,5 (20 мл) с последующим добавлением бис(2,5-диоксопирролидин-1-ил) 2,3-бис(2,5- диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)сукцината (1,30 г, 2,59 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя смесью 8% воды с CH_3CN, с получением указанного в заголовке соединения (1,97 г, выход 81%). МС ЭСИ m/z+ $C_{42}H_{63}N_8O_{20}$ (M+H), рассч. 999,41, найдено 999,95.

Пример 76. 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 DMA (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 с SiO_2, элюируя EtOAc/CH_2Cl_2 (от 1:4 до 2:1), с получением указанного в заголовке соединения (1,50 г, выход 83%, чистота ~ 95% по данным ВЭЖХ).). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{50}H_{69}N_{10}O_{24}$ $[M+H]^+$ 1193,44, найдено 1193,95.

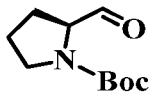
Пример 77. Синтез (S)-*трет*-бутил 2-(гидроксиметил)пирролидин-1-карбоксилата.



Boc-L-пролин (10,0 г, 46,4 ммоль), растворенный в 50 мл ТГФ, охлаждали до 0 °C, к которому осторожно добавляли BH_3 в ТГФ (1,0 М, 46,4 мл). Смесь перемешивали при 0 °C в течение 1,5 ч, затем выливали в ледяную воду и экстрагировали этилацетатом. Органический слой промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (50 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 и упаривали при пониженном давлении, получая указанное в заголовке соединение (8,50 г, выход 91%) в виде белого твердого вещества. ^{1}H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 3,94 (дд, J = 4,9, 2,7 Гц, 2H), 3,60 (ддд, J = 18,7, 11,9, 9,3 Гц,

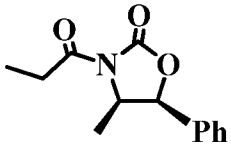
2H), 3,49–3,37 (м, 1H), 3,34–3,23 (м, 1H), 2,06–1,91 (м, 1H), 1,89–1,69 (м, 2H), 1,65–1,51 (м, 1H), 1,49–0,40 (м, 9H).

Пример 78. Синтез (S)-*трет*-бутил 2-формилпирролидин-1-карбоксилата.



К раствору (S)-*трет*-бутил 2-(гидроксиметил)пирролидин-1-карбоксилата (13,0 г, 64,6 ммоль) в диметилсульфоксиде (90 мл) добавляли триэтиламин (40 мл) и перемешивание продолжали в течение 15 минут. Смесь охлаждали на ледяной бане и порциями в течение 40 минут добавляли комплекс триоксид серы с пиридином (35,98 г, 226 ммоль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2,5 ч. После добавления льда (250 г), смесь экстрагировали дихлорметаном (150 мл × 3). Органическую фазу промывали 50%-ным раствором лимонной кислоты (150 мл), водой (150 мл), насыщенным раствором гидрокарбоната натрия (150 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия (150 мл), сушили над безводным Na_2SO_4. Удаление растворителя в вакууме давало указанный в заголовке альдегид (10,4 г, 81% выход) в виде густого масла, которое использовали без дальнейшей очистки. ^{1} H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 9,45 (с, 1H), 4,04 (с, 1H), 3,53 (дд, J = 14,4, 8,0 Гц, 2H), 2,00-1,82 (м, 4H), 1,44 (д, J = 22,6 Гц, 9H).

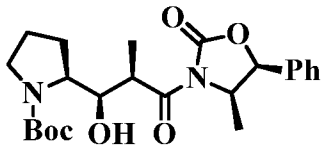
Пример 79. Синтез (4R,5S)-4-метил-5-фенил-3-пропионилоксазолидин-2-она.



н- Бутиллитий в гексане (21,6 мл, 2,2 М, 47,43 ммоль) добавляли по каплям при -78 °С к перемешиваемому раствору 4-метил-5-фенилоксазолидин-2-она (8,0 г, 45,17 ммоль) в ТГФ (100 мл) под N_2. Раствор выдерживали при -78 °С в течение 1 часа, затем медленно добавляли пропионилхлорид (4,4 мл, 50,59 ммоль). Реакционную смесь нагревают до -50 °С, перемешивали в течение 2 часов, затем добавляли насыщенный раствор хлорида аммония (100 мл). Органический растворитель удаляли в вакууме и полученный раствор экстрагировали этилацетатом (3 × 100 мл). Органический слой промывали насыщенным раствором гидрокарбоната натрия (100 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (100 мл), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и упаривали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией (20% этилацетат/смесь изомеров гексана) с получением указанного в заголовке соединения в виде густого масла (10,5 г, выход 98%). 1H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 7,45-7,34 (м, 3H), 7,30 (д, J = 7,0 Гц, 2H), 5,67 (д, J = 7,3 Гц,

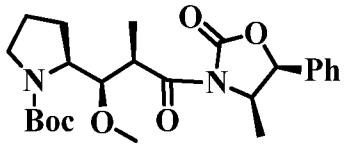
1H), 4,82-4,70 (м, 1H), 2,97 (дд, *J* = 19,0, 7,4 Гц, 2H), 1,19 (т, *J* = 7,4 Гц, 3H), 0,90 (д, *J* = 6,6 Гц, 3H).

Пример 80. Синтез (S)-*трет*-бутил 2-((1R, 2R)-1-гидрокси-2-метил-3-((4R, 5S)-4-метил-2-оксо-5-фенилоксазолидин-3-ил)-3-оксопропил) пирролидин-1-карбоксилата.



К раствору (4R, 5S)-4-метил-5-фенил-3-пропионилоксазолидин-2-она (9,40 г, 40,4 ммоль) в дихлорметане (60 мл) добавляли Et_3N (6,45 мл, 46,64 ммоль) при 0 °C с последующим добавлением 1M трифлата дибутилборона в дихлорметане (42 мл, 42 ммоль). Смесь перемешивали при 0 °C в течение 45 минут, охлаждали до -70 °C, затем медленно добавляли (S)-*трет*-бутил 2-формилпирролидин-1-карбоксилат (4,58 г, 22,97 ммоль) в дихлорметане (40 мл) в течение 30 минут. Реакционную смесь перемешивали при -70 °C в течение 2 часов, при 0 °C в течение 1 часа и при комнатной температуре 15 мин, а затем добавляли фосфатный буферный раствор (pH 7,38 мл). После добавления MeOH-30% H_2O_2 (2:1, 100 мл) при температуре ниже 10 °C и перемешивали в течение 20 минут, добавляли воду (100 мл) и смесь упаривали в вакууме. К остатку добавляли дополнительное количество воды (200 мл) и смесь экстрагировали этилацетатом (3 × 100 мл). Органический слой промывали 1 н $KHSO_4$ (100 мл), раствором гидракарбоната натрия (100 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (100 мл), сушили над безводным Na_2SO_4 и упаривали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (10-50% этилацетат/смесь изомеров гексана) с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества (7,10 г, выход 71%). ^{1}H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 7,39 (дт, *J* = 23,4, 7,1 Гц, 3H), 7,30 (д, *J* = 7,5 Гц, 2H), 5,67 (д, *J* = 7,1 Гц, 1H), 4,84-4,67 (м, 1H), 4,08-3,93 (м, 3H), 3,92-3,84 (м, 1H), 3,50 (д, *J* = 9,0 Гц, 1H), 3,24 (д, *J* = 6,7 Гц, 1H), 2,15 (с, 1H), 1,89 (дд, *J* = 22,4, 14,8 Гц, 3H), 1,48 (д, *J* = 21,5 Гц, 9H), 1,33 (д, *J* = 6,9 Гц, 3H), 0,88 (д, *J* = 6,4 Гц, 3H).

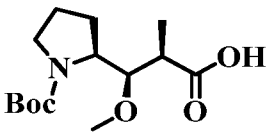
Пример 81. Синтез (S)-*трет*-бутил 2-((1R, 2R)-1-метокси-2-метил-3-((4R, 5S)-4-метил-2-оксо-5-фенилоксазолидин-3-ил)-3-оксопропил) пирролидин-1-карбоксилата.



К смеси (S)-*трет*-бутил 2-((1R, 2R)-1-гидрокси-2-метил-3-((4R, 5S)-4-метил-2-оксо-5-фенилоксазолидин-3-ил)-3-оксопропил) пирролидин-1-карбоксилата (5,1 г, 11,9 ммоль) и молекулярные сита (4 Å, 5 г) добавляли безводный дихлорэтан (30 мл) в атмосфере N_2.

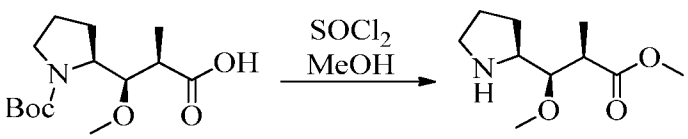
Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 минут и охлаждали до 0 °C. Добавляли протонную губку (6,62 г, 30,9 ммоль), а затем тетрафторборат триметилоксония (4,40 г, 29,7 ммоль). Перемешивание продолжали в течение 2 часов при 0 °C и 48 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат упаривали, и очищали с помощью колоночной хроматографии (20-70% этилацетат/смесь изомеров гексана) с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества (1,80 г, 35% выход). ^{1}H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 7,46-7,27 (м, 5H), 5,65 (с, 1H), 4,69 (с, 1H), 3,92 (с, 1H), 3,83 (с, 1H), 3,48 (s, 3H), 3,17 (с, 2H), 2,02-1,68 (м, 5H), 1,48 (д, J = 22,3 Гц, 9H), 1,32 (т, J = 6,0 Гц, 3H), 0,91 - 0,84 (м. 3H).

Пример 82. Синтез (2R,3R)-3-((S)-1-(*трет*-бутоксикарбонил)пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропановой кислоты.



К раствору (S)-*трет*-бутил 2-((1R,2R)-1-метокси-2-метил-3-((4R,5S)-4-метил-2-оксо-5-фенилоксазолидин-3-ил)-3-оксопропил)пирролидин-1-карбоксилата (1,80 г, 4,03 ммоль) в ТГФ (30 мл) и H_2O (7,5 мл) добавляли 30% H_2O_2 (1,44 мл, 14,4 ммоль) в течение 5 минут при 0 °C, затем добавляли раствор LiOH (0,27 г, 6,45 ммоль) в воде (5 мл). После перемешивания при 0 °C в течение 3 часов добавляли 1 н сульфит натрия (15,7 мл) и смеси оставляли нагреться до комнатной температуры, и перемешивали в течение ночи. ТГФ удаляли в вакууме и водную фазу промывали дихлорметаном (3 × 50 мл) для удаления дополнительного оксазолидинона. Водную фазу подкисляли до pH 3 с помощью 1 н HCl и экстрагировали этилацетатом (3 × 50 мл). Органический слой промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (50 мл), сушили над Na2SO4, фильтровали и упаривали в вакууме, получая указанное в заголовке соединение в виде бесцветного масла (1,15 г, выход 98%). ^{1}H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 3,99 – 3,74 (м, 2H), 3,44 (д, J = 2,6 Гц, 3H), 3,23 (с, 1H), 2,60 – 2,45 (м, 1H), 1,92 (тт, J = 56,0, 31,5 Гц, 3H), 1,79 – 1,69 (м, 1H), 1,58 – 1,39 (м, 9H), 1,30 – 1,24 (м, 3H).

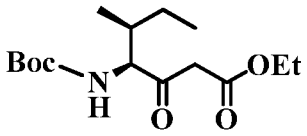
Пример 83. Синтез (2R, 3R)-метил 3-метокси-2-метил-3-((S)-пирролидин-2-ил)пропаноата



К раствору (2R, 3R)-3-((S)-1-(*трет*-бутоксикарбонил)пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропановой кислоты (0,86 г, 2,99 ммоль) в MeOH (10 мл) медленно добавляли

тионилхлорид (1,08 мл, 14,95 ммоль) при 0°С. Затем реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Смесь упаривали в вакууме и выпаривали совместно с толуолом, получая указанное в заголовке соединение (0,71 г, выход 100%) в виде белого твердого вещества, которое немедленно использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. МСВР (масс-спектрометрия высокого разрешения) (ЭСИ) m/z рассч. для $C_{10}H_{20}NO_3$ [M+H]+: 202,14, найдено: 202,14.

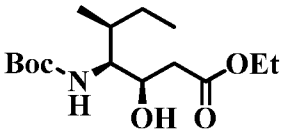
Пример 84. Синтез (4S,5S)-этил 4-((*трет*-бутоксикарбониламино)-5-метил-3-оксогептаноата.



К охлажденному льдом раствору N-Boc-L-изолейцина (4,55 г, 19,67 ммоль) в ТГФ (20 мл) добавляли 1,1'-карбонилдиимидазол (3,51 г, 21,63 ммоль). После прекращения выделения газа полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3,5 часов.

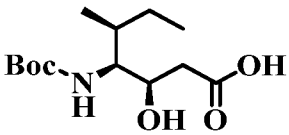
Раствор свежеприготовленного изопропилмагний бромида в ТГФ (123 ммоль, 30 мл) по каплям добавляли к предварительно охлажденному (0 °С) раствору этил гидроген малонат (6,50 г, 49,2 ммоль) с такой скоростью, чтобы поддерживать внутреннюю температуру ниже 5 °С. Смесь перемешивали при к. т. в течение 1,5 ч. Данный раствор енолята магния затем охлаждали на ледяной бане, с последующим постепенным добавлением раствора имидазолида в течение 1 часа через двустороннюю иглу-переходник при 0 °С. Полученную смесь перемешивали при 0 °С в течение 30 минут, затем при к.т. в течение 64 часов. В реакционную смесь добавляли 10% водный раствор лимонной кислоты (5 мл) и подкисляли до pH 3 с помощью дополнительного количества 10% водного раствора лимонной кислоты (110 мл). Смесь экстрагировали этилацетатом (3 × 150 мл). Органические экстракты промывали водой (50 мл), насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия (50 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (50 мл), сушили над Na_2SO_4 и упаривали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле, используя смесь этилацетат/гексан (1: 4) в качестве элюента, с получением указанного в заголовке соединения (5,50 г, выход 93%). ^{1}H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 5,04 (д, J = 7,8 Гц, 1H), 4,20 (п, J = 7,0 Гц, 3H), 3,52 (т, J = 10,7 Гц, 2H), 1,96 (д, J = 3,7 Гц, 1H), 1,69 (с, 2H), 1,44 (с, 9H), 1,28 (дд, J = 7,1, 2,9 Гц, 3H), 0,98 (т, J = 6,9 Гц, 3H), 0,92 – 0,86 (м, 3H).

Пример 85. Синтез (3R,4S,5S)-этил 4-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)-3- гидрокси-5- метилгептаноата.



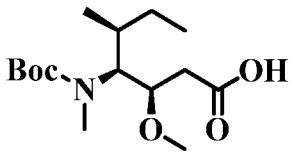
К раствору (4S,5S)-этил 4-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)-5-метил-3-оксогептаноата (5,90 г, 19,83 ммоль) в этаноле (6 мл) при -60 °C добавляли одной порцией боргидрид натрия (3,77 г, 99,2 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 5,5 часов при температуре ниже -55 °C, затем добавляли 10% водный раствор лимонной кислоты (100 мл). Полученный раствор подкисляли до pH 2 с помощью дополнительного количества 10% водной лимонной кислоты с последующей экстракцией этилацетатом (3 × 100 мл). Органические экстракты промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (100 мл), сушили над Na_2SO_4 и упаривали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (10-50% этилацетат/гексан), получая чистое указанное в заголовке соединение в виде диастереомера (2,20 г, 37% выход) и смесь двух диастереомеров (2,0 г, 34% выход, соотношение около 9:1). ^{1}H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 4,41 (д, *J* = 9,3 Гц, 1H), 4,17 (тт, *J* = 7,1, 3,6 Гц, 2H), 4,00 (т, *J* = 6,9 Гц, 1H), 3,55 (дд, *J* = 11,7, 9,3 Гц, 1H), 2,56 – 2,51 (м, 2H), 2,44 (дд, *J* = 16,4, 9,0 Гц, 1H), 1,79 (д, *J* = 3,8 Гц, 1H), 1,60 – 1,53 (м, 1H), 1,43 (с, 9H), 1,27 (дд, *J* = 9,3, 5,0 Гц, 3H), 1,03 – 0,91 (м, 7H).

Пример 86. Синтез (3R,4S,5S)-4-((*трет*-бутоксикарбониламино)-3-гидрокси -5-метилгептановой кислоты.



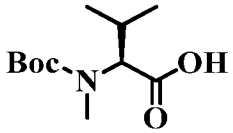
К раствору (3R,4S,5S)-этил-4-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)-3-гидрокси-5-метилгептаноата (2,20 г, 7,20 ммоль) в этаноле (22 мл) добавляли 1 н водный раствор гидроксид натрия (7,57 мл, 7,57 ммоль). Смесь перемешивали при 0 °C в течение 30 минут, затем при к.т. в течение 2 ч. Полученный раствор подкисляли до pH 4 добавлением 1 н водным раствором соляной кислоты, который затем экстрагировали этилацетатом (3 × 50 мл). Органические экстракты промывали 1 н. водным раствором гидросульфата калия (50 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (50 мл), сушили над Na_2SO_4 и упаривали в вакууме, получая соединение (1,90 г, выход 95%). ^{1}H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 4,50 (д, *J* = 8,7 Гц, 1H), 4,07 (д, *J* = 5,5 Гц, 1H), 3,59 (д, *J* = 8,3 Гц, 1H), 2,56 – 2,45 (м, 2H), 1,76 – 1,65 (м, 1H), 1,56 (д, *J* = 7,1 Гц, 1H), 1,45 (с, 9H), 1,26 (т, *J* = 7,1 Гц, 3H), 0,93 (дд, *J* = 14,4, 7,1 Гц, 6H).

Пример 87. Синтез (3R,4S,5S)-4-((*трет*-бутоксикарбонил)(метил)амино)- 3-метокси-5-метилгептановой кислоты.



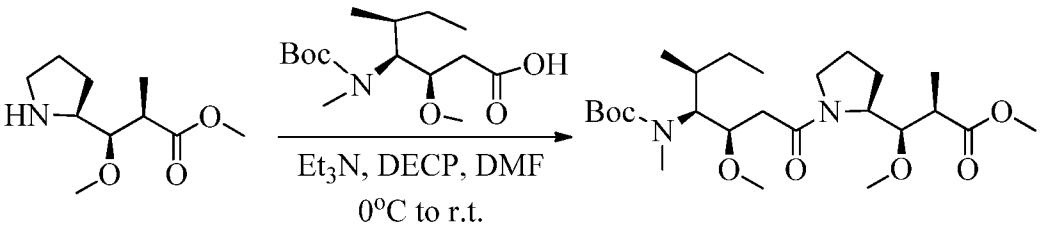
К раствору (3R,4S,5S)-4-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)-3-гидрокси-5-метилгептановой кислоты (1,90 г, 6,9 ммоль) в ТГФ (40 мл) добавляли гидрид натрия (60% масляная суспензия, 1,93 г, 48,3 ммоль) при 0 °C. После перемешивания в течение 1 часа, добавляли метилйодид (6,6 мл, 103,5 ммоль). Перемешивание продолжали при 0 °C в течение 40 часов до добавления насыщенного водного раствора гидрокарбоната натрия (50 мл), затем добавляли воду (100 мл). Смесь промывали диэтиловым эфиром (2 × 50 мл) и водный слой подкисляли до pH 3 с помощью 1 н водным раствором гидросульфата калия, затем экстрагировали этилацетатом (3 × 50 мл). Объединенные органические экстракты промывали 5% водным тиосульфатом натрия (50 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (50 мл), сушили над Na_2SO_4 и упаривали в вакууме с получением указанного в заголовке соединения (1,00 г, 48% выход). ^{1}H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 3,95 (д, *J* = 75,4 Гц, 2H), 3,42 (д, *J* = 4,4 Гц, 3H), 2,71 (с, 3H), 2,62 (с, 1H), 2,56 – 2,47 (м, 2H), 1,79 (с, 1H), 1,47 (с, 1H), 1,45 (д, *J* = 3,3 Гц, 9H), 1,13 – 1,05 (м, 1H), 0,96 (д, *J* = 6,7 Гц, 3H), 0,89 (тд, *J* = 7,2, 2,5 Гц, 3H).

Пример 88. Синтез Boc-N-Me-L-Val-OH.



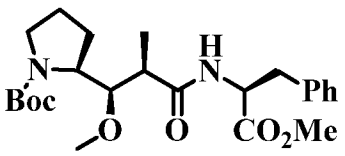
К раствору Boc-L-Val-OH (2,00 г, 9,2 ммоль) и метилйодида (5,74 мл, 92 ммоль) в безводном ТГФ (40 мл) добавляли гидрид натрия (3,68 г, 92 ммоль) при 0 °C. Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 1,5 ч, затем нагревали до к.т. и перемешивали в течение 24 ч. В реакционную смесь добавляли ледяную воду (50 мл). После добавления воды (100 мл) реакционную смесь промывали этилацетатом (3 × 50 мл) и водный раствор подкисляли до pH 3, затем экстрагировали этилацетатом (3 × 50 мл). Объединенную органическую фазу сушили над Na_2SO_4 и упаривали, получая Boc-N-Me-Val-OH (2,00 г, выход 94%) в виде белого твердого вещества. ^{1}H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 4,10 (д, *J* = 10,0 Гц, 1H), 2,87 (с, 3H), 2,37 – 2,13 (м, 1H), 1,44 (д, *J* = 26,7 Гц, 9H), 1,02 (д, *J* = 6,5 Гц, 3H), 0,90 (т, *J* = 8,6 Гц, 3H).

Пример 89. Синтез (2R, 3R)-метил 3-((S)-1-((3R, 4S, 5S)-4-((трет-бутоксикарбонил)-(метил) амино)-3-метокси-5-метилгептаноил) пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропаноата.



К раствору (2R, 3R)-метил-3-метокси-2-метил-3-((S)-пирролидин-2-ил)пропаноата (0,71 г, 2,99 ммоль) и (3R, 4S, 5S)-4-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)-3-метокси-5-метилгептановой кислоты (1 г, 3,29 ммоль) в ДМФА (10 мл) при 0 °C добавляли диэтилцианофосфонат (545 мкл, 3,59 ммоль), затем добавляли Et_3N (1,25 мл, 8,99 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 2 часов, затем нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (50 мл), промывали 1 н водным раствором гидросульфата калия (20 мл), водой (20 мл), насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия (20 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (20 мл), сушили над сульфатом натрия и упаривали в вакууме. **Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле, элюируя смесью этилацетат/гексан (от 1: 5 до 2: 1), с получением указанного в заголовке белого твердого вещества (0,9 г, выход 62%).** МСВР (ЭСИ) m/z рассчит. для $C_{25}H_{46}N_2O_7$ [M+H]+: 487,33, найдено: 487,32.

Пример 90. Синтез (S)-*трет*-бутил 2-((1R,2R)-1-метокси-3-(((S)-1- метокси-1-оксо-3-фенилпропан-2-ил)амино)-2-метил-3-оксопропил)пирролидин-1-карбоксилата.



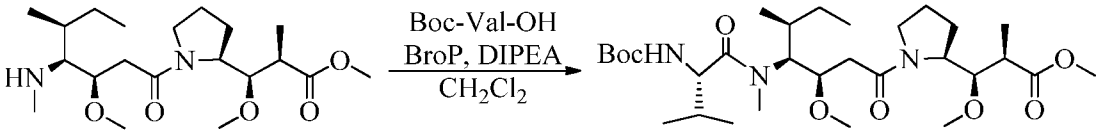
К раствору (2R,3R)-3-((S)-1-(*трет*-бутоксикарбонил)пирролидин-2-ил)-3-метокси -2-метилпропановой кислоты (100 мг, 0,347 ммоль) и гидрохлорид L-фенилаланинметилового эфира (107,8 мг, 0,500 ммоль) в ДМФА (5 мл) при 0 °C добавляли диэтилцианофосфонат (75,6 мкл, 0,451 ммоль), затем Et_3N (131 мкл, 0,94 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 2 часов, затем нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Затем реакционную смесь разбавляли этилацетатом (80 мл), промывали 1 н водным раствором гидросульфата калия (40 мл), водой (40 мл), насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия (40 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (40 мл), сушили над Na_2SO_4 и упаривали in vacuo. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (15-75% этилацетат/смесь изомеров гексана) с получением указанного в заголовке соединения (130 мг, 83% выход) в виде белого твердого вещества. ^{1}H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 7,28 (дд, *J* =

7,9, 6,5 Гц, 2H), 7,23 (т, *J* = 7,3 Гц, 1H), 7,16 (с, 2H), 4,81 (с, 1H), 3,98 – 3,56 (м, 5H), 3,50 (с, 1H), 3,37 (д, *J* = 2,9 Гц, 3H), 3,17 (дд, *J* = 13,9, 5,4 Гц, 2H), 3,04 (дд, *J* = 14,0, 7,7 Гц, 1H), 2,34 (с, 1H), 1,81 – 1,69 (м, 2H), 1,65 (с, 3H), 1,51 – 1,40 (м, 9H), 1,16 (д, *J* = 7,0 Гц, 3H).

Пример 91. Общая процедура удаления функциональных групп Boc с помощью трифторуксусной кислоты.

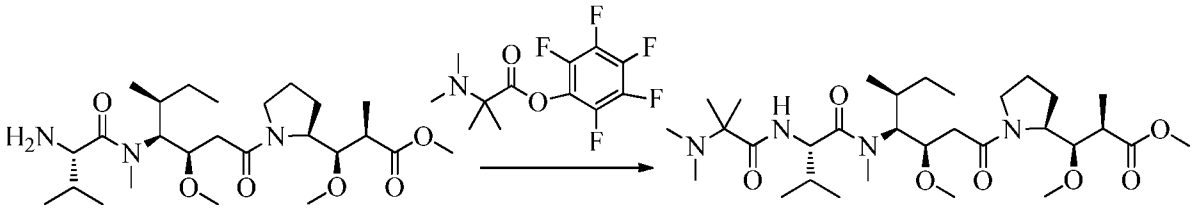
К раствору *N*-Boc аминокислоты (1,0 ммоль) в метиленхлориде (2,5 мл) добавляли трифторуксусную кислоту (1,0 мл). После перемешивания при комнатной температуре в течение 1-3 часов, реакционную смесь упаривали in vacuo. Совместное упаривание с толуолом давало незащищенный продукт, который использовали без какой-либо дополнительной очистки.

Пример 92. Синтез (2R, 3R)-метил 3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-N,3-диметилбутанамидо)-3-метокси-5-метилгептаноил)пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропаноата



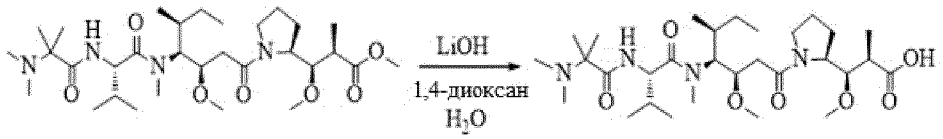
К раствору продукта (2R,3R)-метил 3-метокси-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-3-метокси-5-метил-4-(метиламино)гептаноил)пирролидин-2-ил)-2-метилпропаноата (715 мг, 1,85 ммоль) без защитных групп и Boc-Val-OH (1,2 г, 5,56 ммоль) в ДХМ (20 мл) при 0 °C добавляли BroP (1,08 г, 2,78 ммоль), затем добавляли диизопропилэтиламин (1,13 мл, 6,48 ммоль). Смесь закрывали от света и перемешивали при 0 °C в течение 30 минут, затем при комнатной температуре в течение 48 часов. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (50 мл), промывали 1 н водным раствором гидросульфата калия (20 мл), водой (20 мл), насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия (20 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (20 мл), сушили над Na_2SO_4 и упаривали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле, элюируя смесью этилацетат/гексан (от 1:5 до 4:1) с получением указанного в заголовке соединения (0,92 г, 85% выход) в виде белого твердого вещества. МСВР (ЭСИ) m /z рассчит. для $C_{30}H_{55}N_3O_8$ [M+H]+: 586,40, найдено: 586,37.

Пример 93. Синтез (2R,3R)-метил 3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-(2-(диметиламино)-2-метилпропанамидо)-N, 3-диметилбутанамидо)-3-метокси-5-метилгептаноил) пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропаноата



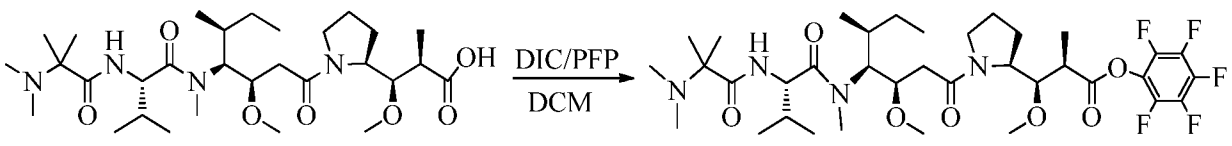
К раствору продукта со снятой защитой из (2R,3R)-метил 3-((S)- 1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-N,3- диметилбутанамидо)-3-метокси-5-метилгептаноил) пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропаноата (50 мг, 0,085 ммоль) и перфторфенил 2-(диметиламино)-2-метилпропаноата (74,5 мг, 0,25 ммоль) в ДМФА (2 мл) при 0 °Сдобавляли DIPEA (44 мкл, 0,255 ммоль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 часов. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (30 мл), промывали водой (10 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (10 мл), сушили над сульфатом натрия и упаривали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле, элюируя смесью этилацетат/гексан (от 1:5 до 5:1), с получением указанного в заголовке соединения (50 мг, выход 100%). МСВР (ЭСИ) m/z рассчит. для $C_{31}H_{58}N_4O_7$ [M+H]+: 599, найдено: 599.

Пример 94. Синтез (2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-(2-(диметиламино)-2-метилпропанамидо)-N,3-диметилбутанамидо)-3-метокси-5-метилгептаноил)пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропановой кислоты.



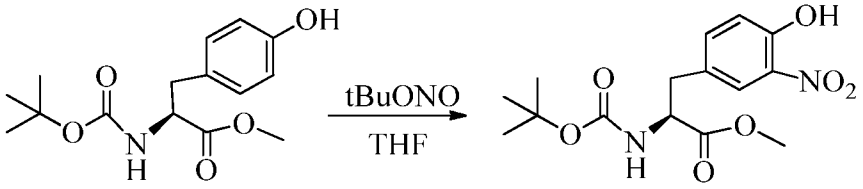
К раствору (2R,3R)-метил 3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-(2-(диметиламино)-2-метилпропанамидо)-N,3-диметилбутанамидо)-3-метокси-5-метилгептаноил)пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропаноата (50 мг, 0,0836 ммоль) в 1,4-диоксане (3 мл) при 0-4 °С по каплям в течение 5 минут добавляли раствор гидроксида лития (14 мг, 0,334 ммоль) в воде (3 мл). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 часов. Смесь подкисляли до pH 7 с помощью 1 н HCl и упаривали в вакууме, а затем использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. МСВР (ЭСИ) m /z рассчит. для $C_{30}H_{57}N_4O_7$ [M+H]+: 585,41, найдено: 585,80.

Пример 95. Синтез (2R, 3R)-перфторфенил 3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-(2-(диметиламино)-2-метилпропанамидо)-N,3-диметилбутанамидо)-3-метокси-5-метилгептаноил) пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропаноата



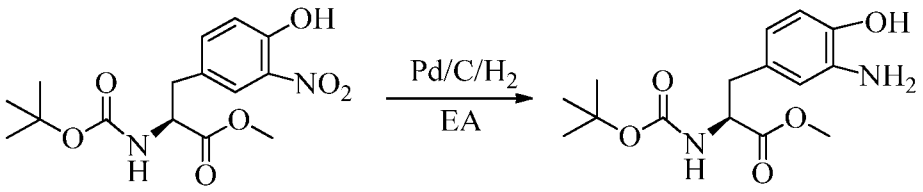
К раствору (2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-(2-(диметиламино)-2-метилпропанамидо)-N,3-диметилбутанамидо)-3-метокси-5-метилгептаноил)пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропановой кислоты (0,0836 ммоль) и PFP (18,5 мг, 0,1 ммоль) в ДХМ (2 мл) добавляли DIC (12,7 мг, 0,1 ммоль) при 0 °C. Смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь упаривали в вакууме и использовали на следующей стадии без дальнейшей очистки. МСВР (ЭСИ) m/z рассчит. для $C_{36}H_{56}F_5N_4O_7$ [M+H]+: 751,40, найдено: 751,70.

Пример 96. Синтез (S)-метил 2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-(4-гидрокси-3-нитрофенил)пропаноата



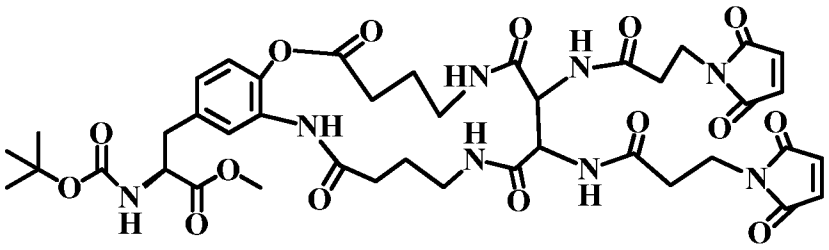
К раствору метилового эфира Boc-L-тирозина (5 г, 16,9 ммоль) в ТГФ (50 мл) добавляли трет-бутилнитрит (10 мл, 84,6 ммоль), затем реакционную смесь перемешивали в течение 5 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле, используя этилацетат/гексан (от 1:10 до 1:5), с получением соединения (4,5 г, выход 78%) в виде желтого твердого вещества. МСВР (ЭСИ) m/z рассчит. для $C_{15}H_{21}N_2O_7$ [M+H]+: 341,13, найдено: 341,30.

Пример 97. Синтез (S)-метил 3-(3-амино-4-гидроксифенил)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)пропаноата



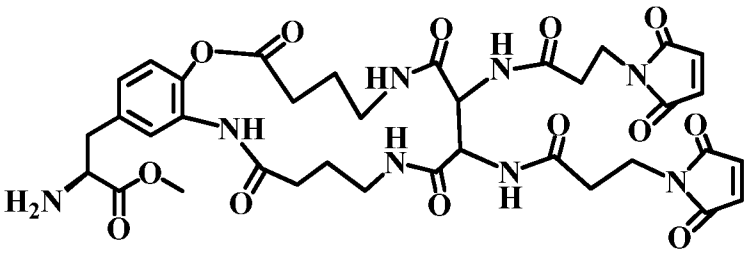
К раствору (S)-метил 3-(3-амино-4-гидроксифенил)-2-(трет-бутоксикарбониламино)пропаноата (2 г, 6,44 ммоль) в этилацетате (20 мл) добавляли Pd/C (0,2 г) и перемешивали в течение 2 ч в атмосфере водорода. Смесь фильтровали и фильтрат упаривали в вакууме, получая указанное в заголовке соединение (1,7 г, выход 95%) в виде белого твердого вещества. МСВР (ЭСИ) m/z рассчит. для $C_{15}H_{23}N_2O_5$ [M+H]+: 311,15, найдено: 311,30.

Пример 98. Синтез (2S)-метил3-(8,9-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо) -2,7,10,15-тетраоксо-3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16- тетрадекагидро-2H-бензо[b][1,4,9,14] оксатриазациклооктадецин-18-ил)-2-((трет-бутоксикарбонил) амино) пропаноата.



К раствору 4,4'-((2,3-бис(2- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)ацетамидо)сукцинил) бис(азанедиил))дибутановой кислоты (108,0 мг, 0,182 ммоль) и (S)-метил 3-(3-амино-4-гидроксифенил)-2- (трет-бутоксикарбониламино)пропаноата (56,6 мг, 0,182 ммоль) в ДМФА (5 мл) при 0°С добавляли EDC (130 мг, 0,678 ммоль) с последующим добавлением DIPEA (64мкл, 0,365 ммоль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Смесь разбавляли этилацетатом (30 мл), промывали водой (10 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (10 мл), сушили над сульфатом натрия и упаривали в вакууме. Остаток очищали хроматографией на колонке с силикагелем, элюируя смесью DCM/MeOH (от 20:1 до 10:1), с получением указанного в заголовке соединения (110,6 мг, выход 68%). МСВР (ЭСИ) m/z рассчит. для $C_{41}H_{51}N_8O_{15}$ [M+H]+: 895,34, найдено: 895,30.

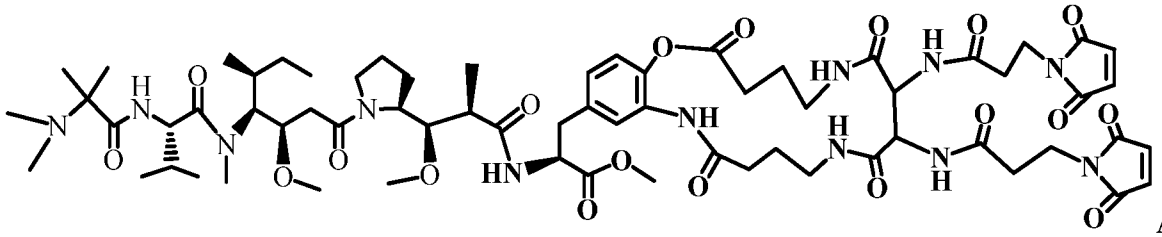
Пример 99. Синтез (2S)-метил 2-амино-3-(8,9-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо) 2,7,10,15-тетраоксо-3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16-тетрадекагидро-2Н-бензо[b][1,4,9,14]оксатриазациклооктадецин-18-ил) пропаноата.



К раствору (2S)-метил 3-(8,9-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо)-2,7,10,15-тетраоксо-3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16-тетрадекагидро-2Н-бензо[b][1,4,9,14]оксатриазациклооктадецин-18-ил)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)пропаноата (100,2 мг, 0,112 ммоль) в DCM (6 мл) добавляли ТФУ (2 мл) при 0°С. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 30 минут, разбавляли толуолом, концентрировали, выпаривали совместно с толуолом, а затем использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. МСВР (ЭСИ) m/z рассчит. для $C_{36}H_{43}N_8O_{13}$ [M+H]+: 795,29, найдено: 795,45.

Пример 100. Синтез (2S)-метил 3-(8,9-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо) -2,7,10,15-тетраоксо-3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16- тетрадекагидро-2Н- бензо[b][1,4,9,14]оксатриазациклооктадецин-18-ил)-2-((2R,3R)-3-((S)-1- ((3R,4S,5S)-4-

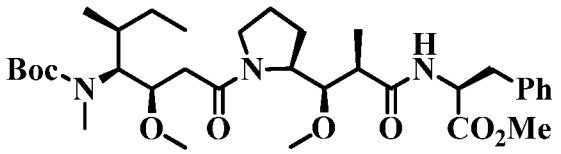
((S)-2-(2-(диметиламино)-2-метилпропанамидо)-N,3-диметилбутанамидо)-3-метокси-5-метилгептаноил) пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропанамидо)пропаноата (**A-01**).



A-01,

К раствору (2R,3R)-перфторфенил 3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2- (2-(диметиламино)-2-метилпропанамидо)-N, 3-диметилбутанамидо)-3-метокси-5-метилгептаноил) пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропаноата (20 мг, 0,027 ммоль) и (2S)-метил 2-амино-3-(8,9-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо) -2,7,10,15-тетраоксо-3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16- тетрадекагидро-2H-бензо[b][1,4,9,14] оксатриаза-циклооктадецин-18-ил)пропаноата (31,7 мг, 0,04 ммоль) в DMA (2 мл) добавляли DIPEA (9 мкл, 0,053 ммоль) при 0°C. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 30 мин. Смесь упаривали под вакуумом и очищали препаративной ВЭЖХ (C-18, 250 мм x 10 мм, элюирование H_2O/CH_3CN (9 мл/мин, от 90% воды до 40% воды за 40 минут) с получением указанного в заголовке соединения (16 мг, выход 43%). МСВР (ЭСИ) m/z рассчит. для $C_{66}H_{97}N_{12}O_{19}$ [M+H]+: 1361,69 найдено: 1361,50.

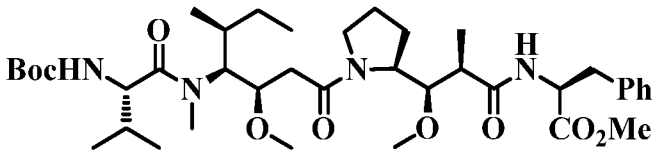
Пример 101. Синтез (S)-метил 2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((*трет*-бутоксикарбонил)(метил)амино)-3-метокси-5-метилгептаноил)пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропанамидо)-3-фенилпропаноата.



К раствору Boc-незащищенного продукта (S)-*трет*-бутил 2-((1R,2R)-1-метокси-3-(((S)-1- метокси-1-оксо-3-фенилпропан-2-ил)амино)-2-метил-3-оксопропил)пирролидин-1-карбоксилата (0,29 ммоль) и (3R,4S,5S)-4-((*трет*-бутоксикарбонил)(метил)амино)-3-метокси-5-метилгептановой кислоты (96,6 мг, 0,318 ммоль) в ДМФА (5 мл) при 0 °C добавляли диэтилцианофосфонат (58 мкл, 0,347 ммоль), затем добавляли Et_3N (109 мкл, 0,78 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 2 часов, затем нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (80 мл), промывали 1 н водным раствором гидросульфата калия (40 мл), водой (40 мл), насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия (40 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (40 мл), сушили над Na_2SO_4 и

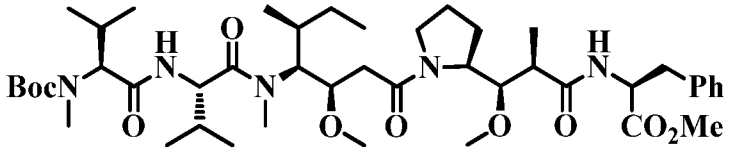
упаривали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (15-75% этилацетат/смесь изомеров гексана) с получением указанного в заголовке соединения (150 мг, выход 81%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС (ЭСИ) m/z рассч. для $C_{34}H_{55}N_3O_8$ $[M+H]^+$: 634,40, найдено: 634,40.

Пример 102. Синтез (S)-метил 2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)-*N*,3-диметилбутанамидо)-3-метокси-5-метилгептаноил)пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропанамидо)-3-фенилпропаноата.



К раствору Boc-незащищенного продукта (S)-метил 2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((*трет*-бутоксикарбонил)(метил)амино)-3-метокси-5-метилгептаноил)-пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропанамидо)-3-фенилпропаноата (0,118 ммоль) и Boc-Val-OH (51,8 мг, 0,236 ммоль) в ДХМ (5 мл) при 0 °C добавляли BroP (70,1 мг, 0,184 ммоль), затем добавляли диизопропилэтиламин (70 мкл, 0,425 ммоль). Смесь защищали от света и перемешивали при 0 °C в течение 30 минут, затем при комнатной температуре в течение 2 дней. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (80 мл), промывали 1 н водным раствором гидросульфата калия (40 мл), водой (40 мл), насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия (40 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (40 мл), сушили над Na_2SO_4 и упаривали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (20-100% этилацетат/смесь изомеров гексана) с получением указанного в заголовке соединения (67 мг, 77% выход) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС (ЭСИ) m/z рассч. для $C_{39}H_{64}N_4O_9$ $[M+H]^+$: 733,47, найдено: 733,46.

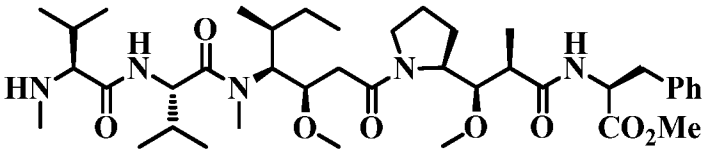
Пример 103. Синтез (S)-метил 2-((2R,3R)-3-((S)-1-((6S,9S,12S, 13R)-12-((S)-втор-бутил)-6, 9-диизопропил-13-метокси-2,2,5,11-тетраметил-4,7,10-триоксо-3-окса-5,8,11-триазапентадекан-15-оил) пирролидин-2-ил)-3 метокси-2-метилпропанамидо)-3-фенилпропаноата.



К раствору Boc-незащищенного продукта (S)-метил 2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)-*N*,3-диметилбутанамидо)-3-метокси-5-метилгептаноил)пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропанамидо)-3-фенилпропаноата (0,091 ммоль) и Boc-N-Me-Val-OH (127 мг, 0,548 ммоль) в ДМФА (5 мл) при 0 °C добавляли диэтилцианофосфонат (18,2 мкл, 0,114 ммоль), затем добавляли *N*-

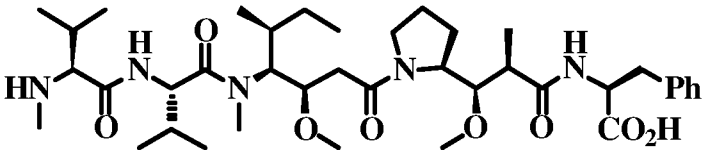
метилморфолин (59 мкл, 0,548 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 2 часов, затем нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (80 мл), промывали 1 н водным раствором гидросульфата калия (40 мл), водой (40 мл), насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия (40 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (40 мл), сушили над сульфатом натрия и упаривали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (20-100% этилацетат/смесь изомеров гексана) с получением указанного в заголовке соединения (30 мг, выход 39%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС (ЭСИ) m/z рассч. для $C_{45}H_{75}N_5O_{10}$ $[M+H]^+$: 846,55, найдено: 846,56.

Пример 104. Синтез (S)-метил 2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-диметил-2-((S)-3-метил-2-(метиламино)бутанамидо)бутанамидо)-3-метокси-5-метил-гептаноил)пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропанамидо)-3-фенилпропаноата.



К раствору (S) -метил 2-((2R,3R)-3-((S)-1-((6S,9S,12S,13R)-12-((S) -втор-бутил)-6,9-диизопропил-13-метокси-2,2,5,11-тетраметил-4,7,10-триоксо-3-окса-5,8,11-триазапентадекан-15-оил) пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропанамидо)-3-фенилпропаноата (75,0 мг, 0,0886 ммоль) в метиленхлориде (5 мл) добавляли трифторуксусную кислоту (2 мл) при комнатной температуре. После перемешивания при комнатной температуре в течение 1 часа реакционную смесь упаривали в вакууме. Совместное выпаривание с толуолом давало указанный в заголовке незащищенный продукт, который использовали без дальнейшей очистки.

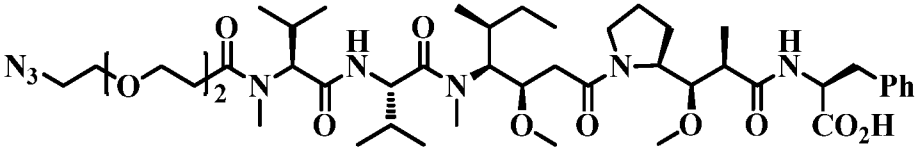
Пример 105. Синтез (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N, 3-диметил-2-((S)-3-метил-2-(метиламино)бутанамидо)бутанамидо)-3-метокси-5-метилгептаноил) пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропанамидо)-3-фенилпропановой кислоты.



(S)-метил 2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-диметил-2-((S)-3-метил-2-(метиламино)бутанамидо)бутанамидо)-3-метокси-5-метил-гептаноил)пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропанамидо)-3-фенилпропаноат (25 мг, 0,030 ммоль) в смеси конц. HCl (0,3 мл) и 1,4-диоксана (0,9 мл) перемешивали при к.т. в течение 35 минут. Смесь разбавляли EtOH (1,0 мл) и толуолом (1,0 мл), упаривали и совместно упаривали с EtOH/толуолом (2:1) с получением указанного в заголовке соединения в виде белого

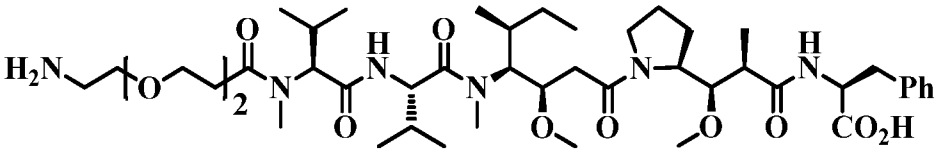
твердого вещества (22 мг, ~100% выход), которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХ-МС (ЭСИ) m/z рассч. для $C_{39}H_{66}N_5O_8$ $[M+H]^+$: 732,48, найдено: 732,60.

Пример 106. Синтез (2S)-2-((2R,3R)-3-((2S)-1-((11S,14S,17S)-1-азидо-17-((R)-втор-бутил)-11,14-диизопропил-18-метокси-10,16-диметил-9,12,15-триоксо-3,6-диокса-10,13,16-триазакосан-20-оил) пирролидин-2-ил)- 3-метокси-2-метилпропанамидо)-3-фенилпропановой кислоты.



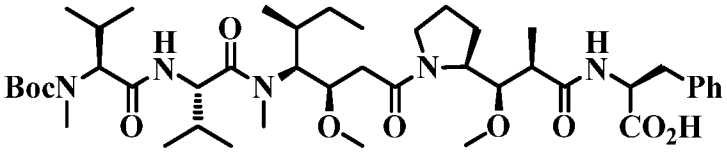
К неочищенной (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N,3-диметил-2-((S)-3-метил-2-(метиламино)бутанамидо)бутанамидо)-3-метокси-5-метилгептаноил)-пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропанамидо)-3-фенилпропановой кислоты (22 мг, 0,030 ммоль) в смеси DMA (0,8 мл) и буферного раствора NaH_2PO_4 (pH 7,5, 1,0 M, 0,7 мл) добавляли 2,5-диоксопирролидин-1-ил 3-(2-(2-азидоэтокси)этокси)пропаноат (18,0 мг, 0,060 ммоль) четырьмя порциями за 2 часа. Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (CH_3OH/CH_2Cl_2/HOAc 1:8:0,01) с получением указанного в заголовке соединения (22,5 мг, 82% выход). ЖХ-МС (ЭСИ) m/z рассч. для $C_{46}H_{77}N_8O_{11}$ $[M+H]^+$: 917,56, найдено: 917,60.

Пример 107. Синтез (2S)-2-((2R, 3R)-3-((2S)-1-((11S, 14S, 17S)-1-амино-17-((R)-втор-бутил)-11,14-диизопропил-18-метокси-10,16-диметил-9,12,15-триоксо-3,6-диокса-10,13,16-триазакосан-20-оил) пирролидин-2-ил)-3- метокси-2-метилпропанамидо)-3-фенилпропановой кислоты.



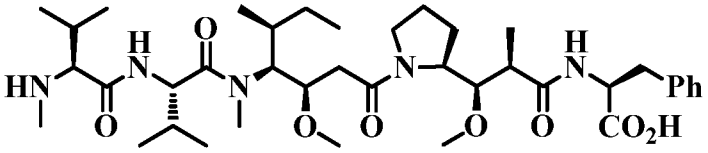
К (2S)-2-((2R,3R)-3-((2S)-1-((11S,14S,17S)-1-азидо-17-((R)-втор-бутил)-11, 14-диизопропил-18-метокси-10,16-диметил-9,12,15-триоксо-3,6-диокса-10,13,16-триазакосан-20-оил)пирролидин-2-ил)-3 -метокси-2-метилпропанамидо)-3-фенилпропановой кислоте (22,0 мг, 0,024 ммоль) в метаноле (5 мл) в сосуде для гидрирования добавляли Pd/C (5 мг, 10% Pd, 50% влажности). После вакуумирования воздуха и пропускания H_2 при 172 КПа (25 фунт/кв.дюйм) смесь встряхивали в течение 4 ч, фильтровали через целит. Фильтрат упаривали с получением неочищенного указанного в заголовке продукта (~ 20 мг, выход 92%), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. МС ЭСИ m/z+ $C_{46}H_{79}N_6O_{11}$ (M+H), рассчт. 891,57, найдено 891,60.

Пример 108. Синтез (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((6S,9S,12S,13R)-12-((S)-втор- бутил)-6,9-диизопропил-13-метокси-2,2,5,11-тетраметил-4,7,10-триоксо-3-окса-5,8,11-триазапентадекан-15-оил)пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропанамидо)-3-фенилпропановой кислоты.



К раствору (S)-метил 2-((2R,3R)-3-((S)-1-((6S,9S,12S,13R)-12-((S)-втор-бутил)-6,9-диизопропил-13-метокси-2,2,5,11-тетраметил-4,7,10-триоксо-3-окса-5,8,11-триазапентадекан-15-оил)пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропанамидо)-3-фенилпропаноата (30 мг, 0,035 ммоль) в ТГФ (1,0 мл) добавляли LiOH в воде (1,0М, 0,8 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 35 минут, нейтрализовали с помощью 0,5 MH_3PO_4 до pH 6, упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (CH_3OH/CH_2Cl_2/HOAc 1:10:0,01) с получением указанного в заголовке соединения (25,0 мг, 85% выход). ЖХ-МС (ЭСИ) m/z рассч.для $C_{44}H_{74}N_5O_{10}$ $[M+H]^+$: 832,54, найдено: 832,60.

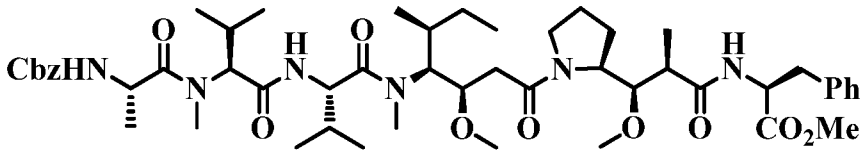
Пример 109. Синтез (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-N, 3-диметил-2-((S)-3-метил-2-(метиламино)бутанамидо)бутанамидо)-3-метокси-5-метилгептаноил) пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропанамидо)-3-фенилпропановой кислоты.



К раствору (S)-2-((2R,3R)-3-((S)-1-((6S,9S,12S,13R)-12-((S)-втор-бутил)-6,9-диизопропил-13-метокси-2,2,5,11-тетраметил-4,7,10-триоксо-3-окса-5,8,11-триазапентадекан-15-оил)пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропанамидо)-3-фенилпропановой кислоты (25 мг, 0,030 ммоль) в диоксане (2,0 мл) добавляли HCl (12,0 М, 0,6 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут, разбавляли диоксаном (4 мл) и толуолом (4 мл), упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на С-18 колонке ВЭЖХ, элюируя MeOH и водой (L200 мм x Ф20 мм, v = 9). мл/мин, от 5% метанола до 40% метанола за 40 мин) с получением указанного в заголовке соединения (20,0 мг, выход 90%). ЖХ-МС (ЭСИ) m/z рассч.для $C_{39}H_{66}N_5O_8$ $[M+H]^+$: 732,48, найдено: 732,90.

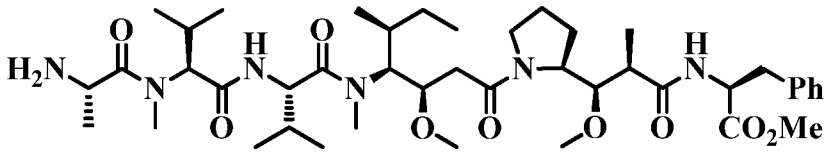
Пример 110. Синтез (*S*)-метил 2-((2*R*,3*R*)-3-((*S*)-1-((5*S*,8*S*,11*S*,14*S*,15*R*)-14-((*S*)- *втор*-бутил)-8,11-диизопропил-15-метокси-5,7,13-триметил-3,6,9,12-тетраоксо-1-фенил-2-окса-

4,7,10,13-тетраазагептадекан-17-оил) пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропанамидо)-3-фенилпропаноата.



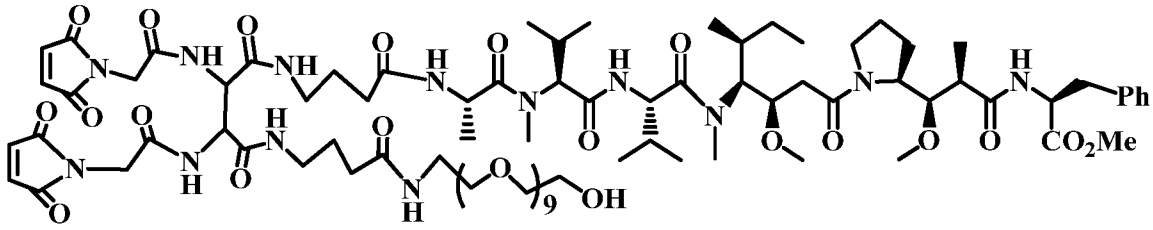
К раствору MMAF-OMe (0,132 г, 0,178 ммоль, 1,0 экв.) и ZL-аланина (0,119 г, 0,533 ммоль, 3,0 экв.) в безводном ДХМ (10 мл) при 0 °C последовательно добавляли HATU (0,135 г. 0,356 ммоль, 2,0 экв.) и NMM (0,12 мл, 1,07 ммоль, 6,0 экв.). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 10 минут, затем нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Смесь разбавляли ДХМ и промывали водой, и насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным Na_2SO_4, упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (20:1 ДХМ/MeOH) с получением указанного в заголовке соединения в виде белого пенистого твердого вещества (0,148 г, выход 88%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{51}H_{79}N_6O_{11}$ $[M+H]^+$ 951,6, найдено 951,6.

Пример 111. Синтез (*S*)-метил 2-((2*R*,3*R*)-3-((S)-1-((3*R*,4*S*,5*S*)-4-((*S*)-2-((*S*)-2-((*S*)-2-амино-N-метилпропанамидо)-3-метилбутанамидо)-N, 3-диметилбутанамидо)-3-метокси-5-метилгептаноил)пирролидин-2-ил)-3-метокси- 2-метилпропанамидо)-3-фенилпропаноата.



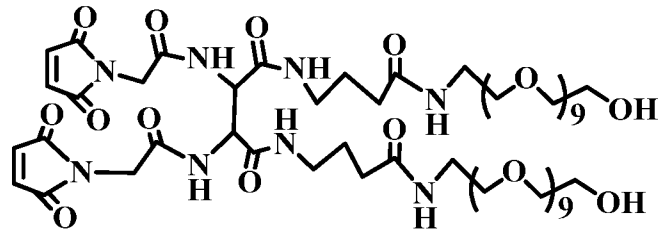
К раствору (*S*)-метил 2-((2*R*,3*R*)-3-((*S*)-1-((5*S*,8*S*,11*S*,14*S*,15*R*)-14-((*S*)-*втор*-бутил)-8,11-диизопропил-15-метокси-5,7,13-триметил-3,6,9,12-тетраоксо-1-фенил-2-окса-4,7,10,13-тетраазагептадекан-17-оил)пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропанамидо)-3-фенилпропаноата (0,148 г, 0,156 ммоль, 1,0 эквив.) в MeOH (5 мл) добавляли Pd/C (0,100 г, 10% Pd/C, 50% влажности) в сосуде для гидрирования. Смесь встряхивали в течение 5 часов, затем фильтровали через слой целита. Фильтрат упаривали, получая указанное в заголовке соединение в виде белого пенистого твердого вещества (0,122 г, выход 96%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{43}H_{73}N_6O_9$ $[M+H]^+$ 817,5, найдено 817,5.

Пример 112. Синтез (2S)-метил 2-((2R,3R)-3-((2S)-1-((46S,49S,52S,55S,56R)-55-((S)-втор-бутил)-37,38-бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетамидо)-1-гидрокси-49,52-диизопропил-56-метокси-46,48,54-триметил-31,36,39,44,47,50,53-гептаоксо-3,6,9,12,15,18,21,24,27-нонаокса-30,35,40,45,48,51,54-гептаазаоктапентаконтан-58-оил)пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропанамидо) -3-фенилпропаноат (**A-02**).



(**A-2**)

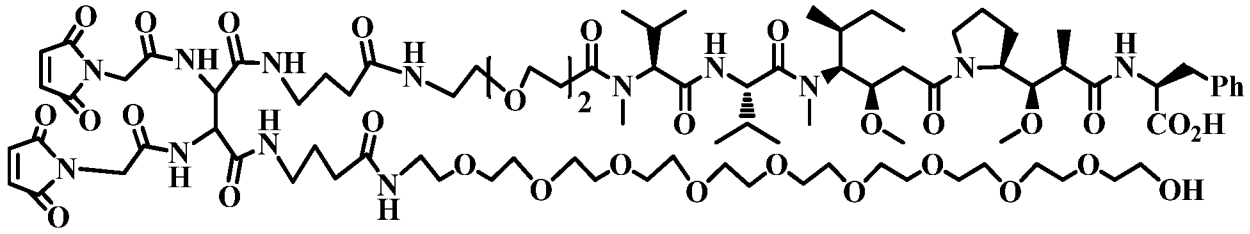
и



(побочный продукт)

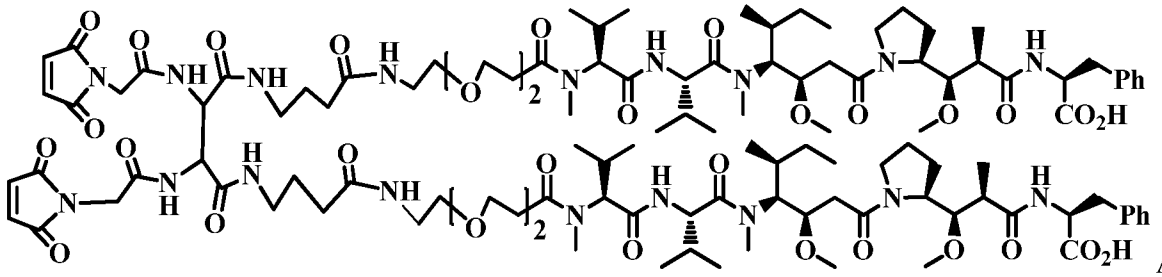
К раствору (*S*)-метил 2-((2*R*,3*R*)-3-((S)-1-((3*R*,4*S*,5*S*)-4-((*S*)-2-((*S*)-2-((*S*)-2-амино-N-метилпропанамидо)-3-метилбутанамидо)-N, 3-диметилбутанамидо)-3-метокси-5-метилгептаноил) пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропанамидо) -3-фенилпропаноата (0,122 г, 0,149 ммоль, 1,0 экв.) и 4,4'- ((2,3-бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) ацетамидо)сукцинил)бис(азанедиил))дибутановой кислоты (0,177 г, 0,298 ммоль, 4,0 экв.) в безводном DMA (10 мл) добавляли HATU (0,270 г, 0,712 ммоль) и NMM (0,030 мл. , 0,267 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов, затем добавляли 29-амино-3,6,9,12,15,18,21,24,27-нонаоксанонакозан-1-ол (0,205 мг, 0,448 ммоль). Реакционную смесь продолжали перемешивать в течение ночи. Смесь упаривали в вакууме и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (от 10:1 до 5:1, DCM/MeOH) с получением указанного в заголовке соединения (A-2) в виде белого пенистого твердого вещества (0,128 г, выход 47%, ЭСИ МС m/z: рассч. для $C_{87}H_{140}N_{13}O_{29}$ $[M+H]^+$ 1830,98, найдено 1830,70) и побочного продукта, 2,3-бис(2- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) ацетамидо)-N^1,N^4-бис (1-гидрокси-31-оксо-3,6,9,12,15,18,21,24,27-нонаокса-30-азатетратриаконтан-34-ил)сукцинамида (84 мг, выход 38%, ЭСИ МС m/z: рассч. для $C_{64}H_{111}N_8O_{30}$ $[M+H]^+$ 1471,73, найдено 1471,95).

Пример 113. Синтез (2S)-2-((2R,3R)-3-((2S)-1-((56S,59S,62S,63R)-62-((S)-втор-бутил)-37,38-бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетамидо)-1-гидрокси-56,59-диизопропил-63-метокси-55,61-диметил-31,36,39,44,54,57,60-гептаоксо-3,6,9,12,15,18,21,24,27,48,51-ундекаокса-30,35,40,45,55,58,61-гептаазапентагексаконтан-65-оил) пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропанамидо) -3-фенилпропановой кислоты (**A-3**).



К раствору (2S)-2-((2R,3R)-3-((2S)-1-((11S,14S,17S)-1-амино-17- ((R)-втор-бутил) -11,14-диизопропил-18-метокси-10,16-диметил-9,12,15-триоксо-3,6-диокса-10,13,16-триазаикозан-20-оил)пирролидин-2-ил)- 3-метокси-2-метилпропанамидо)-3-фенилпропановой кислоты (0,155 г, 0,174 ммоль, 1,0 экв.) в смешанном растворе DMA (10 мл) и буфера PBS (10 мл, 0,1 М NaH_2PO_4, pH 5,0) добавляли бис (2,5-диоксопирролидин-1-ил) 4,4'-((2,3-бис(2- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетамидо)сукцинил) бис(азанедиил))дибутаноат (0,275 г, 0,349 ммоль, 4,0 экв.). Смесь перемешивали в течение 4 часов, затем добавляли 29-амино-3,6,9,12,15,18,21,24,27-нонаоксанонакозан-1-ол (0,205 мг, 0,448 ммоль). Реакционную смесь доводили до pH 7,5 с помощью $NaHCO_3$ (насыщ.) и продолжали перемешивать в течение ночи. Смесь упаривали в вакууме и очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (L) мм x 20 (d) мм, колонка C18, 10-80% ацетонитрил/вода за 40 минут, v = 10 мл/мин) с получением указанного в заголовке соединение (142,1 мг, выход 43%, ЭСИ МС m/z: рассч. для $C_{90}H_{146}N_{13}O_{31}$ $[M+H]^+$ 1905,02, найдено 1905,80) и побочного продукта, 2,3-бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетамидо)-N^1,N^4-бис(1-гидрокси-31-оксо-3,6,9,12,15,18,21,24,27-нонаокса-30-азатетратриаконтан-34-ил)сукцинамида (89 мг, выход 35%, ЭСИ МС m/z: рассч. для $C_{64}H_{111}N_8O_{30}$ $[M+H]^+$ 1471,73, найдено 1471,95).

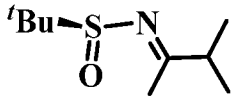
Пример 114. Синтез (2S,2'S)-2,2'-(((2R,2'R,3R,3'R)-3,3'-((2S,2'S)-1,1'-((3R,4S, 7S,10S,47S,50S,53S,54R)-4,53-ди((S)-втор-бутил)-28,29-бис(2- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетамидо) -7,10,47,50-тетраизопропил-3,54-диметокси-5,11,46,52-тетраметил-6,9,12,22,27,30,35,45,48,51-декаоксо-15,18,39,42-тетраокса-5,8,11,21,26,31,36,46,49,52-декаазагексапентаконтан-1,56-диоил) бис(пирролидин-2,1-диил))бис(3-метокси-2-метилпропаноил)) бис(азандиил))бис(3-фенилпропановая кислота) (**A-04**).



A-04,

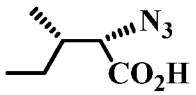
К раствору (2S)-2-((2R,3R)-3-((2S)-1-((11S,14S,17S)-1-амино-17- ((R)-втор-бутил)-11,14-диизопропил-18-метокси-10,16-диметил- 9,12,15-триоксо-3,6-диокса-10,13,16-триазаикозан-20-оил) пирролидин-2-ил)-3-метокси-2-метилпропанамидо) -3-фенилпропановой кислоты (0,155 г, 0,174 ммоль, 1,0 экв.) в смешанном растворе DMA (10 мл) и буфера PBS (10 мл, 0,1 М NaH_2PO_4, pH 7,5) добавляли бис(2,5-диоксопирролидин-1-ил) 4,4'-((2,3-бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) ацетамидо)сукцинил)бис(азандиил))дибутаноат (0,068 г, 0,087 ммоль, 1,0 экв.). Смесь перемешивали в течение 8 ч, упаривали в вакууме и очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (L) мм x 20 (d) мм, колонка C18, 10-80% ацетонитрил/вода за 40 минут, объем = 10 мл/мин.) с получением указанного в заголовке соединения (138,1 мг, выход 68%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{116}H_{181}N_{18}O_{32}$ $[M+H]^+$ 2338,30, найдено 2338,90.

Пример 115. Синтез (S, E)-2-метил-N-(3-метилбутан-2-илиден) пропан-2-сульфонамида.



К раствору (S)-2-метилпропан-2-сульфинамида (100 г, 0,825 моль, 1,0 экв.) в 1 л ТГФ добавляли $Ti(OEt)_4$ (345 мл, 1,82 моль, 2,2 экв.) и 3-метил-2-бутанон (81 мл, 0,825 моль 1,0 экв.) в атмосфере N_2 при к.т. Реакционную смесь нагревали до кипения с обратным холодильником в течение 16 часов, затем охлаждали до комнатной температуры и выливали на ледяную воду. Смесь фильтровали и слой на фильтре промывали EtOAc. Органический слой отделяли, сушили над безводным Na_2SO_4 и упаривали с получением остатка, который очищали вакуумной перегонкой (15-20 мм. рт.ст., 95 °C) с получением указанного в заголовке продукта (141 г, 90% выход) в виде желтого масла. 1H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 2,54 – 2,44 (м, 1H), 2,25 (с, 3H), 1,17 (с, 9H), 1,06 (дд, J = 6,9, 5,1 Гц, 6H). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_9H_{19}NaNOS$ $[M+Na]^+$ 212,12; найдено 212,11.

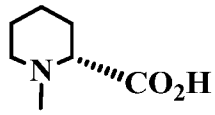
Пример 116. Синтез (2S,3S)-2-азидо-3-метилпентановой кислоты.



К раствору NaN_3 (20,0 г, 308 ммоль) в смеси воды (50 мл) и дихлорметана (80 мл), охлажденного до 0 °C, медленно добавляли Tf_2O (10 мл, 59,2 ммоль, 2,0 экв.). После добавления, реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 2 часов, затем органическую фазу отделяли и водную фазу экстрагировали дихлорметаном (2 × 40 мл). Объединенные органические фазы промывали насыщенным раствором $NaHCO_3$ и использовали как есть. Дихлорметановый раствор трифторазида добавляли к смеси (L)-изолейцина (4,04 г, 30,8 ммоль, 1,0 экв.), K_2CO_3 (6,39 г, 46,2 ммоль, 1,5 экв.), $CuSO_4 \cdot 5H_2O$

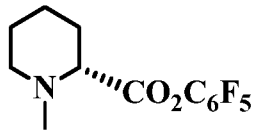
(77,4 мг, 0,31 ммоль, 0,01 экв.) в воде (100 мл) и метаноле (200 мл). Смесь перемешивали при к.т. в течение 16 часов. Органические растворители удаляли при пониженном давлении, а водную фазу разбавляли водой (250 мл) и подкисляли до pH 6 концентрированной HCl, и разбавляли фосфатным буфером (0,25 М, pH 6,2, 250 мл). Водный слой промывали EtOAc (5 × 100 мл) для удаления побочного продукта сульфонамид, а затем подкисляли до pH 2 концентрированной HCl, экстрагировали EtOAc (3×150 мл). Объединенные органические слои сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и упаривали, получая указанный в заголовке продукт (4,90 г, выход 99%) в виде бесцветного масла. ^{1}H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 12,01 (с, 1H), 3,82 (д, J = 5,9 Гц, 1H), 2,00 (ддд, J = 10,6, 8,6, 5,5 Гц, 1H), 1,54 (д.кв.д., J = 14,8, 7,5, 4,4 Гц, 1H), 1,36 – 1,24 (м, 1H), 1,08 – 0,99 (м, 3H), 0,97 – 0,87 (м, 3H).

Пример 117. Синтез D-*N*-метилпипеколиновой кислоты.



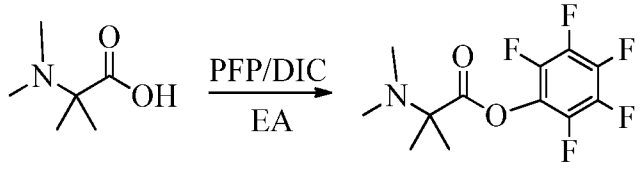
К раствору D-пипеколиновой кислоты (10,0 г, 77,4 ммоль, 1,0 экв.) в метаноле (100 мл) добавляли формальдегид (37% водный раствор, 30,8 мл, 154,8 ммоль, 2,0 экв.), затем Pd/C (10% масс., 1,0 г). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере H_2 (1 атм) в течение ночи, а затем фильтровали через целит, промывая слой на фильтре метанолом. Фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая указанное в заголовке соединение (10,0 г, выход 90%) в виде белого твердого вещества.

Пример 118. Синтез (R)-перфторфенил 1-метилпиперидин-2-карбоксилата.



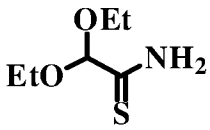
К раствору D- *N*- метилпипеколиновой кислоты (2,65 г, 18,5 ммоль) в EtOAc (50 мл) добавляли пентафторфенол (3,75 г, 20,4 ммоль) и DCC (4,21 г, 20,4 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов, а затем фильтровали через целит. Слой на фильтре промывали 10 мл EtOAc. Фильтрат использовали для следующей стадии без дальнейшей очистки или упаривания. МС ЭСИ m/z вычислено для $C_{13}H_{13}F_5NO_2$ $[M+H]^+$ 309,08; найдено 309.60.

Пример 119. Синтез перфторфенил 2-(диметиламино)-2-метилпропаноата



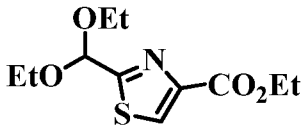
К раствору 2-(диметиламино)-2-метилпропановой кислоты (5,00 г, 38,10 ммоль) в этилацетате (200 мл) при 0 °C добавляли 2,3,4,5,6-пентафторфенол (10,4 г, 57,0 ммоль) с последующим добавлением DIC (8,8 мл, 57,0 ммоль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры, перемешивали в течение ночи и фильтровали. Фильтрат упаривали, получая указанное в заголовке соединение (12,0 г,> 100% выход), которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. МС ЭСИ m/z вычислено для $C_{12}H_{13}F_5NO_2$ $[M+H]^+$ 298,08; найдено 298,60.

Пример 120. Синтез 2,2-диэтоксиэтантиоамида.



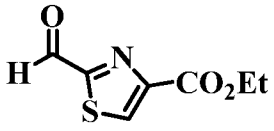
2,2-диэтоксиацетонитрил (100 г, 0,774 моль, 1,0 экв.) смешивали с водным раствором $(NH_4)_2S$ (48%, 143 мл, 1,05 моль, 1,36 экв.) в метаноле (1,5 л) при комнатной температуре. После перемешивания в течение 16 часов, реакционную смесь упаривали и остаток растворяли в дихлорметане, промывали насыщенным водным раствором $NaHCO_3$ и насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным Na_2SO_4 и упаривали. Остаток растирали со смесью растворителей петролейный эфир и дихлорметан. После фильтрования получали желаемый указанный в заголовке продукт в виде белого твердого вещества (100 г, выход 79%). ^{1}H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 7,81 (д, J = 71,1 Гц, 2H), 5,03 (с, 1H), 3,73 (д.кв., J = 9,4, 7,1 Гц, 2H), 3,64 (д.кв. J = 9,4, 7,0 Гц, 2H), 1,25 (т, J = 7,1 Гц, 6H).

Пример 121. Синтез этил 2-(диэтоксиметил)тиазол-4-карбоксилата.



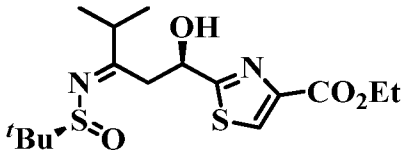
90 г молекулярных сит (3Å) добавляли к смеси 2,2-диэтоксиэтантиоамида (100 г, 0,61 моль, 1,0 экв.) и этилбромпирувата (142 мл, 1,1 моль, 1,8 экв.) в 1 л EtOH. Смесь нагревали до кипения с обратным холодильником (внутренняя температура около 60 °C) в течение 1 часа, затем удаляли этанол на роторном испарителе и остаток растворяли в дихлорметане. Твердое вещество отфильтровывали и фильтрат упаривали, и очищали с помощью колоночной хроматографии (ПЭ/EtOAc 5:1-3:1), получая указанное в заголовке (тиазолкарбоксилат) соединение (130 г, выход 82%) в виде желтого масла.

Пример 122. Синтез этил 2-формилтиазол-4-карбоксилата.



К раствору 2-(диэтоксиметил)тиазол-4-карбоксилата (130 г, 0,50 моль в ацетоне (1,3 L) добавляли 2 н HCl (85 мл, 0,165 моль 0,33 экв.). Реакционную смесь нагревали до кипения с обратным холодильником (внутренняя температура около 60 °C), контролировали с помощью анализа ТСХ до полного расходования исходного вещества (около 1-2 ч). Ацетон удаляли при пониженном давлении и остаток растворяли в дихлорметане (1,3 L), промывали насыщенным раствором $NaHCO_3$, водой и насыщенным водным раствором хлорида натрия, а затем сушили над безводным Na_2SO_4. Раствор фильтровали и упаривали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали с помощью перекристаллизации из петролейного эфира и диэтилового эфира, получая указанное в заголовке соединение в виде белого твердого вещества (40 г, 43% выход). ^{1}H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 10,08 – 10,06 (м, 1H), 8,53 – 8,50 (м, 1H), 4,49 (кв, J = 7,1 Гц, 2H), 1,44 (т, J = 7,1 Гц, 3H). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_7H_8NO_3S$ $[M+H]^+$ 186,01; найдено 186,01.

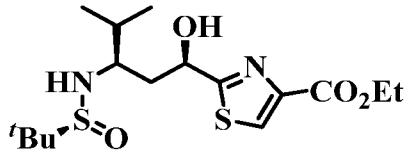
Пример 123. Синтез этил 2-((R,E)-3-(((S)-трет-бутилсульфинил) имино)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилата.



К раствору диизопропиламина (121 мл, 0,86 моль 4,0 экв.) в сухом ТГФ (300 мл) добавляли *н*-бутиллитий (2,5 М, 302 мл, 0,76 моль, 3,5 экв.) при -78 °C в атмосфере N_2. Реакционную смесь нагревали до 0 °C в течение 30 минут, а затем снова охлаждали до -78 °C. Добавляли (S, E)-2-метил-N-(3-метилбутан-2-илиден)пропан-2-сульфонамид (57 г, 0,3 моль, 1,4 экв.) в ТГФ (200 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа перед добавлением по каплям $ClTi(O^{изо}Pr)_3$ (168,5 г, 0,645 моль, 3,0 экв.) в ТГФ (350 мл). После перемешивания в течение 1 часа, по каплям добавляли этил 2-формилтиазол-4-карбоксилат (40 г, 0,215 моль, 1,0 экв.), растворенный в ТГФ (175 мл) и полученную реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов. Завершение реакции показал анализ ТСХ. В реакционную смесь добавляли смесь уксусной кислоты и ТГФ (об/об 1:4, 200 мл), затем выливали в ледяную воду, экстрагировали EtOAc (4 × 500 мл). Органическую фазу промывали водой и насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и упаривали. Остаток очищали колоночной хроматографией (ДХМ/EtOAc/ПЭ 2: 1:2), получая указанное в заголовке соединение (60 г, выход 74%) в виде бесцветного масла. ^{1}H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 8,13 (с, 1H), 6,63 (д, J = 8,2 Гц, 1H), 5,20 – 5,11 (м, 1H), 4,43 (кв, J = 7,0 Гц, 2H), 3,42 – 3,28 (м, 2H), 2,89 (д.т., J =

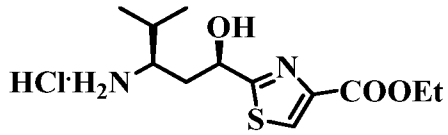
13,1, 6,5 Гц, 1H), 1,42 (т, *J* = 7,1 Гц, 3H), 1,33 (с, 9H), 1,25 – 1,22 (м, 6H). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{16}H_{26}NaN_2O_4S_2$ $[M+Na]^+$ 397,13, найдено 397,11.

Пример 124. Синтез этил 2-((1R, 3R)-3-((S)-1,1-диметилэтилсульфинамидо)-1-гидрокси-4-метилпентил) тиазол-4-карбоксилата.



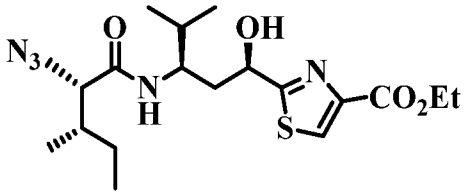
Раствор этил 2-((R,E)-3-(((S)-трет-бутилсульфинил)имино)-1-гидрокси-4-метилпентил) тиазол-4-карбоксилата (23,5 г, 62,7 ммоль), растворенного в ТГФ (200 мл), охлаждали до -45 °C. Медленно добавляли $Ti(OEt)_4$ (42,9 мл, 188 ммоль, 3,0 экв.). После завершения добавления смесь перемешивали в течение 1 часа до добавления порциями $NaBH_4$ (4,75 г, 126 ммоль, 2,0 экв.). Реакционную смесь перемешивали при -45 °C в течение 3 часов. Анализ ТСХ показал не полное расходование некоторых исходных веществ. В реакционную смесь вливали HOAc/ТГФ (об/об 1:4, 25 мл), затем EtOH (25 мл). Реакционную смесь выливали на лед (100 г) и нагревали до комнатной температуры. После фильтровании через целит органическую фазу отделяли и промывали водой, и насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и упаривали. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (EtOAc/PE 1:1) с получением указанного в заголовке продукта (16,7 г, 71% выход) в виде белого твердого вещества. ^{1}H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 8,10 (с, 1H), 5,51 (д, *J* = 5,8 Гц, 1H), 5,23 – 5,15 (м, 1H), 4,41 (кв, *J* = 7,0 Гц, 2H), 3,48 – 3,40 (м, 1H), 3,37 (д, *J* = 8,3 Гц, 1H), 2,29 (т, *J* = 13,0 Гц, 1H), 1,95 – 1,87 (м, 1H), 1,73 – 1,67 (м, 1H), 1,40 (т, *J* = 7,1 Гц, 3H), 1,29 (с, 9H), 0,93 (д, *J* = 7,3 Гц, 3H), 0,90 (д, *J* = 7,2 Гц, 3H). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{16}H_{28}NaN_2O_4S_2$ $[M+Na]^+$ 399,15, найдено 399,14.

Пример 125. Синтез гидрохлорида этил 2-((1R, 3R)-3-амино-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилата.



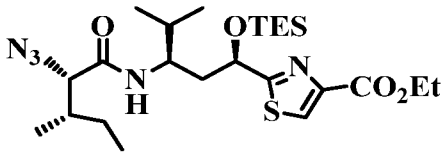
К раствору этил 2-((1R, 3R)-3-((S)-1,1-диметилэтилсульфинамидо)-1-гидрокси-4-метилпентил) тиазол-4-карбоксилата (6,00 г, 16,0 ммоль, 1,0 экв.) в этаноле (40 мл) медленно добавляли 4 н. HCl в диоксане (40 мл) при 0 °C. Реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 2,5 часов, затем упаривали и растирали с петролейным эфиром. Белое твердое указанное в заголовке вещество (4,54 г, 92% выход) собирали и использовали на следующей стадии.

Пример 126. Синтез этил 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-азидо-3-метилпентанамидо)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилата.



(2S,3S)-2-азидо-3-метилпентановую кислоту (5,03g, 28,8 ммоль, 2,0 экв.) растворяли в ТГФ (120 мл) и охлаждали до 0 °C, к которому последовательно добавляли NMM (6,2 мл, 56,0 ммоль, 4,0 экв.) и изобутилхлорформиат (3,7 мл, 28,8 ммоль, 2,0 экв.). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 30 минут и при к.т. 1,0 ч., а затем снова охлаждали до 0 °C. Порциями добавляли гидрохлорид этил 2-((1R,3R)-3-амино-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол -4-карбоксилат (4,54 г, 14,7 ммоль, 1,0 экв.). После перемешивания при 0 °C в течение 30 минут, реакционную смесь нагревали до к.т. и перемешивали в течение 2 часов. В реакционную смесь добавляли воду при 0 °C и реакционную смесь экстрагировали этилацетатом три раза. Объединенные органические слои промывали 1 н HCl, насыщенным раствором $NaHCO_3$ и насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и упаривали. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (0-30% EtOAc/PE) с получением белого твердого вещества указанного в заголовке соединения (4,55 г, 74% выход).

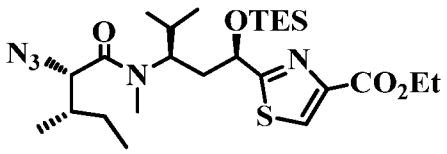
Пример 127. Синтез этил 2-((1R, 3R)-3-((2S, 3S)-2-азидо-3-метилпентанамидо)-4-метил-1-((триэтилсилил) окси)пентил)тиазол-4-карбоксилата.



К раствору этил 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-азидо-3-метилпентанамидо)-1- гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилата (5,30 г, 12,8 ммоль, 1,0 экв.) в CH_2Cl_2 (50 мл) добавляли имидазол (1,75 г, 25,6 ммоль, 2,0 экв.), затем хлортриэтилсилан (4,3 мл, 25,6 ммоль, 2,0 экв.) при 0 °C. Реакционную смесь оставляли нагреваться до к.т. в течение 1 часа и перемешивали еще в течение одного дополнительного часа. К реакционной смеси добавляли насыщенный раствор хлорида натрия, органический слой отделяли, а водный слой экстрагировали EtOAc. Объединенные органические фазы сушили, фильтровали, упаривали при пониженном давлении и очищали с помощью колоночной хроматографии с градиентом 15-35% EtOAc в петролейном эфире с получением указанного в заголовке продукта (6,70 г, выход 99%) в виде белого твердого вещества. ^{1}H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 8,12 (с, 1H), 6,75 (д, J = 8,0 Гц, 1H), 5,20 – 5,12 (м, 1H), 4,44 (кв, J = 7,0 Гц, 2H), 4,06 –

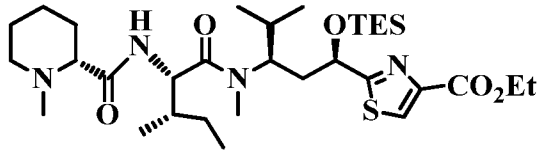
3,97 (м, 1H), 3,87 (д, *J* = 3,8 Гц, 1H), 2,14 (д, *J* = 3,8 Гц, 1H), 2,01 – 1,91 (м, 3H), 1,42 (т, *J* = 7,1 Гц, 3H), 1,34 – 1,25 (м, 2H), 1,06 (д, *J* = 6,8 Гц, 3H), 1,00 – 0,93 (м, 18H), 0,88 (дд, *J* = 19,1, 6,8 Гц, 6H). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{24}H_{44}N_5O_4SSi$ $[M+H]^+$ 526,28, найдено 526,28.

Пример 128. Синтез этил 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-азидо-N, 3-диметилпентанамидо)-4-метил-1-((триэтилсилил)окси)пентил) тиазол-4 карбоксилата.



Раствор этил 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-азидо-3-метилпентанамидо)-4- метил-1-((триэтилсилил)окси)пентил)тиазол-4-карбоксилата (5,20 г, 9,9 ммоль, 1,0 экв.) в ТГФ (50 мл) охлаждали до -45 °C и добавляли KHMDS (1M в толуоле, 23,8 мл, 23,8 ммоль, 2,4 экв.). Полученную смесь перемешивали при -45 °C в течение 20 минут с последующим добавлением йодистого метила (1,85 мл, 29,7 ммоль, 3,0 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры в течение 4,5 часов, затем в реакцию добавляли EtOH (10 мл). Неочищенный продукт разбавляли EtOAc (250 мл) и промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (100 мл). Водный слой экстрагировали EtOAc (3 × 50 мл). Органические слои сушили, фильтровали, упаривали и очищали на колоночной хроматографии с градиентом 15-35% EtOAc в петролейном эфире с получением указанного в заголовке продукта (3,33 г, выход 63%) в виде светло-желтого масла. ^{1}H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 8,09 (с, 1H), 4,95 (д, *J* = 6,6 Гц, 1H),4,41 (кв, *J* = 7,1 Гц, 2H), 3,56 (д, *J* = 9,5 Гц, 1H), 2,98 (с, 3H), 2,27 – 2,06 (м, 4H), 1,83 – 1,70 (м, 2H), 1,41 (т, *J* = 7,2 Гц, 3H), 1,29 (ддд, *J* = 8,9, 6,8, 1,6 Гц, 3H), 1,01 (д, *J* = 6,6 Гц, 3H), 0,96 (дт, *J* = 8,0, 2,9 Гц, 15H), 0,92 (д, *J* = 6,6 Гц, 3H), 0,90 (д, *J* = 6,7 Гц,3H). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{25}H_{46}N_5O_4SSi$ $[M+H]^+$ 540,30, найдено 540,30.

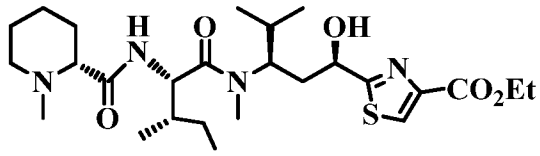
Пример 129. Синтез этил 2-((3S,6R,8R)-3-((S)-втор-бутил)-10,10-диэтил-6-изопропил-5-метил-1-((R)-1-метилпиперидин2-ил)-1,4-диоксо-9-окса-2,5-диаза-10-силадодекан-8-ил)тиазол-4-карбоксилата.



Сухой Pd/C (10% масс., 300 мг) и этил 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-азидо-N,3-диметилпентанамидо)-4-метил-1-((триэтилсилил)окси)пентил)тиазол-4-карбоксилат (3,33 г, 6,61 ммоль) добавляли к (R)-перфторфенил 1-метилпиперидин-2-карбоксилат в EtOAc. Реакционную смесь перемешивали при атмосфере водорода в течение 27 часов, а затем

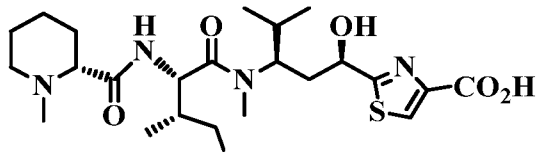
фильтровали через слой целита, промывая осадок на фильтре EtOAc. Объединенные органические порции упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии с градиентом 0-5% метанола в EtOAc с получением указанного в заголовке продукта (3,90 г, 86% выход). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{32}H_{59}N_4O_5SSi$ $[M+H]^+$ 639,39, найдено 639,39.

Пример 130. Синтез этил 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метил пиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилата.



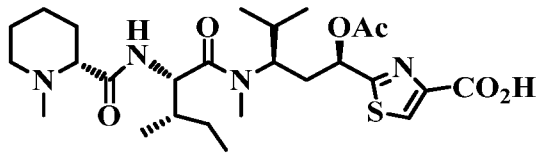
Этил 2-((3S,6R,8R)-3-((S)-втор-бутил)-10,10-диэтил-6- изопропил-5-метил-1-((R)-1-метилпиперидин-2-ил)-1,4-диоксо-9-окса-2,5-диаза-10-сидододекан-8-ил)тиазол-4-карбоксилат (3,90 г, 6,1 ммоль) растворяли в обескислороженной смеси AcOH/вода/ТГФ (об/об/об 3:1:1, 100 мл), и перемешивали при к.т. в течение 48 часов. Затем реакционную смесь упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии (2:98 до 15:85 MeOH/EtOAc) с получением указанного в заголовке соединения (2,50 г, 72% выход через 2 стадии). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{26}H_{45}N_4O_5S$ $[M+H]^+$ 525,30, найдено 525,33.

Пример 131. Синтез 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоновой кислоты.



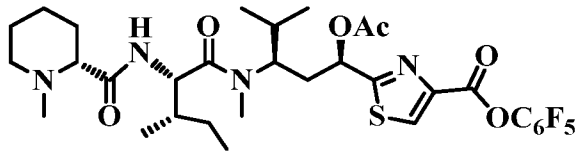
Водный раствор LiOH (0,4 N, 47,7 мл, 19,1 ммоль, 4,0 экв.) добавляли к раствору этил 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метил пиперидин-2-карбоксамидо)-пентанамидо)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилата (2,50 г, 4,76 ммоль, 1,0 экв.) в диоксане (47,7 мл) при 0 °C. Реакционную смесь перемешивали при к.т. в течение 2 часов, а затем упаривали. Хроматографическая очистка на колонке с SiO_2 (100% CH_2Cl_2, затем CH_2Cl_2/MeOH/NH_4OH 80:20:1) давала указанное в заголовке соединение (2,36 г, выход 99%) в виде аморфного твердого вещества. ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{24}H_{41}N_4O_5S$ $[M+H]^+$ 497,27, найдено 497,28.

Пример 132. Синтез 2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоновой кислоты.



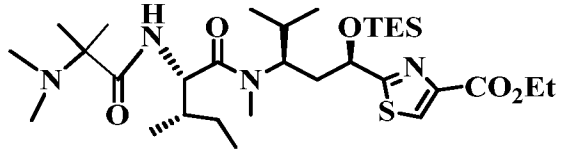
К раствору 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоновой кислоты (2,36 г, 4,75 ммоль) в пиридине (50 мл) при 0 °C, медленно добавляли уксусный ангидрид (2,25 мл, 24 ммоль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры в течение 2 часов и перемешивали при к.т. в течение 24 часов. Реакционную смесь упаривали и остаток очищали с помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ (колонка C_{18}, 50 мм (д) x 250 (мм), 50 мл/мин, 10-90% ацетонитрил/вода в течение 45 мин) с получением указанного в заголовке соединения (2,25 г, выход 88%) в виде аморфного белого твердого вещества. ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{26}H_{43}N_4O_6S$ $[M+H]^+$ 539,28, найдено 539,28.

Пример 133. Синтез (1R,3R)-3-((2S,3S)-N, 3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо) пентанамидо)-4-метил-1-(4-(перфторбензоил)тиазол-2-ил)пентилацетата.



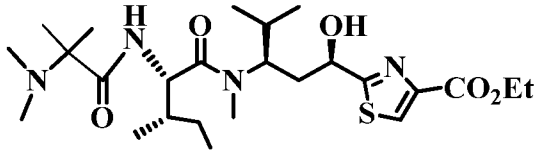
К раствору 2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N, 3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоновой кислоты (860 мг, 1,60 ммоль, 1,0 экв.) в дихлорметане (20 мл) добавляли пентафторфенол (440 мг, 2,40 ммоль, 1,5 экв.) и *N,N'*-диизопропилкарбодиимид (220 мг, 1,75 ммоль, 1,1 экв.) при 0 ° C. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. После удаления растворителя при пониженном давлении реакционную смесь разбавляли EtOAc (20 мл), затем фильтровали через целит. Фильтрат упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (от 1:10 до 1:3 EtOAc/ДХМ), получая указанное в заголовке соединение (935,30 мг, выход 82%), которое непосредственно использовали для следующей стадии. МС ЭСИ m/z вычислено для $C_{32}H_{42}F_5N_4O_6S$ $[M+H]^+$ 704,28, найдено 704,60.

Пример 134. Синтез этила 2-((6S, 9R, 11R)-6-((S)-втор-бутил)-13,13-диэтил-9-изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7- диоксо-12-окса-2,5,8-триаза-13-силапентадекан-11-ил) тиазол-4-карбоксилата.



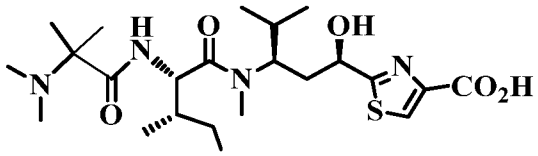
Сухой Pd/C (10 мас.%, 300 мг) и этил 2-((1R, 3R)-3-((2S, 3S)-2-азидо-N, 3-диметилпентанамидо)-4-метил-1-((триэтилсилил)окси)пентил)тиазол-4-карбоксилат (3,33 г, 6,16 ммоль) добавляли к перфторфенил 2-(диметиламино)-2-метилпропаноату (~ 2,75 г, 1,5 экв. неочищенного) в EtOAc. Реакционную смесь перемешивали при атмосфере водорода в течение 27 часов, а затем фильтровали через слой целита, промывая осадок на фильтре EtOAc. Объединенные органические порции упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии с градиентом 0-5% метанола в EtOAc с получением указанного в заголовке продукта (3,24 г, 84% выход). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{31}H_{59}N_4O_5SSi$ $[M+H]^+$ 626,39, найдено 626,95.

Пример 135. Синтез этила 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-(2-(диметиламино)-2-метилпропанамидо)-N, 3-диметилпентанамидо)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилата.



Этил 2-((6S, 9R, 11R)-6-((S)-втор-бутил)-13,13-диэтил-9-изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7-диоксо- 12-окса-2,5,8-триаза-13-силапентадекан-11-ил) тиазол-4-карбоксилат (3,20 г, 5,11 ммоль) растворяли в дезоксигенированной смеси AcOH/вода/ТГФ (об./об./об. 3:1:1, 100 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 48 часов. Реакционную смесь затем упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (2:98-15:85 MeOH/EtOAc) с получением указанного в заголовке соединения (2,33 г, выход 89%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{25}H_{45}N_4O_5S$ $[M+H]^+$ 512,30, найдено 512,45.

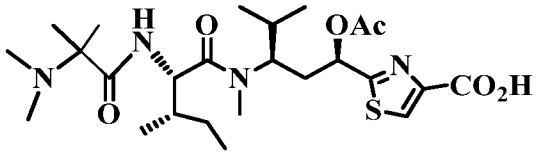
Пример 136. Синтез 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-(2-(диметиламино)-2-метилпропанамидо)-N, 3-диметилпентанамидо)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоновой кислоты.



Водный раствор LiOH (0,4 н., 47,7 мл, 19,1 ммоль, 4,0 экв.) добавляли к раствору этил 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-(2-(диметиламино)-2-метилпропанамидо)-N, 3-диметилпентанамидо)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксилата (2,30 г, 4,50 ммоль, 1,0 экв.) в диоксане (50 мл) при 0 ° С. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов, а затем упаривали. Хроматографическая очистка на колонке с SiO_2 (100% CH_2Cl_2, затем CH_2Cl_2/MeOH/NH_4OH 80:20:1) давала

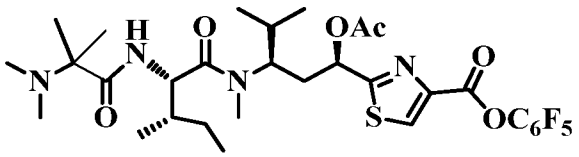
указанное в заголовке соединение (2,13 г, выход 98%) в виде аморфного твердого вещества. ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{23}H_{41}N_4O_5S$ $[M+H]^+$ 485,27, найдено 485,55.

Пример 137. Синтез 2-((6S,9R,11R)-6-((S)-втор-бутил)-9-изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7,13-триоксо-12-окса -2,5,8-триазатетрадекан-11-ил) тиазол-4-карбоновой кислоты.



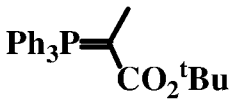
К раствору 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-(2-(диметиламино)-2-метилпропанамидо)-N, 3-диметилпентанамидо)-1-гидрокси-4-метилпентил)триазол-4-карбоновой кислоты (2,10 г, 4,33 ммоль) в пиридине (50 мл) при 0 °C медленно добавляли уксусный ангидрид (2,25 мл, 24 ммоль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры в течение 2 часов и перемешивали при к.т. в течение 24 часов. Реакционную смесь упаривали и остаток очищали с помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ (колонка C_{18}, 50 мм (д) x 250 (мм), 50 мл/мин, 10-90% ацетонитрил/вода в течение 45 мин) с получением указанного в заголовке соединения (1,95 г, выход 86%) в виде аморфного белого твердого вещества. ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{25}H_{43}N_4O_6S$ $[M+H]^+$ 526,28, найдено 526,80.

Пример 138. Синтез перфторфенил 2-((6S,9R,11R)-6-((S)-втор-бутил)-9-изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7,13-триоксо-12- окса-2,5,8-триазатетрадекан-11-ил)тиазол-4-карбоксилата.



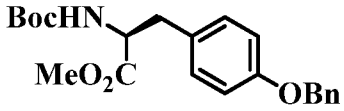
К раствору 2-((6S,9R,11R)-6-((S)-втор-бутил)-9-изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7,13-триоксо-12 -окса-2,5,8-триазатетрадекан-11-ил)тиазол-4-карбоновой кислоты (1,90 г, 3,61 ммоль, 1,0 экв.) в дихлорметане (70 мл) добавляли пентафторфенол (1,00 г, 5,43 ммоль, 1,5 экв.) и *N,N'* -диизопропилкарбодиимид (512 мг, 3,96 ммоль, 1,1 экв.) при 0 ° C. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. После удаления растворителя при пониженном давлении реакционную смесь разбавляли EtOAc (80 мл), затем фильтровали через целит. Фильтрат упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (от 1:10 до 1:3 EtOAc/ДХМ), получая указанное в заголовке соединение (2,09 г, выход 84%), которое непосредственно использовали для следующей стадии. МС ЭСИ m/z вычислено для $C_{31}H_{42}F_5N_4O_6S$ $[M+H]^+$ 693,27, найдено 693,60.

Пример 139. Синтез *трет*-бутил-2-(трифенилфосфоранилиден)пропаноата.



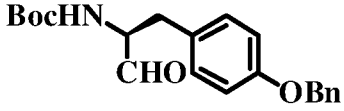
Смесь *трет*-бутил-2-бромпропаноата (15,5 г, 74,1 ммоль, 1,0 экв.) и трифенилфосфина (19,4 г, 74,1 ммоль, 1,0 экв.) в сухом ацетонитриле (45 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 18 часов. Ацетонитрил удаляли при пониженном давлении и добавляли толуол для растворения белого осадка. Толуол затем декантировали и белое твердое вещество растворяли в дихлорметане (100 мл), и переносили в делительную воронку. В воронку добавляли 10% NaOH (100 мл) и после встряхивания органический слой сразу же желтел. Органический слой отделяли и водный слой один раз экстрагировали дихлорметаном (30 мл). Дихлорметановые слои объединяли и один раз промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (50 мл), затем сушили над Na_2SO_4, фильтровали и упаривали, получая илид в виде желтого твердого вещества (16,8 г, 58%).

Пример 140. Синтез (S)-метил 3-(4-(бензилокси)фенил)-2-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)пропаноата.



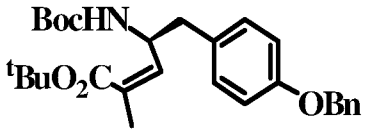
К смеси Boc-L-Tyr-OMe (20,0 г, 67,7 ммоль, 1,0 экв.), K_2CO_3 (14,0 г, 101,6 ммоль, 1,5 экв.) и KI (1,12 г, 6,77 ммоль, 0,1 экв.) в ацетоне (100 мл) медленно добавляли BnBr (10,5 мл, 81,3 ммоль, 1,2 экв.). Смесь затем нагревали до кипения с обратным холодильником в течение ночи. Добавляли воду (250 мл) и реакционную смесь экстрагировали EtOAc (3×100 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (300 мл), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали, упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (4:1 смесь изомеров гексана/EtOAc) с получением белого твердого указанного в заголовке соединения (26,12 г, 99% выход). ^{1}H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 7,44-7,41 (м, 2H), 7,41-7,36 (м, 2H), 7,35-7,30 (м, 1H), 7,04 (д, J = 8,5 Гц, 2H), 6,93 - 6,89 (м, 2H), 5,04 (с, 2H), 4,97 (д, J = 7,7 Гц, 1H), 4,55 (д, J = 6,9 Гц, 1H), 3,71 (с, 3H), 3,03 (дд , J = 14,4, 5,7 Гц, 2H), 1,44 (д, J = 18,6 Гц, 10H). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{22}H_{27}NO_5Na$ $[M+Na]^+$ 408,18, найдено 408,11.

Пример 141. Синтез (S)-трет-бутил(1-(4-(бензилокси)фенил)-3-оксопропан-2-ил)карбамата.



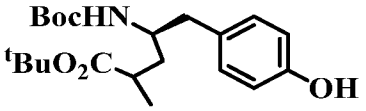
К раствору (S)-метил 3-(4-(бензилокси)фенил)-2-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)пропаноата (26,1 г, 67,8 ммоль, 1,0 экв.) в безводном дихлорметане (450 мл) при -78 °C добавляли DIBAL (1,0 M в смеси изомеров гексана, 163 мл, 2,2 экв.) в течение 1 часа. Смесь перемешивали при -78 °C в течение 3 часов, а затем добавляли 50 мл этанола. По каплям добавляли 1 н. HCl до достижения pH 4. Полученную смесь нагревали до 0 °C. Слои разделяли и водный слой дополнительно экстрагировали EtOAc (3 × 100 мл). Объединенные органические растворы промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным Na_2SO_4 и упаривали. Растирание с ПЭ/EtOAc и фильтрование давали белое твердое указанное в заголовке соединение (18,3 г, выход 76%). МС ESI m/z вычислено для $C_{22}H_{27}NO_5Na$ $[M+Na]^+$ 378,11, найдено 378,11.

Пример 142. Синтез (S,Z)-*трет*-бутил 5-(4-(бензилокси)фенил)-4-((*трет*-оксикарбонил)амино)-2-метилпент-2-еноата.



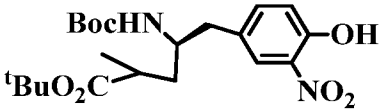
(S)-трет-Бутил (1-(4-(бензилокси)фенил)-3-оксопропан-2-ил)карбамат (0,84 г, 2 ммоль, 1,0 экв.) растворяли в сухом дихлорметане (50 мл), добавляли *трет*- бутил 2-(трифенилфосфоранилиден)пропаноат (1,6 г, 4 ммоль, 2,0 экв.) и раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1,5 ч, завершение реакции определяли с помощью ТСХ. Очистка колоночной хроматографией (10-50% EtOAc/смесь изомеров гексана) давала указанное в заголовке соединение (1,16 г, выход 98%).

Пример 143. Синтез (4R)-трет-бутил 4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-5-(4-гидроксифенил)-2-метилпентаноата.



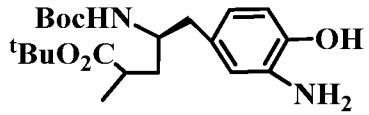
(S,Z)-*трет*-бутил 5-(4-(бензилокси)фенил)-4-((*трет*-оксикарбонил)амино)-2-метилпент-2-еноат (467 мг × 1 ммоль) растворяли в метаноле (30 мл) и гидрировали (1 атм) с катализатором Pd/C (10% масс., 250 мг) при комнатной температуре в течение ночи. Катализатор отфильтровывали и фильтрат упаривали при пониженном давлении, получая указанное в заголовке соединение (выход 379 мг, 99%).

Пример 144. Синтез (4R)-трет-бутил 4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-5-(4-гидрокси-3-нитрофенил)-2-метилпентаноат.



(4R)-трет-бутил 4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-5-(4-гидроксифенил)-2-метилпентаноат (379 мг, 1 ммоль, 1,0 экв.) растворяли в ТГФ (20 мл), добавляли раствор *трет*-бутилнитрита (315 мг, 3 ммоль, 3,0 экв.) в ТГФ (2 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов, а затем выливали в воду, экстрагировали EtOAc (2 × 50 мл) и объединенные органические фазы промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (50 мл), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и упаривали. Очистка колоночной хроматографией (10-50% EtOAc/смесь изомеров гексана) давала указанное в заголовке соединение (300 мг, выход 71%).

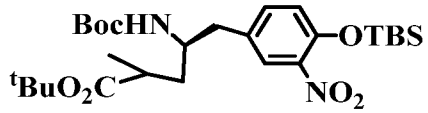
Пример 145. Синтез (*4R*)-*трет*-бутил 5-(3-амино-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата.



(4R)-трет-бутил 4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-5-(4-гидрокси-3-нитрофенил)-2-метилпентаноат (200 мг, 0,47 ммоль) растворяли в EtOAc (30 мл) и смешивали с палладиевым катализатором (10 % на углероде, 100 мг), затем гидрировали (1 атм) при к.т. в течение 2 часов. Катализатор отфильтровывали и все летучие вещества удаляли в вакууме с получением указанного в заголовке соединения (185 мг, 99%).

Альтернативно, (4R)-трет-бутил 4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-5-(4-гидрокси-3-нитрофенил)-2-метилпентаноат (56 мг × 0,132 ммоль) растворяли в EtOAc (20 мл) и смешивают с катализатором Pd/C (10% масс., 50 мг) и гидрировали (1 атм) при комнатной температуре в течение 3 часов. Катализатор отфильтровывали и все летучие вещества удаляли в вакууме, получая указанное в заголовке соединение (52 мг, выход 99%). МС ЭСИ m/z вычислено для $C_{21}H_{35}N_2O_5$ $[M+H]^+$ 395,25, найдено 395,26.

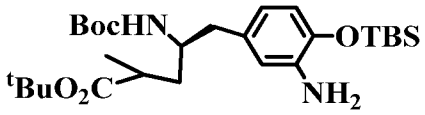
Пример 146. Синтез (4R)-*трет*-бутил 4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-5-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-3-нитрофенил)-2-метилпентаноата.



К раствору (4R)-трет-бутил 4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-5-(4-гидрокси-3-нитрофенил)-2-метилпентаноата (424 мг, 1 ммоль) в ДХМ (20 мл) добавляли имидазол (408 мг, 6 ммоль) и *трет*- бутилхлордиметилсилан (602 мг, 4 ммоль). Полученный раствор перемешивали при к.т. в течение 3 часов. Затем реакционную смесь промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (50 мл), сушили над безводным Na_2SO_4, упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии (от 10% до 30%

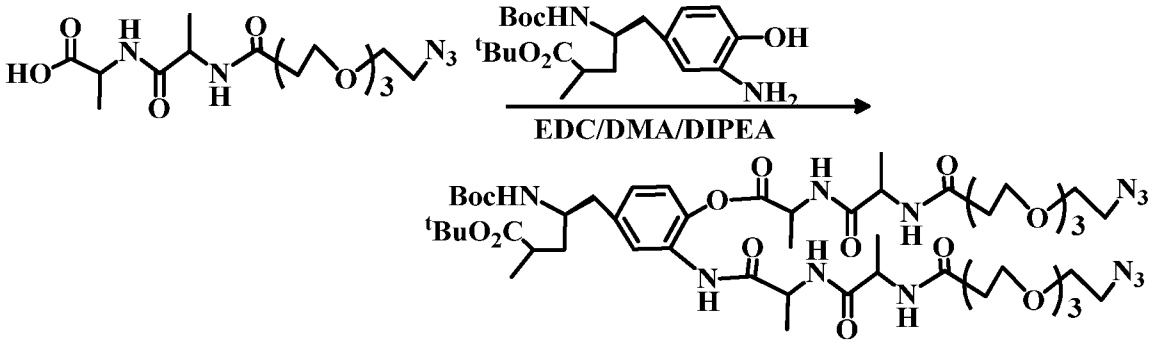
EtOAc/смесью изомеров гексана), получая указанное в заголовке соединение (344 мг, выход 64%).

Пример 147. Синтез (4R)-трет-бутил 5-(3-амино-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)фенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноатена.



(4R)-*трет*-Бутил 4-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)-5-(4-((*трет*-бутилдиметилсилил)окси)-3-нитрофенил)-2-метилпентаноат (200 мг, 0,37 ммоль) растворяли в EtOAc (30 мл), смешивали с палладиевым катализатором (10% масс. на углероде, 100 мг) гидрировали (1 атм.) при к.т. в течение 2 часов. Катализатор отфильтровывали и все летучие вещества удаляли в вакууме, получая указанное в заголовке соединение (187 мг, 99% выход).

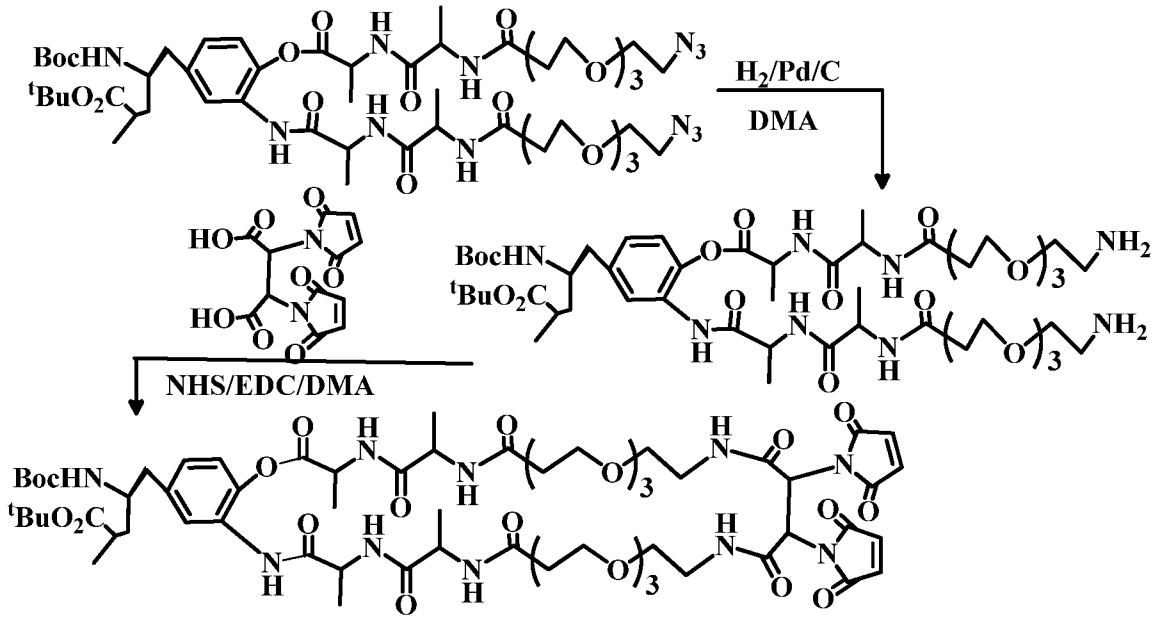
Пример 148. Синтез 2-(1-азидо-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)-4-((2R)-5-(трет-бутокси)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5-оксопентил)фенил 1-азидо-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадекан-18-оата



К раствору 1-азидо-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадекан-18-оевой кислоты (1,50 г, 3,85 ммоль) и (4R)-трет-бутил 5-(3-амино-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата (0,75 г, 1,90 ммоль) в DMA (40 мл) добавляли EDC (2,05 г, 10,67 ммоль) и DIPEA (0,70 мл, 4,0 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя EtOAc/CH_2Cl_2 (от 1:5 до 1:1), с получением указанного в заголовке соединения (2,01 г, выход 82%, чистота ~ 95% по данным ВЭЖХ). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{51}H_{85}N_{12}O_{17}$ $[M+H]^+$ 1137,61, найдено 1137,90.

Пример 149. Синтез (4R)-трет-бутил 5-(22,23-бис (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-3,6,39,42-тетраметил-2 5,8,21,24,37,40,43-октаоксо-3,4,5,6,7,8,9,10,12,13,15,16,18,19, 20,21,22,23, 24,25,26,27,29,30,32,33,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44-гексатриаконтагидро-2H-бензо[b][1,

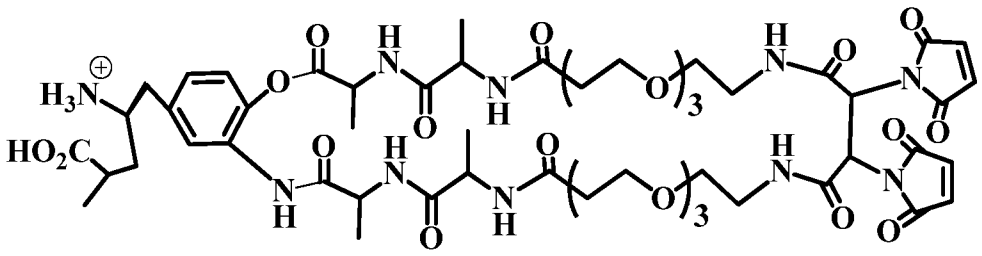
14,17,20,31,34,37,4,7,10,23,28,41,44] гептаокса-гептазазациклогексатетраконтин-46-ил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата



2-(1-Азидо-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)-4-((2R)-5-(трет-бутокси)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5-оксопентил)фенил 1-азидо-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадекан-18-оат (900 мг, 0,79 ммоль) растворяли в EtOAc (30 мл), перемешивали с палладиевым катализатором (10% масс. на углероде, 100 мг) и гидрировали (1 атм) при к.т. в течение 4 часов. Катализатор отфильтровывали и все летучие вещества удаляли в вакууме с получением 2-(1-амино-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)-4-((2R)-5-(трет-бутокси)-2-((трет-бутоксикарбонил) амино)-4-метил-5-оксопентил)фенил 1-амино-14,17-диметил-12, 15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадекан-18-оата (815 мг, 96% выход), который использовали сразу же без дальнейшей очистки. ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{51}H_{88}N_8O_{17}$ $[M+H]^+$ 1085,62, найдено 1085,95.

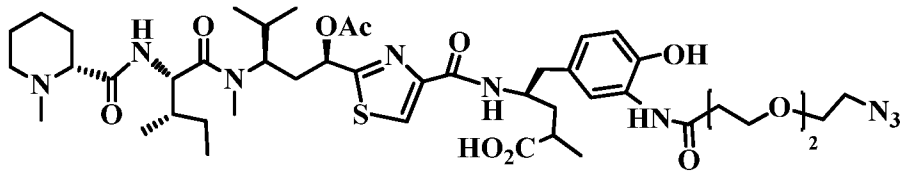
К диамин (810 мг, 0,75 ммоль) и 2,3-бис (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)янтарной кислоте (231 мг, 0,75 ммоль) в DMA (10 мл), добавляли EDC (1,25 г, 6,51 ммоль) и DIPEA (0,35 мл, 2,0 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке SiO_2, элюируя $EtOAc/CH_2Cl_2$ (от 1: 5 до 1: 1), с получением указанного в заголовке соединения (844 мг, выход 83%, чистота ~ 95% по данным ВЭЖХ).). МС ЭСИ m/z вычислено для $C_{63}H_{92}N_{10}O_{23}$ $[M+H]^+$ 1357,63, найдено 1357,95.

Пример 150. Синтез (2R)-1-(22,23-бис (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-3,6,39,42-тетраметил-2,5, 8,21,24,37,40,43-октаоксо-3,4,5,6,7,8,9,10,12,13,15,16,18,19,20, 21,22,23, 24,25,26,27,29, 30,32,33,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44-гексатриаконтагидро-2H-бензо [b] [1,14,17,20,31,34,37, 4,7,10,23,28,41,44] гептаоксагептаазациклогексатетраконтин-46-ил)-4-карбоксипентан-2-аминия



(4R)-Терт-бутил 5-(22,23-бис (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-3,6,39,42-тетраметил-2,5, 8,21,24,37,40,43-октаоксо-3,4,5,6,7,8,9,10,12,13,15,16,18,19,20,21,22,23 24,25,26,27, 29,30,32,33,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44-гексатриаконтагидро-2H-бензо[b][1,14,17,20,31,34, 37,4,7,10,23,28,41,44] гептаоксагептаазациклогексатетраконтин-46-ил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноат (840 мг, 0,62 ммоль) растворяли в смеси CH_2Cl_2 (6 мл) и ТФК (TFA) (4 мл). Смесь перемешивали в течение ночи, разбавляли толуолом (10 мл), упаривали с получением указанного в заголовке соединения (7,43 г, выход 100%, чистота ~ 91% по данным ВЭЖХ), которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. МС ЭСИ m/z рассч. $C_{54}H_{76}N_{10}O_{21}$ $[M+H]^+$ 1200,51, найдено 1200,95.

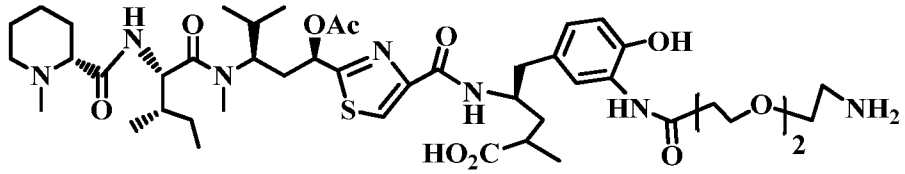
Пример 151. Синтез (4R)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N, 3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2- карбоксамидо) пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(3-(3-(2-(2-азидоэтокси)этокси) пропанамидо)-4-гидроксифенил)-2-метилпентановой кислоты.



К раствору (4R)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(3-амино-4-гидроксифенил)-2-метилпентановой кислоты (Huang Y. et al, Med Chem. #44, 249th ACS National Meeting, Denver, CO, Mar. 22~26, 2015; WO2014009774) (100 мг, 0,131 ммоль) в смеси DMA (10 мл) и буферного раствора NaH_2PO_4 (pH 7,5, 1,0 M, 0,7 мл) добавляли 2,5-диоксопирролидин-1-ил 3-(2-(2-азидоэтокси)этокси)пропаноат (80,0 мг, 0,266 ммоль) четырьмя порциями в течение 2 часов. Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали с помощью препаративной C_{18} ВЭЖХ (3,0 × 25 см, 25 мл/мин), элюируя от 80% вода/метанол до 10% вода/метанол в течение 45 минут с получением указанного в заголовке соединения (101,5 мг, 82% выход). ЖХ-МС (ЭСИ) m/z рассч. для $C_{45}H_{70}N_9O_{11}S$ $[M+H]^+$: 944,48, найдено: 944,70.

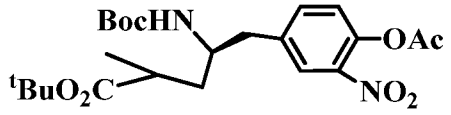
Пример 152. Синтез (4R)-4-(2-((1R, 3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N,3-диметил-2-((R)-1-метилпиперидин- 2-карбоксамидо) пентанамидо)-4-метилпентил) тиазол-4-карбоксамидо)-

5-(3-(3-(2-(2-(2-аминоэтокси))этокси) пропанамидо)-4-гидроксифенил)-2-метилпентановой кислоты.



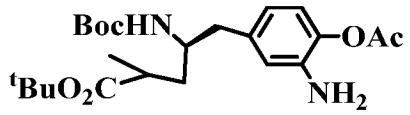
К раствору (4R)-4-(2-((1R,3R)-1-ацетокси-3-((2S,3S)-N,3- диметил-2-((R)-1-метилпиперидин-2-карбоксамидо)пентанамидо)-4-метилпентил)тиазол-4-карбоксамидо)-5-(3-(3-(2-(2-азидоэтокси)этокси)пропанамидо)-4-гидроксифенил)-2-метилпентановой кислоты (100,0 мг, 0,106 ммоль) в метаноле(25 мл), содержащем 0,1% HCl в сосуде для гидрирования добавляли Pd/C (25 мг, 10% Pd, 50% влажности). После вакуумирования воздуха в сосуде и пропускания H_2 при 35 фунт/кв.дюйм смесь встряхивали в течение 4 ч, фильтровали через целит. Фильтрат упаривали и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ C_{18} (3,0 × 25 см, 25 мл/мин), элюируя от 85% вода/метанол до 15% вода/метанол в течение 45 минут, с получением указанного в заголовке соединения (77,5 мг, 79 % выход). ЖХ-МС (ЭСИ) m/z рассч. для $C_{45}H_{72}N_7O_{11}S$ $[M+H]^+$: 918,49, найдено: 918,60.

Пример 153. Синтез (4R)-*трет*-бутил 5-(4-ацетокси-3-нитрофенил)-4-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата.



К раствору соединения **190** (107,1 мг, 0,252 ммоль) в дихлорметане (4,0 мл) при 0 °C последовательно добавляли уксусный ангидрид (0,11 мл, 1,17 ммоль) и триэтиламин (0,16 мл). Затем реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 часа, разбавляли дихлорметаном и промывали водой и насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и упаривали. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (0-15% ЭА/ПЭ), получая бесцветное масло (120,3 мг, теоретический выход). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{23}H_{35}N_2O_8$ $[M+H]^+$ 467,23, найдено 467,23.

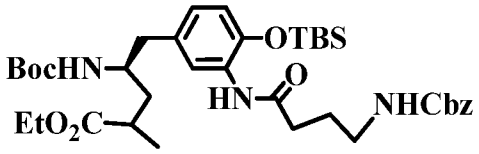
Пример 154. Синтез (4R)-*трет*-бутил 5-(4-ацетокси-3-аминофенил)-4-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата.



(4R)-Терт-бутил 5-(4-ацетокси-3-нитрофенил)-4-((трет- бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноат (120,3 мг, 0,258 ммоль) растворяли в этилацетате (5 мл) и уксусной кислоте (0,5 мл). К смеси добавляли Pd/C (10% масс., 10 мг) и смесь перемешивали в

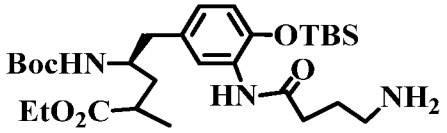
атмосфере H_2 при комнатной температуре в течение 30 минут, а затем фильтровали через слой целита, промывая этилацетатом. Фильтрат упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии (0-25% ЭА/ПЭ) с получением желтого масла (120,9 мг, теоретический выход). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{23}H_{37}N_2O_6$ $[M+H]^+$ 437,26, найдено 437,28.

Пример 155. Синтез (4R)-этил 5-(3-(4-(((бензилокси)карбонил)амино) бутанамидо)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)фенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата.



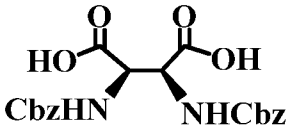
2,5-диоксопирролидин-1-ил 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутаноата (0,396 г, 1,2 ммоль) и (4R)-этил 5-(3-амино-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил) амино)-2-метилпентаноата (0,44 г, 1,2 ммоль) растворяли в EtOH (10 мл) добавляли фосфатный буферный раствор (pH=7,5, 0,1M, 2 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, а затем растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 с получением указанного в заголовке продукта (0,485 г, 70%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{31}H_{44}N_3O_8$ $[M+H]^+$: 586,31, найдено 586,31.

Пример 156. Синтез (4R)-этил 5-(3-(4-аминобутанамидо)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)фенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата.



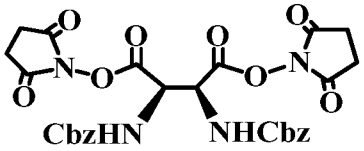
(4R)-этил 5-(3-(4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутанамидо)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)фенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноат (0,35 г, 0,5 ммоль) растворяли в MeOH (5 мл), а затем добавляли Pd/C (10% масс., 35 мг). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере H_2 в течение ночи, затем фильтровали через целит и фильтрат упаривали при пониженном давлении с получением указанного в заголовке продукта (0,22 г, выход 79%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{29}H_{52}N_3O_6Si$ $[M+H]^+$: 566,35, найдено 566,35.

Пример 157. Синтез (2R,3S)-2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино) янтарной кислоты.



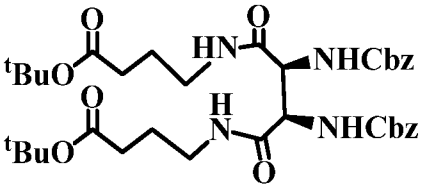
К раствору (2R,3S)-2,3-диаминоянтарной кислоты (4,03 г, 27,30 ммоль) в смеси ТГФ (250 мл) и NaH_2PO_4 (0,1 М, 250 мл, pH 8,0) добавляли бензилкарбонохлоридат (15,0 г, 88,23 ммоль) 4 порциями за 2 ч. Смесь перемешивали еще 6 ч, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя смесью H_2O/CH_3CN (1:9), содержащей 1% муравьиной кислоты, с получением указанного в заголовке соединения (8,63 г, выход 75%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{20}H_{21}N_2O_8$ $[M+H]^+$ 417,12, найдено 417,50.

Пример 158. Синтез (2R,3S)-бис(2,5-диоксопирролидин-1-ил)2,3-бис (((бензилокси)карбонил)амино)сукцината.



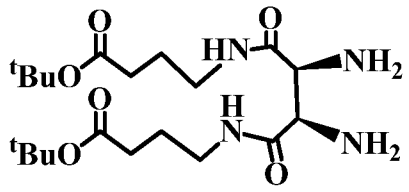
К раствору (2R,3S)-2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино) янтарной кислоты (4,25 г, 10,21 ммоль) в смеси DMA (70 мл) добавляли NHS (3,60 г, 31,30 ммоль) и EDC (7,00 г, 36,65 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя $EtOAc/CH_2Cl_2$ (1:6), с получением указанного в заголовке соединения (5,48 г, выход 88%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{28}H_{27}N_4O_{12}$ $[M+H]^+$ 611,15, найдено 611,45.

Пример 159. Синтез ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)сукцинил)бис(азанедиил))дибутаноата.



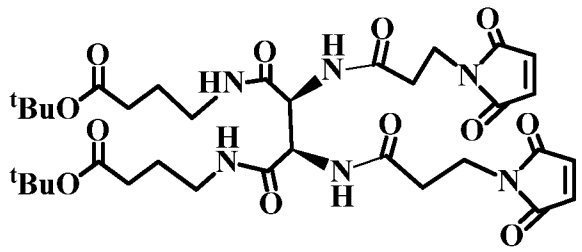
К раствору (2R,3S)-2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино) янтарной кислоты (4,25 г, 10,21 ммоль) в смеси DMA (70 мл) добавляли трет-бутил 4-аминобутаноат (3,25 г, 20,42 ммоль) и EDC (7,00 г, 36,65 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя $EtOAc/CH_2Cl_2$ (1:10), с получением указанного в заголовке соединения (6,50 г, выход 91%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{36}H_{51}N_4O_{10}$ $[M+H]^+$ 699,35, найдено 699,55.

Пример 160. Синтез ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S)-2,3-диаминосукцинил)-бис (азанедиил))дибутаноата.



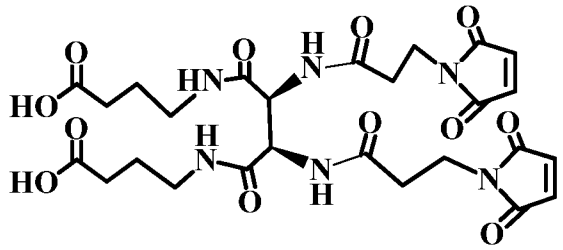
К раствору ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)сукцинил)бис(азанедиил))дибутаноата (2,50 г, 3,58 ммоль) в MeOH (100 мл) добавляли 10% Pd/C (0,30 г, 50% влажность), смесь перемешивали в атмосфере водорода при комнатной температуре в течение 18 часов. Затем Pd/C удаляли фильтрованием через целит и фильтрующий слой промывали MeOH (~ 70 мл). Фильтрат упаривали с получением продукта в виде желтой пены, которую использовали в следующей стадии без дополнительной очистки (1,54 г, выход 100%). ЭСИ: m/z: рассч. для $C_{20}H_{39}N_2O_6$ $[M+H]^+$: 431,28, найдено 431,50.

Пример 161. Синтез ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо) сукцинил)бис(азанедиил))дибутаноат.



К раствору 3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) пропановой кислоты (1,25 г, 7,39 ммоль) в смеси DMA (60 мл) добавляли ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S)-2,3-диаминосукцинил) -бис(азанедиил))дибутаноат (1,54 г, ~ 3,57 ммоль) и EDC (2,40 г, 12,56 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя EtOAc/CH_2Cl_2 (1:10), с получением указанного в заголовке соединения (2,35 г, выход 90%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{34}H_{49}N_6O_{12}$ $[M+H]^+$ 733,33, найдено 733,60.

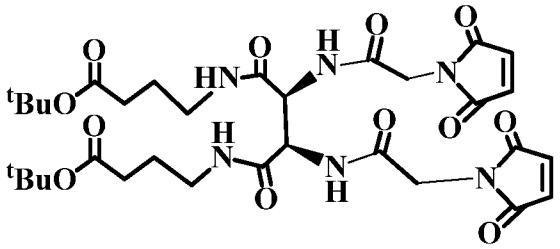
Пример 162. Синтез 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)сукцинил)бис(азанедиил))дибутановой кислоты.



К перемешиваемому раствору ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S) -2,3-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) пропанамидо)сукцинил)бис(азанедиил))дибутаноата (2,30 г, 3,14 ммоль) в 1,4-диоксане (20 мл) добавляли HCl (36%, 7,0 мл). Смесь перемешивали в

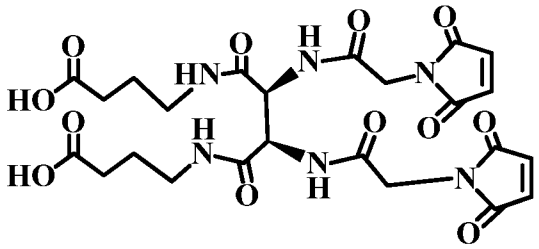
течение 30 минут, разбавляли толуолом (20 мл), упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя смесью MeOH/CH_2Cl_2 (от 1:10 до 1:4), с получением указанного в заголовке соединения (1,69 г, выход 86%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{26}H_{33}N_6O_{12}$ $[M+H]^+$ 621,21, найдено 621,70.

Пример 163. Синтез ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(2- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетамидо)сукцинил) бис(азанедиил))дибутаноата.



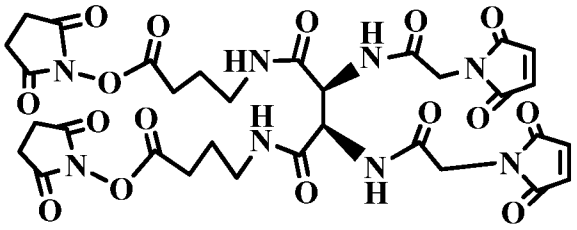
К раствору 2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) уксусной кислоты (1,12 г, 7,22 ммоль) в смеси DMA (60 мл) добавляли ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S)-2,3-диаминосукцинил) -бис(азанедиил))дибутаноат (1,54 г, ~ 3,58 ммоль) и EDC (2,40 г, 12,56 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя EtOAc/CH_2Cl_2 (1:10), с получением указанного в заголовке соединения (2,29 г, выход 91%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{32}H_{45}N_6O_{12}$ $[M+H]^+$ 704,30, найдено 704,60.

Пример 164. Синтез 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(2- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетамидо)сукцинил) бис(азанедиил))дибутановой кислоты.



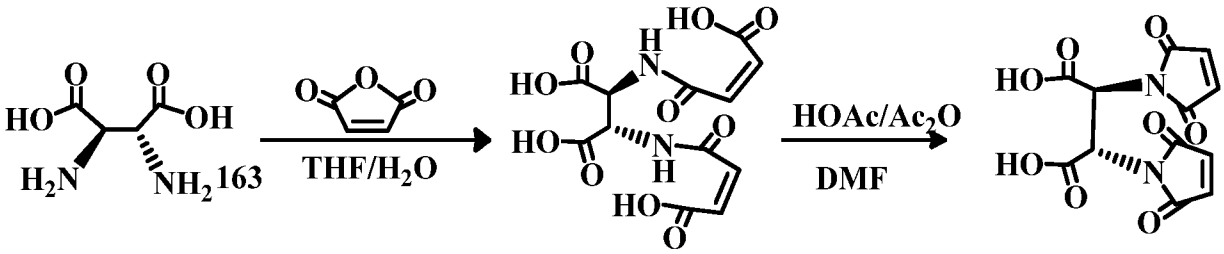
К перемешиваемому раствору ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S) -2,3-бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетамидо) сукцинил)бис(азандиил))дибутаноата (2,20 г, 3,12 ммоль) в 1,4-диоксане (20 мл) добавляли HCl (36%, 7,0 мл). Смесь перемешивали в течение 30 минут, разбавляли толуолом (20 мл), упаривали и очищали на колонке SiO_2, элюируя смесью MeOH/CH_2Cl_2 (от 1:10 до 1:4), с получением указанного в заголовке соединения (1,69 г, выход 86%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{24}H_{29}N_6O_{12}$ $[M+H]^+$ 593,18, найдено 593,40.

Пример 165. Синтез бис(2,5-диоксопирролидин-1-ил) 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис (2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H- пиррол-1-ил)ацетамидо) сукцинил)бис(азанедиил))дибутаноата.



К раствору 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(2- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетамидо)сукцинил) бис(азанедиил))дибутановой кислоты (1,10 г, 1,85 ммоль) в смеси DMA (30 мл) добавляли NHS (1-гидроксипирролидин-2,5-дион) (0,55 г, 4,78 ммоль) и EDC (1,25 г, 6,54 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя EtOAc/CH_2Cl_2 (1:10), с получением указанного в заголовке соединения (1,30 г, выход 90%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{32}H_{35}N_8O_{16}$ $[M+H]^+$ 787,21, найдено 787,60.

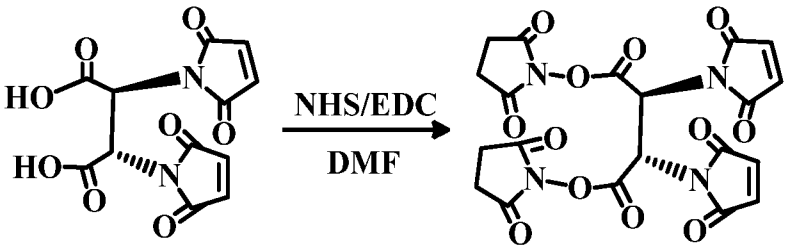
Пример 166. Синтез (2S,3S)-2,3-бис (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)янтарной кислоты.



(2R,3R)-2,3-диаминоянтарная кислота (5,00 г, 33,77 ммоль) в смеси ТГФ/H_2O/DIPEA (125 мл/125 мл/2 мл) добавляли малеиновый ангидрид (6,68 г, 68,21 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали с получением (2S,3S)-2,3-бис((Z)-3-карбоксиакриламидо)янтарной кислоты (11,05 г, выход 99%) в виде белого твердого вещества. ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{12}H_{13}N_2O_{10}$ $[M+H]^+$ 345,05, найдено 345,35.

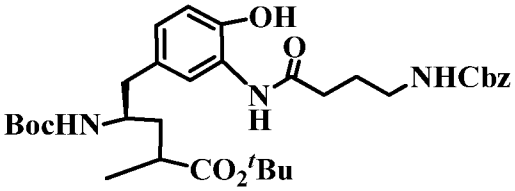
К (2S,3S)-2,3-бис((Z)-3-карбоксиакриламидо)янтарной кислоте (11,05 г, 33,43 ммоль) в смеси раствора HOAc (70 мл), ДМФА (10 мл) и толуола (50 мл) добавляли уксусный ангидрид (30 мл). Смесь перемешивали в течение 2 часов, нагревали до кипения с насадкой Дина-Старка при 100 °C в течение 6 часов, упаривали, совместно упаривали с EtOH (2 x 40 мл) и толуолом (2 x 40 мл), и очищали на колонке с SiO_2, элюируя H_2O/CH_3CN (1:10) с получением указанного в заголовке соединения (8,10 г, 78% выход). МС ЭСИ m/z рассч. для $C12_2H_9N_2O_8$ $[M+H]^+$ 309,03, найдено 309,50.

Пример 167. Синтез (2S,3S)-бис(2,5-диоксопирролидин-1-ил)2,3-бис (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)сукцината.



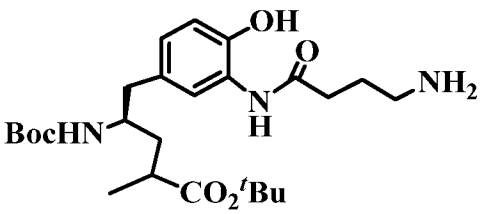
К раствору (2S,3S)-2,3-бис (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)янтарной кислоты (4,00 г, 12,98 ммоль) в смеси ДМФА (70 мл) добавляли NHS (3,60 г, 31,30 ммоль) и EDC (7,00 г, 36,65 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя EtOAc/CH_2Cl_2 (1: 6), с получением указанного в заголовке соединения (5,79 г, выход 89%, чистота ~ 96% по данным ВЭЖХ). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{20}H_{15}N_4O_{12}$ $[M+H]^+$ 503,06, найдено 503,60.

Пример 168. Синтез (4R)-трет-бутил5-(3-(4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутанамидо)-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата.



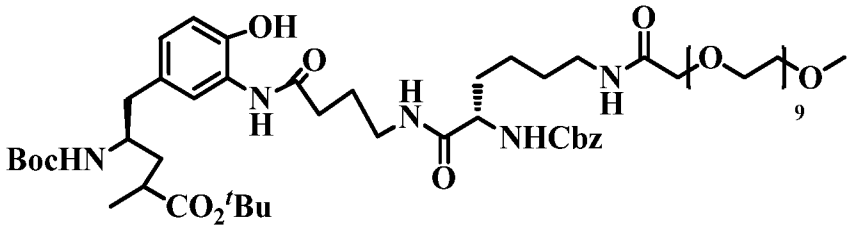
HATU (39,9 г, 105 ммоль) добавляли к раствору 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутановой кислоты (26,1 г, 110 ммоль) в ДМФА (300 мл). После перемешивания при комнатной температуре в течение 30 мин. смесь добавляли к раствору (4R)-трет-бутил 5- (3-амино-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино) -2-метилпентаноата (39,4 г, 100 ммоль) и TEA (20,2 г, 200 ммоль) в ДМФА (300 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем добавляли воду, экстрагировали EtOAc, органический слой промывали солевым раствором, сушили над Na_2SO_4. Очистка колоночной хроматографией (от 20% до 70% EA/PE) давала указанный в заголовке продукт в виде белого твердого вещества (45 г, выход 73%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{33}H_{48}N_3O_8$ $[M+H]^+$: 614,34, найдено 614,15.

Пример 169. Синтез (4R)-трет-бутил5-(3-(4-аминобутанамидо)-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата.



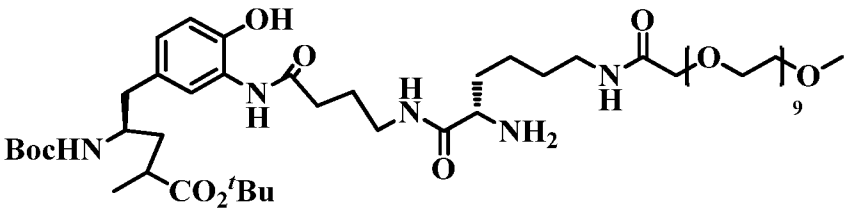
(4R)-Трет-бутил 5-(3-(4-(((бензилокси)карбонил)амино) бутанамидо)-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил) амино)-2-метилпентаноат (100 г , 163 ммоль) растворяли в метаноле (500 мл) и гидрировали (1 атм) с катализатором Pd/C (10 мас.%, 10 г) при комнатной температуре в течение ночи. Катализатор отфильтровывали и фильтрат упаривали при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения (75,8 г 97% выход) в виде коричневого пенистого твердого вещества. ^{1}H ЯМР (400 МГц, CDCl3) δ 7,11 (с, 1H), 6,83 (д, J = 10,3 Гц, 2H), 5,04 - 4,52 (м, 6H), 3,90 - 3,56 (м, 1H), 2,81 (д, J = 5,3 Гц, 2H), 2,63 (дд, J = 12,5, 6,1 Гц, 2H), 2,54-2,26 (дд, J = 14,0, 7,6 Гц, 4H), 1,94-1,64 (м, 3H), 1,44 - 1,36 (м, 18H), 1,08 (д, J = 6,9 Гц, 3H). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{25}H_{42}N_3O_6$ $[M+H]^+$: 480,30, найдено 480,59.

Пример 170. Синтез (4R)-трет-бутил 5-(3-((S)-37-(((бензилокси)карбонил) амино)-31,38-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса-32,39- диазатритетраконтанамидо)-4-гидроксифенил)-4- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата.



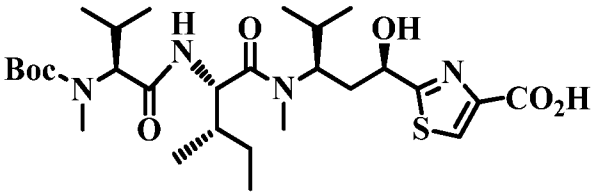
К раствору (4R)-трет-бутил 5-(3-(4-аминобутанамидо) -4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино) -2-метилпентаноата (130 г, 174 ммоль, 1,1 экв.) в ДМФА (500 мл) добавляли TEA (66 мл, 474 ммоль, 3 экв.) и HATU (72 г, 190 ммоль, 1,2 экв.) последовательно при 0 °C. Затем реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 часов. Раствор (S)-37-(((бензилокси)карбонил)амино) -31-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса-32-азаоктатриаконтан-38-овой кислоты (75,8 г, 158 ммоль, 1,0 экв.) в ДМФА (500 мл) добавляли к вышеуказанному раствору при 0 °C и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Реакционную смесь выливали в воду (4 л), водный слой экстрагировали EtOAc (3 × 500 мл), и органические слои объединяли и промывали солевым раствором (2 л), сушили над Na_2SO_4, упаривали и сырой продукт, указанный в заголовке. (190 г) использовали непосредственно в следующей стадии. ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{60}H_{100}N_5O_{20}$ $[M+H]^+$: 1210,69, найдено 1210,69.

Пример 171. Синтез (4R)-трет-бутил 5-(3-((S)-37-амино-31,38-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса-32,39- диазатритэтраконтанамидо) -4-гидроксифенил)-4- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата.



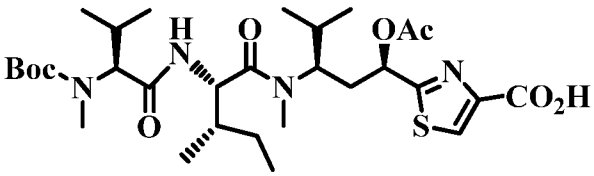
Сырой продукт (4R)-трет-бутил 5-(3-((S)-37-(((бензилокси) карбонил)амино)-31,38-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29- декаокса-32,39-диазатритетраконтанамидо)-4-гидроксифенил) -4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноат (190 г) растворяли в метаноле (900 мл) и гидрировали (1 атм) с катализатором Pd/C (10 мас.%, 19 г) при комнатной температуре в течение ночи. Катализатор отфильтровывали и фильтрат упаривали при пониженном давлении, и сырое соединение очищали на колонке SiO_2 с градиентом DCM/MeOH с получением указанного в заголовке продукта (105 г 62% выход за две стадии) в виде коричневого масла. ЭСИ: m/z: рассч. для $C_{52}H_{95}N_5O_{18}$ $[M+H]^+$: 1077,65, найдено 1077,65.

Пример 172. Синтез 2-((6S,9S,12R,14R)-9-((S)-втор-бутил)-14-гидрокси-6,12-диизопропил-2,2,5,11-тетраметил-4,7 10-триоксо-3-окса-5,8,11-триазатетрадекан-14-ил) тиазол-4-карбоновой кислоты.



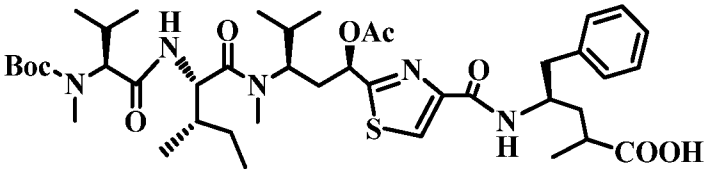
К раствору Boc-N-Me-L-Val-OH (33 мг, 0,14 ммоль) в EtOAc добавляли пентафторфенол (39 мг, 0,21 ммоль) и DCC (32 мг, 0,154 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов, а затем фильтровали через слой целита, промывая EtOAc. Фильтрат упаривали и повторно растворяли в DMA (2 мл), а затем добавляли 2-((1R,3R)-3-((2S,3S)-2-амино-N,3-диметилпентанамидо)-1-гидрокси-4-метилпентил)тиазол-4-карбоновую кислоту (52 мг, 0,14 ммоль) и DIPEA (48,5 мкл, 0,28 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов, затем упаривали и очищали с помощью ВЭЖХ с обращенной фазой (колонка C_{18}, 10-100% ацетонитрил/вода) с получением указанного в заголовке соединения (40,2 мг, 49% выход). МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{28}H_{49}N_4O_7S$ $[M+H]^+$: 585,32, найдено 585,32.

Пример 173. Синтез 2-((6S,9S,12R,14R)-9-((S)-втор-бутил)-6,12-ди- изопропил-2,2,5,11-тетраметил-4,7,10,16-тетраоксо-3,15-диокса-5,8,11-триазагептадекан-14-ил)тиазол-4-карбоновой кислоты.



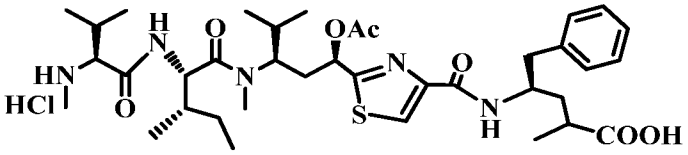
2-((6S,9S,12R,14R)-9-((S)-втор-бутил)-14-гидрокси-6,12-диизопропил-2,2,5,11-тетраметил-4,7,10-триоксо-3-окса-5,8,11-триазатетрадекан-14-ил)тиазол-4-карбоновую кислоту (40 мг, 0,069 ммоль) растворяли в пиридине (8 мл), добавляли уксусный ангидрид (20,4 мг, 0,2) ммоль) при 0 °C и реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры, и перемешивали в течение ночи. Смесь упаривали и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 с градиентом ДХМ/MeOH с получением указанного в заголовке продукта (48,1 мг, выход ~ 100%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{30}H_{51}N_4O_8S$ $[M+H]^+$ 627,33, найдено 627,33.

Пример 174. Синтез (4R)-4-(2-((6S,9S,12R,14R)-9-((S)-втор-бутил)-6,12-диизопропил-2,2,5,11-тетраметил-4,7,10,16-тетраоксо-3,15-диокса-5,8,11-триазагептадекан-14-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановой кислоты.



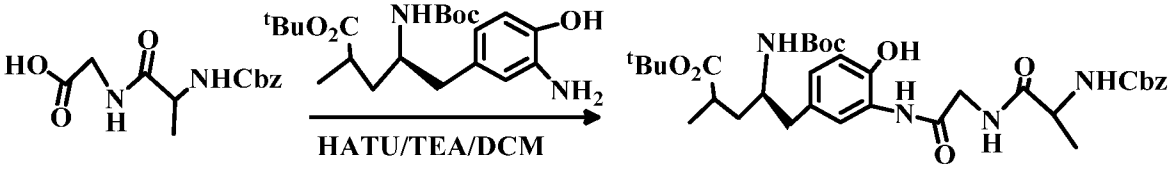
К раствору 2-((6S,9S,12R,14R)-9-((S)-втор-бутил)-6,12-диизопропил-2,2,5,11-тетраметил-4,7,10,16-тетраоксо-3,15-диокса-5,8,11-триазагептадекан-14-ил)тиазол-4-карбоновой кислоты (48,1 мг, 0,077 ммоль) в EtOAc добавляли пентафторфенол (21,2 мг, 0,115 ммоль) и DCC (17,4 мг, 0,085 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов, а затем фильтровали через слой целита, промывая EtOAc. Фильтрат упаривали и повторно растворяли в DMA (4 мл), а затем добавляли (4R)-4-амино-2-метил-5-фенилпентановую кислоту (20,7 мг, 0,1 ммоль) и DIPEA (26,8 мкл, 0,154 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов, затем упаривали и очищали с помощью ВЭЖХ с обращенной фазой (колонка C_{18}, 10-100% ацетонитрил/вода) с получением указанного в заголовке соединения (63 мг, ~100% выход). МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{42}H_{66}N_5O_9S$ $[M+H]^+$ 816,45, найдено 816,45.

Пример 175. Синтез гидрохлорида (4R)-4-(2-((3S, 6S, 9R, 11R)-6-((S)-втор-бутил)-3,9-диизопропил-8-метил-4,7,13-триоксо-12-окса-2,5,8-триазатетрадекан-11-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановой кислоты.



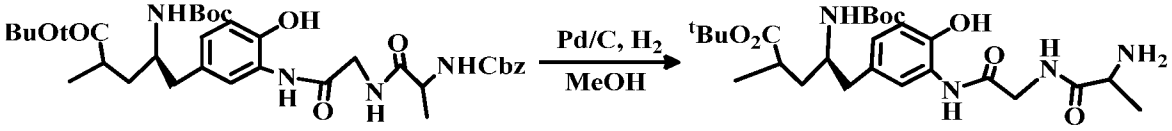
(4R)-4-(2-((6S,9S,12R,14R)-9-((S)-втор-бутил)-6,12-диизопропил-2,2,5,11-тетраметил-4, 7,10,16-тетраоксо-3,15-диокса-5,8,11-триазагептадекан-14-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метил-5-фенилпентановая кислота (60 мг, 0,073 ммоль) в этилацетате (3 мл) и соляная кислота (0,8 мл, 12 М). Смесь перемешивали в течение 30 минут и разбавляли толуолом (5 мл) и диоксаном (5 мл). Смесь упаривали и совместно упаривали досуха с диоксаном (5 мл) и толуолом (5 мл). Полученный неочищенный указанный в заголовке продукт (57,1 мг, выход 103%) использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{37}H_{58}N_5O_7S$ $[M+H]^+$ 716,40, найдено 716,60.

Пример 176. Синтез (4R)-третбутил-5-(3-(2-(2-(((бензилокси)карбонил)амино)пропанамидо)ацетамидо)-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата



2-(2-(((бензилокси)карбонил)амино)пропанамидо)уксусную кислоту (0,2 г, 0,7 ммоль), (4R)-трет-бутил-5-(3-амино-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил) амино)-2-метилпентаноат (0,19 г, 0,48 ммоль) и HATU (0,18 г, 0,48 ммоль) растворяли в ДХМ (20 мл) с последующим добавлением ТЭА (134 мкл, 0,96 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, упаривали при пониженном давлении и остаток очищали на колонке с SiO_2 с получением указанного в заголовке продукта (0,3 г, 95%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{34}H_{49}N_4O_9$ $[M+H]^+$:657,34, найдено 657,34.

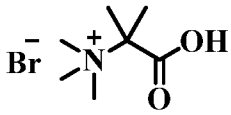
Пример 177. Синтез (4R)-трет-бутил-5-(3-(2-(2-аминопропанамидо) ацетамидо)-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил) амино)-2-метилпентаноата



В сосуд для гидрирования, Pd/C (0,1 г, 33% масс., 50% влажности) добавляли к раствору (4R)-трет-бутил-5-(3-(2-(2-(((бензилокси))карбонил)амино)пропанамидо)ацетамидо)-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата (0,3 г, 0,46 ммоль) в MeOH (10 мл). Смесь

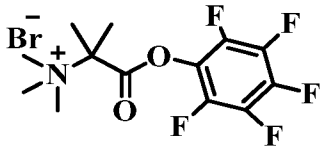
встряхивали в течение ночи при 1 атм H_2, затем фильтровали через целит (вспомогательное средство для фильтрации) и фильтрат упаривали, получая указанное в заголовке соединение (0,21 г, 87%), используемое для следующей стадии без дополнительной очистки. ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{26}H_{43}N_4O_7$ $[M+H]^+$: 523,31, найдено 523,31.

Пример 178. Синтез 2-карбокси-N,N,N-триметилпропан-2-аминийбромида.



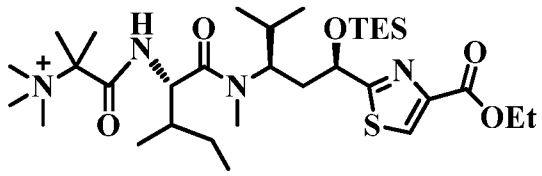
К раствору 2-бром-2-метилпропановой кислоты (3,00 г, 17,9 ммоль) в ТГФ (30 мл) добавляли триметиламин (1М раствор в ТГФ, 17,9 мл, 35,9 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Осадок собирали фильтрованием и промывали EA, получая указанное в заголовке соединение (4,00 г, теоретический выход) в виде белого твердого вещества. ЭСИ m/z рассчитано для $C_7H_{16}NO_2$ $[M+H]^+$: 146, найдено 146.

Пример 179. Синтез N,N,N,2-тетраметил-1-оксо-1-(перфторфенокси) пропан-2-аминийбромида .



К раствору 2-карбокси-N,N,N-триметилпропан-2-аминий бромида (1,55 г, 6,9 ммоль) и PFP (2,50 г, 13,8 ммоль) в DCM (20 мл) добавляли DCC (2,80 г, 13,8 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь фильтровали, и фильтрат упаривали под вакуумом с получением указанного в заголовке соединения в виде бесцветного масла, которое использовали непосредственно в следующей стадии. ЭСИ m/: рассчитано для $C_{13}H_{15}F_5NO_2$ $[M+H]^+$: 312, найдено 312.

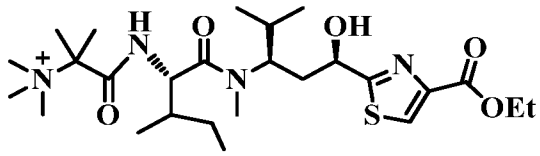
Пример 180. Синтез (5R,7R,10S)-10-(втор-бутил)-5-(4-(этоксикарбонил) тиазол-2-ил)-3,3-диэтил-7-изопропил-N,N,N,8,13-пентаметил-9,12-диоксо-4-окса-8,11-диаза-3-силатетрадекан-13-аминий.



К раствору этил 2-((1R,3R)-3-((2S)-2-амино-N, 3-диметилпентанамидо)-4-метил-1-((триэтилсилил)окси) пентил)тиазол-4-карбоксилата (1,78 г, 3,4 ммоль) и N,N,N,2-

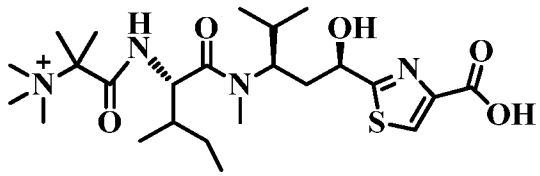
тетраметил-1-оксо-1-(перфторфенокси) пропан-2-аминийбромида (6,9 ммоль) в ДМФА (20 мл) добавляли DIPEA (1,8 мл , 10,4 ммоль) при 0 °C. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 ч, затем упаривали в вакууме и очищали на колонке с диоксидом кремния (от 100:1 до 5:1 DCM/MeOH) с получением указанного в заголовке соединения (1,20 г, выход 54%) в виде пенистого твердого вещества. ЭСИ m/z рассчитано для $C_{32}H_{61}N_4O_5SSi$ $[M+H]^+$: 642, найдено 642.

Пример 181. Синтез 1-(((2S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(этоксикарбонил)тиазол-2-ил) -1-гидрокси-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино) -3-метил-1-оксопентан-2-ил)амино)-N,N,N, 2-тетраметил-1-оксопропан-2-аминия.



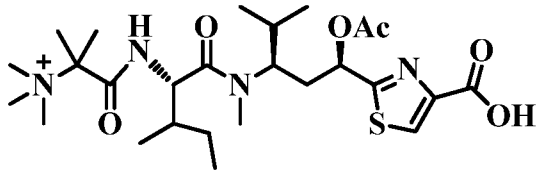
(5R,7R,10S)-10-(втор-бутил)-5-(4-(этоксикарбонил)тиазол-2-ил) -3,3-диэтил-7-изопропил-N,N,N,8,13 -пентаметил-9,12-диоксо-4-окса-8,11-диаза-3-силатетрадекан-13-аминий (1,20 г, 1,86 ммоль) растворяли в AcOH/ТГФ/H_2O (об./об./об. 3:1:1,20 мл) и перемешивали в течение ночи. Затем реакционную смесь упаривали под вакуумом и использовали в следующей стадии без дополнительной очистки. ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{26}H_{47}N_4O_5S$ $[M+H]^+$: 527, найдено 527.

Пример 182. Синтез 1-(((2S)-1-(((1R,3R)-1-(4-карбокситиазол-2-ил) -1-гидрокси-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)- 3-метил-1-оксопентан-2-ил)амино)-N,N,N, 2-тетраметил-1-оксопропан-2-аминий.



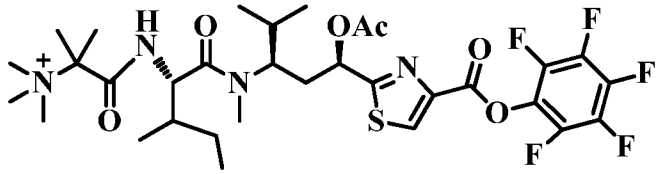
К раствору 1-(((2S)-1-(((1R,3R)-1-(4-(этоксикарбонил) тиазол-2-ил)-1-гидрокси-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино) -3-метил-1-оксопентан-2-ил)амино)-N,N,N, 2-тетраметил-1-оксопропан-2-аминия (1,86 ммоль) в 1,4-диоксане (10 мл) добавляли 1 н. NaOH (9,3 мл) Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч и упаривали под вакуумом. Остаток разбавляли водой (10 мл) и добавляли 1 н. HCl, чтобы довести pH до ~ 4. Смесь упаривали под вакуумом, получая указанное в заголовке соединение в виде твердого вещества белого цвета. ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{24}H_{43}N_4O_5S$ $[M+H]^+$: 499, найдено 499.

Пример 183. Синтез 1-(((2S)-1-(((1R,3R)-1-ацетокси-1- (4-карбокситиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)- 3-метил-1-оксопентан-2-ил)амино)-N,N,N, 2-тетраметил-1-оксопропан-2-аминия.



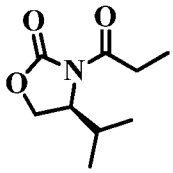
К раствору 1-(((2S)-1-(((1R,3R)-1-(4-карбокситиазол-2-ил) -1-гидрокси-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино) -3-метил-1-оксопентан-2-ил)амино)-N,N,N, 2-тетраметил-1-оксопропан-2-аминия (1,86 ммоль) в пиридине (10 мл) добавляли уксусный ангидрид (884 мкл, 9,36 ммоль) при 0 °C. Затем реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь упаривали под вакуумом, а затем разбавляли H_2O (20 мл) и промывали EA (3×10 мл). Водный слой упаривали под вакуумом, получая указанное в заголовке соединение в виде твердого вещества желтого цвета. ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{26}H_{45}N_4O_6S$ $[M+H]^+$: 541, найдено 541.

Пример 184. Синтез 1-(((2S)-1-(((1R,3R)-1-ацетокси-4-метил-1-(4-((перфторфенокси)карбонил)тиазол-2-ил)пентан-3-ил)(метил) амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)амино)-N,N,N, 2-тетраметил-1-оксопропан-2-аминия.



К раствору 1-(((2S)-1-(((1R,3R)-1-ацетокси-1- (4-карбокситиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино) -3-метил-1-оксопентан-2-ил)амино)-N,N,N,2-тетраметил-1- оксопропан-2-аминия (150 мг, 0,277 ммоль) и пентафторфенола (76,5 мг, 0,415 ммоль) в DCM (2 мл) добавляли EDCI (63,7 мг, 0,33 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов и упаривали под вакуумом с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого масла. ЭСИ m/z рассчитано для $C_{32}H_{44}F_5N_4O_6S$ $[M+H]^+$: 707, найдено 707.

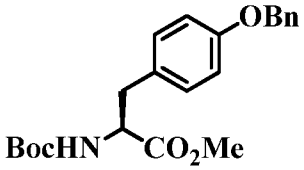
Пример 185. Синтез (S)-4-изопропил-3-пропионилоксазолидин-2-она.



К раствору (S)-4-изопропилоксазолидин-2-она (400 г, 3,09 моль, 1,0 экв.) в безводном ТГФ (8 л) при около -70 °C добавляли н-BuLi (2,5 М в гексанах, 1,36 л, 3,4 моль, 1,1 экв.) в атмосфере N_2. Смесь перемешивали при -70 °C в течение 1 ч, а затем медленно добавляли

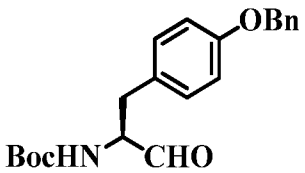
пропионилхлорид (315 г, 3,4 моль, 1,1 экв.). После завершения добавления смесь перемешивали при -70 °C в течение еще 1 ч и постепенно нагревали до комнатной температуры. Реакционную смесь добавляли к ледяному насыщенному раствору хлорида аммония (7 л) и экстрагировали EtOAc (3 × 2 л). Объединенные органические слои промывали водой (2 л) и солевым раствором (2 л), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали, упаривали и очищали колоночной хроматографией (3 кг силикагеля, чистый петролейный эфир до 5:1 петролейный эфир/EtOAc). с получением указанного в заголовке соединения в виде бесцветного масла (500 г, выход 87%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_9H_{16}NO_3$ $[M+H]^+$186,10, найдено 186,10.

Пример 186. Синтез (S)-метил-3-(4-(бензилокси)фенил)-2- ((трет-бутоксикарбонил)амино)пропаноата.



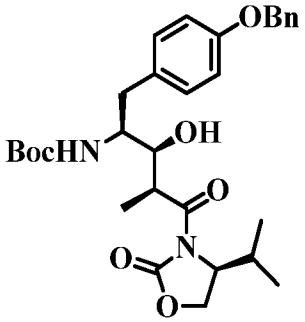
К смеси Boc-L-Tyr-OMe (900 г, 3,05 моль, 1,0 экв.), K_2CO_3 (632 г, 4,58 моль, 1,5 экв.) и KI (20 г, 0,150 моль, 0,05 экв.) в ацетонитриле (3 л) медленно добавляли бензилбромид (547 г, 3,20 моль, 1,05 экв.). Затем смесь кипятили с обратным холодильником и контролировали с помощью ТСХ. Через 4 часа реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и фильтровали. Фильтрат упаривали и разбавляли водой (3 л) и EtOAc (3,5 л), органическую фазу отделяли и водную фазу экстрагировали EtOAc (2 × 1,5 л). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (2 × 3 л), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали, упаривали. Сырые продукты из 4 партий по 900 г и одной партии из 400 г исходного материала объединили и весили 5,4 кг, а затем растирали с петролейным эфиром в 18 партиях (4 л петролейного эфира на партию). Твердое вещество собирали, фильтрат упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (гексаны/EtOAc, 4:1). Все фракции объединяли с получением всего 4,85 кг белого твердого вещества (выход 93%) указанного в заголовке соединения. ^{1}H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 7,43 (д, J = 7,0 Гц, 2H), 7,38 (т, J = 7,4 Гц, 2H), 7,32 (т, J = 7,2 Гц, 1H), 7,04 (д, J = 8,5 Гц, 2H), 6,91 (д, J = 8,6 Гц, 2H), 5,04 (с, 2H), 4,55 (д, J = 6,9 Гц, 1H), 3,71 (с, 3H), 3,03 (кд, J = 14,0, 5,8 Гц, 2H), 1,43 (с, 9H). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{22}H_{28}NO_5$ $[M+H]^+$: 386,19, найдено 386,19.

Пример 187. Синтез (S)-трет-бутил(1-(4-(бензилокси)фенил)-3-оксопропан-2-ил)карбамата.



К раствору (S)-метил 3-(4-(бензилокси)фенил)-2- ((трет-бутоксикарбонил)амино)пропаноата (288 г, 0,74 моль, 1,0 экв.) в безводном дихлорметане (2 л) при температуре - 78 °C был добавлен DIBAL (1,5 M в толуоле, 1,0 л, 2,0 экв.) медленно. После завершения добавления перемешивание продолжали в течение 2 часов. И реакционную смесь выливали в ледяную воду (2 л). Добавляли 2 н. HCl (2 л) для растворения образовавшегося белого осадка. Органическую фазу отделяли, а водную фазу экстрагировали дихлорметаном (2 × 500 мл). Объединенную органическую фазу промывали 2 н. HCl (500 мл) и водой (500 мл), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и упаривали. Сырой продукт растворяли в дихлорметане (1 л), наносили на колонку (1 кг силикагеля) и элюировали дихлорметаном. Элюирующий раствор упаривали и растирали с PE/EtOAc с получением белого твердого вещества указанного в заголовке соединения (152 г, выход 57%). ^{1}H ЯМР (500 МГц, CDCl3) δ 9,65 (с, 1H), 7,45 (д, J = 7,1 Гц, 2H), 7,41 (т, J = 7,4 Гц, 2H), 7,35 (т, J = 7,1 Гц, 1H), 7,11 (д, J = 8,6 Гц, 2H), 6,95 (д, J = 8,6 Гц, 2H), 5,07 (с, 2H), 4,42 (дд, J = 12,4, 6,1 Гц, 1H), 3,09 (д , J = 6,2 Гц, 2H), 1,46 (с, 9H). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{21}H_{26}NO_4$ [M+H]+: 356,18, найдено 356,19. Продукт избыточного восстановления спирт также собирали из колонки (65 г).

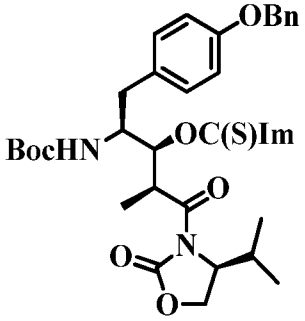
Пример 188. Синтез трет-бутил ((2S,3S,4S)-1-(4-(бензилокси)фенил) -3-гидрокси-5-((S)-4-изопропил-2-оксооксазолидин-3-ил)-4 -метил-5-оксопентан-2-ил)карбамата.



К раствору (S)-4-изопропил-3-пропионилоксазолидин-2-она (92,6 г, 0,50 моль, 1,1 экв.) в безводном дихлорметане (1,5 л) добавляли DIPEA (70,5 г, 0,54 моль, 1,2 экв.) при комнатной температуре. Смесь охлаждали до -10 °C и добавляли *н*-Bu_2BOTf (1,0 M в дихлорметане, 500 мл, 1,1 экв.) в атмосфере N_2. Во время добавления температуру реакционной смеси поддерживали ниже 0 °C. Затем реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 1 часа и затем охлаждали до -78 °C, к которой добавляли по каплям раствор (S)-4-изопропил-3-пропионилоксазолидин-2-она (161 г, 0,45 моль, 1,0 экв.) в

дихлорметане (1 л) . Во время добавления температуру реакционной смеси поддерживали ниже 0 °C. Смесь перемешивали при -78 °C в течение 2 часов, а затем медленно нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Добавляли PBS (0,1 M, pH 7,0, 2 л). После разделения фаз водную фазу дополнительно экстрагировали дихлорметаном (2 × 500 мл). Объединенные органические слои сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и упаривали. Сырой продукт повторно растворяли в метаноле (2 л) и охлаждали до 0 °C, затем обрабатывали H_2O_2 (30% водный раствор, 500 мл) и перемешивали в течение 1 часа. Метанол удаляли на роторном испарителе и добавляли воду (3 л). Полученную смесь экстрагировали дихлорметаном (3 × 800 мл). Объединенные органические слои промывали водой (500 мл), насыщенным $NaHCO_3$ (500 мл) и солевым раствором (500 мл), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и упаривали. Остаток смешивали с 400 г силикагеля и очищали колоночной хроматографией (2 кг силикагеля, чистый PE до 5: 1 PE/EtOAc) с получением указанного в заголовке соединения в виде пенистого твердого вещества (150 г, выход 61%). ^{1}H ЯМР (400 МГц, CDCl3) δ 7,36 (ддд, *J* = 24,2, 14,2, 7,1 Гц, 5H), 7,12 (д, *J* = 8,4 Гц, 2H), 6,90 (д, *J* = 8,5 Гц, 2H), 5,02 (с, 2H), 4,69 (д, *J* = 9,0 Гц, 1H), 4,45 (д, *J* = 4,1 Гц, 1H), 4,33 (т, *J* = 8,4 Гц, 1H), 4,15 (д, *J* = 8,6 Гц , 1H), 3,90 (дд, *J* = 16,6, 8,0 Гц, 1H), 3,85 - 3,77 (м, 2H), 2,81 (д, *J* = 7,6 Гц, 2H), 2,27 (дд, *J* = 11,4, 6,7 Гц, 1H), 1,35 (с, 9H), 0,89 (дд, *J* = 14,3, 6,9 Гц, 6H). МС ЭСИ m/z вычислено для $C_{30}H_{41}N_2O_7$ $[M+H]^+$ 541,28, найдено 541,30.

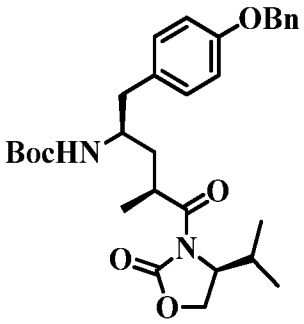
Пример 189. Синтез O-((2S,3S,4S)-5-(4-(бензилокси)фенил)-4- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-1-((S) -4-изопропил-2-оксооксазолидин- 3-ил) -2-метил-1-оксопентан-3-ил)1H-имидазол-1-карботиоата.



Смесь трет-бутил ((2S,3S,4S)-1-(4-(бензилокси)фенил) -3-гидрокси-5-((S)-4-изопропил-2-оксооксазолидин-3-ил)- 4-метил-5-оксопентан-2-ил)карбамата (200 г, 0,37 моль, 1,0 экв.) и 1,1'-тиокарбонилдиимидазола (198 г, 1,11 моль, 3,0 экв.) в безводном ТГФ (3,5 л) кипятили с обратным холодильником 8 ч. После этого добавляли еще 1,1'-тиокарбонилдиимидазол (65 г, 0,37 моль, 1,0 экв.) и смесь кипятили с обратным холодильником в течение ночи. ТГФ удаляли на роторном испарителе и остаток смешивали с 500 г силикагеля и очищали колоночной хроматографией (2 кг силикагеля,

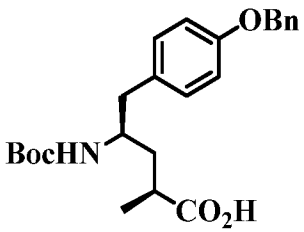
чистый PE до 3: 1 PE/EtOAc) с получением указанного в заголовке соединения в виде желтой пены (170 г, выход 83%). ^{1}H ЯМР (400 МГц, CDCl3) δ 8,41 (с, 1H), 7,67 (с, 1H), 7,36 (дт, *J* = 16,0, 6,9 Гц, 6H), 7,09 (с, 1H), 7,05 (д, *J* = 8,4 Гц, 2H), 6,86 (д, *J* = 8,4 Гц, 2H), 6,32 (д, *J* = 9,5 Гц, 1H), 5,01 (с, 2H), 4,56 - 4,43 (м, 2H), 4,32 (ддд, *J* = 16,2, 15,6, 7,8 Гц, 3H), 4,19 (д, *J* = 8,7 Гц, 1H), 2,96 (дд, *J* = 14,6, 4,4 Гц, 1H), 2,49 (дд, *J* = 14,5, 10,5 Гц, 1H), 2,29 (тд, *J* = 13,4, 6,7 Гц, 1H), 1,73 (с, 1H), 1,29 (с, 9H), 0,91 (дд, *J* = 13,9, 6,9 Гц, 6H). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{34}H_{43}N_4O_7S$ $[M+H]^+$ 651,27, найдено 651,39.

Пример 190. Синтез трет-бутил ((2R,4S)-1-(4-(бензилокси)фенил)-5-((S) -4-изопропил-2-оксооксазолидин-3-ил)-4-метил-5-оксопентан -2-ил)карбамата.



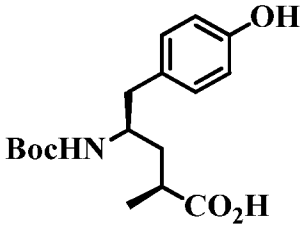
К раствору O-((2S,3S,4S)-5-(4-(бензилокси)фенил)-4- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-1-((S)-4-изопропил-2- оксооксазолидин-3-ил)-2-метил-1-оксопентан-3-ил) 1H-имидазол-1-карботиоата (210 г, 0,323 моль, 1,0 экв.) в безводном толуоле (3 л) добавляли по очереди *н*-Bu_3SnH (182 г, 0,646 моль, 2,0 экв.) и азодиизобутиронитрила (0,5 г, 3,23 ммоль, 0,1 экв.). Смесь кипятили с обратным холодильником в течение 1,0 ч, а затем упаривали. Остаток смешивали с 500 г силикагеля и очищали колоночной хроматографией (2 кг силикагеля, чистый PE до 5: 1 PE/ EtOAc) с получением указанного в заголовке соединения в виде белой пены (141 г, выход 83%). ^{1}H ЯМР (400 МГц, CDCl3) δ 7,36 (ддд, *J* = 24,5, 14,5, 7,1 Гц, 5H), 7,08 (д, *J* = 8,5 Гц, 2H), 6,90 (д, *J* = 8,5 Гц, 2H), 5,04 (д, *J* = 5,1 Гц, 2H), 4,48 (д, *J* = 4,2 Гц, 1H), 4,33 (т, *J* = 8,4 Гц, 1H), 4,22 (д, *J* = 9,7 Гц, 1H), 4,15 (д , *J* = 8,8 Гц, 1H), 3,81 (с, 2H), 2,73 (дд, *J* = 14,1, 5,9 Гц, 1H), 2,61 (дд, *J* = 14,0, 7,2 Гц, 1H), 2,29 (дд, *J* = 13,5, 6,8 Гц, 1H), 2,11 - 2,00 (м, 1H), 1,60 (дд, *J* = 15,2, 6,2 Гц, 2H), 1,35 (с, 9H), 1,20 (д, *J* = 6,9 Гц, 3H), 0,89 (дд, *J* = 14,0, 6,9 Гц, 6H). МС ЭСИ m/z вычислено для $C_{30}H_{41}N_2O_6$ $[M+H]^+$ 525,28, найдено 525,37.

Пример 191. Синтез (2S,4R)-5-(4-(бензилокси)фенил)-4- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентановой кислоты.



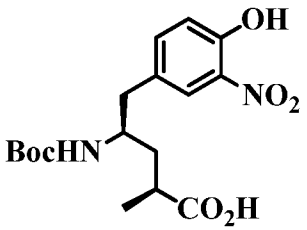
К раствору трет-бутил ((2R,4S)-1-(4-(бензилокси)фенил)-5-((S) -4-изопропил-2-оксооксазолидин-3-ил)-4-метил-5 -оксопентан-2-ил)карбамата (208 г, 0,39 моль, 1,0 экв.) в ТГФ (2,1 л) и воде (700 мл) добавляли LiOH (23,7 г, 0,99 ммоль, 2,5 экв.) в H_2O_2 (30% -ный водный раствор, 336 мл, 2,97 моль, 7,6 экв.) при 0 °C. После перемешивания при 0 °C в течение 3 ч добавляли раствор бисульфита натрия (1,5 М, 2 л) для гашения реакции и по каплям добавляли 2 н. HCl до достижения pH 4. Затем реакционную смесь экстрагировали EtOAc (3 × 800 мл). Раствор EtOAc промывали водой (500 мл) и солевым раствором (500 мл), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и упаривали. Остаток смешивали с силикагелем (400 г) и очищали колоночной хроматографией (2 кг силикагеля, чистый PE до 3: 1 PE/EtOAc) с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества (158 г, выход 96%). ^{1}H ЯМР (400 МГц, CDCl3) δ 7,46-7,28 (м, 5H), 7,07 (д, J = 7,7 Гц, 2H), 6,91 (д, J = 7,8 Гц, 2H), 5,04 (с, 2H), 4,52 (д, J = 8,5 Гц, 1H), 3,87 (д, J = 41,8 Гц, 1H), 2,82 - 2,43 (м, 3H), 1,85 (т, J = 12,2 Гц, 1H), 1,41 (с, 9H) , 1,17 (д, J = 6,9 Гц, 3H). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{24}H_{32}NO_5$ $[M+H]^+$414,22, найдено 414,21.

Пример 192. Синтез (2S,4R)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-5- (4-гидроксифенил)-2-метилпентановой кислоты.



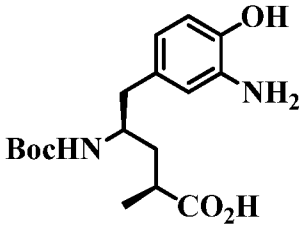
Смесь (2S,4R)-5-(4-(бензилокси)фенил)-4- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентановой кислоты (158 г, 0,38 моль, 1,0 экв.) и Pd/C (10%, 15 г) в метаноле (1,5 л) гидрировали при давлении H_2 1 атм в течение 16 ч, а затем фильтровали через целит (вспомогательное фильтрующее средство). Фильтрат упаривали с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества (123 г, выход> 100%). ^{1}H ЯМР (400 МГц, CDCl3) δ 7,00 (д, J = 7,5 Гц, 2H), 6,80 (с, 2H), 4,51 (д, J = 9,0 Гц, 1H), 3,88 (с, 1H), 2,66 (дд , J = 65,6, 22,6 Гц, 4H), 1,88 (т, J = 12,2 Гц, 1H), 1,42 (с, 9H), 1,14 (д, J = 6,6 Гц, 3H). МС ЭСИ m/z рассчитано для $C_{17}H_{26}NO_5$ $[M+H]^+$: 324,17, найдено 324,16.

Пример 193. Синтез (2S,4R)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-5- (4-гидрокси-3-нитрофенил)-2-метилпентановой кислоты.



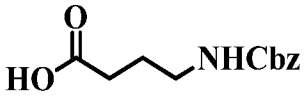
К раствору (2S,4R)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-5- (4-гидроксифенил)-2-метилпентановой кислоты (113 г, 0,35 моль, 1,0 экв.) в ТГФ (1,5 л) по каплям добавляли *трет*-BuONO (360 г, 3,5 моль, 10,0 экв.) и перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч, затем смешивали с силикагелем (300 г) и упаривали, загружали в колонку (1,5 кг силикагеля) и элюировали чистым PE, 5:1 PE/EtOAc и 2:1 PE/EtOAc с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества (85 г, выход 61%). ^{1}H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 12,00 (с, 1H), 10,68 (с, 1H), 7,67 (с, 1H), 7,34 (д, *J* = 8,4 Гц, 1H), 7,03 (д, *J* = 8,4 Гц. , 1H), 6,69 (д, *J* = 8,9 Гц, 1H), 3,56 (д, *J* = 3,8 Гц, 1H), 2,67 (дд, *J* = 13,5, 5,1 Гц, 1H), 2,41 (дд, *J* = 13,8, 6,6 Гц, 1H), 1,78 - 1,65 (м, 1H), 1,27 (с, 9H), 1,18 (с, 1H), 1,05 (д, *J* = 7,1 Гц, 3H). МС ЭСИ m/z вычислено для $C_{17}H_{25}N_2O_7$ $[M+H]^+$ 369,15, найдено 369,14.

Пример 194. Синтез (2S,4R)-5-(3-амино-4-гидроксифенил)-4- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентановой кислоты.



Смесь (2S,4R)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-5- (4-гидрокси-3-нитрофенил)-2-метилпентановой кислоты (51,6 г, 0,14 моль, 1,0 экв.) и Pd/C (10 мас.%, 5 г) в метаноле (500 мл) гидрировали (1 атм H_2) при комнатной температуре в течение 2 ч, а затем фильтровали через целит (вспомогательное фильтрующее средство). Фильтрат упаривали с получением указанного в заголовке соединения в виде коричневой пены (43,8 г, выход 93%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{17}H_{27}N_2O_5$ $[M+H]^+$ 339,18, найдено 339,17.

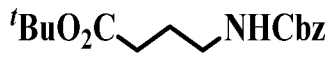
Пример 195. Синтез 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутановой кислоты.



К раствору NaOH (23,3 г, 0,58 моль 2,0 экв.) в воде (140 мл) добавляли 4-аминобутановую кислоту (30,0 г, 0,29 моль 1,0 экв.) и ТГФ (60 мл) при -20 °C, затем по каплям добавляли CbzCl (54 мл, 0,38 моль 1,3 экв.) в ТГФ (57 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч, затем упаривали и промывали

EtOAc (4 × 100 мл). К водному раствору добавляли концентрированную соляную кислоту до достижения pH 3. Раствор экстрагировали EA (4 × 150 мл, 2 × 100 мл), и объединенную органическую фазу промывали солевым раствором, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и упаривали с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества (48,3 г , 70,3%). ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{12}H_{16}NO_4$ $[M+H]^+$ 238,1, найдено 238,1

Пример 296. Синтез трет-бутил 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутаноата.

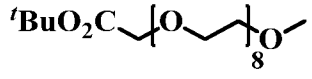


К раствору 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутановой кислоты (48,0 г, 0,2 моль, 1,0 экв.) и *трет*-BuOH (58,0 мл, 0,6 моль, 3,0 экв.) в безводном дихлорметане (480 мл) добавляли DCC (50,0 г, 0,24 моль, 1,2 экв.) и DMAP (2,5 г, 0,02 моль, 0,1 экв.) при 0 °C, затем смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Твердое вещество отфильтровывали, и фильтрат упаривали, затем разбавляли EtOAc (400 мл) и промывали 5% -ным раствором $NaHCO_3$ и солевым раствором, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали, затем упаривали. Остаток очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (PE/EtOAc = 5:1) с получением указанного в заголовке соединения в виде бесцветного масла (32,8 г, 55,1%). ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{16}H_{24}NO_4$ $[M+H]^+$ 294,2, найдено 294,2.

Пример 197. Синтез трет-бутил 4-аминобутаноата.

К раствору *трет*-бутил 4-(((бензилокси)карбонил)амино) бутаноата (29,0 г, 0,099 моль, 1,0 экв.) в MeOH (100 мл) добавляли Pd/C (2,9 г, 10% Pd/C, 50% влажность) в баллоне для гидрогенизации. Смесь встряхивали при давлении H_2 1 атм в течение ночи. Реакционную смесь фильтровали, и фильтрат упаривали с получением указанного в заголовке соединения в виде бесцветного масла (13,8 г, выход 83,7%). ЭСИ m/z: рассчитано для $C_8H_{18}NO_2$ $[M+H]^+$ 160,1, найдено 160,1.

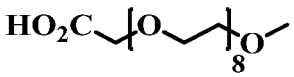
Пример 198. Синтез трет-бутил 2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаоксаоктакозан-28-оата.



NaH (60%, 24 г, 600 ммоль) добавляли к раствору монометилового эфира октаэтиленгликоля (115 г, 300 ммоль) в ТГФ (3,0 л). После перемешивания при комнатной температуре в течение 1 ч к смеси добавляли *трет*-бутил 2-бромацетат (146 г, 750 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Затем смесь разбавляли дихлорметаном (4 л) и выливали в ледяную воду (2 кг). Органическую фазу отделяли, а

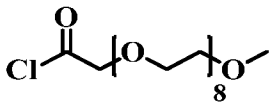
водную фазу экстрагировали дихлорметаном (1 л). Объединенные органические фазы промывали водой, сушили над безводным Na_2SO_4. Очистка колоночной хроматографией (20% EtOAc/PE, затем от чистого DCM до 5% MeOH/DCM) давала указанное в заголовке соединение в виде желтого масла (выход 108 г 72%).

Пример 199. Синтез 2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаоксаоктакозан-28-овой кислоты.



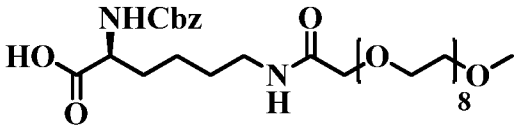
Трет-бутил 2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаоксаоктакозан-28-оат (210 г, 422 ммоль) растворяли в дихлорметане (400 мл) безводной муравьиной кислоте (1 л). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Все летучие вещества удаляли в вакууме, что давало указанное в заголовке соединение в виде желтого масла (200 г, > 100% выход).

Пример 200. Синтез 2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаоксаоктакозан-28-оилхлорида.



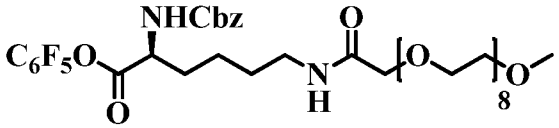
К раствору 2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаоксаоктакозан-28-овой кислоты (198 г, 422 ммоль), растворенной в дихлорметане (2,6 л), (COCl) 2 (275 мл) и ДМФА (0,5 мл) добавляли при комнатной температуре. Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Все летучие вещества удаляли в вакууме с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого масла (210 г, выход > 100%).

Пример 201. Синтез (S)-34-(((бензилокси)карбонил)амино) -28-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаокса-29-азапентатриаконтан-35-овой кислоты. .



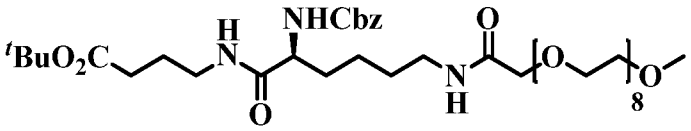
Z-L-Lys-OH (236 г, 844 ммоль), Na_2CO_3 (89,5 г, 844 ммоль) и NaOH (33,8 г, 844 ммоль) растворяли в воде (1,6 л). Смесь охлаждали до 0 °C, используя ледяную солевую баню, к которой добавляли раствор 2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаоксаоктакозан-28-оилхлорида (210 г, 422 ммоль) в ТГФ (160 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре. в течение 1 ч, а затем разбавили EtOAc (1 л). Водный слой отделяли, к которому добавляли концентрированную HCl при охлаждении льдом до достижения pH 3. После экстракции DCM органический слой промывали солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и упаривали с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого масла (290 г, выход 97%).

Пример 202. Синтез (S)-перфторфенил 34-(((бензилокси)карбонил)амино) -28-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаокса-29-азапентатриаконтан-35-оата. .



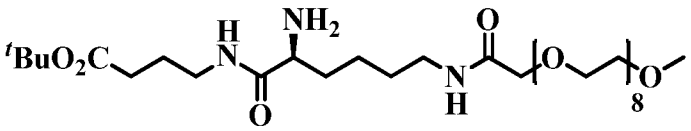
К раствору (S)-34-(((бензилокси)карбонил)амино) -28-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаокса-29-азапентатриаконтан-35-овой кислоты (183 г, 260 ммоль) в дихлорметане (2 л) добавляли пентафторфенол (95,4 г, 520 ммоль) и DIC (131 г, 1,04 моль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, а затем упаривали с получением сырого указанного в заголовке продукта (430 г).

Пример 203. Синтез (S)-трет-бутил 34-(((бензилокси)карбонил)амино) -28,35-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаокса-29,36 -диазатетраконтан-40-оата.



К раствору трет-бутил 4-аминобутаноата (62,0 г, 390 ммоль) в ДМФА (1,5 л) добавляли DIPEA (134 г, 1,04 моль) при 0 °C. (S) -перфторфенил 34 - (((бензилокси) карбонил) амино) -28-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаокса-29-азапентатриаконтан-35-оат (430 г, неочищенный) затем добавляли при 10-20 °C и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. ДМФА удаляли в вакууме, а остаток разбавляли дихлорметаном, промывали водой. Водную фазу снова экстрагировали дихлорметаном. Объединенную органическую фазу промывали 0,2 н. HCl и солевым раствором, сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и упаривали. Колоночная хроматография (от 25% EtOAc/PE до чистого EtOAc, затем от 0 до 5% MeOH/DCM) давала указанное в заголовке соединение в виде желтого масла (180 г, выход 82%).

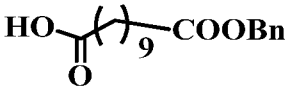
Пример 204. Синтез (S)-трет-бутил 34-амино-28,35-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаокса-29,36-диазатетраконтан-40-оата.



К раствору (S)-трет-бутил 34-(((бензилокси)карбонил)амино) -28,35-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаокса-29,36-диазатетраконтан-40-оата (78,0 г, 92,3 ммоль, 1,0 экв.) в MeOH (500 мл) добавляли Pd/C (13 г, 10% Pd/C, влажность 50%). Смесь гидрировали под давлением H_2 1 атм при комнатной температуре в течение ночи, затем профильтровали и упаривали. Остаток очищали колоночной хроматографией (от 0 до 20%

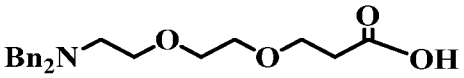
MeOH/DCM) с получением указанного в заголовке соединения в виде зеленовато-желтого масла (70,2 г, выход 92%).

Пример 205. Синтез 11-(бензилокси)-11-оксоундекановой кислоты.



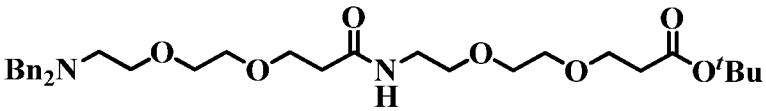
К раствору ундекандиовой кислоты (1,73 г, 8 ммоль) в ДМФА (30 мл) добавляли K_2CO_3 (1,1 г, 8 ммоль) и BnBr (1,36 г, 8 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, затем упаривали и очищали колоночной хроматографией (PE/EtOAc) с получением указанного в заголовке соединения (1,1 г, выход 45%). ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{18}H_{27}O_4$ $[M+H]^+$: 307,18, найдено 307,15.

Пример 206. Синтез 3-(2-(2-(дибензиламино)этокси)этокси)пропановой кислоты.



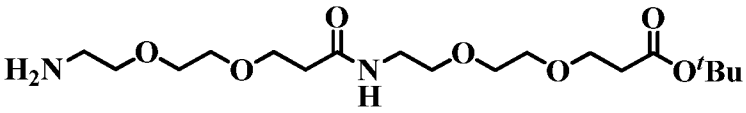
К раствору трет-бутил 3-(2-(2-(дибензиламино)этокси)этокси) пропаноата (2,00 г, 4,84 ммоль) в DCM (5 мл) добавляли HCO_2H (5 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, затем упаривали досуха и дважды упаривали совместно с DCM, а остаток помещали в насос с получением указанного в заголовке соединения (1,72 г, выход ~ 100%). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{21}H_{27}O_4$ $[M+H]^+$: 358,19, найдено 358,19.

Пример 207. Синтез трет-бутил 2-бензил-11-оксо-1-фенил-5,8,15,18-тетраокса-2,12-диазагеникозан-21-оата.



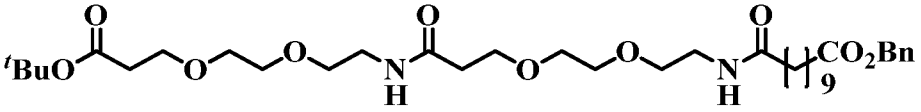
К раствору 3-(2-(2-(дибензиламино)этокси)этокси)пропановой кислоты (1,12 г, 4,83 ммоль) и трет-бутил 3-(2-(2-аминоэтокси) этокси)пропаноата (1,72 г, 4,83 ммоль) в DCM (30 мл) добавляли HATU (1,83 г, 4,83 ммоль) и TEA (0,68 мл, 4,83 ммоль) при 0 °C. Реакция была подогрета до комнатной температуры и перемешивалась в течение 1 ч, затем разбавляли 50 мл DCM и выливали в делительную воронку, содержащую 50 мл воды. Органическую фазу отделяли, промывали солевым раствором (50 мл), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и упаривали. Остаток очищали колоночной хроматографией (MeOH/DCM) с получением указанного в заголовке соединения (2,21 г, выход 80%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{32}H_{48}N_2O_7$ $[M+H]^+$: 573,35, найдено 573,35.

Пример 208. Синтез трет-бутил 1-амино-9-оксо-3,6,13,16-тетраокса-10-азанонадекан-19-оата.



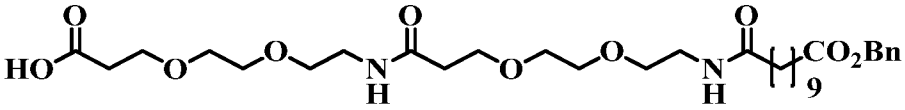
К раствору трет-бутил 2-бензил-11-оксо-1-фенил-5,8,15,18-тетраокса-2,12-диазагеникозан-21-оата (2,21 г, 3,86 ммоль) в MeOH (20 мл) добавляли Pd/C (10 мас.%, 0,2 г) в сосуд для гидрирования. Смесь перемешивали при давлении H_2 1 атм в течение ночи, фильтровали через целит (вспомогательное фильтрующее средство) и фильтрат упаривали с получением указанного в заголовке соединения (1,5 г, выход ~ 100%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{18}H_{36}N_2O_7$ $[M+H]^+$: 393,25, найдено 393,25.

Пример 209. Синтез 31-бензил-1-трет-бутил-11,21-диоксо-4,7,14,17-тетраокса-10,20-диазаентриаконтан-1,31-диоата.



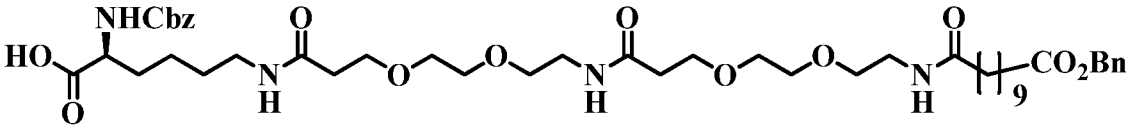
К раствору трет-бутил 1-амино-9-оксо-3,6,13,16-тетраокса-10-азанонадекан-19-оата (1,50 г, 3,86 ммоль) и 11-(бензилокси)-11-оксоундекановой кислоты (1,10 г, 3,6 ммоль) в DCM (50 мл) добавляли HATU (1,48 г, 3,9 ммоль) и TEA (0,55 мл, 3,9 ммоль) при 0 °C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, затем разбавляли с 50 мл DCM и выливали в делительную воронку, содержащую 50 мл воды. Органическую фазу отделяли, промывали солевым раствором (50 мл), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и упаривали. Остаток очищали колоночной хроматографией (MeOH/DCM) с получением указанного в заголовке соединения (1,50 г, выход 61%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{36}H_{61}N_2O_{10}$ $[M+H]^+$: 681,42, найдено 681,42.

Пример 210. Синтез 3,13,23-триоксо-1-фенил-2,17,20,27,30-пентаокса-14,24-диазатритриаконтан-33-овой кислоты.



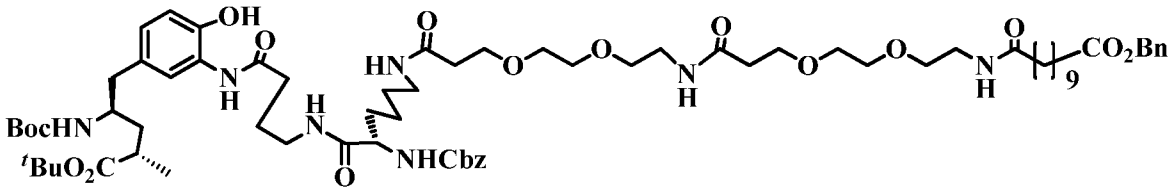
К раствору 31-бензил-1-трет-бутил-11,21-диоксо-4,7,14,17-тетраокса-10,20-диазаентриаконтан-1,31-диоата (1,50 г, 2,2 ммоль) в DCM (1 мл) добавляли ТФУ (3 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, затем упаривали досуха и дважды упаривали совместно с DCM, а остаток помещали в насос с получением указанного в заголовке соединения (0,09 г, 2,2 ммоль, сырой продукт). ЭСИ: m/z: рассч. для $C_{32}H_{53}N_2O_{10}$ $[M+H]^+$: 625,36, найдено 625,35.

Пример 211. Синтез (S)-39-(((бензилокси)карбонил)амино) -3,13,23,33-тетраоксо-1-фенил-2,17,20,27,30-пентаокса-14,24,34- триазатетраконтан-40-овой кислоты.



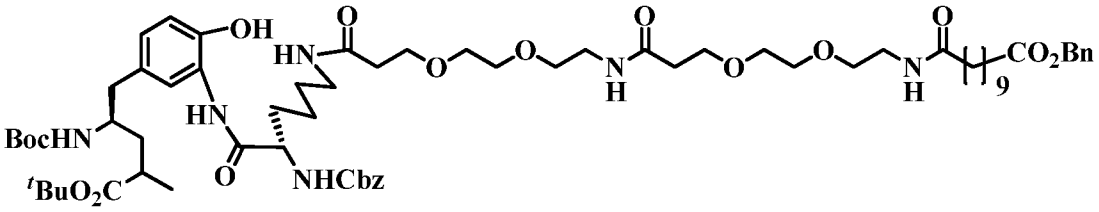
К раствору 3,13,23-триоксо-1-фенил-2,17,20,27,30-пентаокса-14,24-диазатритриаконтан-33-овой кислоты (1,50 г, 2,20 ммоль) и Z-Lys-OH (0,62 г, 2,20 ммоль) в DCM (50 мл) добавляли HATU (0,84 г, 2,20 ммоль) и TEA (0,31 мл, 2,20 ммоль) при 0 °C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, затем разбавили 50 мл DCM и вылили в делительную воронку, содержащую 100 мл воды. Органическую фазу отделяли и промывали солевым раствором (100 мл), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и упаривали. Остаток очищали колоночной хроматографией (MeOH/DCM) с получением указанного в заголовке соединения (1,00 г, выход 53%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{46}H_{71}N_4O_{13}$ $[M+H]^+$: 887,49, найдено 887,50.

Пример 212. Синтез (S)-бензил-5-((4-((5-((2R,4S)-5-(трет-бутокси)-2- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5-оксопентил) -2-гидроксифенил)амино)-4-оксобутил)карбамоил) -3,11,21,31-тетраоксо-1-фенил-2,14,17,24,27-пентаокса-4,10,20,30-тетраазахентетраконтан-41-оата



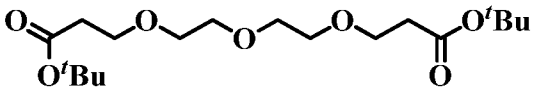
К раствору (S)-39-(((бензилокси)карбонил)амино) -3,13,23,33-тетраоксо-1-фенил-2,17,20,27,30-пентаокса-14,24,34-триазатетраконтан-40-оевой кислоты (0,50 г, 0,56 ммоль) в ДМФА (5 мл) добавляли HATU (0,21 г, 0,56 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут. После этого раствор (2S,4R)-трет-бутил 5- (3-(4-аминобутанамидо)-4-гидроксифенил)-4- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата (0,27 г, 0,56 ммоль) в ДМФА (5 мл) и TEA (85 мкл, 0,6 ммоль) добавляли последовательно при 0 °C, и реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа. Реакционную смесь выливали в делительную воронку, содержащую 100 мл воды, и дважды экстрагировали 50 мл EtOAc. Органическую фазу один раз промывали 100 мл солевого раствора, сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и упаривали. Остаток очищали колоночной хроматографией (MeOH/DCM) с получением указанного в заголовке соединения (0,40 г, выход 55%). ЭСИ: m/z: рассч. для $C_{71}H_{110}N_7O_{18}$ $[M+H]^+$: 1348,78, найдено 1348,78.

Пример 213. Синтез (S)-бензил 5-((5-((2R,4S)-5-(трет-бутокси)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5-оксопентил)-2-гидроксифенил)карбамоил)-3,11,21,31-тетраоксо-1-фенил-2,14,17,24,27-пентаокса-4,10,20,30-тетраазахентетраконтан-41-оата.



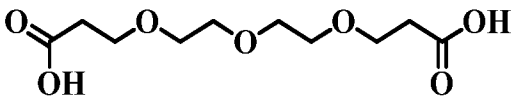
К раствору (S)-39-(((бензилокси)карбонил)амино) -3,13,23,33-тетраоксо-1-фенил-2,17,20,27,30-пентаокса-14,24,34-триазатетраконтан-40-оевой кислоты (0,50 г, 0,56 ммоль) в ДМФА (5 мл) добавляли HATU (0,21 г, 0,56 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут. После этого раствор (2S,4R)-трет-бутил 5- (3-амино-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино) -2-метилпентаноата (0,22 г, 0,56 ммоль) в ДМФА (5 мл) и TEA (85 мкл, 0,60 ммоль) добавляли при 0 °C. После перемешивания в течение 1 ч реакционную смесь выливали в делительную воронку, содержащую 100 мл воды, и дважды экстрагировали с 50 мл EtOAc. Органическую фазу отделяли и промывали 100 мл солевого раствора, сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и упаривали. Остаток очищали колоночной хроматографией (MeOH/DCM) с получением указанного в заголовке соединения (0,20 г, выход 26%). ЭСИ: m/z: рассч. для $C_{67}H_{103}N_6O_{17}$ $[M+H]^+$: 1263,73, найдено 1263,73.

Пример 214. Синтез ди-трет-бутил-3,3'-((оксибис(этан-2,1-диил))бис(окси)) дипропаноата.



К раствору диэтиленгликоля (20 г, 0,188 моль) в ТГФ (200 мл) добавляли Na (0,43 г, 0,018 моль). После перемешивания при комнатной температуре в течение 1 ч добавляли трет-бутилакрилат (48 г, 0,376 моль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 дней. Реакционную смесь упаривали в вакууме и очищали колоночной хроматографией с получением указанного в заголовке соединения (34 г, выход 50%). ЭСИ m/z рассч. для $C_{18}H_{35}O_7$ $[M+H]^+$: 363,23, найдено 363,23.

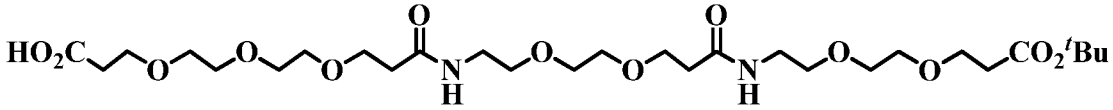
Пример 215. Синтез 3,3'-((оксибис(этан-2,1-диил))бис(окси))дипропановой кислоты.



Ди-трет-бутил 3,3'-((оксибис(этан-2,1-диил))бис(окси))дипропаноат (34 г, 0,093 моль) растворяли в муравьиной кислоте (100 мл) при комнатной температуре и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь упаривали под вакуумом, получая

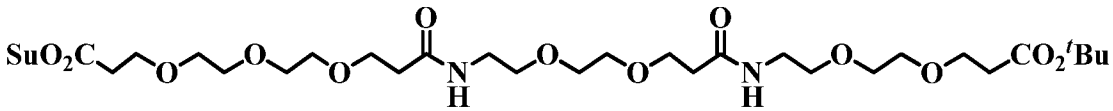
указанное в заголовке соединение. ЭСИ m/z рассч. для $C_{10}H_{19}O_7$ $[M+H]^+$: 251,11, найдено 251,11.

Пример 216. Синтез 2,2-диметил-4,14,24-триоксо-3,7,10,17,20,27,30,33-октаокса-13,23-диазагексатриаконтан-36-овой кислоты.



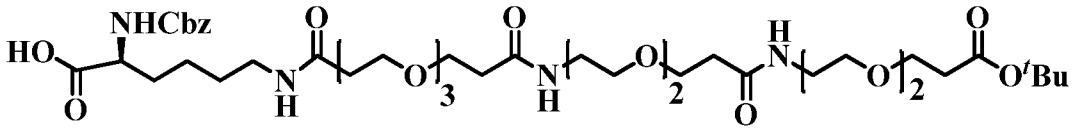
К раствору трет-бутил-1-амино-9-оксо-3,6,13,16-тетраокса-10-азанонадекан-19-оата (1,50 г, 3,82 ммоль) и 3,3'-((оксибис(этан -2,1-диил))бис(окси))дипропановой кислоты (1,90 г, 7,64 ммоль) в ДМФА (10 мл) добавляли HATU (1,45 г, 3,82 ммоль) и DIPEA (0,66 мл, 3,82 ммоль) при 0 °C. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 ч, затем разбавляли DCM (80 мл), промывали водой (10 мл), сушили над сульфатом натрия, фильтровали, упаривали и очищали колоночной хроматографией на силикагеле с получением указанного в заголовке соединения в виде бесцветной жидкости (1,75 г , Выход 75%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{28}H_{53}N_2O_{13}$ $[M+H]^+$: 625,35, найдено 625,35.

Пример 217. Синтез 1-трет-бутил 33-(2,5-диоксопирролидин-1-ил) 11,21-диоксо-4,7,14,17,24,27,30-гептаокса-10,20-диазатритриаконтана-1,33-диатом.



К раствору 2,2-диметил-4,14,24-триоксо-3,7,10,17,20,27,30,33-октаокса-13,23-диазагексатриаконтан-36-овой кислоты (1,75 г, 2,8 ммоль) в DCM (20 мл) добавляли EDCI (1,07 г, 5,6 ммоль) и NHS (0,64 г, 5,6 ммоль) при 0 ° C. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи, затем разбавляли DCM (80 мл), промывали водой (10 мл), сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали под вакуумом с получением указанного в заголовке соединения (2,00 г, ~ 100%. урожай). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{32}H_{56}N_3O_{15}$ $[M+H]^+$: 722,36, найдено 722,36.

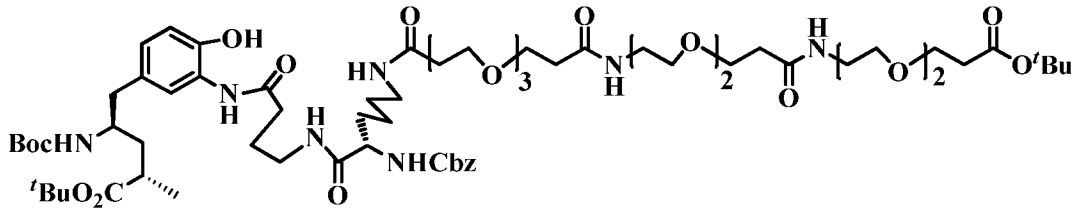
Пример 218. Синтез (S)-42-(((бензилокси)карбонил)амино) -2,2-диметил-4,14,24,36-тетраоксо-3,7,10,17,20,27,30,33- октаокса-13,23,37-триазатритэтраконтан-43-овой кислоты.



К раствору N-α-Cbz-L-лизина (1,17 г, 4,2 ммоль) в воде (10 мл) добавляли бикарбонат натрия (0,47 г, 5,6 ммоль), и реакционную смесь охлаждали до 5 °C и добавляли 1-трет-бутил 33-(2,5-диоксопирролидин-1-ил) 11,21-диоксо-4,7,14,17,24,27,30-гептаокса-10,20-диазатритриаконтан-1,33-диоат (2,00 г, 2,8 ммоль), растворенный в 1,4-

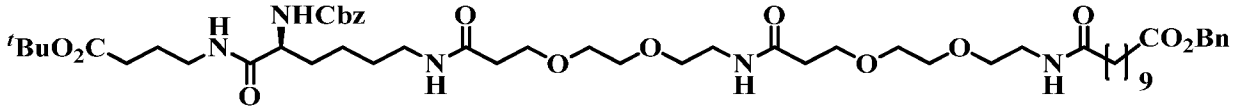
диоксане (10 мл). Реакция была подогрета до комнатной температуры. и перемешивалась в течение 1 ч, затем подкисляли до pH 3 добавлением 1 н. HCl, экстрагировали DCM (50 мл x 3). Органические экстракты промывали водой (20 мл), сушили над сульфатом натрия, фильтровали и упаривали с получением указанного в заголовке продукта (2,3 г, выход 92%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{42}H_{71}N_4O_{16}$ $[M+H]^+$: 887,48, найдено 887,48.

Пример 219. Синтез (S)-трет-бутил 5-((4-((5-((2R,4S)-5-(трет-бутокси)-2- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5-оксопентил) -2-гидроксифенил)амино)-4-оксобутил)карбамоил)-3,11,23,33-тетраоксо-1-фенил-2,14,17,20,27,30,37,40-октаокса-4,10,24,34-тетраазатритетрактан-43-оата.



К раствору (2S,4R)-трет-бутил 5-(3-(4-аминобутанамидо) -4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино) -2-метилпентаноата (1,87 г, 3,9 ммоль) и (S)-42-(((бензилокси) карбонил)амино) -2,2-диметил-4,14,24,36-тетраоксо-3,7,10,17,20,27,30,33-октаокса-13,23,37-триазатритэтраконтан-43-овой кислоты (2,3 г, 2,59 ммоль) в дихлорметане (30 мл) добавляли HATU (0,98 г, 2,59 ммоль) и DIPEA (450 мкл, 2,59 ммоль) при 0 °C. . Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. и перемешивали в течение 1 ч, затем упаривали в вакууме и очищали колоночной хроматографией на силикагеле с получением указанного в заголовке соединения (2,4 г, выход 70%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{67}H_{110}N_7O_{21}$ $[M+H]^+$: 1348,77, найдено 1348,77.

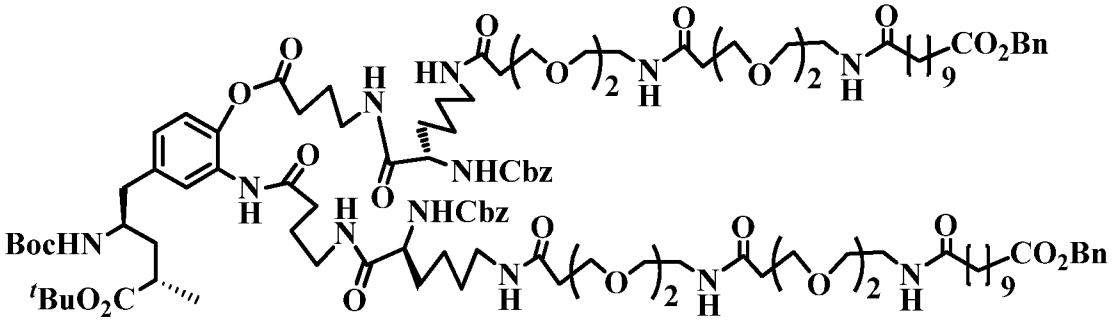
Пример 220. Синтез (S)-43-бензил 1-трет-бутил 7-(((бензилокси)карбонил) амино)-6,13,23,33-тетраоксо-16,19,26,29-тетраокса-5,12,22,32-тетраазатритэтраконтан-1,43-диоата.



(S)-39-(((бензилокси)карбонил)амино) -3,13,23,33-тетраоксо-1-фенил-2,17,20,27,30-пентаокса-14,24,34-триазатетраконтан- 40-овую кислоту (200 мг, 0,225 ммоль) растворяли в ДМФА (5 мл) и охлаждали до 0 °C, добавляли последовательно *трет*-бутил 4-аминобутаноат (71,8 мг, 0,45 ммоль) и EDC (86,2 мг, 0,45 ммоль). Реакция была подогрета до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи, выливали в ледяную воду и экстрагировали DCM (3 × 10 мл). Объединенную органическую фазу промывали водой (5 мл), солевым раствором (5 мл), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и упаривали

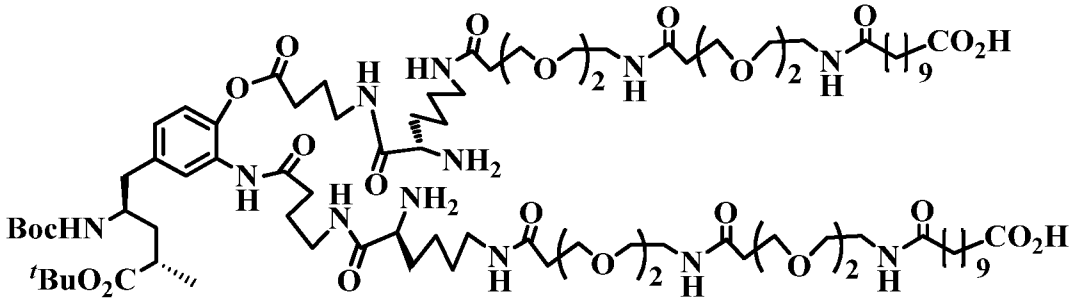
с получением указанного в заголовке соединения (231 мг, выход 100%). ЭСИ m/z рассч. для $C_{54}H_{86}N_5O_{14}$ $[M+H]^+$: 1028,61, найдено: 1028,61.

Пример 221. Синтез (S)-43-бензил 1-(2-((S)-39-(((бензилокси)карбонил) амино)-3,13,23,33,40-пентаоксо-1-фенил-2,17,20,27,30- пентаоксо-14,24,34,41-тетраазапентатетраконтанамидо)-4-((2R, 4S)-5-(трет-бутокси)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5-оксопентил)фенил) 7-(((бензилокси)карбонил)амино)-6,13,23,33-тетраоксо-16,19,26,29-тетраокса-5,12,22,32-тетраазатритетраконтан-1,43-диоата.



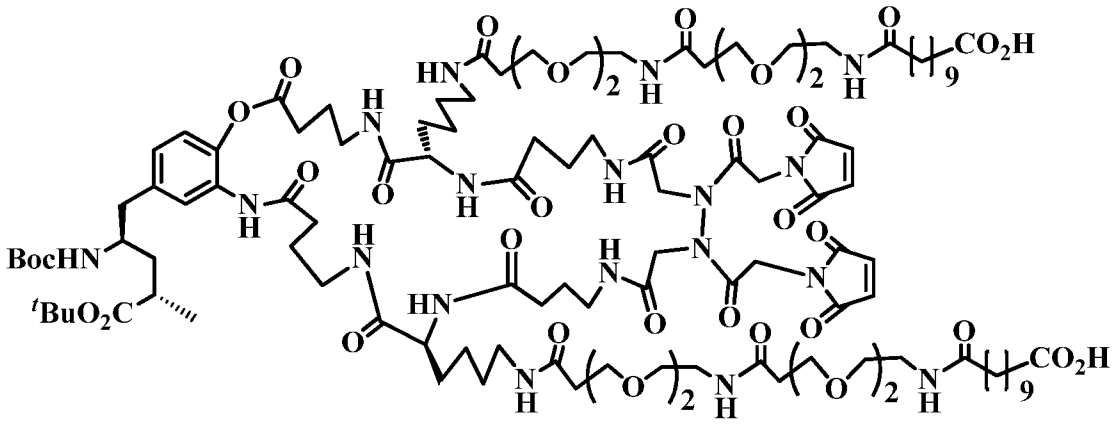
(S)-43-Бензил 1-трет-бутил 7-(((бензилокси)карбонил)амино)-6,13,23,33-тетраоксо-16,19,26,29-тетраокса-5,12,22,32-тетраазатритэтрактан-1,43-диоат (231 мг, 0,225 ммоль) растворяли в DCM (3 мл) и обрабатывали ТФУ (3 мл) при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь упаривали и повторно растворяли в ДМФА(5 мл) и охлаждали до 0 °C, (2S,4R)-трет-бутил 5- (3-амино-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноат (44 мг, 0,112 ммоль), HATU (86 мг, 0,225 ммоль) и DIPEA (39 мкл, 0,225 ммоль) добавляли последовательно. Реакция была подогрета до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи, выливали в ледяную воду и экстрагировали DCM (3 × 10 мл). Объединенную органическую фазу промывали 1 н. HCl (5 мл), водой (5 мл), солевым раствором (5 мл), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и упаривали, очищали колоночной хроматографией на силикагеле (0-5% MeOH/DCm) с получением белой пены (209 мг, выход 81%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{121}H_{185}N_{12}O_{31}$ $[M+H]^+$: 2302,32, найдено: 2302,80.

Пример 222. Синтез (S)-7-амино-1-((2-(((R)-7-амино-42-карбокси-6,13,23,33-тетраоксо-16,19,26,29-тетраокса-5,12,22,32- тетраазадотетраконтан-1-оил)окси)-5-((2R,4S)-5-(трет-бутокси)-2- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5-оксопентил)фенил) амино)-1,6,13,23,33-пентаоксо-16,19,26,29-тетраокса-5,12,22,32-тетраазатритэтраконтан-43-овой кислоты.



(S)-43-Бензил 1-(2-((S)-39-(((бензилокси)карбонил)амино)-3,13,23,33,40-пентаоксо-1- фенил-2,17,20,27,30-пентаоксо-14,24,34,41- тетраазапентатетраконтанамидо)-4-((2R,4S)-5-(трет-бутокси)-2- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5-оксопентил)фенил) 7-(((бензилокси)-карбонил)амино)-6,13,23,33-тетраоксо- 16,19,26,29-тетраокса-5,12,22,32-тетраазатритетраконтан-1,43- диоат (206 мг, 0,089 ммоль) растворяли в MeOH (5 мл) и смешивали Pd/C (10 мас.%, 20 мг), гидрировали при давлении H_2 1 атм в течение ночи. Затем смесь фильтровали через целит (вспомогательное фильтрующее средство) и фильтрат упаривали с получением указанного в заголовке соединения (166 мг, выход 100%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{91}H_{161}N_{12}O_{27}$ $[M+H]^+$: 1854,15, найдено 1854,80.

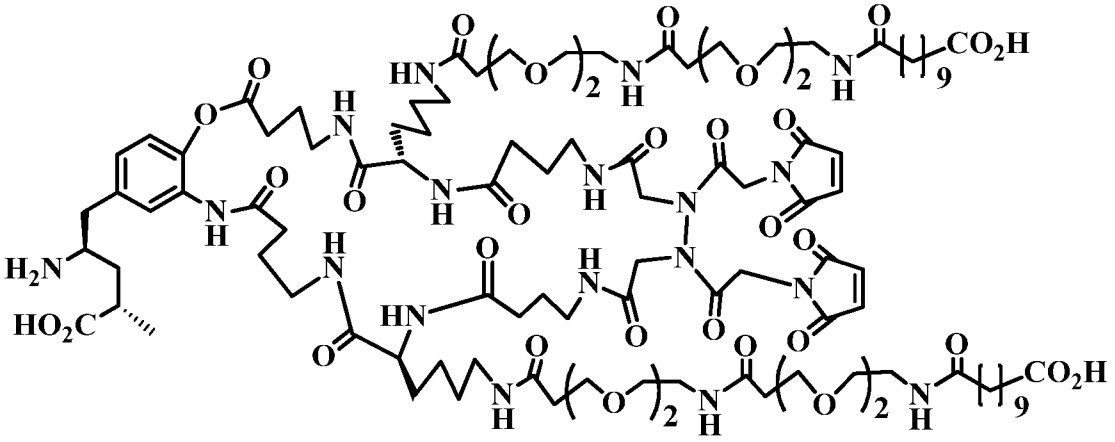
Пример 223. Синтез 1,1'-((8R,27S)-36-((2R,4S)-5-(трет-бутокси)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5-оксопентил)-17,18-бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетил)-2,7,10,15,20,25,28,33-октаоксо-3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34-дотриаконтагидро-2H-бензо[b][1,4,9,12,17,20,21,24,29,32]оксанонаазациклогексатриаконтин-8,27-диил)бис(6,16,26-триоксо-9,12,19,22-тетраокса-5,15,25-триазагексатриаконтан-36-овой кислоты).



К раствору (S)-7-амино-1-((2-(((R)-7-амино-42-карбокси-6,13,23,33-тетраоксо-16,19,26,29-тетраокса-5,12,22,32-тетраазадотетраконтан-1-оил)окси)-5-((2R,4S)-5-(трет-бутокси)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5-оксопентил)фенил)амино)-1,6,13,23,33-пентаоксо-16,19,26,29-тетраокса-5,12,22,32-тетраазатритетрактан-43-овой

кислоты (165 мг, 0,089 ммоль) в этаноле (10 мл) добавляли бис(2,5-диоксопирролидин-1-ил) 4,4'-((2,2'-(1,2-бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетил)гидразин-1,2-диил)бис(ацетил))бис(азанедиил))дибутаноат (70 мг, 0,089 ммоль) и фосфатный буфер (0,5 М, pH 7,5, 3 мл) при 0 °C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, а затем упаривали и очищали колоночной хроматографией на силикагеле (0-6% MeOH/DCM) с получением указанного в заголовке соединения 666 (130 мг, выход 62%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{115}H_{185}N_{18}O_{37}$ $[M+H]^+$: 2410,31, найдено: 2410,60.

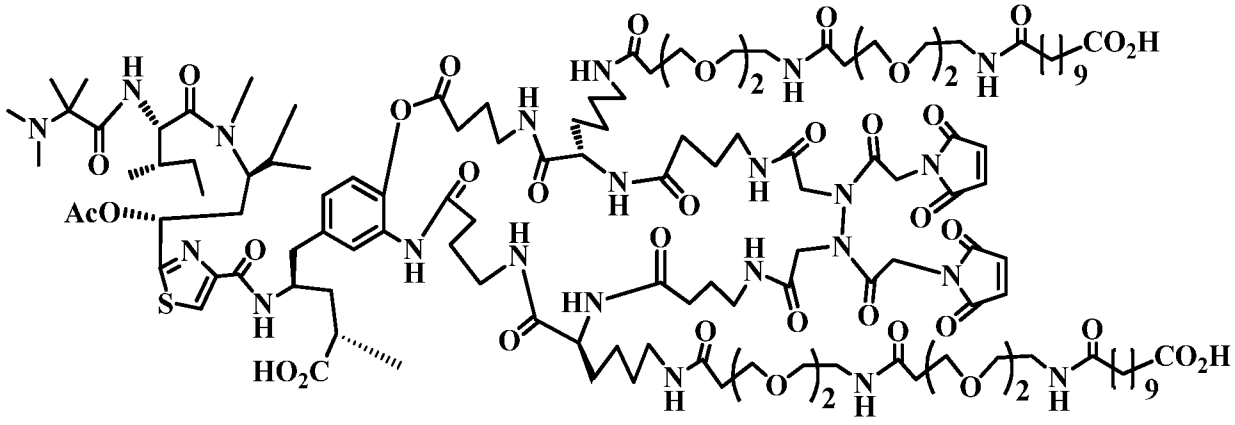
Пример 224. Синтез 1,1'-((8R,27S)-36-((2R,4S)-2-амино-4-карбоксипентил)-17,18-бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетил)-2,7,10,15,20,25,28,33-октаоксо-3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34-дотриаконтагидро-2H-бензо[b][1,4,9,12,17,20,21,24,29,32]оксанонаазациклогексатриаконтин-8,27-диил)бис(6,16,26- триоксо-9,12,19,22-тетраокса-5,15,25-триазагексатриаконтан-36-овой кислоты).



1,1'-((8R,27S)-36-((2R,4S)-5-(трет-бутокси)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5-оксопентил)-17,18-бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетил)-2,7,10,15,20,25,28,33-октаоксо-3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34-дотриаконтагидро-2H-бензо[b][1,4,9,12,17,20,21,24,29,32]оксанонаазациклогекса-триаконтин-8,27-диил)бис (6,16,26-триоксо-9,12,19,22-тетраокса-5,15,25-триазагексатриаконтан-36-овую кислоту) (128 мг, 0,053 ммоль) растворяли в DCM (3 мл) и обрабатывали ТФУ (3 мл) при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь упаривали и трижды упаривали совместно с DCM с получением указанного в заголовке соединения (120 мг, выход 100%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{106}H_{169}N_{18}O_{35}$ $[M+H]^+$: 2254,19, найдено: 2254,30.

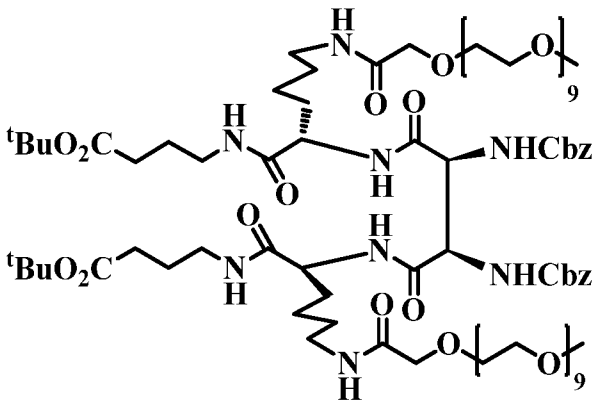
Пример 225. Синтез 1,1'-((8R,27S)-36-((2R,4S)-2-(2-((6S,9R,11R)-6-((S)-втор-бутил)-9-изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7,13-триоксо-12-окса-2,5,8-триазатетрадекан-11-

ил)тиазол-4-карбоксамидо)-4-карбоксипентил)-17,18-бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)ацетил)-2,7,10,15,20,25,28,33-октаоксо-3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34-дотриаконтагидро-2Н-бензо[b][1,4,9,12,17,20,21,24,29,32]-оксанонаазациклогексатриаконтин- 8,27-диил)бис(6,16,26-триоксо-9,12,19,22-тетраокса-5,15,25-триазагексатриаконтан-36-овой кислоты) (**B-01**).



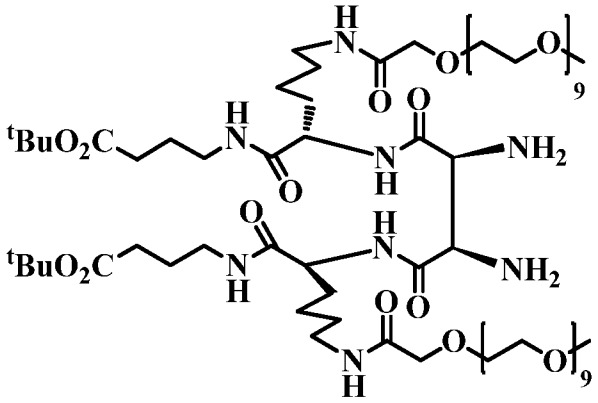
1,1'-((8R,27S)-36-((2R,4S)-2-амино-4-карбоксипентил) -17,18-бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)ацетил) -2,7,10,15,20,25,28,33-октаоксо-3,4,5,6,7,8,9,10,11,12, 13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34-дотриаконтагидро-2Н-бензо[b][1,4,9,12,17,20,21,24,29,32] оксанонаазациклогексатриаконтин-8,27-диил)бис(6,16,26-триоксо-9,12,19,22-тетраокса-5,15,25-триазагексатриаконтан-36-овуюкислоту) (120 мг, 0,053 ммоль) и соединение 41a (36,6 мг, 0,053 ммоль) растворяли в DMA (5 мл) и охлаждали до 0 °C. Добавляли DIPEA (18 мкл, 0,106 ммоль) и реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали 1 час. После упаривания реакционной смеси остаток очищали препаративной ВЭЖХ (C18, 10-90% ацетонитрил/вода) с получением указанного в заголовке соединения (**B-1**) (70 мг, выход 49%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{131}H_{209}N_{22}O_{40}S$ $[M+H]^+$: 2762,46, найдено: 2762,85.

Пример 226. Синтез (7S,10R,11S,14S)-ди-трет-бутил 10,11-бис(((бензилокси) карбонил)амино)-6,9,12,15-тетраоксо-7,14-бис(31-оксо-2,5,8,11, 14,17,20,23,26,29-декаокса-32-азагексатриаконтан-36-ил)-5,8,13,16-тетраазаикозан-1,20-диоата.



Смесь (S)-трет-бутил 37-(((бензилокси)карбонил)амино)-31,38-диоксо-2,5,8,11,14,17, 20,23,26,29-декаокса-32,39-диазатритэтраконтан-43-оата (5,98 г, 6,73 ммоль) и Pd/C (10 мас.%, 0,6 г) в метаноле (30 мл) гидрировали при давлении H_2 1 атм в течение ночи, а затем фильтровали через целит (вспомогательное фильтрующее средство). Фильтрат упаривали и повторно растворяли в ТГФ (60 мл), (2R, 3S)-2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)янтарную кислоту (1,01 г, 2,42 ммоль) и HOBt (817 мг, 6,05 ммоль) добавляли при 0 °C. Последовательно добавляли DCC (1,25 г, 6,05 ммоль) и DIPEA (2,1 мл, 12,10 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, затем разбавляли EtOAc (400 мл) и промывали 0,1н. HCl, насыщенным бикарбонатом натрия и солевым раствором, сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (DCM/MeOH 24:1) с получением указанного в заголовке соединения (5,65 г, выход 49%). МС ЭСИ m/z рассч. для $C_{90}H_{154}N_8O_{34}$ $[M+H]^+$ 1892,06, найдено 1892,60.

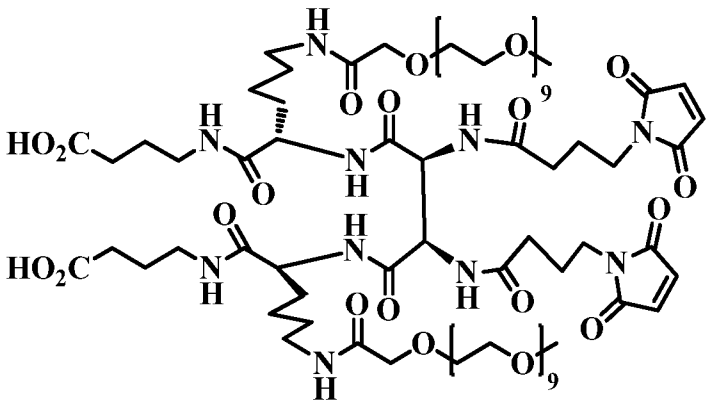
Пример 227. Синтез (7S,10R,11S,14S)-ди-трет-бутил 10,11-диамино-6,9,12,15-тетраоксо-7,14-бис(31-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса-32-азагексатриаконтан-36-ил)-5,8,13,16-тетраазаикозан-1,20-диоата.



Смесь (7S,10R,11S,14S)-ди-трет-бутил 10,11-бис(((бензилокси)карбонил)амино)-6,9,12,15-тетраоксо- 7,14-бис(31-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса-32-азагексатриаконтан-36-ил)-5,8,13,16-тетраазаикозан-1,20-диоата (3,71 г, 1,96 ммоль) и Pd/C (10 мас.%, 0,40 г) в метаноле (50 мл) гидрировали при давлении H_2 1 атм в течение

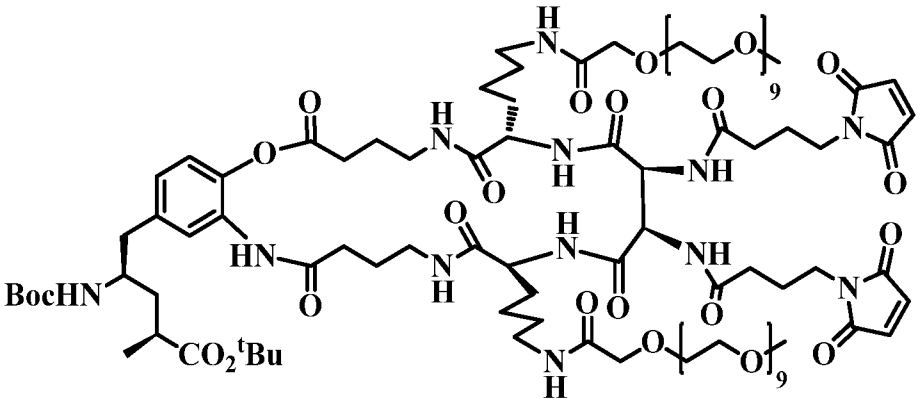
ночи и затем фильтровали через целит (вспомогательное фильтрующее средство). Фильтрат упаривали с получением указанного в заголовке соединения (3,18 г, выход 100%). МС ЭСИ m/z рассч. для $C_{74}H_{142}N_8O_{30}$ $[M+H]^+$ 1623,98, найдено 1624,50.

Пример 228. Синтез (7S,10R,11S,14S)-10,11-бис(4- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-6,9,12,15-тетраоксо-7,14-бис(31-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса- 32-азагексатриаконтан-36-ил)-5,8,13,16-тетраазаикозан-1,20- диовой кислоты.



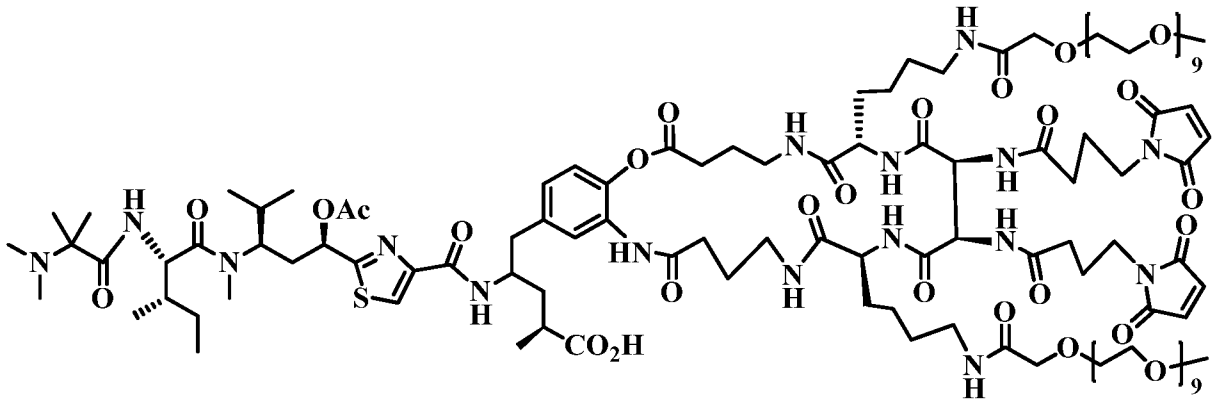
К раствору (7S,10R,11S,14S)-ди-трет-бутил 10,11-диамино-6,9,12,15-тетраоксо-7,14-бис(31-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса-32-азагексатриаконтан-36-ил)-5,8,13,16-тетраазаикозан-1,20-диоата (315 мг, 0,194 ммоль) в DMA (10 мл) добавляли EDC (150 мг, 0,785 ммоль) и 4-малеидобутановую кислоту (72 мг, 0,57 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (MeOH/DCM, 1:4) с получением масла (329 мг, выход 87%), которое растворяли в дихлорметане (25 мл) и обрабатывали с ТФУ (5 мл) при комнатной температуре в течение 1 ч, а затем упаривали с получением указанного в заголовке соединения (309 мг, выход 99%). МС ЭСИ m/z рассч. для $C_{82}H_{140}N_{10}O_{36}$ $[M+H]^+$ 1841,94, найдено 1842,50.

Пример 229. Синтез (2S,4R)-трет-бутил 5-((8S,11S,12R,15S)-11,12-бис(4- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-2,7,10,13,16,21-гексаоксо-8,15-бис(31-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса-32-азагексатриаконтан-36-ил)-3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22-икозагидро-2H-бензо[b][1,4,9,12,17,20]оксапентаазациклотетракозин-24-ил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата.



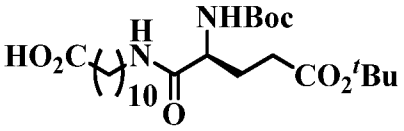
Смешанный раствор (7S,10R,11S,14S)-10,11-бис(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-6,9,12,15-тетраоксо-7,14-бис(31-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса- 32-азагексатриаконтан-36-ил)-5,8,13,16-тетраазаикозан-1,20-диовой кислоты (154 мг, 0,0837 ммоль) и (2S,4R)-трет-бутил 5- (3-амино-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата (33 мг, 0,0837 ммоль) в ДМФА (6 мл) охлаждали до 0 °C и последовательно добавляли HATU (64 мг, 0,167 ммоль) и TEA (46 мкл, 0,335 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч, затем разбавляли водой (100 мл) и экстрагировали EtOAc (3 × 100 мл). Раствор EtOAc промывали солевым раствором, сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (6:1 DCM/MeOH) с получением указанного в заголовке соединения (95 мг, выход 52%). МС ЭСИ m/z рассч. для $C_{103}H_{170}N_{12}O_{39}$ $[M+H]^+$2200,17, найдено 2200,90.

Пример 230. Синтез (2S,4S)-5-((8S,11S,12R,15S)-11,12-бис(4- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо) -2,7,10,13,16,21-гексаоксо-8,15-бис(31-оксо-2,5,8,11,14, 17,20,23,26,29-декаокса-32 -азагексатриаконтан-36-ил) -3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22-икозагидро- 2H-бензо[b][1,4,9,12,17,20] оксапентаазациклотетракозин-24-ил)-4-(2-((6S,9R,11R)-6-((S)- втор-бутил)-9-изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7,13-триоксо-12-окса-2,5,8-триазатетрадекан-11-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2- метилпентановаяой кислоты (**B-02**).



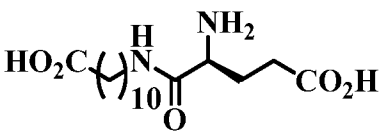
К раствору (2S,4R)-трет-бутил 5-((8S,11S,12R,15S)-11,12-бис(4- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо) -2,7,10,13,16,21-гексаоксо-8,15-бис(31-оксо-2,5,8,11,14, 17,20,23,26,29-декаокса-32-азагексатриаконтан-36-ил) -3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19, 20,21, 22- икозагидро-2H-бензо[b][1,4,9,12,17,20] оксапентаазациклотетракозин-24-ил)-4- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата (98 мг, 0,045 ммоль) в дихлорметане (3 мл) добавляли ТФУ (6 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, а затем упаривали и повторно растворяли в DMA (1 мл), 2-((6S,9R,11R)-6-((S)-втор-бутил)-9-изопропил-2,3,3, 8-тетраметил-4,7,13-триоксо-12-окса-2,5,8-триазатетрадекан-11-ил)тиазол-4-карбоксилат (31 мг, 0,045 ммоль) и DIPEA (12 мкл, 0,068 ммоль) были добавлены. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 90 мин, затем упаривали и очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (колонка C18, 10-100% ацетонитрил/вода) с получением указанного в заголовке соединения (**B-2**) (36,2 мг, выход 62%). МС ЭСИ m/z вычислено для $C_{119}H_{194}N_{16}O_{42}S$ $[M+H]^+$ 1276,66, найдено 1276,65.

Пример 231. Синтез (S)-11-(5-(трет-бутокси)-2-((трет-бутоксикарбонил) амино)-5-оксопентанамидо)ундекановой кислоты.



К раствору Boc-Glu(OtBu)-OH (0,50 г, 1,65 ммоль) в ДМФА (10 мл) добавляли HATU (0,69 г, 1,82 ммоль) и TEA (0,26 мл, 1,82 ммоль). После перемешивания в течение 30 минут добавляли раствор 11-аминоундекановой кислоты (0,33 г, 1,65 ммоль) в ДМФА(10 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, затем выливали в делительную воронку, содержащую 200 мл 1 н. HCl, и экстрагировали DCM (3 × 50 мл). Органическую фазу один раз промывали 100 мл солевого раствора, затем сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и упаривали. Остаток очищали колоночной хроматографией (MeOH/DCM) с получением указанного в заголовке соединения (1,0 г, выход> 100%). ЭСИ: m/z: рассч. для $C_{25}H_{47}N_2O_7$ $[M+H]^+$: 487,33, найдено 487,34.

Пример 232. Синтез (S)-11-(2-амино-4-карбоксибутанамидо)ундекановой кислоты.



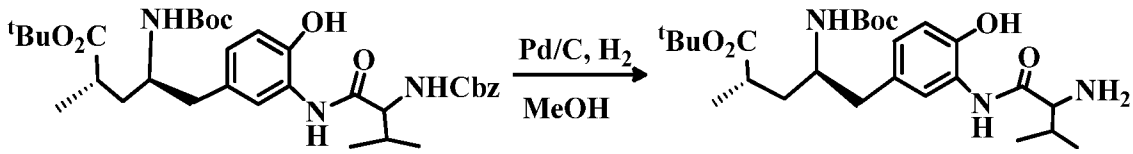
К раствору (S)-11-(5-(трет-бутокси)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-5-оксопентанамидо)ундекановой кислоты (1,0 г, ~ 2,05 ммоль) в DCM (20 мл) добавляли ТФУ (5 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30

минут, затем упаривали досуха и дважды сушили с DCM. Наконец, помещали в вакуум насоса, получают указанное в заголовке соединение (0,68 г, ~ 2,06 ммоль, выход ~ 100%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{16}H_{31}N_2O_5$ $[M+H]^+$: 331,22, найдено 331,22.

Пример 233. Синтез (2S,4R)-трет-бутил5-(3-(2-(((бензилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата.

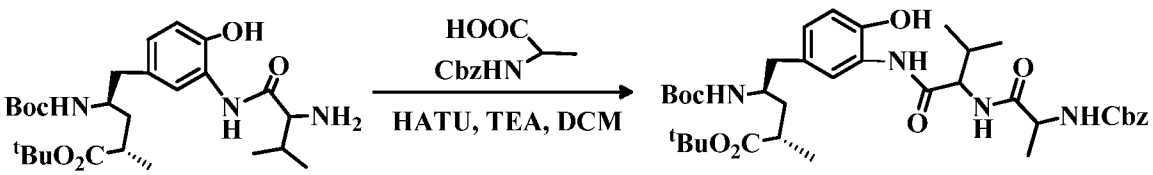
(2S,4R)-трет-бутил 5-(3-амино-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноат (0,2 г, 0,51 ммоль), 2-(((бензилокси)карбонил)амино)-3-метилбутановую кислоту (0,13 г, 0,51 ммоль), HATU (0,20 г, 0,51 ммоль) растворяли в ДХМ (20 мл) с последующим добавлением ТЭА (110 мкл, 0,8 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Затем растворитель удаляли при пониженном давлении и очищали на колонке с SiO_2 с получением указанного в заголовке продукта (0,30 г, 91%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{34}H_{50}N_3O_8$ $[M+H]^+$: 628,35, найдено 628,45.

Пример 234. Синтез (2S,4R)-трет-бутил5-(3-(2-амино-3-метилбутанамидо)-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата.



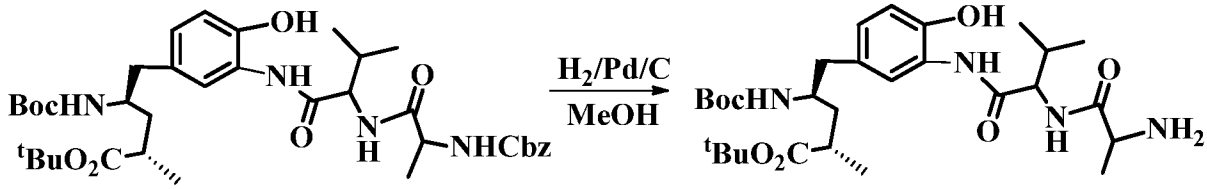
В сосуде для гидрирования, добавляли Pd/C (0,1 г, 33% масс., 50% влажность) к раствору (2S,4R)-трет-бутил 5-(3-(2-(((бензилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата (0,29 г, 0,46 ммоль) в MeOH (10 мл). Смесь встряхивали в течение ночи при 1 атм H_2, затем фильтровали через целит (вспомогательный фильтр). Фильтрат упаривали с получением указанного в заголовке соединения (0,23 г, ~100%) и использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{26}H_{44}N_3O_6$ $[M+H]^+$:494,64, найдено 494,75.

Пример 235. Синтез (2S,4R)-трет-бутил5-(3-(2-(2-(((бензилокси) карбонил) амино)пропанамидо)-3-метилбутанамидо)-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата.



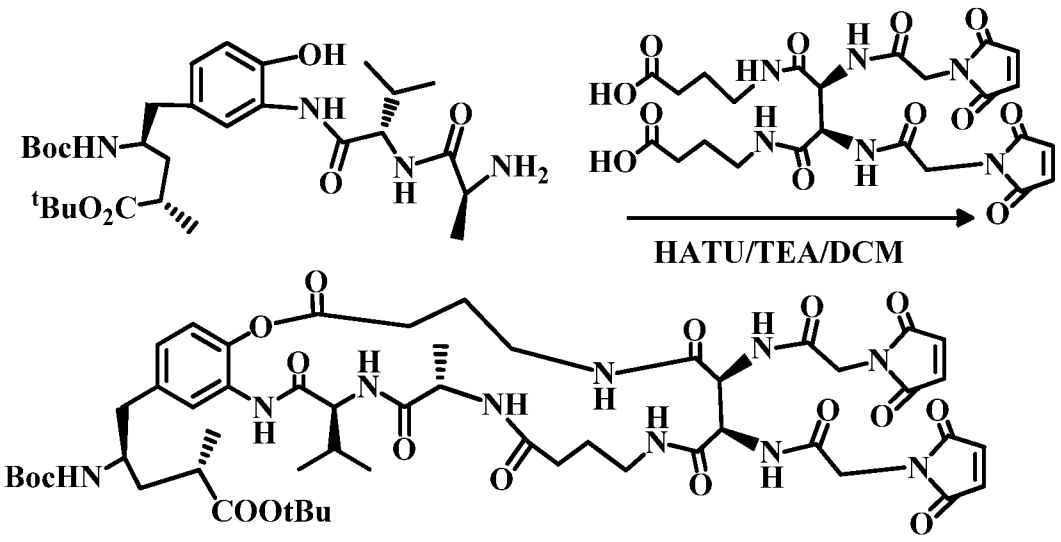
(2S,4R)-трет-бутил 5-(3-(2-амино-3-метилбутанамидо)-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноат (0,23 г, 0,46 ммоль) 2-(((бензилокси)карбонил)аминопропановую кислоту (0,10 г, 0,46 ммоль) и HATU (0,18 г, 0,46 ммоль) растворяли в DCM (20 мл) с последующим добавлением TEA (110 мкл, 0,8 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, упаривали при пониженном давлении и очищали на колонке с SiO_2 с получением указанного в заголовке продукта (0,3 г, 95%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{37}H_{55}N_4O_9$ $[M+H]^+$: 699,39, найдено 699,50.

Пример 236. Синтез (2S,4R)-трет-бутил5-(3-(2-(2-аминопропанамидо)-3-метилбутанамидо)-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата



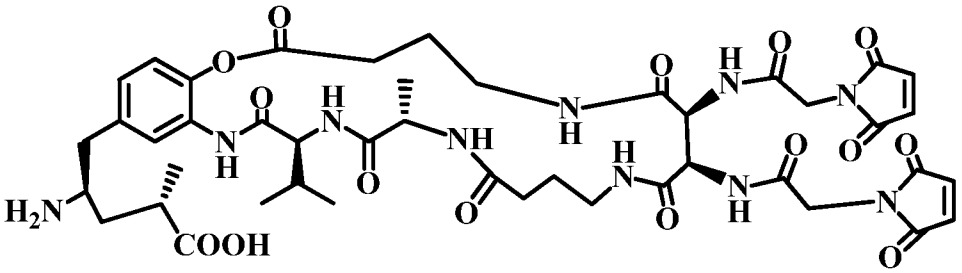
В сосуде для гидрирования Pd/C (0,1 г, 33% масс., 50% влажность) добавляли к раствору (2S,4R)-трет-бутил5-(3-(2-(2-(((бензилокси)) карбонил)амино) пропанамидо)-3-метилбутанамидо)-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата (0,3 г, 0,43 ммоль) в MeOH (10 мл). Смесь встряхивали в течение ночи при 1 атм H_2, затем фильтровали через целит (вспомогательное средство для фильтрации), фильтрат упаривали, получая указанное в заголовке соединение (0,22 г, 93%), которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{29}H_{49}N_4O_7$ $[M+H]^+$: 565,35, найдено 565,60.

Пример 237. Синтез (2S,4R)-трет-бутил 5-((3S,6S,14R,15S)-14,15-бис(2- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетамидо)-3- изопропил-6-метил-2,5,8,13,16,21-гексаоксо-2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12, 13,14,15,16,17,18,19,20,21-икозагидро-1H-бензо[b] [1,4,7,10,15,20]оксапента-азациклотетракозин-25-ил)-4- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата.



(2S,4R)-трет-бутил 5-(3-((S)-2-((S)-2-аминопропанамидо)-3- метилбутанамидо)-4-гидроксифенил)-4- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноат (0,150 г, 0,27 ммоль), 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетамидо)сукцинил)бис(азандиил))-дибутановую кислоту (0,160 г, 0,270 ммоль), HATU (0,402 г, 1,080 ммоль) растворяли в DCM (30 мл) с последующим добавлением TEA (55 мкл, 0,4 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, упаривали при пониженном давлении и очищали на колонке с SiO_2 (элюируя EtOAc/DCM, от 1:10 до 1:5) с получением указанного в заголовке продукта (0,187 г, 62%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{53}H_{73}N_{10}O_{17}$ $[M+H]^+$: 1121,51, найдено 1121,75.

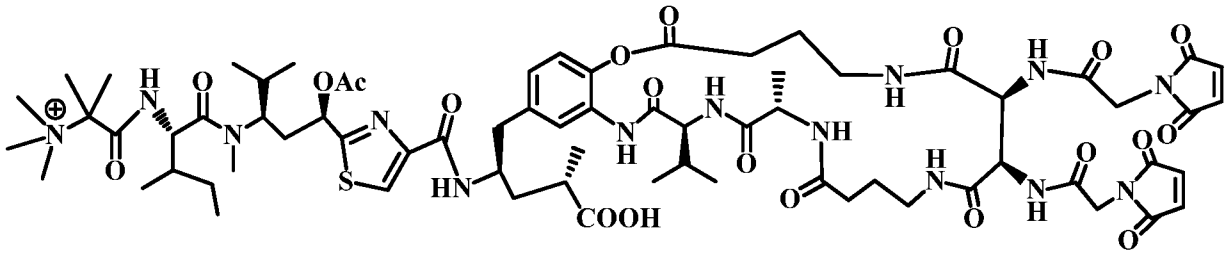
Пример 238. Синтез (2S,4R)-4-амино-5-((3S,6S,14R,15S)-14,15-бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетамидо)-3- изопропил-6-метил-2,5,8,13,16,21-гексаоксо-2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21-икозагидро-1H-бензо[b][1,4,7,10,15,20]-оксапентаазациклотетракозин-25-ил)-2- метилпентановой кислоты.



(2S,4R)-трет-бутил 5-((3S,6S,14R,15S)-14,15-бис(2- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетамидо)-3- изопропил-6-метил-2,5,8,13,16,21-гексаоксо-2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13, 14, 15,16,17,18,19,20,21-икозагидро-1H-бензо[b][1,4,7,10,15,20]оксапента-азациклотетракозин-25-ил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноат (0,175 г, 0,156 ммоль) растворяли в DCM (6 мл) с последующим добавлением TFA (2 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов, разбавляли толуолом (8 мл), упаривали с

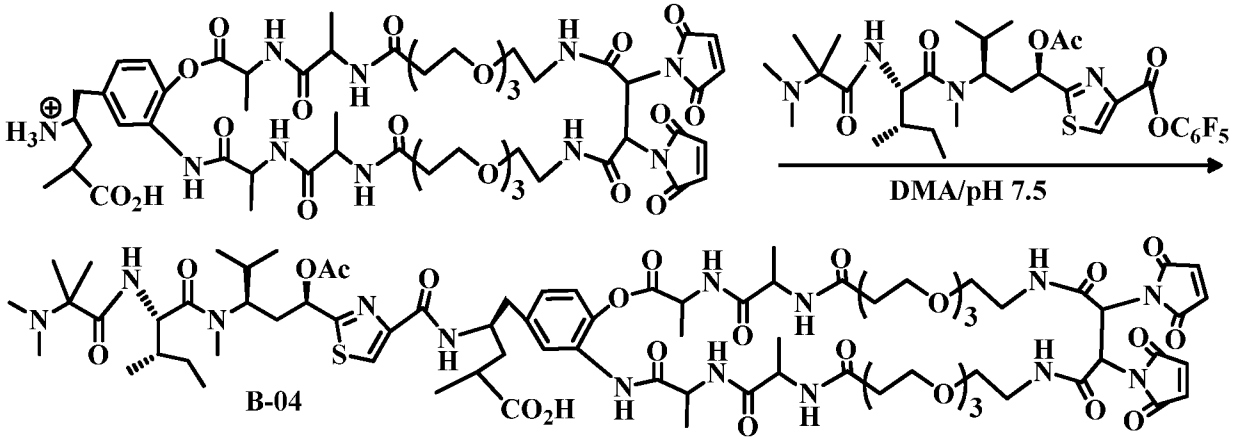
получением указанного в заголовке соединения (150 мг, выход 100%) для следующей стадии без дополнительной очистки. ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{44}H_{57}N_{10}O_{15}$ $[M+H]^+$: 965,39, найдено 965,70.

Пример 239. Синтез 1-(((2S)-1-(((1R,3R)-1-ацетокси-1-(4-(((2R,4S)-1-((3S,6S, 14R,15S)-14,15-бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил) ацетамидо)-3-изопропил-6-метил-2,5,8,13,16,21-гексаоксо-2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21-икозагидро-1Н-бензо[b][1,4,7,10,15,20]оксапентаазациклотетракозин-25-ил)-4-карбоксипентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-4-метилпентан-3-ил)(метил)амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)амино)-N,N,N,2-тетраметил-1-оксопропан-2-аминия (**B-03**).



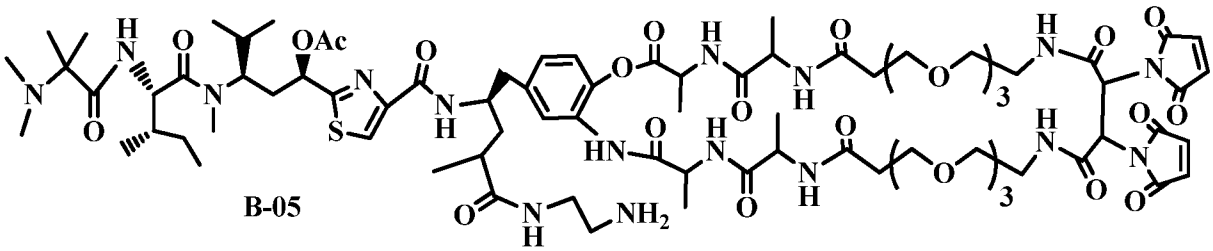
К раствору (2S,4R)-4-амино-5-((3S,6S,14R,15S)-14,15-бис(2- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)ацетамидо)-3- изопропил-6-метил-2,5,8,13,16,21-гексаоксо-2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21-икозагидро-1Н-бензо[b][1,4,7,10,15,20]-оксапентааза-циклотетракозин-25-ил)-2- метилпентановой кислоты (~ 50 мг, 0,051 ммоль) в DMA (4 мл) добавляли 1-(((2S)-1-(((1R,3R)-1-ацетокси-4-метил-1-(4-((перфторфенокси)карбонил)тиазол-2-ил)пентан-3-ил)(метил) амино)-3-метил-1-оксопентан-2-ил)амино)-N,N,N,2- тетраметил-1-оксопропан-2-аминий (37 мг, 0,052 ммоль) и DIPEA (3,4 мкл, 0,02 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали с помощью ВЭЖХ с градиентом MeCN/H_2O (от 10% MeCN до 70% MeCN за 45 мин, колонка C-18, 10 мм (d) x 250 мм (l), 9 мл/мин) с получением указанного в заголовке продукта (37,1 мг, выход 49%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{70}H_{99}N_{14}O_{20}S$ $[M]^+$: 1487,69, найдено 1487,45.

Пример 240. Синтез (4R)-5-(22,23-бис (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)-3,6,39,42-тетраметил-2,5, 8,21,24,37,40,43-октаоксо-3,4,5,6,7,8,9,10,12,13,15,16,18,19,20,21,22,23, 24,25,26,27, 29,30,32,33,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44-гексатриаконтагидро-2Н-бензо[b][1,14,17,20,31,34,37,4,7,10,23,28,41,44] гептаоксагептаазациклогексатетраконтин-46-ил)-4-(2-((6S, 9R, 11R)-6-((S)-втор-бутил)-9-изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7,13-триоксо-12-окса-2,5,8-триазатетрадекан-11-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метилпентановой кислоты (**B-04**).



К раствору (2R)-1-(22,23-бис(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-3,6,39,42-тетраметил-2, 5,8,21,24,37,40,43-октаоксо-3,4,5,6,7,8,9,10,12,13,15,16,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,29, 30,32,33,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44-гексатриаконтагидро-2H-бензо[b][1,14,17,20,31,34,37, 4,7,10,23,28,41,44] гептаоксагептаазациклогексатетраконтин-46-ил)-4-карбоксипентан-2-амина ТФК соль (60 мг, 0,050 ммоль) в DMA (15 мл) добавляли соединение пентафторид-активной кислоты (44 мг, 0,06 ммоль) и 0,1 M NaH_2PO_4, pH 7,5, 8,0 мл. Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали с помощью ВЭЖХ с градиентом MeCN/H_2O (от 10% MeCN до 70% MeCN через 45 мин, колонка C-18, 10 мм (д) x 250 мм (л), 8 мл/мин) с получением указанного в заголовке продукта **B-4** (44 мг, выход 52%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{79}H_{117}N_{14}O_{26}S$ $[M+H]^+$: 1709,79, найдено 1709,55.

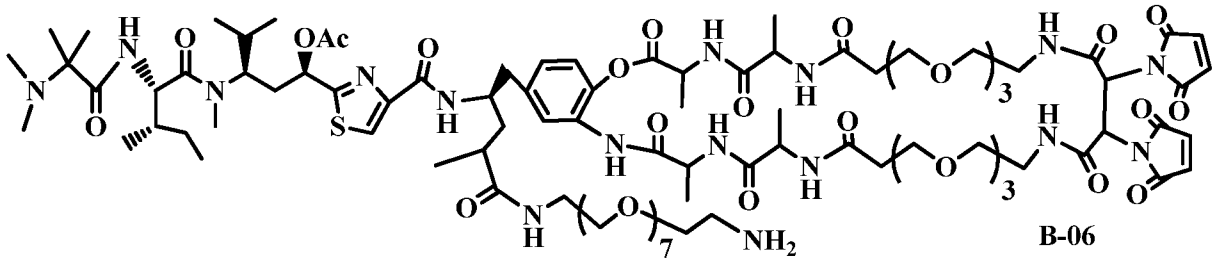
Пример 241. Синтез (1R,3R)-1-(4-(((2R)-5-((2-аминоэтил)амино)-1-(22,23-бис (2,5-диоксо-2,5-дигидро)-1H-пиррол-1-ил)-3,6,39,42-тетраметил-2,5,8,21,24,37,40,43-октаоксо-3,4,5,6,7,8, 9,10,12,13,15,16,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,29,30,32,33,35,36,37,38,39, 40,41,42,43,44-гексатриаконтагидро-2H-бензо[b] [1,14,17,20,31,34,37,4,7,10,23,28,41,44]гептаоксагептааза-циклогексатетраконтин -46-ил)-4-метил-5-оксопентан-2-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-3-((2S,3S)-2-(2-(диметиламино)-2-метилпропанамидо)- N,3-диметилпентанамидо)-4-метилпентилацетата (**B-5**).



Соединение B-4 (22,0 мг, 0,0129 ммоль) в DMA (1 мл) добавляли EDC (15,0 мг, 0,078 ммоль), гидрохлоридную соль этан-1,2-диамина (8,0 мг, 0,060 ммоль) и DIPEA (0,010 мл, 0,060 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали с

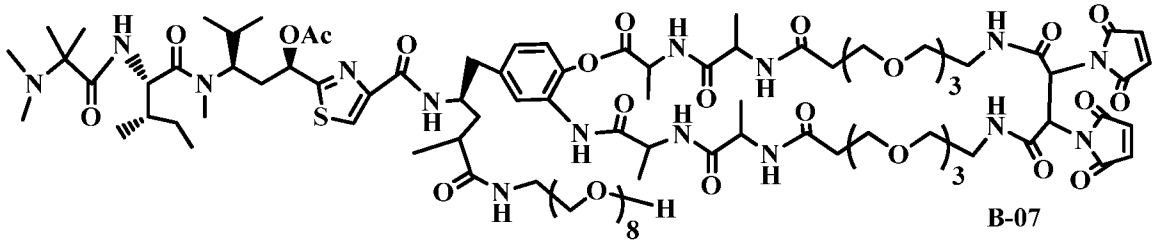
помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (л) мм x 10(d) мм, C_{18} колонка, 10-100% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, v =8 мл/мин) с получением указанного в заголовке соединения (14,0 мг, 62% выход). МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{81}H_{123}N_{16}O_{25}S$ $[M+H]^+$ 1751,85, найдено 1751,20.

Пример 242. Синтез (1R,3R)-1-(4-(((28R)-1-амино-29-(22,23-бис (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-) ил)-3,6,39,42-тетраметил-2,5,8,21,24,37,40,43-октаоксо-3,4,5,6,7,8,9,10,12,13,15,16,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,29,30,32,33,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44-гексатриаконтагидро-2H-бензо[b][1,14,17,20,31,34,37,4,7,10,23,28,41,44] гептаоксагептааза-циклогексатетраконтин-46-ил)-26 метил-25-оксо-3,6,9,12,15,18,21-гептаокса-24-азанонакосан-28-ил карбамоил)тиазол-2-ил)-3-((2S, 3S)-2-(2-(диметиламино)-2-метилпропанамидо)-N,3-диметилпентанамидо)-4-метилпентилацетата (**B-06**)



Соединение B-4 (22,0 мг, 0,0129 ммоль) в DMA (1 мл) добавляли EDC (15,0 мг, 0,078 ммоль), гидрохлорид 3,6,9,12,15,18,21-гептаоксатрикозан-1,23-диамина (26,0 мг, 0,059 ммоль) и DIPEA (0,010 мл, 0,060 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали с помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (л) мм x 10(d) мм, C_{18} колонка, 10-100% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, v =8 мл/мин) с получением указанного в заголовке соединения (14,5 мг, 55% выход). МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{95}H_{151}N_{16}O_{32}S$ $[M+H]^+$ 2060,03, найдено 2060,80.

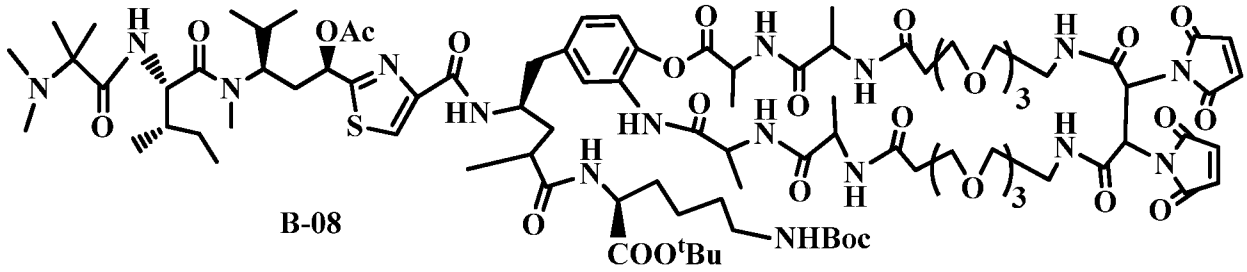
Пример 243. Синтез (1R,3R)-1-(4-(((28R)-29-(22,23-бис (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-3,6,39,42-тетраметил-2,5,8,21,24,37,40,43-октаоксо-3,4,5,6,7,8,9,10,12,13,15,16,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,29,30,32,33,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44-гексатриаконтагидро -2H-бензо[b][1,14,17,20,31,34,37,4,7,10,23,28,41,44]гептаоксагептааза-циклогексатетраконтин-46-ил)-1-гидрокси-26-метил-25-оксо-3,6,9,12,15,18,21-гептаокса-24-азанонакосан-28-ил)карбамоил)тиазол-2-ил)-3-((2S,3S)-2-(2-(диметиламино)-2-метилпропанамидо)-N,3-диметилпентанамидо)-4-метилпентилацетата (**B-07**).



B-07

Соединение B-4 (22,0 мг, 0,0129 ммоль) в DMA (1 мл) добавляли EDC (15,0 мг, 0,078 ммоль) и 23-амино-3,6,9,12,15,18,21-гептаоксатрикозан-1-ол (22,0 мг, 0,059 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (L) мм x 10 (d) мм, колонка C18, 10-100% ацетонитрил/вода за 40 минут, объем = 8 мл/мин) с получением указанного в заголовке соединения (**B-7**) (14,1 мг, выход 53%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{95}H_{150}N_{15}O_{33}S$ $[M+H]^+$ 2061,02, найдено 2061,74.

Пример 244. Синтез (2S)-трет-бутил 2-((4R)-5-(22,23-бис (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-3,6, 39,42-тетраметил-2,5,8,21,24,37,40,43-октаоксо-3,4,5,6,7,8,9,10,12,13,15,16,18,
19,20,21,22,23,24,25,26,27,29,30,32,33,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44-гексатриконтгидро-2H-бензо[b] [1,14,17,20,31,34,37,4,7,10,23,28,41,44] гептаоксагепта-азациклогексатетраконтин-46-ил)-4-(2-((6S , 9R, 11R)-6-((S)-втор-бутил)-9-изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7,13-триоксо-12-окса-2,5,8- триазатетрадекан-11-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метилпентанамидо)-6-((трет-бутоксикарбонил)амино)гексаноата (**B-08**).

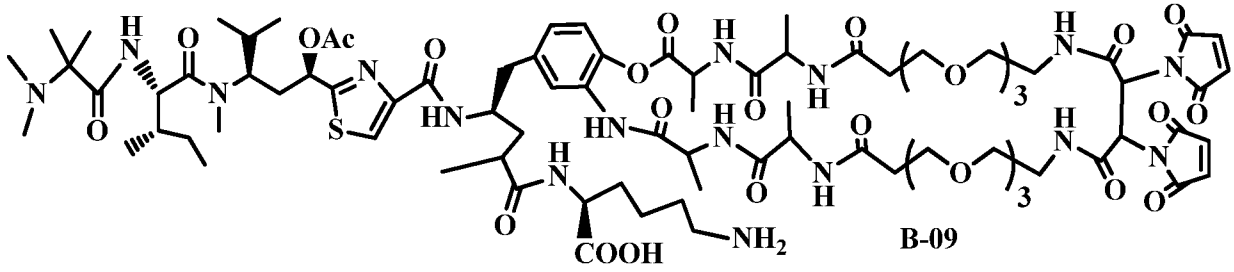


B-08

Соединение B-4 (25,0 мг, 0,0146 ммоль) в DMA (1 мл) добавляли EDC (15,0 мг, 0,078 ммоль) и (S)-трет-бутил 2-амино-6-((трет-бутоксикарбонил)амино)гексаноат (9,0 мг, 0,030 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали с помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (л) мм x 10(d) мм, C_{18} колонка, 10-100% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, v =8 мл/мин) с получением указанного в заголовке соединения (20,5 мг, 71% выход). МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{94}H_{144}N_{16}O_{29}S$ $[M+H]^+$ 1994,00, найдено 1994,85.

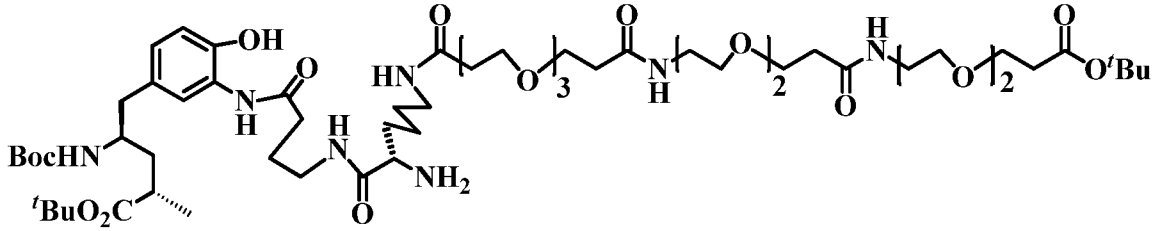
Пример 245. Синтез (2S)-6-амино-2-((4R)-5-(22,23-бис (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-3,6 , 39,42-тетраметил-2,5,8,21,24,37,40,43-октаоксо-3,4,5,6,7,8,9,10,12,13, 15,16,18 ,
19,20,21,22,23,24,25,26,27,29,30,32,33,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44гексатриаконтгидро-2H

бензо[b][1,14,17,20,31,34,37,4,7,10,23,28,41,44]гептаоксагептааза-циклогексатетраконтин-46-ил)-4-(2-((6S,9R,11R)-6-((S)-втор-бутил)-9-изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7,13-триоксо-12-окса-2,5,8 -триазатетрадекан-11-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метилпентанамидо)гексановой кислоты (**B-09**).



Соединение B-8 (20,0 мг, 0,010 ммоль) растворяли в ДХМ (1 мл) с последующим добавлением ТФК (1 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов, затем упаривали и очищали ВЭЖХ с обращенной фазой (250 (л) мм × 10 (d) мм, колонка C_{18}, 10-100% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, v = 8 мл/мин) с получением указанного в заголовке соединения (13,5 мг, 73% выход). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{85}H_{129}N_{16}O_{27}S$ $[M+H]^+$: 1837,89, найдено 1838,20.

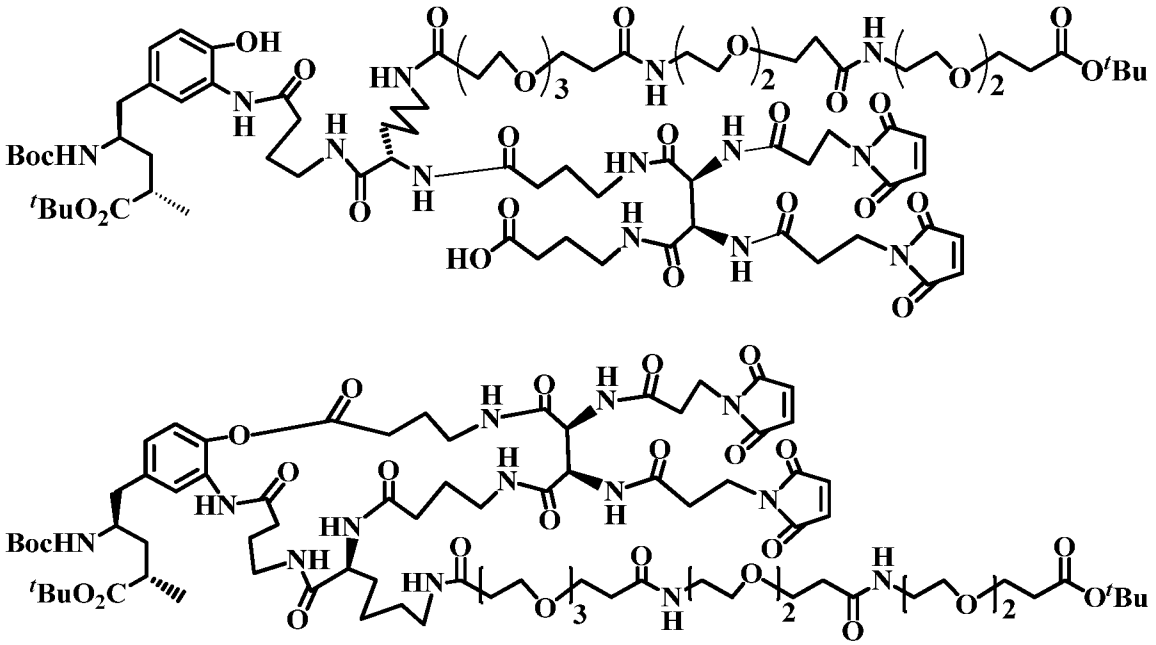
Пример 246. Синтез (S)-трет-бутил 39-амино-45-((5-((2R,4S)-5- (трет-бутокси)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5)-оксопентил)-2-гидроксифенил)амино)-11,21,33,40,45-пентаоксо-4,7,14,17,24,27,30-гептаокса-10,20,34,41-тетраазапентатетраконтан-1-оата.



(S)-трет-бутил 5-((4-((5-((2R,4S)-5-(трет-бутокси)-2- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5-оксопентил)-2- гидроксифенил)амино)-4-оксобутил)карбамоил)-3,11,23,33- тетраоксо-1-фенил-2,14,17,20,27,30,37,40-октаокса-4,10,24,34- тетраазатритэтраконтан-43-оат (1,00 г, 0,742 ммоль) в метаноле (50 мл), добавляли Pd/C (10 мас.%, 20 мг), затем проводили гидрогенизацию при давлении H_2 в 1 атм. с встряхиванием в течение ночи. Затем смесь фильтровали через целит (вспомогательное фильтрующее средство) и фильтрат упаривали с получением указанного в заголовке соединения (900 мг, выход 100%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{59}H_{104}N_7O_{19}$ $[M+H]^+$: 1214,73, найдено 1214,90.

Пример 247. Синтез (42S,50S,51R)-42-((4-((5-((2R,4S)-5-(трет-бутокси)-2- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5-оксопентил)-2- гидроксифенил)амино)-4-

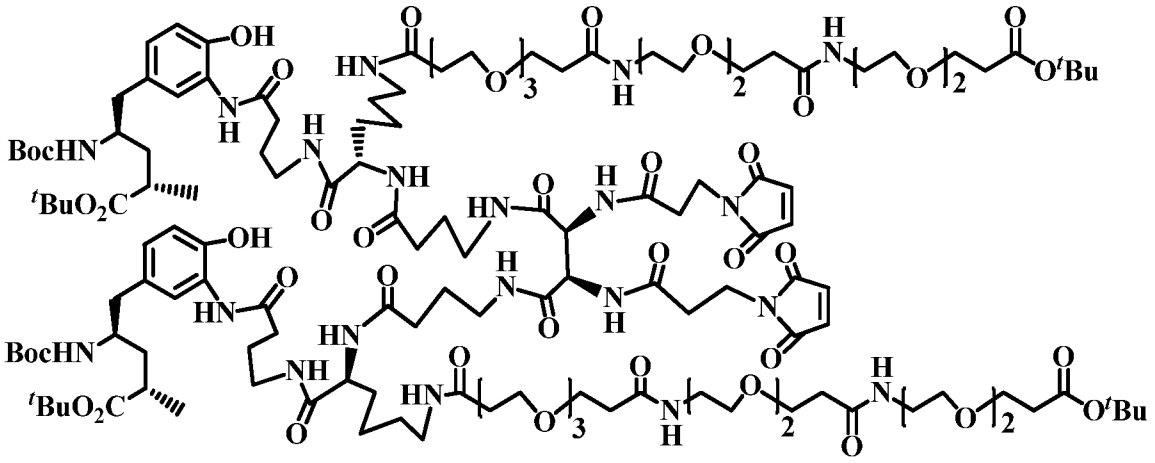
оксобутил)карбамоил)-50,51-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) пропанамидо)-2,2- диметил-4,14,24,36,44, 49,52-гептаоксо-3,7,10,17,20,27,30,33-октаокса-13,23,37,43,48, 53-гексаазагептапентаконтан-57-овой кислоты и трет-бутил 38-((8S,16R,17S)-27-((2R,4S)-5-(трет-бутокси)-2- ((трет-бутоксикарбонил)-амино)-4-метил-5-оксопентил)-16,17- бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-2,7,10,15,18,23-гексаоксо-2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20, 21,22,23-докозагидро-1H-бензо[b][1,4,9,12,17,22] оксапентаазациклогексакозин-8-ил)-11,21,33-триоксо-4,7,14,17,24,27,30-гептаокса-10,20,34-триазаоктатриаконтан-1-оата.



(S)-трет-бутил 39-амино-45-((5-((2R,4S)-5-(трет-бутокси)-2- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5-оксопентил)-2- гидроксифенил)амино)-11,21,33,40,45-пентаоксо-4,7,14,17,24,27,30-гептаокса-10,20,34,41-тетраазапентатетраконтан-1-оат (450 мг, 0,370 ммоль) и 4,4'- (((2R,3S)-2,3-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) пропанамидо) сукцинил)бис(азандиил))дибутановая кислота (230 мг, 0,370 ммоль) в DMA (40 мл) добавляли EDC (300 мг, 1,570 ммоль) и DIPEA (100 мг, 0,775 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, упаривали при пониженном давлении и очищали на колонке SiO_2 (элюируя EtOAc / DCM, от 1:10 до 1:5) с получением (42S,50S,51R)-42-((4-((5-((2R,4S)-5- (трет-бутокси)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5- оксопентил)-2-гидроксифенил)амино)-4-оксобутил)карбамоил)- 50,51-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) пропанамидо)-2,2-диметил-4,14,24,36,44, 49,52-гептаоксо-3,7,10,17,20,27,30,33-октаокса-13,23,37,43,48,53-гексаазагептапентаконтан-57-овой кислоты (0,221 г, выход 33%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{85}H_{134}N_{13}O_{30}$ $[M+H]^+$: 1816,93, найдено 1817,25; и трет-бутил 38-((8S,16R,17S)-27- ((2R,4S)-5-(трет-бутокси)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4- метил-5-

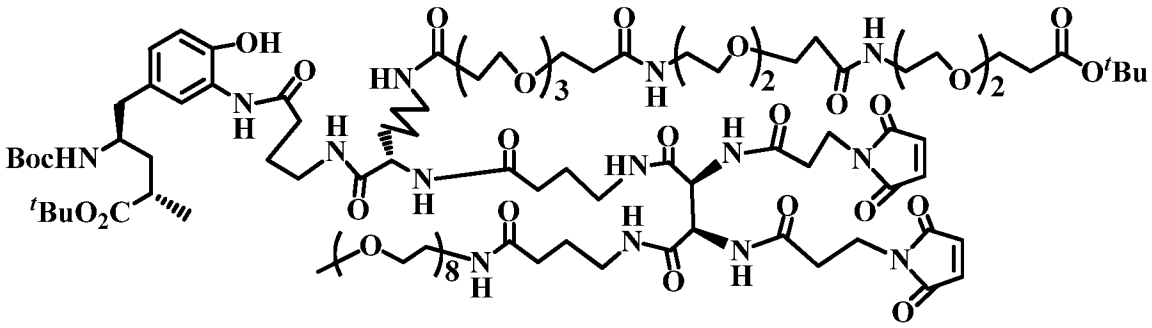
оксопентил)-16,17-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо)-2,7,10,15,18,23-гексаоксо-2,3,4,5,6,7,8,9, 10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20, 21,22,23-докозагидро-1Н-бензо [b][1,4,9,12,17,22]оксапента-азациклогексакозин-8-ил)-11,21,33-триоксо-4,7,14,17,24,27,30-гептаокса-10,20,34- триазаоктатриаконтан-1-оата (0,260 г, выход 39%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{85}H_{132}N_{13}O_{29}$ $[M+H]^+$: 1797,92, найдено 1798,20.

Пример 248. Синтез (39S,47R,48S,56S)-ди-трет-бутил 39,56-бис((4-((5- ((2R,4S)-5-(трет-бутокси)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4- метил-5-оксопентил)-2-гидроксифенил)амино)-4-оксобутил) карбамоил)-47,48-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо)-11,21,33,41,46,49,54,62,74,84-декаоксо-4,7,14,17,24,27,30,65,68, 71,78,81,88,91-тетрадекаокса-10,20,34,40,45,50,55,61,75,85- декаазатетранонаконтан-1,94-диоата.



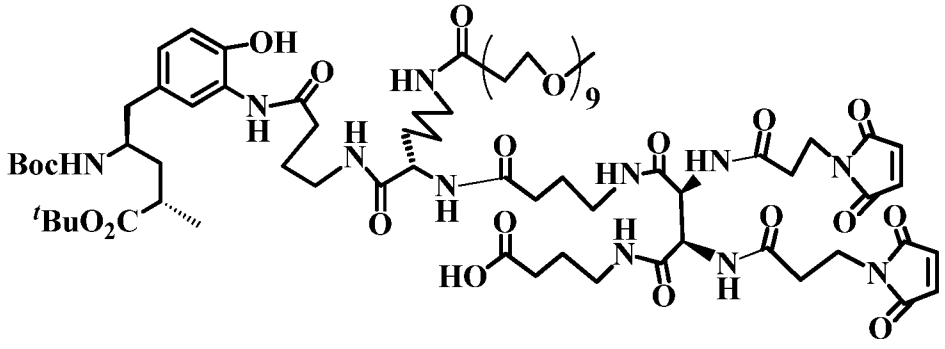
(S)-трет-бутил 39-амино-45-((5-((2R,4S)-5-(трет-бутокси)-2- ((трет-бутоксикарбонил)амино) 4-метил-5-оксопентил)-2- гидроксифенил)амино)-11,21,33,40,45-пентаоксо-4,7,14,17,24,27,30-гептаокса-10,20,34,41-тетраазапентатетраконтан-1-оат (450 мг, 0,370 ммоль) и 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо) сукцинил)бис(азандиил))дибутановая кислота (115 мг, 0,185 ммоль) в DMA (40 мл) добавляли EDC (300 мг, 1,570 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, упаривали при пониженном давлении и очищали на колонке с SiO_2 (элюируя EtOAc/DCM, от 1:10 до 1:3) с получением указанного в заголовке соединения (0,378 г, выход 68%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{144}H_{235}N_{20}O_{48}$ $[M+H]^+$: 3012,65, найдено 3012,95;

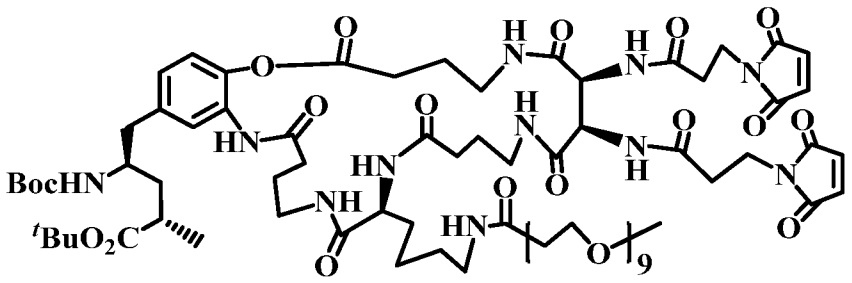
Пример 249. Синтез (33R,34S,42S)-трет-бутил 42-((4-((5-((2R,4S)-5- (трет-бутокси)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4- метил- 5-оксопентил)-2-гидроксифенил)амино)-4-оксобутил) карбамоил)-33,34-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)пропанамидо)- 27,32,35,40,48,60,70-гептаоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,51,54,57,64, 67,74,77-пентадекаокса-26,31,36,41,47,61,71- гептаазаоктаконтан-80-оата.



(42S,50S,51R)-42-((4-((5-((2R,4S)-5-(трет-бутокси)-2- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5-оксопентил)-2- гидроксифенил)амино)-4-оксобутил)карбамоил)-50,51-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-2,2- диметил-4,14,24,36,44, 49,52-гептаоксо-3,7,10,17,20,27,30,33-октаокса-13,23,37,43,48,53-гексаазагептапентаконтан-57-овая кислота (100 мг, 0,055 ммоль) в DMA (30 мл) добавляли 2,5,8,11,14,17,20,23-октаоксапентакозан-25-амин, соль HCl (30 мг, 0,071 ммоль) и EDC (25 мг, 0,130 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, упаривали при пониженном давлении и очищали на колонке с SiO_2 (элюируя EtOAc/DCM, от 1: 8 до 1: 3) с получением указанного в заголовке соединения (92,2 мг, выход 76%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{102}H_{169}N_{14}O_{37}$ $[M+H]^+$: 2182,17, найдено 2182,95;

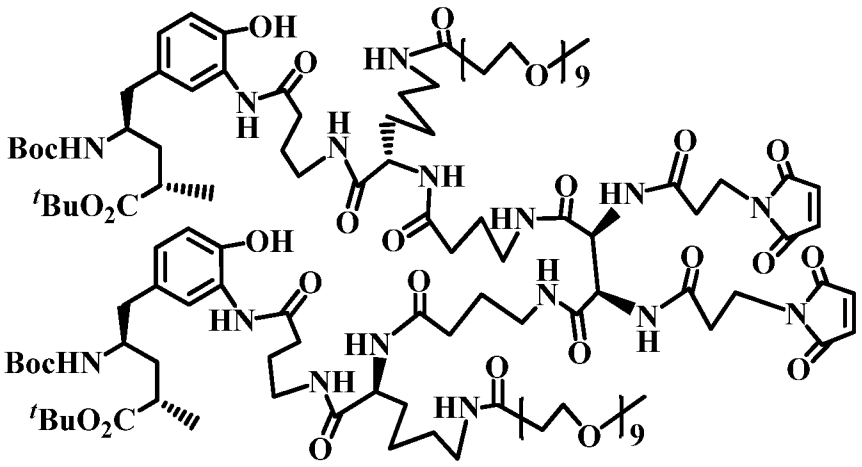
Пример 250. Синтез (38S,46S,47R)-38-((4-((5-((2R,4S)-5-(трет-бутокси)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5-оксопентил)- 2-гидроксифенил)амино)-4-оксобутил)карбамоил)-46,47-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)- 32,40,45,48-тетраоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса- 33,39,44,49-тетраазатрипентаконтан-53-овой кислоты и (2S,4R)- трет-бутил 5-((8S,16R,17S)-16,17-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) пропанамидо)- 2,7,10,15,18,23-гексаоксо-8- (30-оксо-2,5,9,12,15,18,21,24,27-нонаокса-31-азапентатриаконтан-35-ил)-2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23-докозагидро-1H-бензо[b][1,4,9,12,17,22]-оксапентаазациклогексакозин-27-ил)-4- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата.





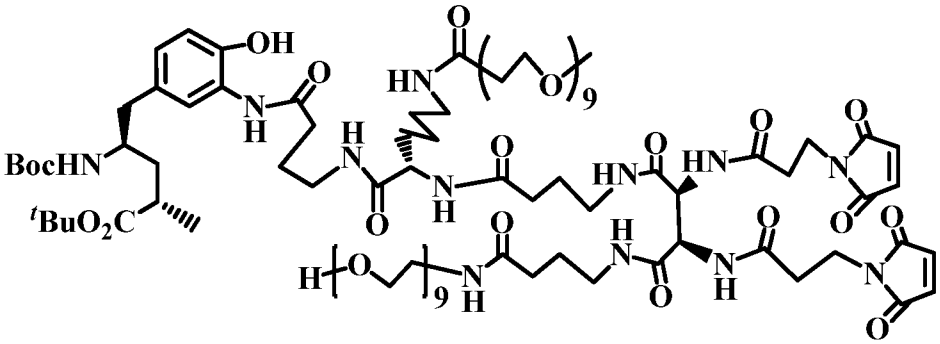
(2S,4R)-трет-бутил 5-(3-((S)-36-амино-30,37-диоксо- 2,5,9,12,15,18,21,24,27-нонаокса-31,38- диазадотетраконтанамидо)-4-гидроксифенил)-4- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноат (400 мг, 0,377 ммоль) и 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо) сукцинил)бис(азандиил))дибутановая кислота (234 мг, 0,377 ммоль) в DMA (50 мл) добавляли EDC (300 мг, 1,570 ммоль) и DIPEA (100 мг, 0,775 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, упаривали при пониженном давлении и очищали на колонке SiO_2 (элюируя EtOAc/DCM, от 1:10 до 1:5) с получением (38S,46S,47R) 38-((4-((5-((2R,4S)-5-(трет-бутокси)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5- оксопентил)-2-гидроксифенил)амино)-4-оксобутил)карбамоил)- 46,47-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) пропанамидо)-32,40,45,48-тетраоксо-2,5,8, 11,14,17,20,23,26,29-декаокса-33,39,44,49-тетраазатрипентаконтан-53-овой кислоты (0,192 г, выход 31%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{78}H_{124}N_{11}O_{28}$ $[M+H]^+$: 1662,85, найдено 1662,60; и (2S,4R)-трет-бутил 5-((8S,16R,17S)- 16,17-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) пропанамидо)-2,7,10,15,18, 23-гексаоксо-8- (30-оксо-2,5,9,12,15,18,21,24,27-нонаокса-31-азапентатриаконтан-35-ил)-2,3,4,5,6,7, 8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23-докозагидро-1H- бензо[b][1,4,9,12,17,22]-оксапентаазациклогексакозин-27-ил)-4- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата (0,260 г, выход 39%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{78}H_{122}N_{11}O_{27}$ $[M+H]^+$: 1644,84, найдено 1645,25.

Пример 251. Синтез (2S,2'S,4R,4'R)-ди-трет-бутил 5,5'-((((7S,15R,16S,24S) -15,16-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) пропанамидо)-6,9,14,17,22,25-гексаоксо-7,24-бис (30-оксо-2,5,9,12,15,18,21,24,27-нонаокса-31- азапентатриаконтан-35-ил)-5,8,13,18,23,26-гексаазатриаконтан- 1,30-диоил)бис(азандиил))бис(4-гидрокси-3,1-фенилен))бис(4- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата).



(2S,4R)-трет-бутил 5-(3-((S)-36-амино-30,37-диоксо-2,5,9,12,15,18,21,24,27-нонаокса- 31,38диазадотетраконтанамидо)-4-гидроксифенил)-4 - ((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноат (400 мг, 0,377 ммоль) и 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо) сукцинил)бис(азандиил))дибутановая кислота (115 мг, 0,185 ммоль) в DMA (50 мл). добавили EDC (300 мг, 1,570 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, упаривали при пониженном давлении и очищали на колонке с SiO_2 (элюируя EtOAc/DCM, от 1:10 до 1: 3) с получением указанного в заголовке соединения (0,325 г, выход 65%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{130}H_{215}N_{16}O_{44}$ $[M+H]^+$: 2704,50, найдено 2704,90.

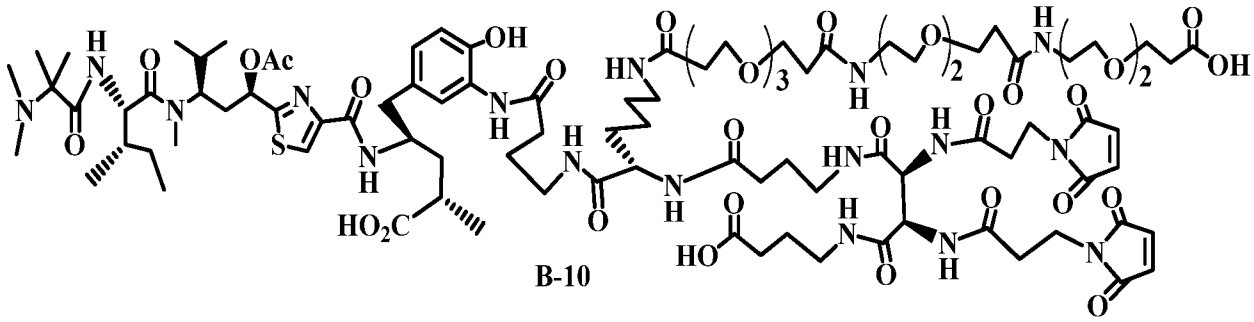
Пример 252. Синтез (2S,4R)-трет-бутил 5-(3-((34R,35S,43S)-34,35-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо) -1-гидрокси-28,33,36,41,44-пентаоксо-43- (32-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса-33-азагептатриаконтан-37-ил)-3,6,9,12,15,18,21,24-октаокса-27,32,37,42,45-пентаазанонатетраконтанамидо)-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноата.



(38S,46S,47R)-38-((4-((5-((2R,4S)-5-(трет-бутокси)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5-оксопентил)-2-гидроксифенил)амино)-4-оксобутил)карбамоил)-46,47-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-32, 40,45,48-тетраоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29декаокса-33,39,44,49-тетраазатрипентаконтан-53-овая кислота (100 мг, 0,060 ммоль) в DMA (30 мл) добавляли

26-амино-3,6,9,12,15,18,21,24-октаоксагексакозан-1-ол, соль HCl (31 мг, 0,069 ммоль) и EDC (35 мг , 0,183 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, упаривали при пониженном давлении и очищали на колонке с SiO2 (элюируя EtOAc/DCM, от 1:8 до 1:3) с получением указанного в заголовке соединения (86,5 мг, выход 69%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{97}H_{163}N_{12}O_{37}$ $[M+H]^+$: 2088,12, найдено 2088,85;

Пример 253. Синтез (39S,47R,48S)-39-((4-((5-((2R,4S)-2-(2-((6S,9R,11R)-6- ((S)-втор-бутил)-9-изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7,13-триоксо-12-окса-2,5,8-триазатетрадекан-11-ил)тиазол-4-карбоксамидо) -4-карбоксипентил)-2-гидроксифенил)амино)-4-оксобутил)карбамоил)-47,48-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-11,21,33,41,46,49-гексаоксо-4,7,14,17,24,27,30-гептаокса-10,20,34, 40,45,50-гексаазатетрапентаконтан-1,54-диовой кислоты (**B-10**).

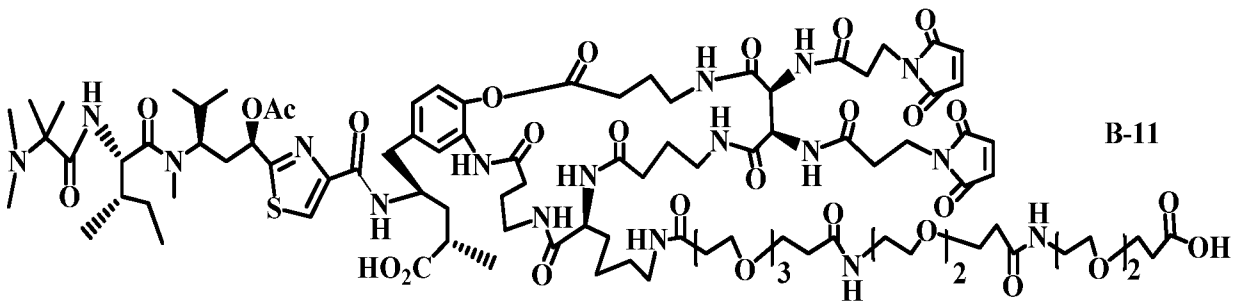


B-10

(42S,50S,51R)-42-((4-((5-((2R, 4S)-5-(трет-бутокси)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5-оксопентил)-2-гидроксифенил)амино)-4-оксобутил)карбамоил)-50,51-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-2,2-диметил-4,14,24,36,44,49,52-гептаоксо-3,7,10,17,20,27,30,33-октаокса-13,23,37,43,48,53-гексаазагептапентаконтан-57-оевую кислоту (0,120 г, 0,066 ммоль) растворяли в DCM (6 мл) с последующим добавлением TFA (2 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 45 минут, разбавляли толуолом (8 мл), упаривали с получением (39S,47R,48S)-39-((4-((5-((2R,4S)-2-амино-4-карбоксипентил)-2-гидроксифенил)амино)-4-оксобутил)карбамоил)-47,48-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-11,21,33,41,46,49-гексаоксо-4,7,14,17,24,27,30-гептаокса-10,20,34,40,45,50-гексаазатетрапента-контан-1,54-диовой кислоты, соль ТФУ (106 мг, выход ~ 100%) для следующей стадии без дополнительной очистки. Затем к соединению в DMA (15 мл) добавляли перфторфенил 2-((6S,9R,11R)-6-((S)-втор-бутил)-9-изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7,13-триоксо-12-окса-2,5,8-триазатетрадекан-11-ил)тиазол-4-карбоксилат (46 мг, 0,066 ммоль) и DIPEA (10 мкл, 0,055 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали с помощью ВЭЖХ с градиентом MeCN/H_2O (от 10% MeCN до 70% MeCN за 45 мин,

колонка C-18, 20 мм (d) x 250 мм (l), 9 мл/мин) с получением указанного в заголовке продукта (64,1 мг, выход 46%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{97}H_{150}N_{17}O_{33}S$ $[M+H]^+$: 2113,02, найдено 2113,80.

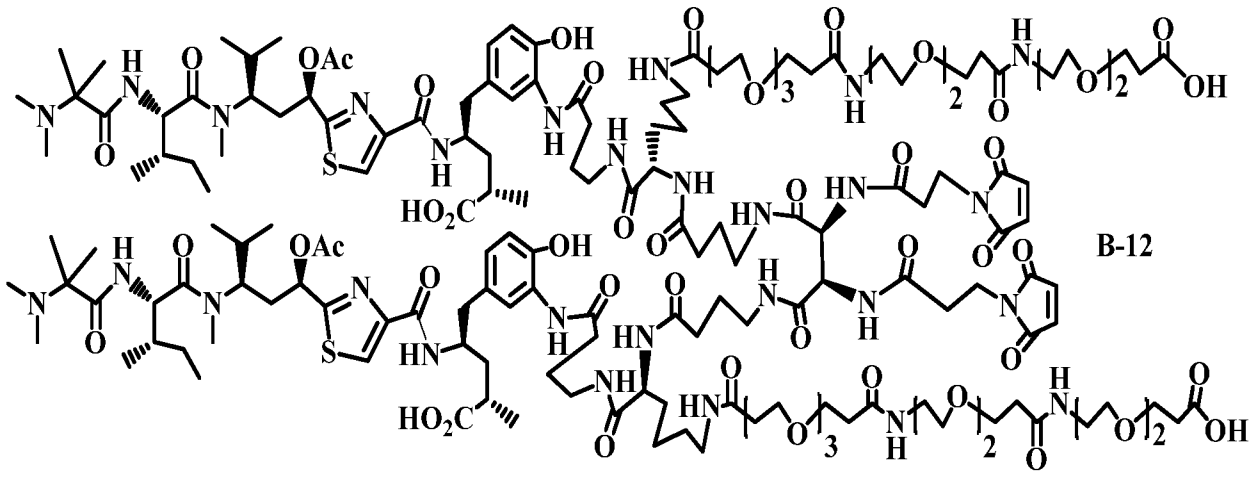
Пример 254. Синтез 38-((8S,16R,17S)-27-((2R,4S)-2-(2-((6S,9R,11R)-6-((S)- втор-бутил)-9- изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7,13-триоксо-12-окса-2,5,8-триазатетрадекан-11-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-4-карбоксипентил)- 16,17-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) пропанамидо)-2,7,10,15,18,23-гексаоксо-2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23-докозагидро-1H-бензо[b][1,4,9,12,17,22]оксапентаазациклогексакозин-8-ил) -11,21,33-триоксо-4,7,14,17,24,27,30-гептаокса-10,20,34-триазаоктатриаконтан-1-овой кислоты (**B-11**).



Трет-бутил 38-((8S,16R,17S)-27-((2R,4S)-5-(трет-бутокси)-2- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5-оксопентил) -16,17-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) пропанамидо)-2,7,10,15,18,23-гексаоксо-2,3,4,5,6,7,8,9, 10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20, 21,22,23-докозагидро-1H-бензо [b][1,4,9,12,17,22]оксапента-азациклогексакозин-8-ил) -11,21,33-триоксо-4,7,14,17,24,27,30-гептаокса-10,20,34- триазаоктатриаконтан-1-оат (0,150 г, 0,083 ммоль) растворяли в DCM (6 мл) с последующим добавлением ТФУ (2 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 45 минут, разбавляли толуолом (8 мл), упаривали с получением 38-((8S,16R,17S)-27-((2R,4S)-2-амино-4- карбоксипентил)-16,17-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо) -2,7,10,15,18,23-гексаоксо-2,3, 4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23-докозагидро-1H-бензо[b][1,4,9,12,17,22]оксапентаазациклогексакозин-8-ил) -11,21,33-триоксо-4,7,14,17,24,27,30-гептаокса- 10,20,34-триазаоктатриаконтан-1-овой кислоты, соль ТФУ (135 мг, выход ~ 101%) для следующей стадии без дополнительной очистки. Затем к соединению в DMA (15 мл) добавляли перфторфенил 2-((6S,9R,11R)-6-((S)-втор-бутил)-9-изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7,13-триоксо-12-окса-2,5,8-триазатетрадекан-11-ил)тиазол-4-карбоксилат (60 мг, 0,084 ммоль) и DIPEA (10 мкл, 0,055 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали с помощью ВЭЖХ с градиентом MeCN/H_2O (от 10% MeCN до 70% MeCN за 45 мин, колонка C-18, 20

мм (d) x 250 мм (l), 9 мл/мин) с получением указанного в заголовке продукта (81,6 мг, выход 47%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{97}H_{149}N_{17}O_{32}S$ $[M+H]^+$: 2095,01, найдено 2095,65.

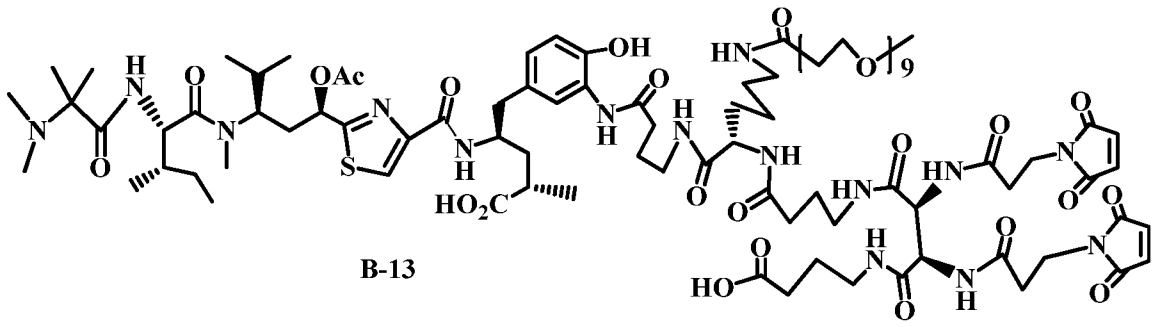
Пример 255. Синтез структуры соединения **B-12** показан ниже:



(39S,47R,48S,56S)-ди-трет-бутил 39,56-бис((4-((5-((2R,4S)-5- (трет-бутокси)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-4-метил-5- оксопентил)-2-гидроксифенил)амино)-4-оксобутил)карбамоил) -47,48-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) пропанамидо)-11,21,33,41,46,49,54,62,74,84-декаоксо-4,7,14,17,24,27,30,65,68,71,78,81,88,91-тетрадекаокса-10,20,34,40,45,50,55,61,75,85-декаазатетранонаконтан-1,94-диоат (175 мг, 0,058 ммоль) растворяли в DCM (6 мл) с последующим добавлением ТФУ (2 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 45 минут, разбавляли толуолом (8 мл), упаривали с получением (39S,47R,48S,56S)-39,56-бис((4-((5-((2R,4S)- 2-амино-4-карбоксипентил)-2-гидроксифенил)амино) -4-оксобутил)карбамоил)-47,48-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо) -11,21,33,41,46,49,54,62,74,84-декаоксо-4,7,14,17,24,27,30,65,68,71,78,81,88,91-тетрадекаокса-10,20,34,40,45,50,55,61,75,85-декаазатетранонаконтан-1,94-диовой кислоты, соль ТФУ (151 мг, выход 99%). Затем к соединению в DMA (15 мл) добавляли перфторфенил 2-((6S,9R,11R)-6-((S)-втор-бутил)-9-изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7,13-триоксо-12-окса-2,5,8-триазатетрадекан-11-ил)тиазол-4-карбоксилат (85 мг, 0,123 ммоль) и DIPEA (18 мкл, 0,103 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали с помощью ВЭЖХ с градиентом MeCN/H_2O (от 10% MeCN до 70% MeCN за 45 мин, колонка C-18, 20 мм (d) x 250 мм (l), 9 мл/мин) с получением указанного в заголовке продукта (81,6 мг, выход 47%).

ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{168}H_{267}N_{28}O_{54}S_2$ $[M+H]^+$: 3604,84, найдено 3604,80.

Пример 256. Синтез (36S,44S,45R)-36-((4-((5-((2R,4S)-2-(2-((6S,9R,11R)-6- ((S)-втор-бутил) -9-изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7,13-триоксо-12-окса-2,5,8- триазатетрадекан-11-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-4- карбоксипентил)-2-гидроксифенил)амино)-4-оксобутил) карбамоил)-44,45-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-30,38,43,46-тетраоксо-2,5,9,12,15,18,21,24,27-нонаокса- 31,37,42,47-тетраазахенпентаконтан-51-овой кислоты (**B-13**).

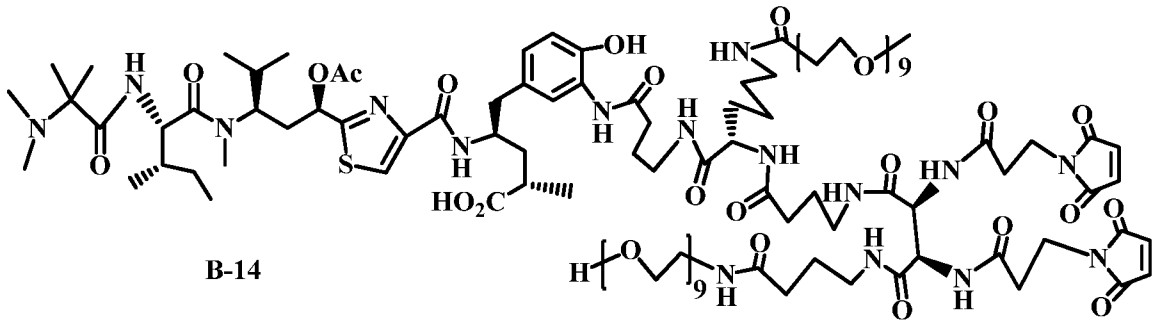


B-13

(2S,4R)-трет-бутил 5-((8S,16R,17S)-16,17-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) пропанамидо) -2,7,10,15,18, 23-гексаоксо-8- (30-оксо-2,5,9,12,15,18,21,24,27-нонаокса-31- азапентатриаконтан-35-ил)-2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23-докозагидро-1H-бензо[b][1,4,9,12,17,22]оксапентаазациклогексакозин-27-ил) -4 - ((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноат (0,175 г, 0,152 ммоль) растворяли в DCM. (6 мл) с последующим добавлением ТФУ (2 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, разбавляли толуолом (8 мл), упаривали с получением (36S,44R,45S)-36-((4-((5-((2R,4S)-2-амино- 4-карбоксипентил)-2-гидроксифенил)амино)-4-оксобутил) карбамоил)-44,45-бис (3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил) пропанамидо) -30,38,43,46-тетраоксо-2,5,9,12,15,18,21,24,27-нонаокса-31,37,42,47-тетраазахенпентаконтан-51-овой кислоты (230 мг, 101 % выхода) для следующей стадии без дополнительной очистки. Затем к соединению в DMA (15 мл) добавляли перфторфенил2-((6S,9R,11R)-6-((S)-сек-бутил)-9-изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7,13-триоксо-12-окса-2,5,8-триазатетрадекан-11-ил тиазол-4-карбоксилат (106 мг, 0,152 ммоль) и DIPEA (20 мкл, 0,115 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали с помощью ВЭЖХ с градиентом MeCN/H_2O (от 10% MeCN до 70% MeCN за 45 мин, колонка C-18, 20 мм (d) x 250 мм (l), 9 мл/мин) с получением указанного в заголовке продукта (149,1 мг, выход 49%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{94}H_{148}N_{15}O_{31}S$ $[M+H]^+$: 2015,01, найдено 2015,65.

Пример 257. Синтез (2S,4R)-5-(3-((34R,35S,43S)-34,35-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо) -1-гидрокси-28,33,36,41,44-пентаоксо-43- (32-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса-33 -азагептатриаконтан-37-ил)-

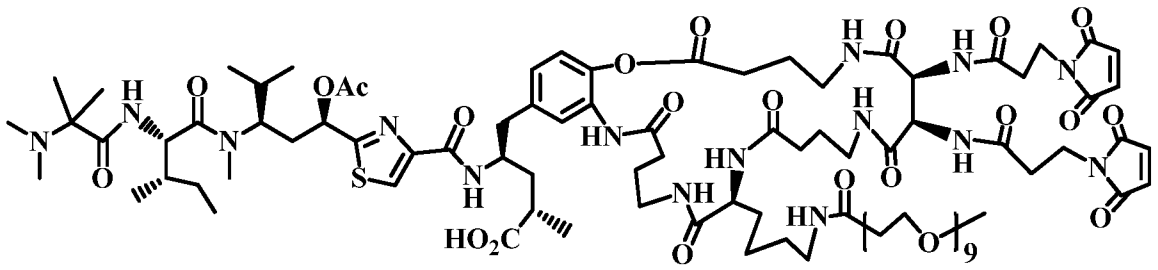
3,6,9,12,15,18,21,24-октаокса- 27,32,37,42,45-пентаазанонатетраконтанамидо)-4-гидроксифенил)-4-(2-((6S,9R,11R)-6-((S)-втор-бутил)-9-изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7,13-триоксо-12-окса-2,5,8-триазатетрадекан-11-ил)тиазол-4-карбоксамидо) -2-метилпентановой кислоты (B-14).



B-14

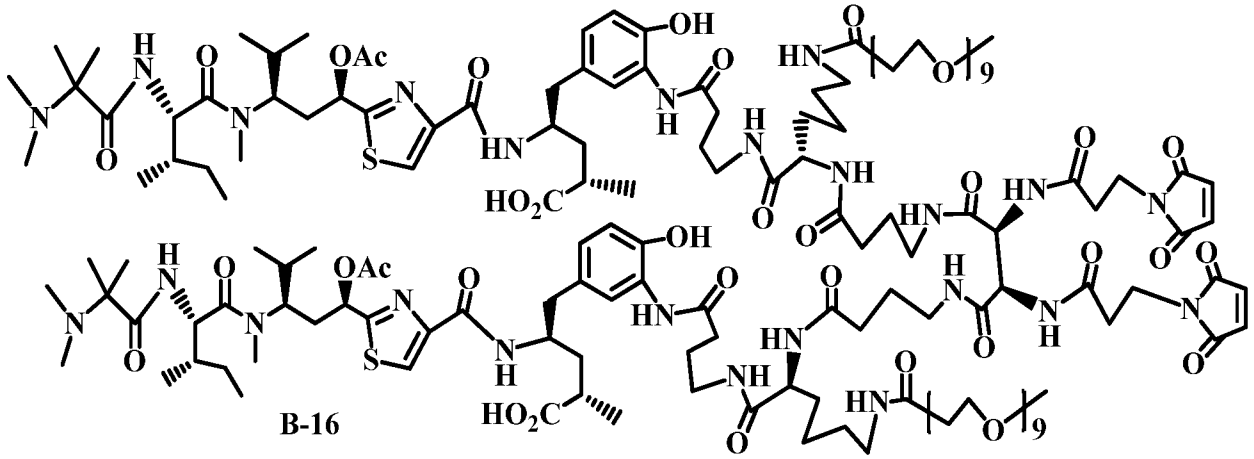
(2S,4R)-трет-бутил 5-(3-((34R,35S,43S)-34,35-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1- ил)пропанамидо) -1-гидрокси-28,33,36,41,44-пентаоксо-43- (32-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса- 33-азагептатриаконтан-37-ил)-3,6,9,12,15,18,21,24-октаокса- 27,32,37,42,45-пентаазанонатетраконтанамидо)-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноат (0,085 г, 0,040 ммоль) растворяли в DCM (6 мл) с последующим добавлением ТФУ (2 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, разбавляли толуолом (8 мл), упаривали с получением 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29-декаокса-33-азагептатриаконтан-37- ил)-3,6,9,12,15,18,21,24-октаокса-27,32,37,42,45-пентаазанонатетраконтанамидо)-4-гидроксифенил)-2-метилпентановой кислоты, соль ТФУ (78 мг, 100 % выход) для следующей стадии без дополнительной очистки. Затем к соединению в DMA (15 мл) добавляли перфторфенил 2-((6S,9R,11R)-6-((S)-втор-бутил)-9-изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7,13-триоксо-12-окса-2,5,8-триазатетрадекан-11-ил)тиазол-4-карбоксилат (40 мг, 0,056 ммоль) и DIPEA (7 мкл, 0,040 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали с помощью ВЭЖХ с градиентом MeCN/H_2O (от 10% MeCN до 70% MeCN за 45 мин, колонка C-18, 20 мм (d) x 250 мм (l), 9 мл/мин) с получением указанного в заголовке продукта (51,3 мг, выход 52%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{113}H_{187}N_{16}O_{40}S$ $[M+H]^+$: 2440,27, найдено 2440,90.

Пример 258. Синтез (2S,4R)-5-((8S,16R,17S)-16,17-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо) -2,7,10,15,18,23-гексаоксо-8-(30-оксо-2,5,9,12,15,18,21,24,27-нонаокса-31-азапентатриаконтан-35-ил)-2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23-докозагидро-1H-бензо[b][1,4,9,12,17,22]оксапентаазациклогексакозин-27-ил)-4-(2-((6S, 9R,11R)-6((S)-втор-бутил)-9-изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7,13-триоксо-12-окса-2,5,8-триазатетрадекан-11-ил)тиазол-4-карбоксамидо)-2-метилпентановой кислоты (B -15).



(2S,4R)-трет-бутил 5-((8S,16R,17S)-16,17-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо) -2,7,10,15,18, 23-гексаоксо-8-(30-оксо-2,5,9,12,15,18,21,24,27-нонаокса-31-азапентатриаконтан-35-ил)-2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23-докозагидро-1H-бензо[b][1,4,9,12,17,22] -оксапентаазациклогексакозин-27-ил)-4- ((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноат (0,145 г, 0,0882 ммоль) растворяли в DCM (6 мл) с последующим добавлением ТФУ (2 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, разбавляли толуолом (8 мл), упаривали с получением (2S,4R)-4-амино-5-((8S,16R,17S)-16,17-бис(3- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо) -2,7,10,15,18,23-гексаоксо-8-(30-оксо-2,5,9,12,15,18,21,24,27-нонаокса-31-азапентатриаконтан-35-ил)-2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23-докозагидро-1H-бензо[b][1,4,9,12,17,22] оксапентаазациклогексакозин-27-ил)-2-метилпентановой кислоты, соль ТФУ (133 мг, выход 101%) для следующей стадии без дополнительной очистки. Затем к соединению в DMA (15 мл) добавляли перфторфенил 2-((6S,9R,11R)-6-((S)-втор-бутил)-9-изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7,13-триоксо-12-окса-2,5,8-триазатетрадекан-11-ил)тиазол-4-карбоксилат (62 мг, 0,0885 ммоль) и DIPEA (15 мкл, 0,086 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали с помощью ВЭЖХ с градиентом MeCN/H_2O (от 10% MeCN до 70% MeCN за 45 мин, колонка C-18, 20 мм (d) x 250 мм (l), 9 мл/мин) с получением указанного в заголовке продукта (83,1 мг, выход 47%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{94}H_{146}N_{15}O_{30}S$ $[M+H]^+$: 1997,00, найдено 1997,60.

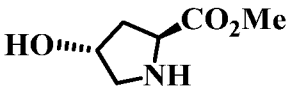
Пример 259. Синтез (S,S,R,R,2S,2'S,4R,4'R)-5,5'-((((7S,15R,16S 24S)-15,16-бис (3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо) -6,9,14,17,22,25-гексаоксо-7,24-бис(30-оксо-2,5,9,12,15,18,21,24,27-нонаокса-31-азапентатриаконтан-35-ил)-5,8,13,18,23,26-гексаазатриаконтан-1,30-диоил)бис(азандиил))бис (4-гидрокси-3,1-фенилен))бис(4-(2-((6S,9R,11R)-6-((S)-втор-бутил)-9-изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7,13-триоксо-12-окса-2,5,8-триазатетрадекан-11-ил)тиазол-4-карбоксамидо) -2-метилпентановой кислоты) (B-16).



B-16

(2S,2'S,4R,4'R)-ди-трет-бутил 5,5'-((((7S,15R,16S,24S)-15,16-бис (3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо) -6,9,14,17,22,25-гексаоксо-7,24-бис(30-оксо-2,5,9,12,15,18,21,24,27-нонаокса-31-азапентатриаконтан-35-ил) -5,8,13,18,23,26-гексаазатриаконтан-1,30-диоил)бис- (азандиил))бис(4-гидрокси-3,1-фенилен))бис(4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метилпентаноат) (0,175 г, 0,0647 ммоль) растворяли в DCM (6 мл) с последующим добавлением ТФУ (2 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, разбавляли толуолом (8 мл), упаривали с получением (2S,2'S,4R,4'R)-5,5'- ((((7S,15R,16S,24S)-15,16-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-6,9,14,17,22,25-гексаоксо-7,24-бис(30-оксо-2,5,9,12,15,18,21,24,27-нонаокса-31-азапентатриаконтан-35-ил)-5,8,13,18,23,26-гексаазатриаконтан-1,30-диоил)бис(азандиил))бис(4-гидрокси-3,1-фенилен))бис (4-амино-2-метилпентановой кислоты) (155 мг, выход 100%) для следующей стадии без дополнительной очистки. Затем к соединению в DMA (15 мл) добавляли перфторфенил 2-((6S,9R,11R)-6-((S)-втор-бутил)-9-изопропил-2,3,3,8-тетраметил-4,7,13-триоксо-12-окса-2,5,8-триазатетрадекан-11-ил)тиазол-4-карбоксилат (46 мг, 0,065 ммоль) и DIPEA (10 мкл, 0,0575 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали с помощью ВЭЖХ с градиентом MeCN/H_2O (от 10% MeCN до 70% MeCN за 45 мин, колонка C-18, 20 мм (d) x 250 мм (l), 9 мл./мин) с получением указанного в заголовке продукта (105,3 мг, выход 48%). ЭСИ: m/z: рассчитано для $C_{162}H_{263}N_{24}O_{50}S_2$ $[M+H]^+$: 3408,81, найдено 3408,60.

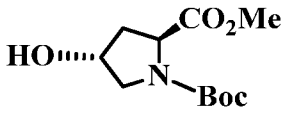
Пример 260. Синтез гидрохлорида (2S,4R)-метил 4-гидроксипирролидин-2-карбоксилата.



К раствору транс-4-гидрокси-L-пролина (15,0 г, 114,3 ммоль) в сухом метаноле (250 мл) по каплям добавляли тионилхлорид (17 мл, 231 ммоль) при 0-4 °C. Полученную смесь

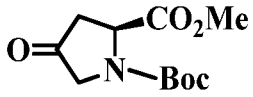
перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, упаривали, кристаллизовали из смеси EtOH/гексан с получением указанного в заголовке соединения (18,0 г, выход 87%). МС ЭСИ m/z 168,2 ($[M+Na]^+$).

Пример 261. Синтез (2S,4R)-1-*трет*-бутил 2-метил 4-гидроксипирролидин-1,2-дикарбоксилата.



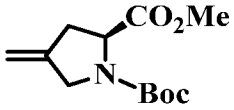
К раствору метилового эфира транс-4-гидрокси-L-пролина (18,0 г, 107,0 ммоль) в смеси MeOH (150 мл) и раствора гидрокарбоната натрия (2,0 М, 350 мл) добавляли Boc_2O (30,0 г, (137,6 ммоль) тремя порциями за 4 часа. После перемешивания в течение дополнительных 4 часов, реакционную смесь упаривали до ~350 мл и экстрагировали EtOAc (4 × 80 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (100 мл), сушили ($MgSO_4$), фильтровали, упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (1:1 смесь изомеров гексана/EtOAc), получая указанное в заголовке соединение (22,54 г, выход 86%). МС ЭСИ m/z 268,2 ($[M+Na]^+$).

Пример 262. Синтез (S)-1-*трет*-бутил 2-метил 4-оксопирролидин-1,2-дикарбоксилата.



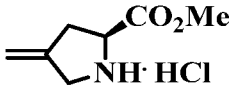
Указанное в заголовке соединение, полученное путем окисления по Дессу-Мартину, описано в: Franco Manfre et al. J. Org. Chem. 1992, 57, 2060-2065). Альтернативно процедура окисления по Сверну заключается в следующем: к раствору $(COCl)_2$ (13,0 мл, 74,38 ммоль) в CH_2Cl_2 (350 мл), охлажденном до -78 °C добавляли сухой ДМСО (26,0 мл). Раствор перемешивали при -78 °C в течение 15 минут, а 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 × 60 мл). Органические слои объединяли, сушили над $MgSO_4$, фильтровали, упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (7:3 смесь изомеров гексана/EtOAc) с получением указанного в заголовке соединения (6,73 г, 85% выход). МС ЭСИ m/z 266,2($[M+Na]^+$).

Пример 263. Синтез (S)-1-*трет*-бутил 2-метил 4-метиленпирролидин-1,2-дикарбоксилата.



К суспензии метилтрифенилфосфонийбромида (19,62 г, 55,11 ммоль) в ТГФ (150 мл) при 0 °С добавляли трет-бутоксид калия (6,20 г, 55,30 ммоль) в безводном ТГФ (80 мл). После перемешивания при 0 °С 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), насыщенным водным раствором хлорида натрия (150 мл), сушили над $MgSO_4$, упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии с SiO_2 (9:1 смесь изомеров гексана/EtOAc) с получением указанного в заголовке соединения (5,77 г, выход 87%). МС ЭИ m/z 264 ($[M+Na]^+$).

Пример 264. Синтез гидрохлорид (S) -метил 4-метиленпирролидин-2-карбоксилата.

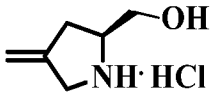


К раствору (S)-1-*трет*-бутил 2-метил 4-метиленпирролидин-1,2-дикарбоксилата (5,70 г, 23,63 ммоль) в EtOAc (40 мл) при 4 °С добавляли HCl (12 М, 10 мл). Смесь перемешивали в течение 1 часа, разбавляли толуолом (50 мл), упаривали и кристаллизовали из смеси EtOH/смесь изомеров гексана с получением указанного в заголовке соединения в виде соли HCl (3,85 г, выход 92%). МС ЭИ m/z 142,2 ($[M+H]^+$).

Пример 265. Синтез (S)-трет-бутил-2-(гидроксиметил)-4-метиленпирролидин-1-карбоксилата.

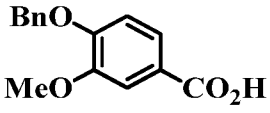
К раствору (S)-1-*трет*- бутил-2-метил-4-метиленпирролидин-1,2-дикарбоксилата (5,20 г, 21,56 ммоль) в безводном ТГФ (100 мл) при 0 °С добавляли $LiAlH_4$ (15 мл, 2М в ТГФ). После перемешивания при 0 °С в течение 4 часов, к реакционной смеси добавляли метанол (5 мл) и воду (20 мл). Реакционную смесь нейтрализовали 1 М HCl до pH 7, разбавляли EtOAc (80 мл), фильтровали через целит, разделяли и водный слой экстрагировали EtOAc. Органические слои объединяли, сушили над Na_2SO_4, упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (EtOAc/ДХМ 1:5) с получением указанного в заголовке соединения (3,77 г, выход 82%). МС ЭИ m/z 236,40 ($[M+Na]^+$).

Пример 266. Синтез (S)-(4-метиленпирролидин-2-ил)метанола, гидрохлоридной соли.



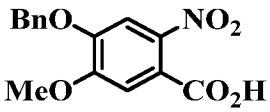
К раствору (S)-трет-бутил-2-(гидроксиметил)-4-метиленпирролидин-1-карбоксилата (3,70 г, 17,36 ммоль) в EtOAc (30 мл) при 4 °C добавляли HCl (12 M, 10 мл). Смесь перемешивали в течение 1 часа, разбавляли толуолом (50 мл), упаривали и кристаллизовали из смеси EtOH/гексан с получением указанного в заголовке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

Пример 267. Синтез 4-(бензилокси)-3-метоксибензойной кислоты.



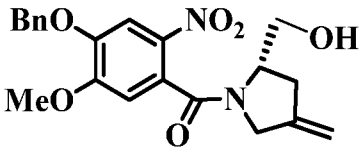
К смеси 4-гидрокси-3-метоксибензойной кислоты (50,0 г, 297,5 ммоль) в этаноле (350 мл) и водн. растворе NaOH (2,0 M, 350 мл) добавляли BnBr (140,0 г, 823,5 ммоль). Смесь перемешивали при 65 °C в течение 8 часов, концентрировали, упаривали совместно с водой (2 × 400 мл) и упаривали до ~ 400 мл, подкисляли до pH 3,0 с помощью 6 н. HCl. Твердое вещество отфильтровывали, кристаллизовали с помощью EtOH, сушили при 45 °C в вакууме, получая указанное в заголовке соединение (63,6 г, выход 83%). МС ЭСИ m/z 281,2 ($[M+Na]^+$).

Пример 268. 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 в EtOH, сушили при 40 °C в вакууме, получая указанное в заголовке соединение (63,3 г, 85% выход). МС ЭСИ m/z 326,1 ($[M+Na]^+$).

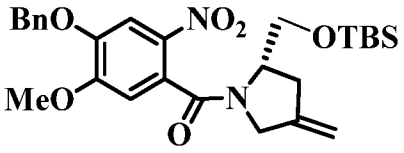
Пример 269. Синтез (S)-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитрофенил)(2-(гидроксиметил)-4-метиленпирролидин-1-ил)метанона.



Каталитическое количество ДМФА (30 мкл) добавляли к раствору 4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитробензойной кислоты (2,70 г, 8,91 ммоль) и оксалилхлорида (2,0 мл, 22,50

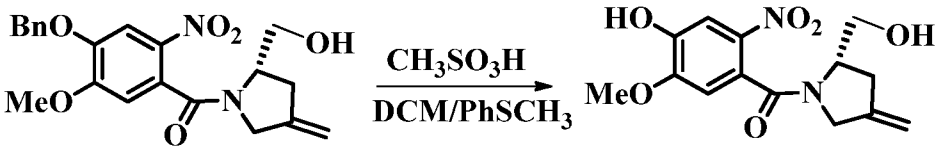
ммоль) в безводном CH_2Cl_2 (70 мл) и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. Избыток CH_2Cl_2 и оксалилхлорида удаляли на роторе. Ацетилхлорид повторно суспендировали в свежем CH_2Cl_2 (70 мл) и медленно добавляли к предварительно смешанному раствору (S)-(4-метиленпирролидин-2-ил)метанола, гидрохлоридной соли (1,32 г, 8,91 ммоль) и Et_3N (6 мл) в CH_2Cl_2 при 0 °C в атмосфере N_2. Реакционную смесь оставляли нагреваться до к.т. и продолжали перемешивать в течение 8 часов. После удаления CH_2Cl_2 и Et_3N, остаток разделяли между H_2O и EtOAc (70/70 мл). Водный слой дополнительно экстрагировали EtOAc (2 × 60 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (40 мл), сушили ($MgSO_4$) и упаривали. Очистка остатка с помощью флэш-хроматографии (силикагель, 2:8 смесь изомеров гексана/EtOAc) давала указанное в заголовке соединение (2,80 г, выход 79%). МС ЭИ m/z 421,2 ($[M+Na]^+$).

Пример 270. Синтез (S)-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитрофенил)(2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)-4-метиленпирролидин-1-ил)метанона.



К S)-(4-(Бензилокси)-5-метокси-2-нитрофенил)(2-(гидроксиметил)-4-метиленпирролидин-1-ил)метанону (2,78 г, 8,52 ммоль) в смеси ДХМ (10 мл) и пиридину (10 мл) добавляли трет-бутилхлордиметилсилан (2,50 г, 16,66 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя EtOAc/CH_2Cl_2 (1:6), с получением указанного в заголовке соединения (3,62 г, выход 83%, чистота ~ 95%). МС ЭСИ m/z вычислено для $C_{27}H_{37}N_2O_6Si$ $[M+H]^+$ 513,23, найдено 513,65.

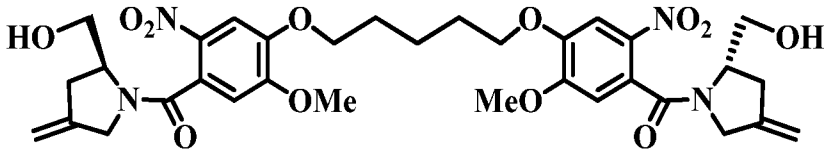
Пример 271. Синтез (S)-(4-гидрокси-5-метокси-2-нитрофенил)(2-(гидроксиметил)-4-метиленпирролидин-1-ил)метанона.



К (S)-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитрофенил)(2-(гидроксиметил)-4-метиленпирролидин-1-ил)метанона (2,80 г, 7,03 ммоль) в смеси ДХМ (30 мл)) и CH_3SO_3H (8 мл) добавляли $PhSCH_3$ (2,00 г, 14,06 ммоль). Смесь перемешивали в течение 0,5 ч, разбавляли ДХМ (40 мл), нейтрализовали, осторожно добавляя 0,1 М раствор Na_2CO_3. Смесь разделяли и водный раствор экстрагировали ДХМ (2 × 10 мл). Органические слои объединяли, сушили над Na_2SO_4, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя смесью MeOH/CH_2Cl_2 (от 1:15 до 1:6), с получением указанного в заголовке соединения (1,84 г,

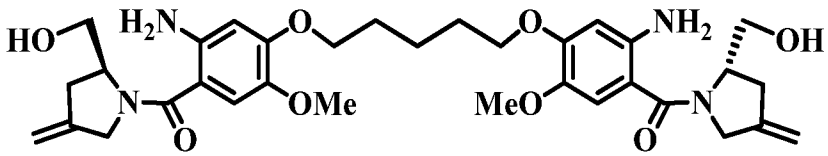
выход 85%, ~ 95% чистота). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{14}H_{17}N_2O_6$ $[M+H]^+$ 309,10, найдено 309,30.

Пример 272. Синтез (S)-((пентан-1,5-диилбис(окси))бис (5-метокси-2-нитро-4,1-фенилен))бис(((S)-2-(гидроксиметил)-4 -метиленпирролидин-1-ил)метанона)



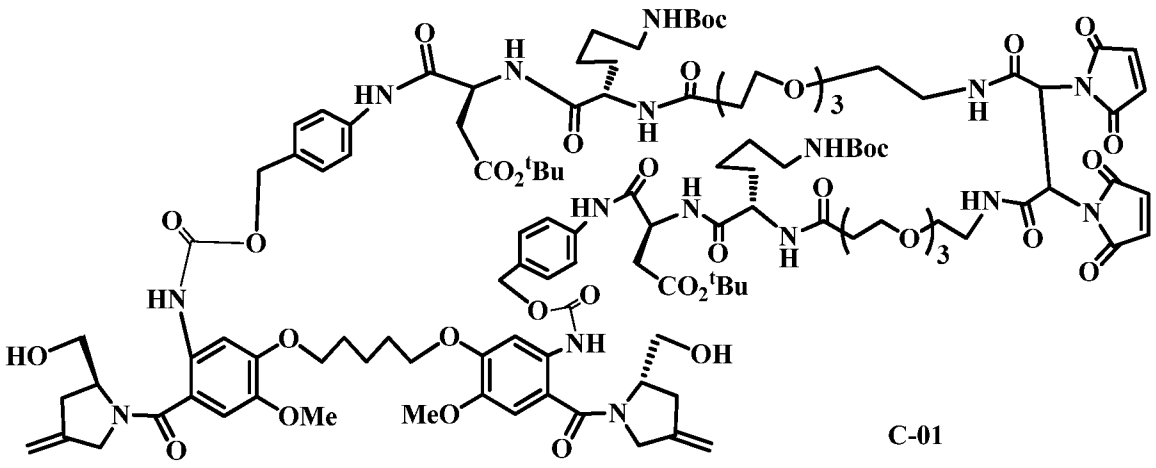
К (S)-(4-гидрокси-5-метокси-2-нитрофенил) (2-(гидроксиметил)-4-метиленпирролидин-1-ил)метаноне (0,801 г, 2,60 ммоль) в бутаноне (10 мл) добавляли Cs_2CO_3 (2,50 г, 7,67 ммоль) с последующим добавлением 1,5-дийодопентана (415 ммоль, 1,28 ммоль). Смесь перемешивали в течение 26 часов, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя смесью $MeOH/CH_2Cl_2$ (от 1:15 до 1:5), с получением указанного в заголовке соединения (0,675 г, выход 77%, чистота ~ 95%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{33}H_{41}N_4O_{12}$ $[M+H]^+$ 685,26, найдено 685,60.

Пример 273. Синтез (S)-((пентан-1,5-диилбис(окси))бис (2-амино-5-метокси-4,1-фенилен))бис(((S)-2-(гидроксиметил)-4 -метиленпирролидин-1-ил)метанона)



К (S)-((пентан-1,5-диилбис(окси))бис (5-метокси-2-нитро-4,1-фенилен))бис(((S)-2-(гидроксиметил)-4-метиленпирролидин-1-ил)метанону) (0,670 г, 0,98 ммоль) в CH_3OH (10 мл) добавляли $Na_2S_2O_4$ (1,01 г, 5,80 ммоль) в H_2O (8 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 часов. Реакционную смесь концентрировали и совместно выпаривали с DMA (2 × 10 мл) и EtOH (2 × 10 мл) в высоком вакууме до сухого состояния с получением указанного в заголовке соединения (общая масса 1,63 г), содержащего неорганические соли, которое использовали непосредственно на следующей стадии реакции (без дальнейшего разделения). ЭСМС m/z 647,32 ($[M+Na]^+$).

Пример 274. Синтез C-01 (аналог димера PBD, имеющий бис-линкер).

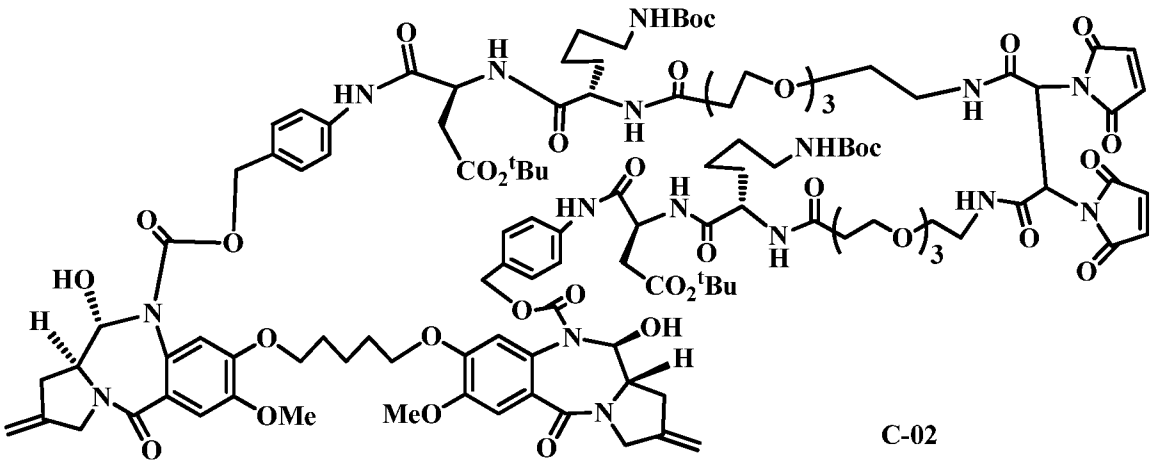


C-01

(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-гексаокси-4,7,20,25,38,41-гексаазатетратетраконтан-1,44-диоат (0,840 г, 0,488 ммоль) в ТГФ (8 мл), содержащий пиридин (0,100 мл, 1,24 ммоль) при 0 °C добавляли по каплям раствор трифосгена (0,290 мг, 0,977 ммоль) в ТГФ (3,0 мл). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 15 мин, 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-метиленпирролидин -1-ил)метанон), содержащий неорганические соли (0,842 мг, ~ 0,49 ммоль), суспендировали в EtOH (10 мл) при 0 °C и добавляли трихлорид в ТГФ, приготовленный выше. Смесь перемешивали при 0 °C в течение 4 часов, затем нагревали до комнатной температуры в течение 1 часа, упаривали и очищали с помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (л) мм x 10(d) мм, C_{18} колонка, 10-80% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, v =8 мл/мин) с получением соединения **C-01** (561,1 мг, 48% выход за три стадии). МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{117}H_{163}N_{16}O_{38}$ $[M+H]^+$ 2400,12, найдено 2400,90.

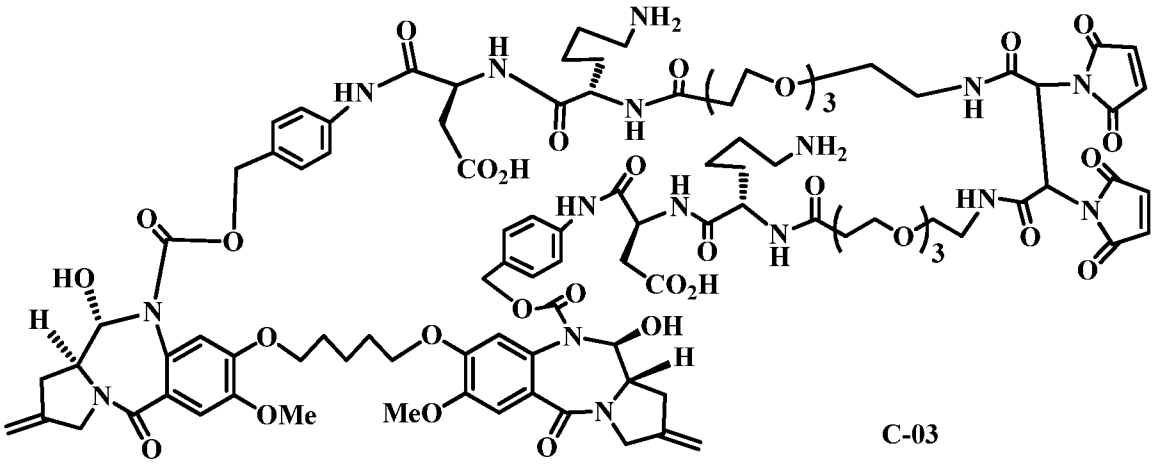
Пример 275. Синтез C-02 (аналог димера PBD, имеющий бис-линкер).



C-02

Перйодинан Десса-Мартина (138,0 мг, 0,329 ммоль) добавляли к раствору соединения **C-01** (132,0 мг, 0,055 ммоль) в ДХМ (5,0 мл) при 0 °C. 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), насыщенным водным раствором хлорида натрия (10 мл), сушили над Na_2SO_4, фильтровали, упаривали и очищали с помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (л) мм x 10(d) мм, C_{18} колонка, 10-80% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, v =8 мл/мин) с получением указанного в заголовке соединения (103,1 мг, 78% выход) в виде пены. МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{117}H_{158}N_{16}O_{38}$ $[M+H]^+$ 2396,09, найдено 2396,65.

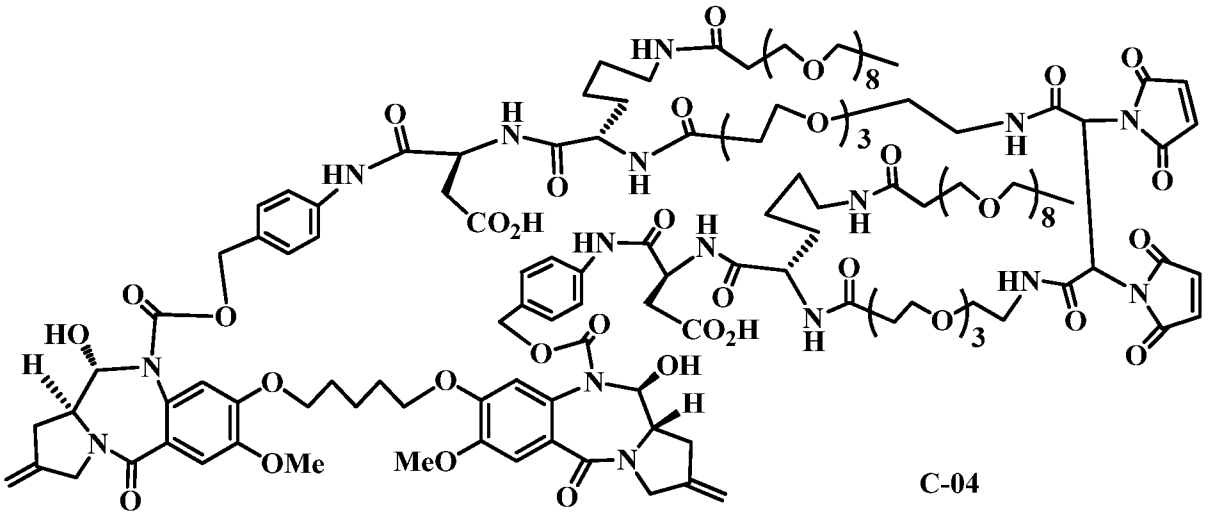
Пример 276. Синтез C-03 (аналог димера PBD, имеющий бис-линкер).



C-03

Соединение C-02 (55,0 мг, 0,023 ммоль) растворяли в ДХМ (3 мл) с последующим добавлением ТФК (3 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов, затем упаривали и выпаривали совместно с ДХМ/толуолом до сухого состояния, получая неочищенный продукт C-3 (48,0 мг, выход 100%, чистота 92% по данным ВЭЖХ), который далее очищали с помощью ВЭЖХ с обращенной фазой (250 (L) мм × 10 (d) мм, колонка C_{18}, 5-60% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, v = 8 мл/мин), получая очищенный продукт **C-03** (42,1 мг, выход 88%, чистота 96%) в виде пены. МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{99}H_{126}N_{16}O_{34}$ $[M+H]^+$ 2083,86, найдено 2084,35.

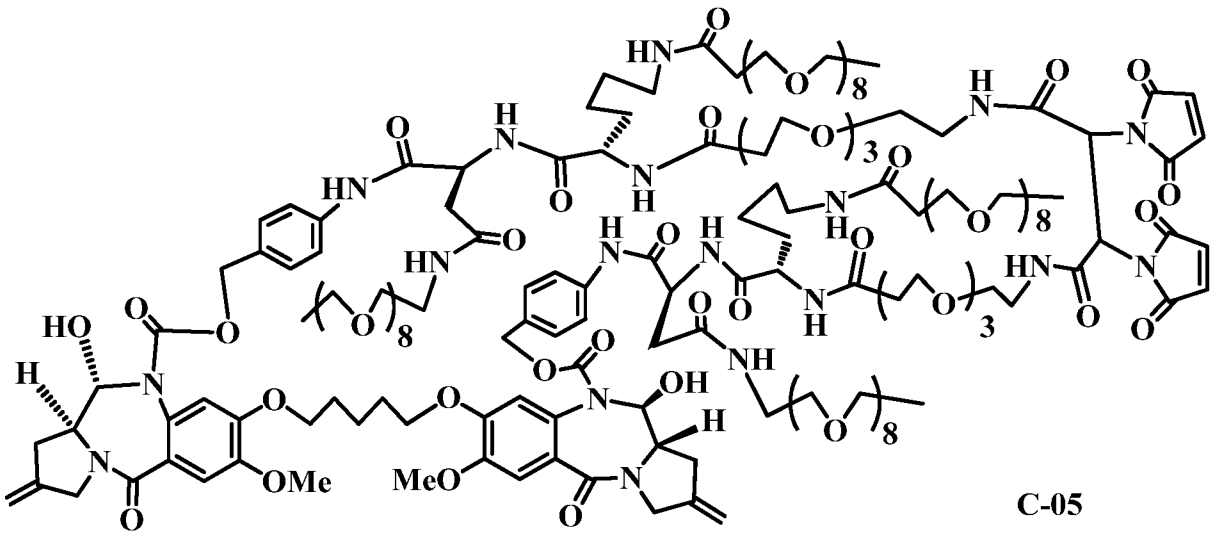
Пример 277. Синтез C-04 (аналог димера PBD, имеющий бис-линкер).



C-04

Соединение C-03 (35,0 мг, 0,017 ммоль) растворяли в смешанном растворе ТГФ (3 мл) и 0,1 М, NaH_2PO_4 (3 мл), pH 7,5, с последующим добавлением N-сукцинимидила 2,5,8,11,14,17,20,23-октаоксагексакозан-26-оата (43,0 мг, 0,084 ммоль) 4 порциями за 2 часа. Затем реакционную смесь продолжали перемешивать при комнатной температуре в течение 4 ч и упаривали совместно с ДМФА (10 мл) досуха с получением неочищенного продукта C-4, который дополнительно очищали с помощью ВЭЖХ с обращенной фазой (250 (L) мм x 20 (d) мм, колонка C18, 20-60% ацетонитрил/вода за 40 мин, v = 8 мл/мин) с получением чистого продукта C-04 (39,4 мг, выход 81%, чистота 96%) в виде пены. МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{135}H_{195}N_{16}O_{52}$ $[M+H]^+$ 2872,30, найдено 2871,65.

Пример 278. Синтез C-05 (аналог димера PBD, имеющий бис-линкер).

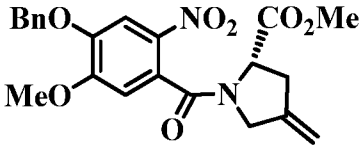


C-05

К раствору соединения C-04 (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 DMA (2 мл) добавляли EDC (30,0 мг, 0,156 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 14 ч, упаривали, очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (L) мм x 20 (d) мм, колонка C18, 20-60% ацетонитрил/вода в течение 40 минут, объем = 8 мл/мин) с

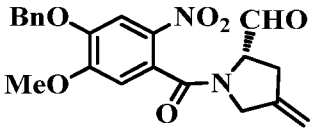
получением чистого продукта С-05 (31,2 мг, выход 77%, чистота 97% по данным ВЭЖХ) в виде пены. МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{161}H_{249}N_{18}O_{62}$ $[M+H]^+$ 3426,68, найдено 3427,21.

Пример 279. Синтез (S)-метил 1-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитробензоил)-4-метиленпирролидин-2-карбоксилата.



Каталитическое количество ДМФА (30 мкл) добавляли к раствору 4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитробензойной кислоты (2,70 г, 8,91 ммоль) и оксалилхлорида (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 оксалилхлорида удаляли на роторе. Ацетилхлорид повторно суспендировали в свежем CH_2Cl_2 (70 мл) и медленно добавляли к предварительно смешанному раствору гидрохлорида (S)-метил 4-метиленпирролидин-2-карбоксилата (1,58 г, 8,91 ммоль) и Et_3N (6 мл) в CH_2Cl_2 при 0 °C в атмосфере N_2. Реакционную смесь оставляли нагреваться до к.т. и продолжали перемешивать в течение 8 часов. После удаления CH_2Cl_2 и Et_3N, остаток разделяли между H_2O и EtOAc (70/70 мл). Водный слой дополнительно экстрагировали EtOAc (2 × 60 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (40 мл), сушили ($MgSO_4$) и упаривали. Очистка остатка с помощью флэш-хроматографии (силикагель, 2:8 смесь изомеров гексана/EtOAc) давала указанное в заголовке соединение (2,88 г, выход 76%). МС ЭИ m/z 449,1 ($[M+Na]^+$).

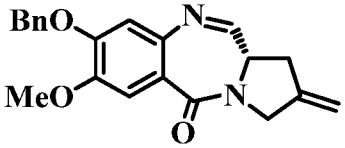
Пример 280. Синтез (S)-1-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитробензоил)-4-метиленпирролидин-2-карбальдегида.



К энергично перемешиваемому раствору (S)-метил 1-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитро бензоил)-4-метиленпирролидин-2-карбоксилата (2,80 г, 6,57 ммоль) в безводном CH_2Cl_2 (60 мл) по каплям добавляли DIBAL-H (1н в CH_2Cl_2, 10 мл) при -78 °C в атмосфере N_2. После перемешивания смеси в течение дополнительных 90 минут избыток реагента разлагали добавлением 2 мл метанола, а затем 5% HCl (10 мл). Полученную смесь оставляли нагреться до 0 °C. Слои разделяли и водный слой дополнительно экстрагировали CH_2Cl_2 (3 × 50 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили ($MgSO_4$) и упаривали. Очистка

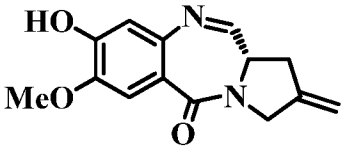
остатка с помощью флэш-хроматографии (силикагель, 95: 5 $CHCl_3$/MeOH) давала указанное в заголовке соединение (2,19 г, выход 84%). МСЭИ m/z 419,1 ($[M+Na]^+$).

Пример 281. Синтез (S)-8-(бензилокси)-7-метокси-2-метилен-2,3-дигидро-1H-бензо[e]-пирроло[1,2-a]азепин-5(11aH)-она.



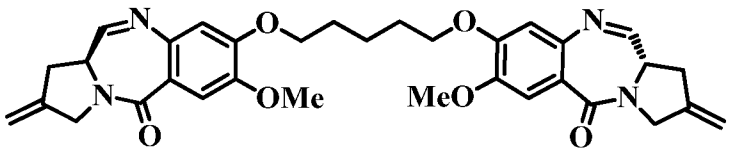
Смесь (S)-1-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитробензоил)-4- метиленпирролидин-2-карбальдегида (2,18 г, 5,50 ммоль) и $Na_2S_2O_4$ (8,0 г, 45,97 ммоль) в ТГФ (60 мл) и H_2O (40 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 20 часов. Растворители удаляли в высоком вакууме. Остаток повторно суспендировали в MeOH (60 мл) и по каплям добавляли HCl (6M) до достижения pH ~ 2. Полученную смесь перемешивали при к.т. в течение 1 часа. Из реакционной смеси удаляли большую часть MeOH, затем разбавляли EtOAc (100 мл). EtOAc раствор промывали насыщенным раствором $NaHCO_3$, насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили ($MgSO_4$) и упаривали. Очистка остатка с помощью флэш-хроматографии (силикагель, 97:3 $CHCl_3$/MeOH) давала указанное в заголовке соединение (1,52 г, 80%). ЭИМС m/z 372,1 ($[M+Na]^+$).

Пример 282. Синтез (S)-8-гидрокси-7-метокси-2-метилен-2,3 -дигидро-1H-бензо[e]-пирроло[1,2-a]азепин-5(11aH)-она.



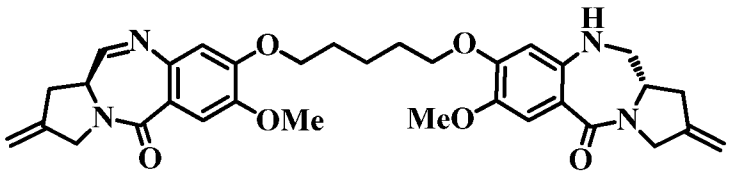
К раствору (S)-8-(бензилокси)-7-метокси-2-метилен-2,3 -дигидро-1H-бензо[e]-пирроло[1,2-a]азепин-5(11aH)-она (1,50 г, 4,32 ммоль) в 70 мл CH_2Cl_2 добавляли 25 мл CH_3SO_3H при 0 °C. Смесь перемешивали при 0 °C в течение 10 минут, затем при комнатной температуре в течение 2 часов, разбавляли CH_2Cl_2, pH доводили холодным 1,0 н раствором $NaHCO_3$ до 4 и фильтровали. Водный слой экстрагировали CH_2Cl_2 (3 × 60 мл). Органические слои объединяли, сушили над Na_2SO_4, фильтровали, упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (CH_3OH/CH_2Cl_2 1:15) с получением 811 мг (73% выход) указанного в заголовке соединения. ЭСМС m/z 281,1 ($[M+Na]^+$).

Пример 283. 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-a] 1,4]диазепин-5(11aH)-она).



К перемешанному 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-a]азепин-5(11aH)-он (401 мг, 1,55 ммоль) и 1,5-дийодопентан (240 мг, 0,740 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, упаривали и очищали с помощью хроматографии на SiO_2 (EtOAc/CH_2Cl_2 1:10) с получением 337 мг (выход 78%) указанного в заголовке продукта. ЭСМС m/z 607,2 ($[M+Na]^+$).

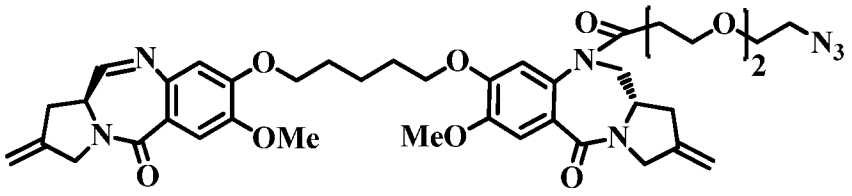
Пример 284. Синтез (S)-7-метокси-8-((5-(((S)-7-метокси-2-метилен-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-) бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-8-ил)окси)пентил)окси)-2-метилен-2,3-дигидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-5(11aH)-она.



К раствору (11aS,11a'S)-8,8'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис (7-метокси-2-метилен-2,3-дигидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a] [1,4]диазепин-5(11aH)-она) (150 мг, 0,256 ммоль) в безводном дихлорметане (1 мл) и абсолютном этаноле (1,5 мл) добавляли боргидрид натрия в метоксиэтиловом эфире (85 мкл, 0,5 М, 0,042 ммоль) при 0 °C. Через 5 минут убирали ледяную баню и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов, затем охлаждали до 0 °C, добавляли насыщенный хлорид аммония, разбавляли дихлорметаном и фазы разделяли. Органический слой промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали через целит и упаривали. Остаток очищали с помощью ВЭЖХ с обращенной фазой (колонка C_{18}, ацетонитрил/вода). Соответствующие фракции экстрагировали дихлорметаном и упаривали, получая указанное в заголовке соединение (64,7 мг, 43%), МС m/z 609,2 ($[M+Na]^+$), 625,3 ($[M+K]^+$) и 627,2 ($[M+Na+H_2O]^+$); было получено полностью восстановленное соединение (16,5 мг, 11%), МС m/z 611,2 ($[M+Na]^+$), 627,2 ($[M+K]^+$), 629,2 ($[M+Na+H_2O]^+$); и непрореагировавший исходный материал также удаляли (10,2 мг, 7%), МС m/z 607,2 ($[M+Na]^+$), 625,2 ($[M+Na+H_2O]^+$).

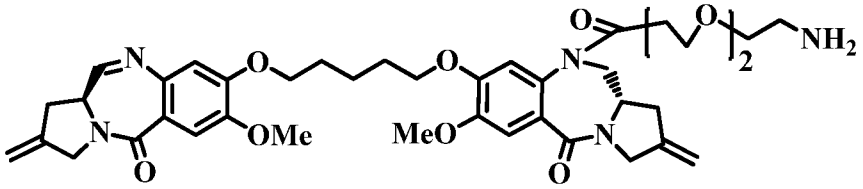
Пример 285. Синтез (S)-8-((5-(((S)-10-(3-(2-(2-азидоэтокси)этокси)пропаноил)-7-метокси-2-метилен-5-оксо-2, 3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-

а][1,4]диазепин-8-ил)окси)пентил)окси)-7-метокси-2- метилен-2,3-дигидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]диазепин-5 (11аН)-она.



К смеси (S)-7-метокси-8-((5-(((S) -7-метокси-2-метилен-5-оксо-2,3,5,10,11,11а-гексагидро-) 1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]диазепин-8-ил)окси)пентил)окси) -2-метилен-2,3-дигидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]диазепин-5(11аН)-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 с помощью колоночной хроматографии с SiO_2 (EtOAc/CH_2Cl_2, 1:6) с получением 63,1 мг (выход 81%) указанного в заголовке продукта. МС ЭСИ m/z $C_{40}H_{50}N_7O_9$ $[M+H]^+$, рассч. 772,36, найдено 772,30.

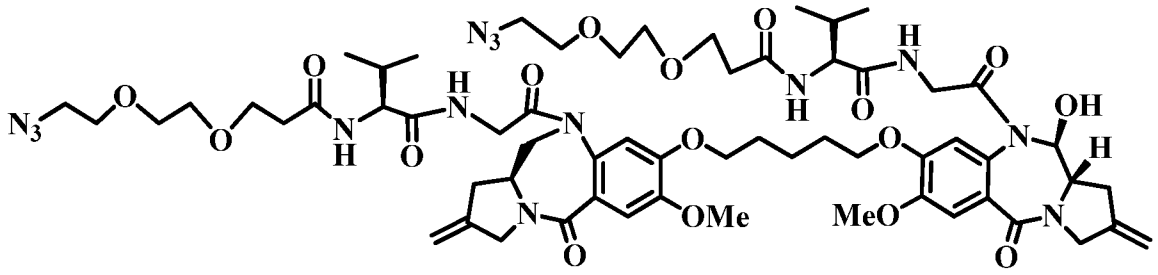
Пример 286. Синтез (S)-8-((5-(((S)-10-(3-(2-(2-аминоэтокси)этокси)пропаноил)-7-метокси-2-метилен-5-оксо-2,3,5,10,11,11а-гексагидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]диазепин-8-ил)окси)пентил)окси)-7-метокси-2- метилен-2,3-дигидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]диазепин-5 (11аН)-она.



К раствору (S)-8-((5-(((S)-10-(3-(2-(2-азидоэтокси)этокси)пропаноил)-7-метокси-2-метилен-5-оксо- 2,3,5,10,11,11а-гексагидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]диазепин-8-ил)окси)пентил)окси)-7-метокси- 2-метилен-2,3-дигидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]диазепин-5 (11аН)-она (60 мг, 0,078 ммоль) в смеси ТГФ (5 мл) и NaH_2PO_4 буферного раствора (pH 7,5, 1,0 М, 0,7 мл) добавляли PPh_3 (70 мг, 0,267 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, упаривали и очищали на C_{18} препаративной ВЭЖХ, элюировали водой/CH_3CN (от 90% воды до 35% воды в течение 35 минут), получая 45,1 мг (выход 79%) указанного в заголовке продукта после высушивания в высоком вакууме. МС ЭСИ m/z $C_{40}H_{52}N_5O_9$ $[M+H]^+$, рассч. 746,37, найдено 746,50.

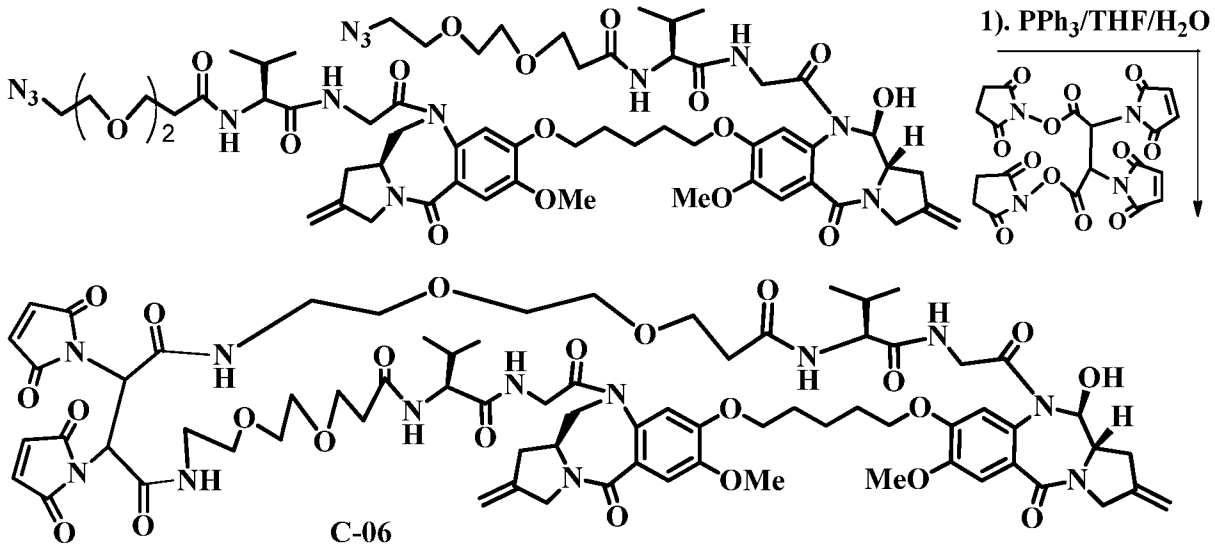
Пример 287. Синтез (S)-N-(2-((S)-8-((5-(((11S, 11aS)-10-((S)-15-азидо-5-изопропил-4,7-диоксо)-10,13-диокса-3,6-диазапентадекан-1-оил)-11-гидрокси-7-метокси-2-метилен-5-оксо-2,3,5,10,11,11а-гексагидро-1Н- бензо[е]пирроло [1,2-а][1,4]диазепин-8-ил) окси) пентил)-окси)-7-метокси-2-метилен-5-оксо-2,3,11,11а тетрагидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-

а][1,4]диазепин-10 (5Н)-ил)-2-оксоэтил)-2-(3-(2-(2-азидоэтокси)этокси) пропанамидо)-3-метилбутанамида.



К смеси (S)-7-метокси-8-((5-(((S)-7-метокси-2-метилен-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-) 1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]диазепин-8-ил)окси)пентил)окси)-2-метилен-2,3-дигидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4]диазепин-5(11аН)-она (60,0 мг, 0,102 ммоль) и (S)-15-азидо-5-изопропил-4,7-диоксо-10,13-диокса-3,6-диазапентадекан-1-оновой кислоты (90,2 мг, 0,25 ммоль) в DMA (8 мл) добавляли BrOP (240,2 мг, 0,618 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии с SiO_2 (CH_3OH/CH_2Cl_2, от 1:10 до 1: 5), получая 97,1 мг (выход 74%) указанного в заголовке продукта. МС ЭСИ m/z $C_{61}H_{87}N_{14}O_{17}$ $[M+H]^+$, рассч. 1287,63, найдено 1287,95.

Пример 288. Синтез (S)-N-(2-((S)-8-((5-(((11S, 11aS)-10-((S)-15-амино-5-изо-пропил-4,7-диоксо)-10,13-диокса-3,6-диазапентадекан-1-оил)-11-гидрокси-7-метокси-2-метилен-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1Н-бензо[е]пирроло[1,2-а][1,4] диазепин-8-ил)окси)пентил) окси)-7-метокси-2-метилен-5-оксо-2,3,11,11a- тетрагидро-1Н-бензо[е]пиррол[1,2-а][1,4]диазепин-10 (5Н)-ил)-2-оксоэтил)-2-(3-(2-(2-аминоэтокси)этокси) пропанамидо)-3-метилбутанамида (С-06).

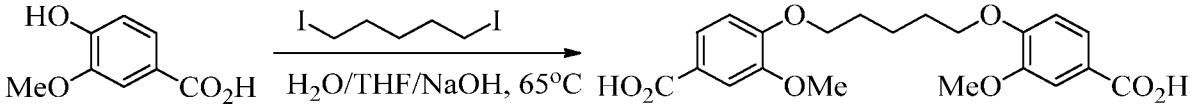


С-06

К раствору (S)-N-(2-((S)-8-((5-(((11S, 11aS))-10-((S)-15-азидо-5-изопропил-4,7 диоксо-10,13-диокса-3,6-диазапентадекан-1-оил)-11-гидрокси-7-метокси-2-метилен-5-

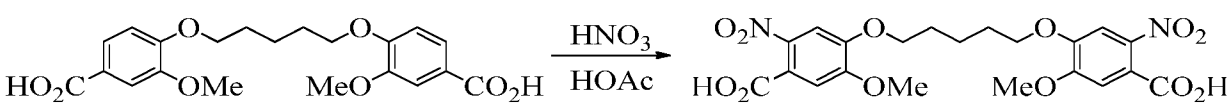
оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-8-ил)окси)пентил)-окси)-7-метокси-2-метилен-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-10 (5H)-ил)-2-оксоэтил)-2-(3-(2-(2- азидоэтокси) этокси)пропанамидо)-3-метилбутанамида (85 мг, 0,066 ммоль) в смеси ТГФ (5 мл) и NaH_2PO_4 буферном растворе (pH 7,5, 1,0 М, 0,7 мл) добавляли PPh_3 (100 мг, 0,381 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. После подтверждения ЖХ-МС образование (S)-N-(2-((S)-8-((5-(((11S,11aS)-10-((S)-15-амино-5-изопропил)-4,7-диоксо-10,13-диокса-3,6-диазапентадекан-1-оил)-11-гидрокси-7-метокси-2-метилен-5-оксо-2,3,5,10,11, 11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-8-ил)окси)пентил)окси)-7-метокси-2-метилен-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-10(5H)-ил)-2-оксоэтил)-2-(3-(2-(2-аминоэтокси) этокси)пропанамидо)-3-метилбутанамида (МС ЭСИ m/z $C_{61}H_{90}N_{10}O_{17}$ $[M+Na]^+$, рассч. 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 ч, упаривали и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с C_{18}, элюировали водой/CH_3CN (от 90% воды до 30% воды за 35 мин), получая 40,1 мг (выход 40%) указанного в заголовке продукта С-4 после высушивания в высоком вакууме. МС ЭСИ m/z $C_{73}H_{95}N_{12}O_{23}$ $[M+H]^+$, рассч. 1507,66, найдено 1507,90.

Пример 289. Синтез 4,4'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис (3-метоксибензойной кислоты).



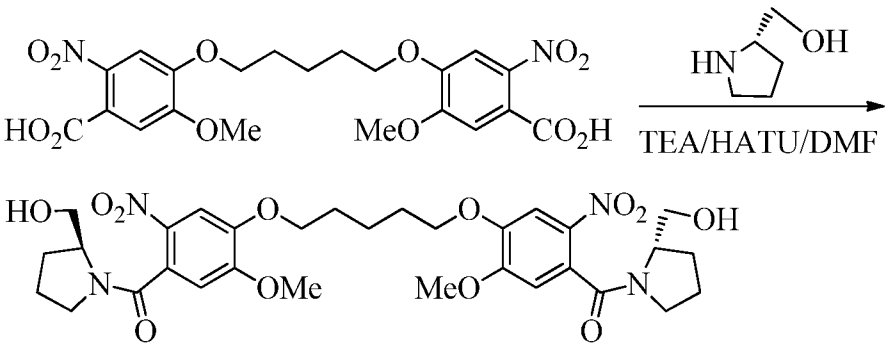
Раствор дииодпропана (19,0 г, 58,6 ммоль) в ТГФ (75 мл) добавляли по каплям в течение 4 часов к интенсивно перемешиваемому раствору ванилиновой кислоты (20,0 г, 119 ммоль) в ТГФ (150 мл) и водном NaOH. (340 мл) при 65 в отсутствие света (обернутая фольгой колба). После нагревания с обратным холодильником в течение 48 часов в темноте раствор охлаждали и удаляли ТГФ выпариванием в вакууме. Остаток экстрагировали ЕА. Водный слой отделяли и подкисляли до pH 2 конц. HCl. Полученный осадок собирают фильтрованием, промывают, сушат и перекристаллизовывают из ледяной уксусной кислоты, с получением соответствующей бис-карбоновой кислоты (14,0 г, 34,7 ммоль). Белое твердое вещество, выход (60%) .

Пример 290. Синтез 4,4'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис (5-метокси-2-нитробензойной кислоты).



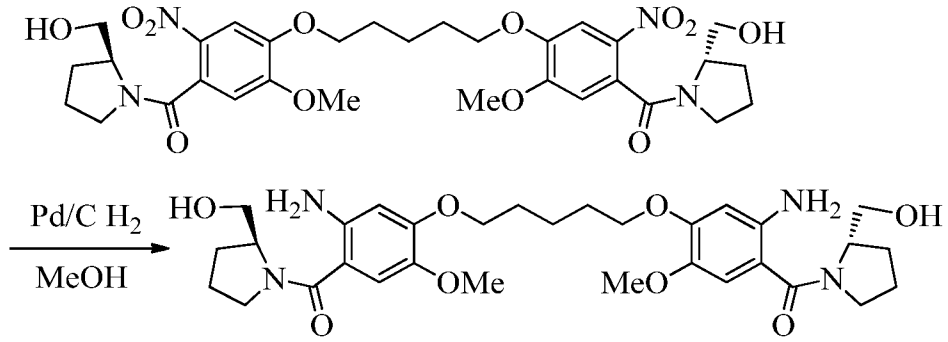
К суспензии 4,4'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис (3-метоксибензойной кислоты) (18,0 г, 66,8 ммоль) в HOAc (80 мл, 1800 ммоль) добавляли HNO_3 (80 мл , 1778 ммоль) по каплям при комнатной температуре. После 2 ч перемешивания смесь выливали в 100 г льда и экстрагировали EA (2 x 200 мл). Органический слой отделяли и промывали H_2O (2 × 100 мл), затем добавляли 4 н. NaOH (400 мл). После экстрагирования EA (2 x 100 мл) основной водный слой отделяли и подкисляли до pH 2 конц. HCl. Смесь экстрагировали EA (2 x 250 мл). Объединенный органический экстракт промывали солевым раствором, сушили, фильтровали и упаривали. Остаток очищали флэш-хроматографией (DCM/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%. Rf 0,3 (DCM/MeOH = 3/1)

Пример 291. Синтез (S)-((пентан-1,5-диилбис(окси))бис (5-метокси-2-нитро-4,1-фенилен))бис(((S)-2-(гидроксиметил) пирролидин-1-ил)метанона).



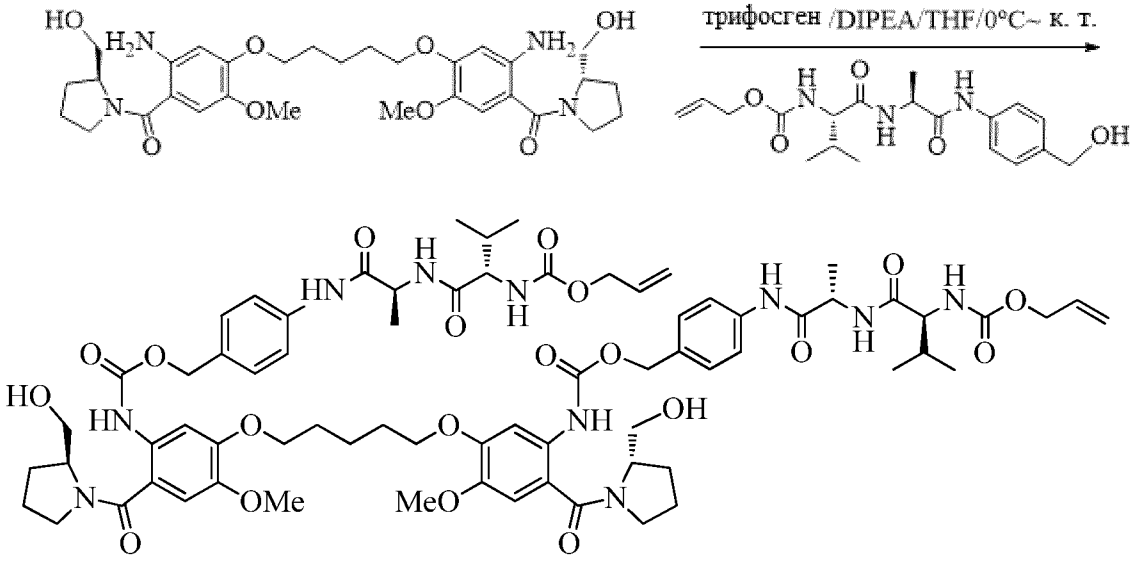
К раствору 4,4'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис (5-метокси-2-нитробензойной кислоты) (5,0 г, 10,0 ммоль) и L- (+)-пролинола (2,25 г , 22,3 ммоль) в ДМФА (100 мл) добавляли TEA (4,0 г) при комнатной температуре. После 10 мин перемешивания добавляли HATU (10,77 г, 28,3 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. После завершения превращения смесь разбавляли H_2O (100 мл) и экстрагировали EA (2 x 100 мл) и DCM (2 x 50 мл), объединенный органический экстракт промывали солевым раствором, сушили, фильтровали и упаривали. Остаток очищали хроматографией (DCM/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 292. 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 ч перемешивания Pd/C удаляли фильтрованием и промывали MeOH. Фильтрат упаривали и остаток очищали хроматографией (DCM/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%.

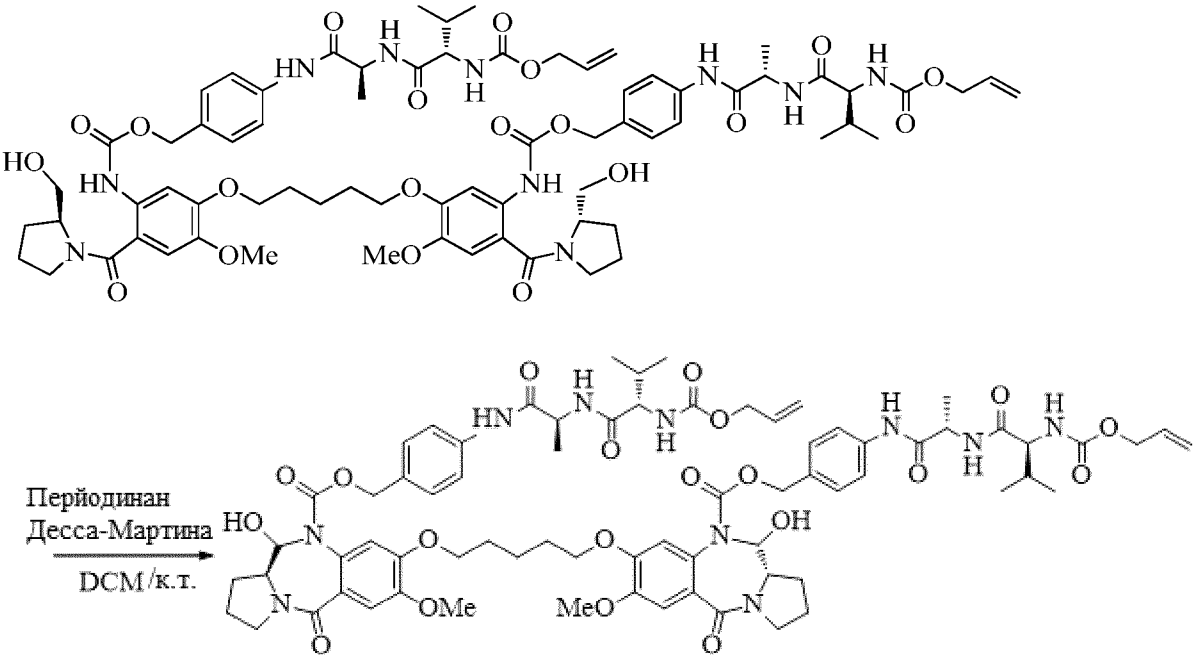
Пример 293. Синтез бис(4-((S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино) -3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил)((S)-(пентан-1,5- диилбис(окси))бис(2-((S)-2-(гидроксиметил)пирролидин -1-карбонил)-4-метокси-5,1-фенилен))дикарбамата.



К раствору аллил ((S)-1-(((S)-1-((4-(гидроксиметил)фенил) амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутана-2-ил) карбамата (8,0 г, 21,3 ммоль) в сухом ТГФ (300 мл) добавляли DIPEA (5,5 г, 40,3 ммоль) и раствор трифосгена (3,2 г, 10,8 ммоль) в сухом ТГФ (50 мл) при 5 . После 15 мин перемешивания раствор снова охлаждали до 5 °C 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 DIPEA (2,75 г, 21,6 ммоль) в сухом ТГФ (150 мл). Полученному раствору давали

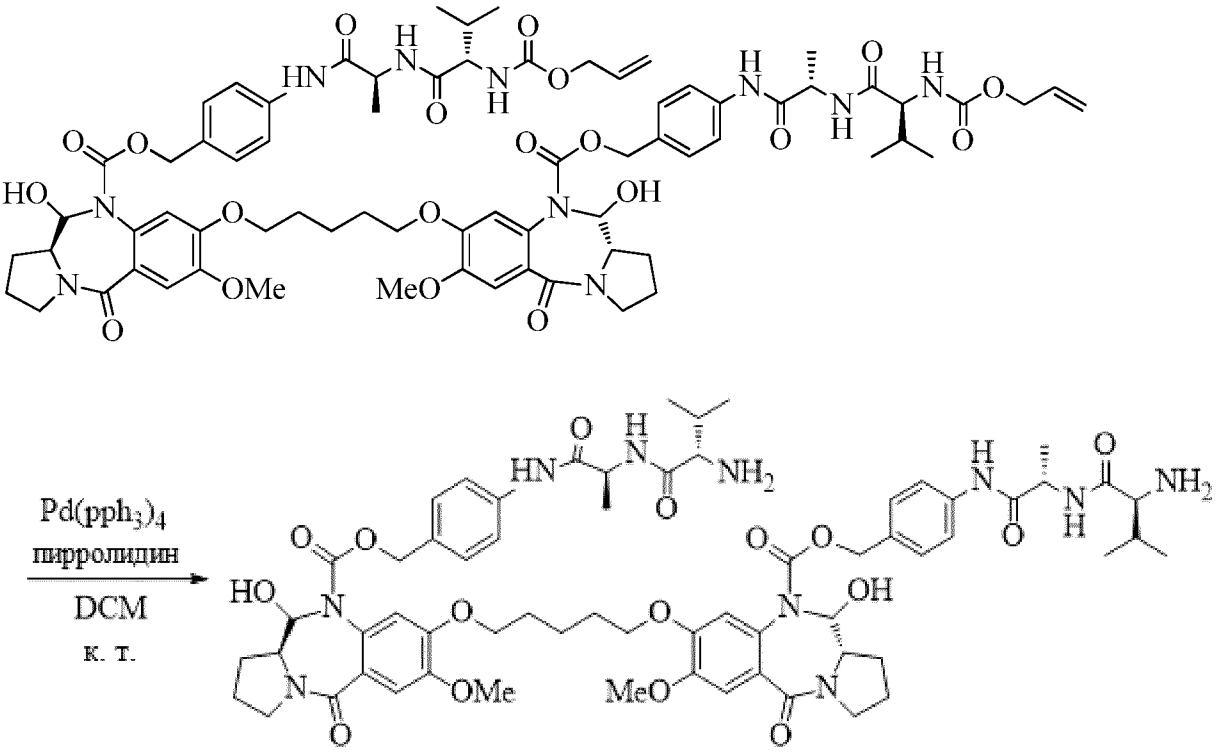
нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. ТГФ удаляют упариванием в вакууме. Остаток очищали хроматографией (DCM/MeOH = 20/1) с получением бис(4-((S)-2- ((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино) -3-метилбутанамидо)пропанамидо)-бензил)((S)- (пентан-1,5-диилбис(окси))бис(2-((S)-2-(гидроксиметил) пирролидин-1-карбонил)-4-метокси-5,1-фенилен))дикарбамата (7,0 г, 4,97 ммоль) в виде желтой пены с выходом 94%.

Пример 294. 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]диазепин-10(5H)-карбоксилата).



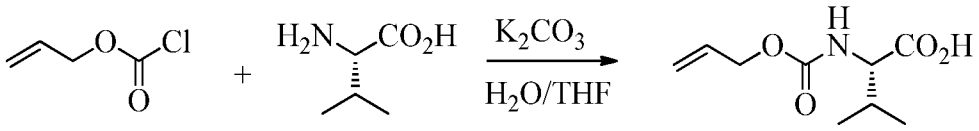
К раствору бис(4-((S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино) -3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил)((S)-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(2-((S)-2-(гидроксиметил)пирролидин -1-карбонил)-4-метокси-5,1-фенилен))дикарбамата (300 мг, 0,21 ммоль) в сухом DCM (15 мл) добавляли DMP (280 мг, 0,66 ммоль) в атмосфере азота при комнатной температуре. После завершения превращения к реакционному раствору добавляли водный Na_2SO_3, а затем водный $NaHCO_3$, смесь перемешивали еще 15 минут и экстрагировали DCM (3 x 20 мл). Объединенный органический экстракт промывали солевым раствором, сушили, фильтровали и упаривали. Остаток очищали хроматографией (DCM/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]диазепин-10(5H)-карбоксилата) (270 мг, 0,19 ммоль) в виде не совсем белой пены с выходом 92%.

Пример 295. 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]диазепин-10(5H)-карбоксилата).



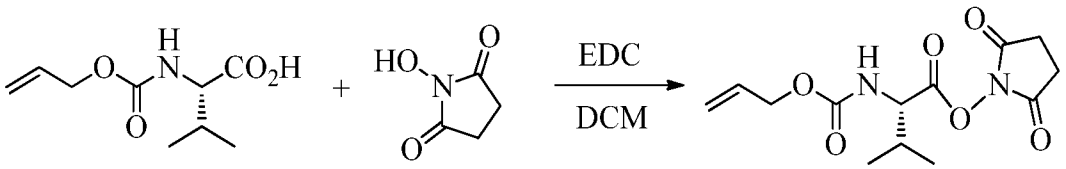
К раствору (11S,11aS,11'S,11a'S)-бис(4-((S)-2-((S)-2- (((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо) пропанамидо)бензил) 8,8 '-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис (11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо [e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-10(5H)-карбоксилата) (774 мг, 0,55 ммоль) и пирролидина (196 мг, 2,76 ммоль) в сухом DCM (8 мл) добавляли Pd (pph_3)$_4$ (76 мг, 0,066 ммоль). Реакционную смесь продували аргоном и перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре, после чего реакционную смесь разбавляли DCM и последовательно промывали насыщенным водным NH_4Cl и солевым раствором. Органическую фазу сушили над Na_2SO_4, фильтровали и упаривали. Остаток очищали хроматографией (DCM/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-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо [e]-пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-10(5H)-карбоксилата) (420 мг, 0,34 ммоль) в виде не совсем белого твердого вещества с выходом 62 %.

Пример 296. Синтез (S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутановой кислоты.



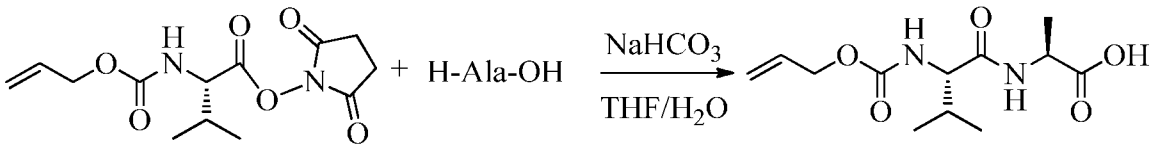
Аллилхлорформиат (24,8 г, 205 ммоль) по каплям добавляли к перемешиваемому раствору L-валина (20 г, 171 ммоль) и K_2CO_3 (35,4 г, 257 ммоль) в H_2O (250 мл) и ТГФ (250 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, затем растворитель упаривали при пониженном давлении и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

Пример 297. Синтез (S)-2,5-диоксопирролидин-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 DCM (500 мл) добавляли EDC (66,9 г, 348 ммоль) и N-гидроксисукцинимид (30 г, 261 ммоль) при комнатной температуре. После 14 ч перемешивания реакционную смесь разбавляли DCM и промывали водой и солевым раствором. Органическую фазу сушили над Na_2SO_4, фильтровали и упаривали, получая продукт (54,5 г), который использовали в следующей стадии без дополнительной очистки. (100%) вязкое бесцветное масло. Rf = 0,5 (PE/EA = 2/1)

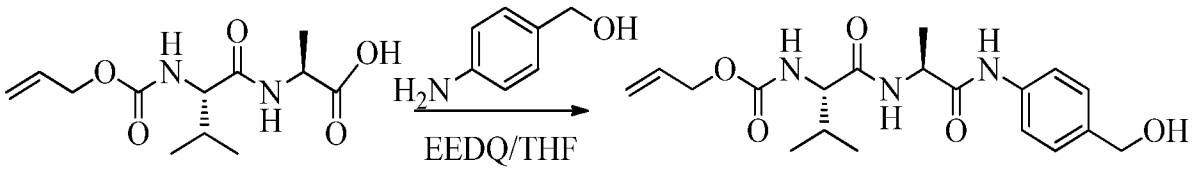
Пример 298. Синтез (S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино) -3-метилбутанамидо)пропановой кислоты.



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-диоксопирролидин-1-ил 2-(((аллилокси)карбонил) амино)-3-метилбутаноата (50 г, 168 ммоль) в ТГФ (100 мл) при комнатной температуре. После 72 часов перемешивания ТГФ выпаривали при пониженном давлении. Остаток подкисляли до pH 3 лимонной кислотой и экстрагировали EA (3 × 350 мл), объединенные экстракты промывали солевым раствором, сушили, фильтровали и упаривали с получением белого твердого вещества. Растирание с

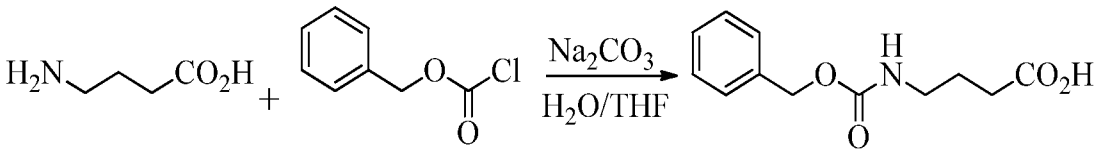
диэтиловым эфиром (избыток) давало чистый продукт в виде белого порошка (25,2 г, 93 ммоль, 55%).

Пример 299. Синтез аллил ((S)-1-(((S)-1-((4-(гидроксиметил)фенил)амино) -1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил) карбамата.



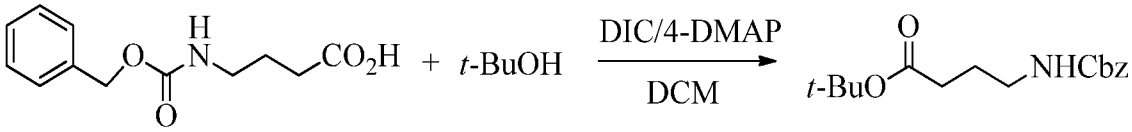
К раствору (S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино) -3-метилбутанамидо)пропановой кислоты (25,2 г, 92,6 ммоль) и п-аминобензилового спирта (12,0 г, 97,6 ммоль) в ТГФ (300 мл) добавляли EEDQ (24,0 г, 97,2 ммоль) при комнатной температуре. После 18 часов перемешивания растворитель выпаривали при пониженном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

Пример 300. 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 °C. После 10 мин перемешивания по каплям добавляли раствор CbzCl (33,2 мл, 232 ммоль) в ТГФ (100 мл). Реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. После завершения превращения смесь разбавляли H_2O (100 мл) и экстрагировали EA (2 × 100 мл). Водный слой подкисляли до pH 2 конц. HCl и экстрагировали EA (3 x 100 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором, сушили над Na_2SO_4, фильтровали и упаривали с получением белого твердого вещества. Растирание с PE (избыток) дало чистый продукт в виде белого порошка (31,6 г, 70%).

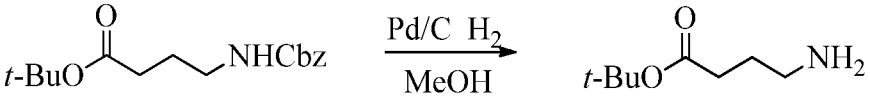
Пример 301. Синтез трет-бутил 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутаноата.



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 DCM (250 мл) добавляли 4-DMAP (0,61 г, 5 ммоль) и DIC (4,7 г, 37,3 ммоль) при 0 °C. После 16 ч перемешивания реакционную смесь фильтровали и экстрагировали DCM (2 × 200 мл). Объединенный

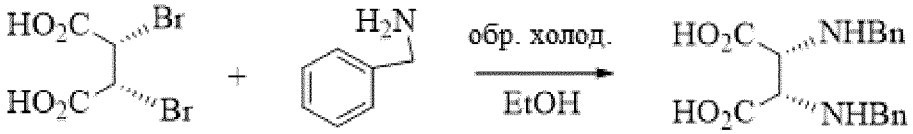
органический экстракт промывали 1 н. HCl и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4, фильтровали и упаривали. Остаток очищали хроматографией (100% DCM), с получением трет-бутил 4-(((бензилокси)карбонил)амино)бутаноата (4,26 г, 14,5 ммоль, 58%) в виде вязкого бесцветного масла.

Пример 302. Синтез трет-бутил 4-аминобутаноата.



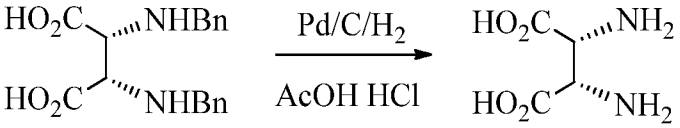
К раствору трет-бутил 4-(((бензилокси)карбонил)амино) бутаноата (1,69 г, 5,77 ммоль) в MeOH (40 мл) добавляли 10% Pd/C (400 мг), смесь перемешивали в атмосфере водорода при комнатной температуре в течение ночи. После 14 ч перемешивания Pd/C удаляли фильтрованием и промывали MeOH. Фильтрат упаривали с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

Пример 303. Синтез (2R,3S)-2,3-бис(бензиламино)янтарной кислоты.



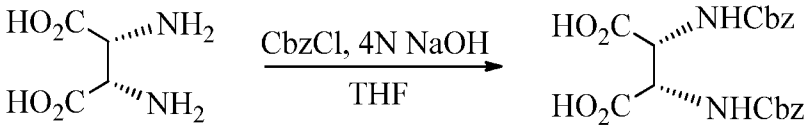
К раствору *мезо*-2,3-дибромянтарной кислоты (50 г, 181 ммоль) в EtOH (400 мл) по каплям добавляли бензиламин (150 мл). После завершения добавления смесь нагревали до 90 °C и перемешивали в течение ночи. Смесь охлаждали до комнатной температуры и разбавляли H_2O. Добавляли 6 н. HCl до pH 4, с получением белых осадков. Осадки фильтровали, промывали H_2O и сушили с получением (2R,3S)-2,3-бис(бензиламино)янтарной кислоты (50 г, 152 ммоль, 84%).

Пример 304. Синтез (2R,3S)-2,3-диаминоянтарной кислоты.



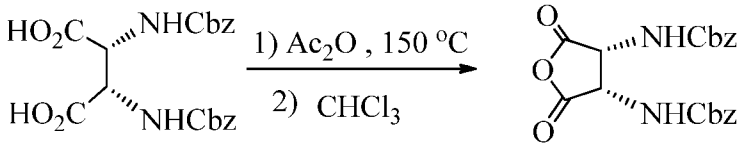
К раствору (2R,3S)-2,3-бис(бензиламино)янтарной кислоты (18 г, 55 ммоль) в AcOH (100 мл) и HCl (100 мл) добавляли 10% Pd/C (3 г) , смесь перемешивали в атмосфере водорода при 50 °C в течение ночи. После 48 ч перемешивания Pd/C удаляли фильтрацией и промывали H_2O. Фильтрат концентрировали и остаток растворяли в 1 н. NaOH (200 мл). Добавляли AcOH до pH 5, с получением белых осадков Осадки фильтровали, промывали H_2O и сушили с получением (2R,3S)-2,3-диаминоянтарной кислоты (8,7 г, 58,8 г, 100%).

Пример 305. Синтез 2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)янтарной кислоты.



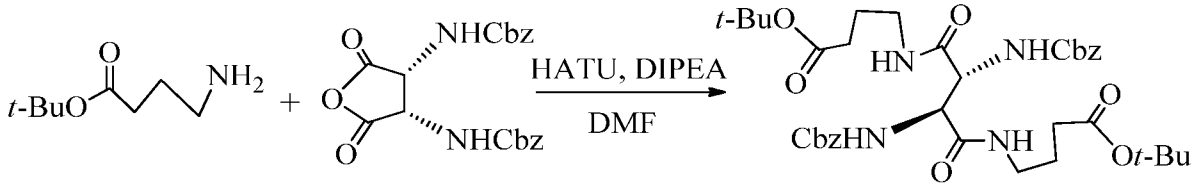
К раствору (2R,3S)-2,3-диаминоянтарной кислоты (31,74 г, 214 ммоль) в ТГФ (220 мл) и 4 н. NaOH (214 мл) по каплям добавляли CbzCl (61 мл, 428 ммоль) при 0 °C. После завершения добавления смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч. Реакционную смесь разбавляли H2O (1600 мл) и экстрагировали EA (2 × 15600 мл). Водный слой отделяли и подкисляли концентрированной HCl до достижения pH 2. Полученный раствор перемешивали в течение 1 ч и выдерживали при температуре 5 °C, получая белые осадки. Осадки фильтровали, промывали H_2O и сушили с получением 2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)янтарной кислоты (52,2 г, 125 ммоль, 59%).

Пример 306. 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 Ac_2O (37,5 мл) кипятили с обратным холодильником в течение 20 минут, охлаждали и упаривали с получением образующегося ангидрида. Смесь диастереомеров обрабатывали $CHCl_3$ (37 мл), нерастворимый мезо-изомер отфильтровывали и промывали PE с получением кристаллов дибензил ((3R,4S)-2,5-диоксотетрагидрофуран-3,4-диил)дикарбамата (2,0 г, 5 ммоль, 42%)

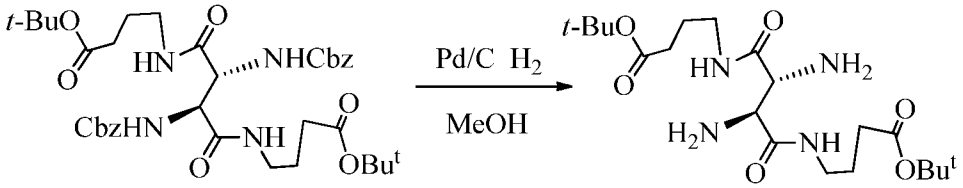
Пример 307. Синтез ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)сукцинил)бис(азанедиил))дибутаноата.



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) добавляли DIPEA (1,98 г, 15,3 ммоль) при 0 °C. После 5 мин перемешивания добавляли HATU (4,66 г, 12,3 ммоль). Смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 часов. После завершения преобразования смесь разбавляли H_2O (90 мл) и экстрагировали EA (2 x 200 мл) и DCM (2 x 90 мл), объединенный

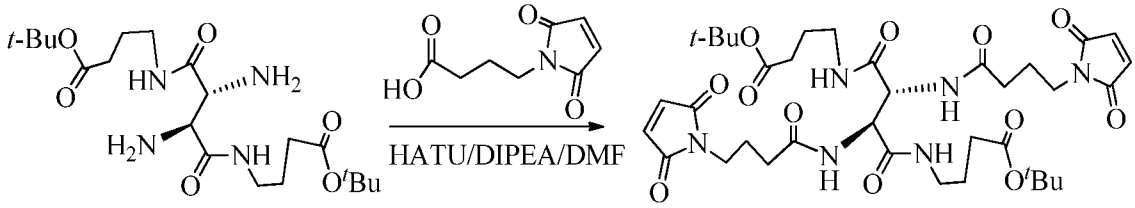
органический экстракт промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Большую часть растворителя удаляли при пониженном давлении, и осаждалось белое твердое вещество, которое собирали и сушили с получением ди-трет-бутил 4,4'- (((2R, 3S)- 2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)сукцинил)бис (азандиил))дибутаноата (2,8 г, 4,0 ммоль) в виде белого твердого вещества с выходом 80%.

Пример 308. 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 ч перемешивания Pd/C удаляли фильтрацией и промывали MeOH. Фильтрат упаривали с получением продукта, который использовали в следующей стадии без дополнительной очистки (940 мг, 2,2 ммоль). бесцветная жидкость, выход (55%).

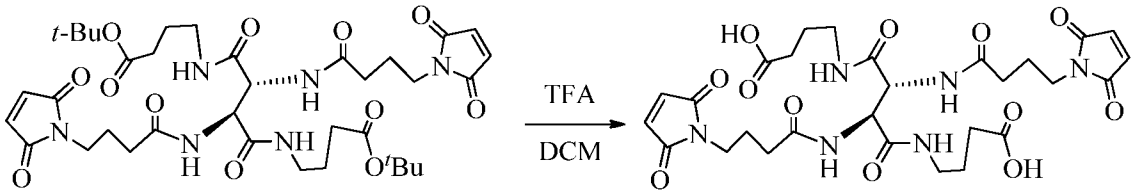
Пример 309. Синтез ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)сукцинил)бис(азандиил))дибутаноата.



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) добавляли DIPEA (1,13 г, 8,76 ммоль) при 0 °C. После 5 мин перемешивания добавляли HATU (1,74 г, 4,58 ммоль). Смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 часа. После завершения превращения смесь разбавляли H_2O (50 мл) и экстрагировали EA (2 x 100 мл) и DCM (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(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-

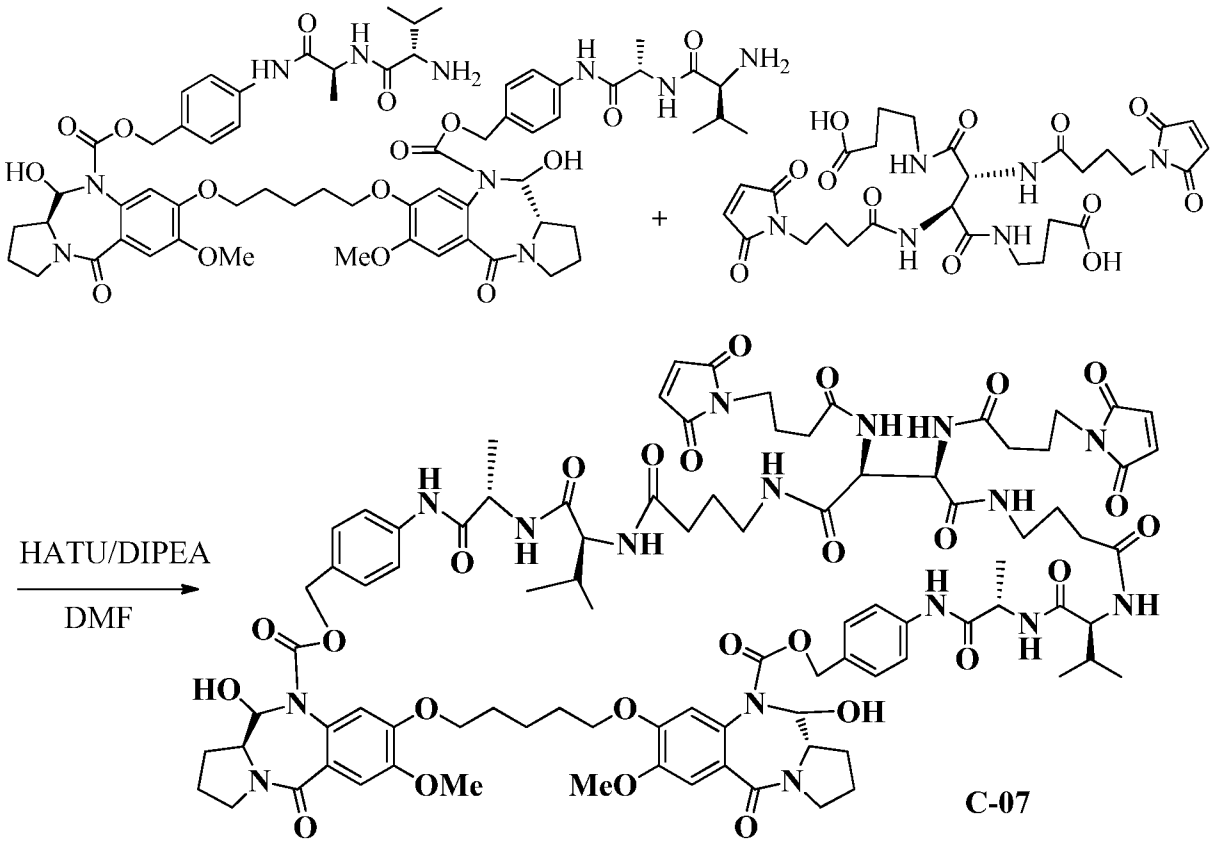
ил) бутанамидо)сукцинил)бис(азандиил))дибутаноата (1,36 г, 1,79 ммоль) в виде белого твердого вещества с выходом 82%.

Пример 310. 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 DCM (15 мл) добавляли ТФУ (30 мл) при комнатной температуре 0 °C. После 18 ч перемешивания реакционную смесь упаривали и остаток растворяли в сухом толуоле. Растворитель удаляли выпариванием в вакууме, получая белый осадок, который использовали в следующей стадии без дополнительной очистки (1,3 мг, 2,0 ммоль). выход (100%).

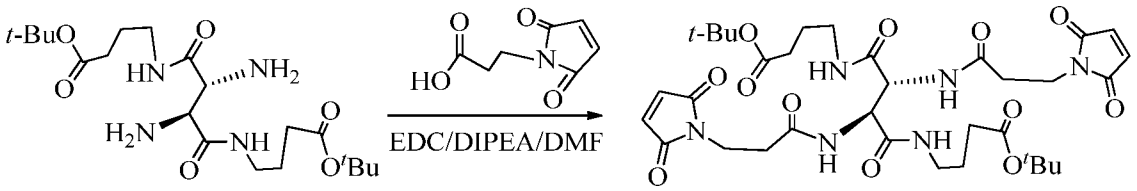
Пример 311. Синтез продукта C-07 PBD.



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]диазепин-10(5H)-карбоксилата) (215 мг, 0,17 ммоль) и 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(4-(2,5-

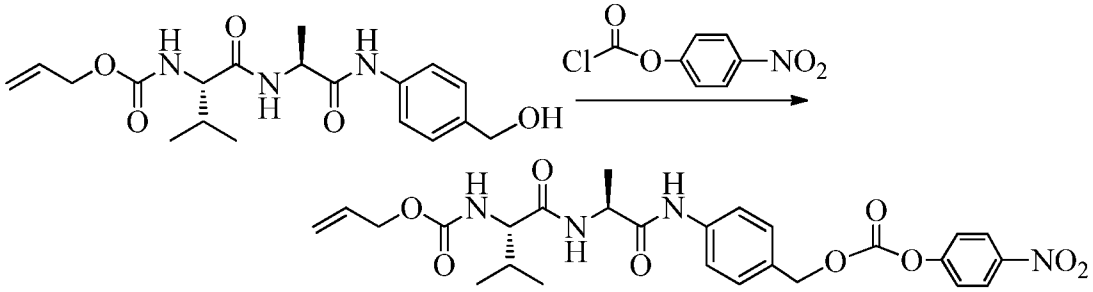
диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо) сукцинил)бис(азандиил))дибутановой кислоты (115 мг, 0,18 ммоль) в ДМФА (18 мл). добавляли DIPEA (90 мг, 0,70 ммоль) при 0 °C. После 5 мин перемешивания добавляли HATU (132 мг, 0,35 ммоль). Смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. После завершения преобразования смесь разбавляли H_2O (2 мл) и экстрагировали EA (2 x 40 мл) и DCM (2 x 20 мл), объединенный органический экстракт промывали солевым раствором, сушили, фильтровали и упаривали. Остаток очищали с помощью препаративной ВЭЖХ с получением продукта PBD C-07 (10 мг) в виде белого порошка. МС ЭСИ m/z $C_{91}H_{115}N_{16}O_{26}$ $[M+H]^+$, рассч. 1847,81, найдено 1847,60.

Пример 312. 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.


t-BuO
HN
NH2
H2N
NH
O
O
O

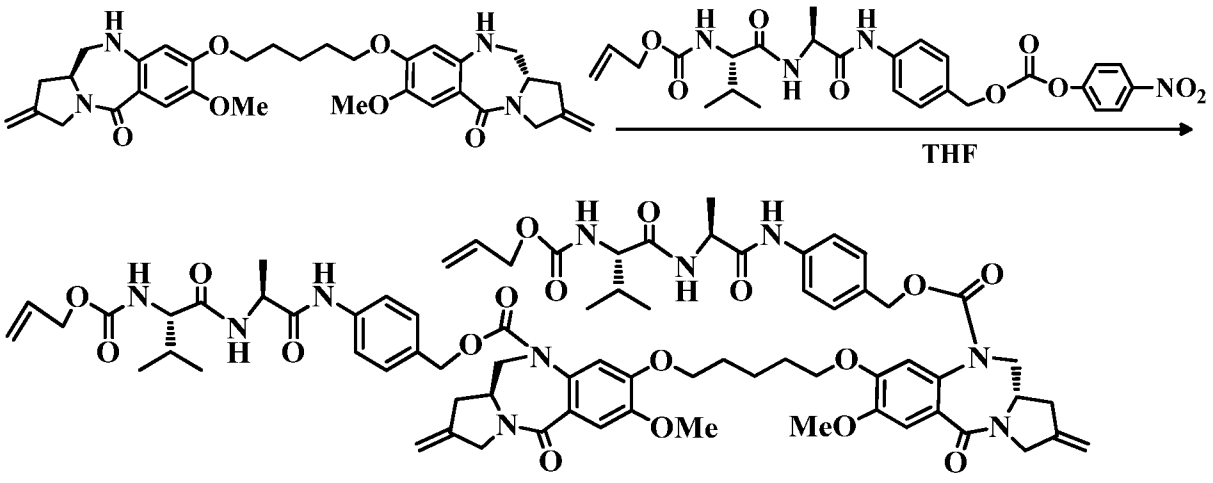
Ди-трет-бутил 4,4'-(((2R,3S)-2,3-бис(4- (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)сукцинил) бис(азандиил))дибутаноат (502,0 мг, 0,685 ммоль) в 1,4-диоксане (8 мл) при 4 °C, добавляли конц. HCl (3 мл). Затем смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут, разбавляли 1,4-диоксаном (8 мл), упаривали, упаривали совместно с диоксаном/толуолом (1:1, 2×10 мл) досуха и кристаллизовали из EtOH/гексана, получая указанное в заголовке соединение (289,0 г, выход 68%). МС ЭСИ m/z+ $C_{26}H_{33}N_6O_{12}$, рассч. 621.21 (M+ H), найдено 621,55

Пример 314. 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.



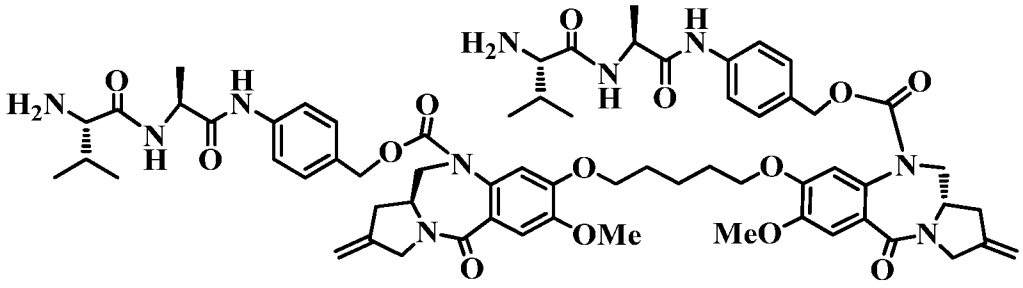
Аллил ((S)-1-(((S)-1-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)карбамату (2,21 г, 5,86 ммоль) в смеси сухого пиридина (5 мл) и CH_2Cl_2 (20 мл) добавляли 4-нитрофенилкарбонохлоридат (1,82 г, 9,05 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 8 часов, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя EtOAc/CH_2Cl_2 (1:12), с получением указанного в заголовке соединения (2,63 г, выход 83%). МС ЭСИ m/z рассч. Для $C_{26}H_{31}N_4O_9$ $[M+H]^+$ 543,21, найдено 543,60

Пример 315. 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-метилен-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-10(5H)-карбоксилата).



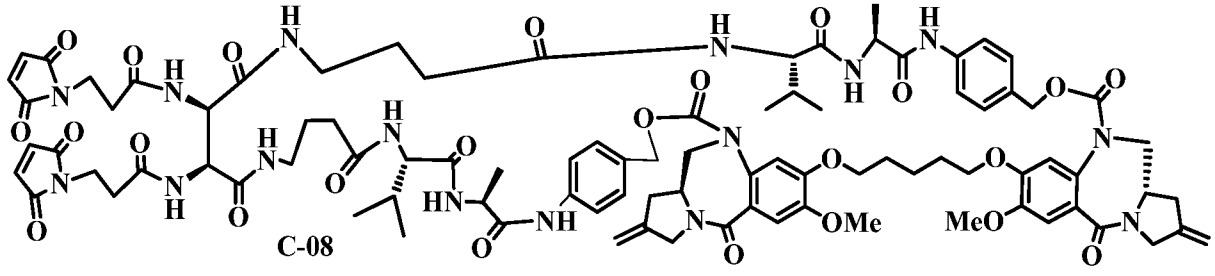
(11aS,11a'S)-8,8'-(Пентан-1,5-диилбис(окси))бис(7-метокси- 2-метилен-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a] [1,4]диазепин-5(10H)-он) (288,2 мг, 0,490 ммоль) в сухом CH_3CN (5 мл) добавляли аллил ((S)-3-метил-1-(((S)-1-((4- ((((4-нитрофенокси)карбонил)окси)-метил)фенил)амино)-1- оксопропан-2-ил)амино)-1-оксобутан-2-ил)карбамат (770,2 мг, 1,420 ммоль) и DIPEA (2 мл). Смесь перемешивали при 45 °C в течение 8 ч, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя $EtOAc/CH_2Cl_2$ (1:8), с получением указанного в заголовке соединения (492,0 мг, выход 72%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{73}H_{91}N_{10}O_{18}$ $[M+H]^+$ 1395,64, найдено 1395,95.

Пример 316. 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-метилен-5-оксо- 2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-10(5H)-карбоксилата).



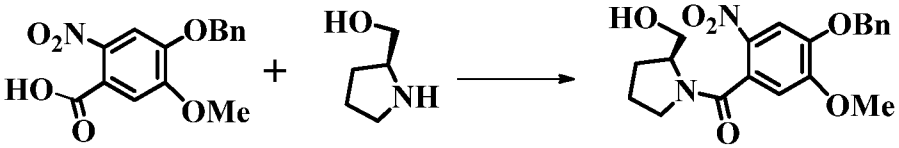
К раствору (11aS,11a'S)-бис(4-((S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил) 8,8'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(7-метокси-2-метилен-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-10(5H)-карбоксилата) (274,2 мг, 0,197 ммоль) и пирролидина (49 мг, 6,90 ммоль) в сухом DCM (5 мл) добавляли $Pd(pph_3)_4$ (152,0 мг, 0,132 ммоль). Реакционную смесь продували аргоном и перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре, после чего реакционную смесь разбавляли DCM и последовательно промывали насыщенным водным NH_4Cl и солевым раствором. Органическую фазу сушили над Na_2SO4, фильтровали и упаривали. Остаток очищали хроматографией (DCM/MeOH/Et_3N = 6/1/0,02) с получением указанного в заголовке соединения (166,7 мг, выход 69%) в виде не совсем белого твердого вещества. ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{65}H_{83}N_{10}O_{14}$ $[M+H]^+$ 1227,60, найдено 1227,93.

Пример 317. Синтез продукта C-08 PBD.



(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-метилен-5-оксо- 2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-10(5H)-карбоксилат) (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))дибутановую кислоту (77,1 мг, 0,124 ммоль) в DMA (5 мл) добавляли EDC (95,2 мг, 0,496 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 8 часов, упаривали и очищали на колонке C-18 ВЭЖХ C18 3 мкм (25 x 4 см), используя градиентное элюирование смесью (A) ацетонитрила и (B) воды/0,1% муравьиной кислоты (градиент : 15% A: от 85% B до 25% A: 75% B за 5 минут, 35% A: 65% B за 15 минут, 60% A: от 40% B до 50% A: 50% B за 15 минут, 15% A: 85% B за 5 минут) со скоростью потока 8 мл/мин. Фракции, содержащие указанное в заголовке соединение, объединяли, упаривали и сушили в эксикаторе над P_2O_5 с получением соединения C-8 PBD (149,2 мг, выход 67%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{91}H_{111}N_{16}O_{24}$ $[M+H]^+$ 1811,79, найдено 1812,35.

Пример 318. Синтез (S)-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитрофенил)(2-(гидроксилэтил)пирролидин-1-ил)метанона.



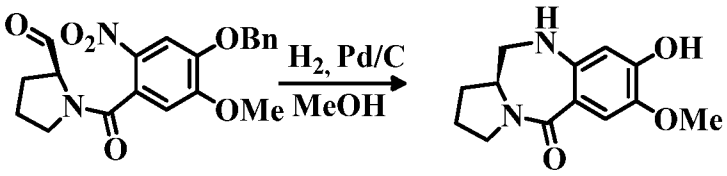
4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитробензойная кислота (10,20 г, 33,65 ммоль) и (S)-пирролидин-2-илметанол (3,85 г, 38,09 ммоль) в сухом ДМФА (150 мл) добавляли EDC (19,50 г, 101,56 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, упаривали и очищали на колонке с SiO_2 элюируя $EtOAc/CH_2Cl_2$ (1:4), с получением указанного в заголовке соединения (11,56 г, выход 89%). МС ЭСИ m/z вычислено для $C_{20}H_{23}N_2O_6$ $[M+H]^+$ 387,15, найдено 387,65.

Пример 319. Синтез (S)-1-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитробензоил)пирролидин-2-карбальдегида.

К раствору (S) - (4- (бензилокси) -5-метокси-2-нитрофенил) (2- (гидроксиметил) пирролидин-1-ил) метанона (3,80 г, 9,84 ммоль) в сухом DCM (15 мл) добавляли периодинан Десса-Мартина (DMP) (5,80 г, 13,67 ммоль) в атмосфере азота при комнатной температуре. После завершения превращения к реакционному раствору добавляли водный

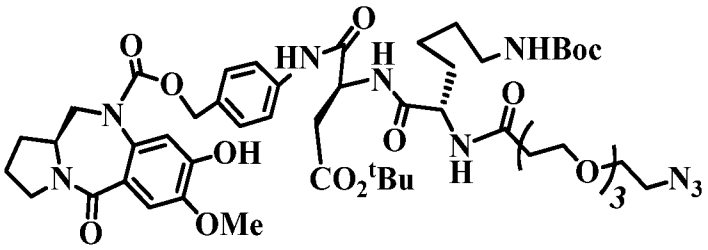
Na_2SO_3, а затем водный $NaHCO_3$, смесь перемешивали еще 15 минут и экстрагировали DCM (3 x 20 мл). Объединенный органический экстракт промывали солевым раствором, сушили, фильтровали и упаривали. Остаток очищали хроматографией на SiO_2 (DCM/EtOAc = 4/1) с получением указанного в заголовке соединения (3,13 г, выход 83%) в виде не совсем белой пены. МС ЭСИ m/z вычислено для $C_{20}H_{21}N_2O_6$ $[M+H]^+$ 385.13, найдено 385.60, 404.75 $[M+H_2O+H]^+$.

Пример 320. Синтез 8-гидрокси-7-метокси-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-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% влажность, 250 мг) в шейкере для гидрирования. После вакуумирования воздуха из шейкера вводили водород (5 фунтов на квадратный дюйм). Реакционный сосуд встряхивали в течение ночи и фильтровали через целит. Фильтрант упаривали и очищали хроматографией на SiO_2 (DCM/MeOH/Et_3N = 4/1/0,05) с получением указанного в заголовке соединения (1,66 г, выход 86%) в виде грязно-белой пены. МС ЭСИ m/z вычислено для $C_{13}H_{17}N_2O_3$ $[M+H]^+$ 249,12, найдено 249,50.

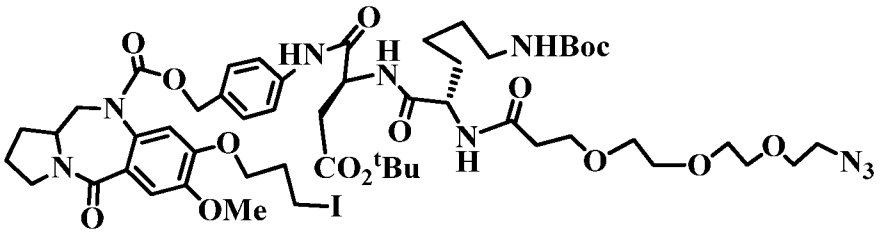
Пример 321. Синтез 4-((14S,17S)-1-азидо-17-(2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил)- 14-(4-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)-12,15-диоксо-3,6,9- триокса-13,16-диазаоктадеканамидо) бензил 8-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-10(5H)-карбоксилата.



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-диазанонадекан-19-оата (10,15 г, 13,50 ммоль) в сухом ТГФ (300 мл) добавляли DIPEA (3,15 г, 24,41 ммоль) и раствор трифосгена (5,15 г, 17,36 ммоль) в сухом ТГФ (50 мл) при4-8 °C. После 15 мин перемешивания раствор снова охлаждали до 4-8 °C, а затем по каплям добавляли к раствору 8-гидрокси-7-метокси-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-5(10H)-она (2,92 г, 11,76 ммоль) в смеси ТГФ (100

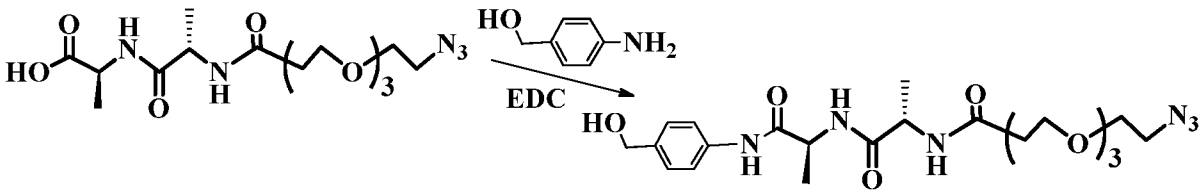
мл) при 4-8 °C в течение 45 мин. Полученному раствору давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Смесь разбавляли толуолом (50 мл), упаривали *в вакууме* и очищали хроматографией на SiO_2 (DCM/MeOH = 15/1) с получением указанного в заголовке соединения (10,02 г, выход 82%) в виде желтой пены. МС ЭСИ m/z вычислено для $C_{50}H_{74}N_9O_{15}$ $[M+H]^+$ 1040,52, найдено 1040,90.

Пример 322. Синтез (S)-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 8- (3-иодпропокси)-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H- бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-10(5H)-карбоксилата.



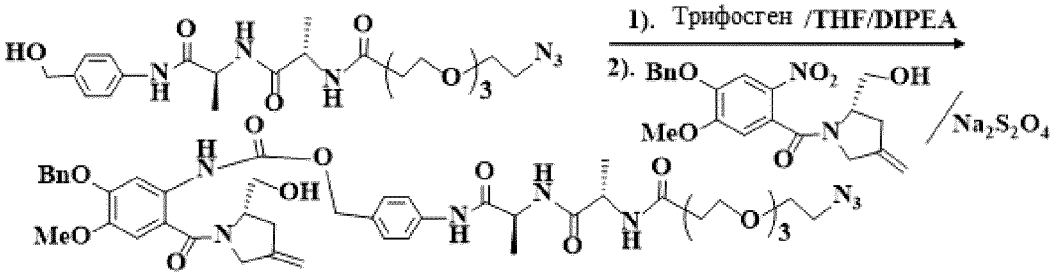
К раствору 4-((14S,17S)-1-азидо-17-(2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил)-14-(4-((трет-бутоксикарбонил)амино)бутил)- 12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил 8-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-10(5H)-карбоксилата (2,02 г, 1,94 ммоль) в бутаноне (50 мл) был добавлен Cs_2CO_3 (2,50 г, 7,67 ммоль) и 1,3-дииодпропан (2,50 г, 8,45 ммоль). Смесь перемешивали при 45 °C в темноте в течение 36 часов, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя $EtOAc/CH_2Cl_2$ (1:5), с получением указанного в заголовке соединения (2,08 г, выход 90%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{52}H_{77}IN_9O_{15}$ $[M+H]^+$ 1194,45, найдено 1194,95.

Пример 323. Синтез (S)-2-((S)-1-азидо-14-метил-12-оксо-3,6,9-триокса-13-азапентадеканамидо)-N-(4-(гидроксиметил)фенил)пропанамида.



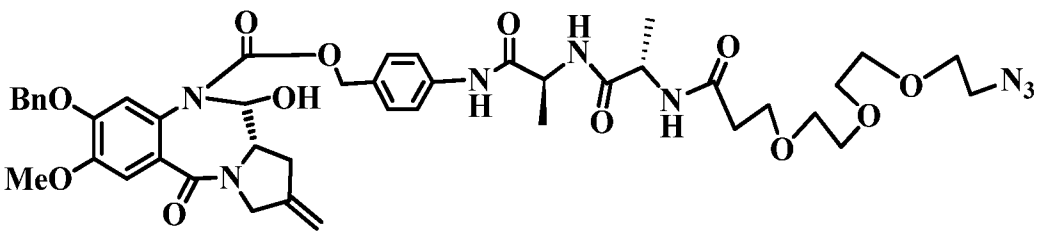
К раствору (14S,17S)-1-азидо-14,17-диметил-12,15-диоксо-3,6,9-триокса- 13,16-диазаоктадекан-18-овой кислоты (3,02 г, 7,75 ммоль) и (4-аминофенил)метанола (1,05 г, 8,53 ммоль) в DMA, добавляли EDC (4,90 г, 25,52 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 14 ч, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя $EtOAc/CH_2Cl_2$ (от 1:8 до 1:3), с получением указанного в заголовке соединения (3,52 г, выход 92%). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{22}H_{35}IN_6O_7$ $[M+H]^+$ 495,25, найдено 495,60.

Пример 324. 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-метилен-5-оксо- 2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин- 10(5H)-карбоксилата.



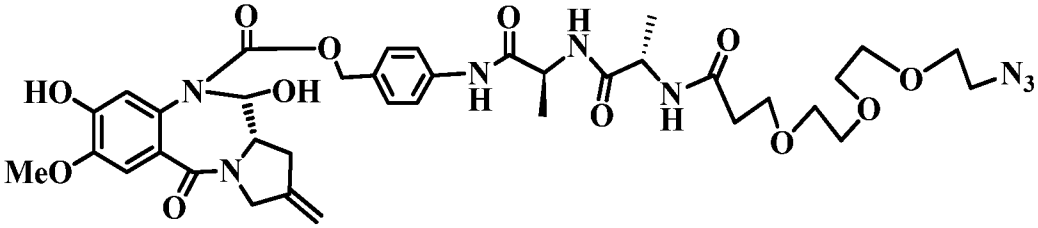
Смесь (S)-(4-(бензилокси)-5-метокси-2-нитрофенил)(2- (гидроксиметил)-4-метиленпирролидин-1-ил)метанона (3,90 г, 9,80 ммоль) и $Na_2S_2O_4$ (6,0 г, 34,47 ммоль) в ТГФ (60 мл) и H_2O (40 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 20 часов, доводили pH до 10 с помощью Na_2CO_3, упаривали, очищали на короткой колонке C-18, элюируя H_2O/MeOH/Et_3N. (от 99,4/0,5/0,2 до 50/49,8/0,2). Фракции, содержащие восстановленный аминопродукт, объединяли, упаривали, разбавляли ТГФ (50 мл), затем охлаждали до 4-8 °C. 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) добавляли DIPEA (3,50 г, 27,12 ммоль) и раствор трифосгена (4,10 г, 13,80 ммоль) в сухом ТГФ (20 мл) при 4-8 °C. После 15 минут перемешивания при 4-8 °C раствор по каплям добавляли к вышеуказанному амино-раствору при 4-8 °C в течение 45 минут. Смесь нагревали до комнатной температуры и продолжали перемешивать 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, элюируя EtOAc/CH_2Cl_2 (от 1:10 до 1:5) с получением указанного в заголовке соединения (7,23 г, выход 83% в две стадии). ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{45}H_{57}IN_8O_{12}$ $[M+H]^+$ 889,40, найдено 889,90.

Пример 325. 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]диазепин- 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]диазепин- 10(5H)-карбоксилата (3,80 г, 4,27 ммоль) в сухом DCM (40 мл) добавляли периодинан Десс-Мартина (DMP) (2,80 г, 6,60 ммоль) в атмосфере азота при комнатной температуре. После завершения превращения к реакционному раствору добавляли водный Na_2SO_3, а затем водный $NaHCO_3$, смесь перемешивали еще 15 минут и экстрагировали DCM (3 x 20 мл). Объединенный органический экстракт промывали солевым раствором, сушили, фильтровали и упаривали. Остаток очищали хроматографией на SiO_2 (DCM/EtOAc = от 5/1 до 2:1) с получением указанного в заголовке соединения (2,99 г, выход 79%) в виде не совсем белой пены. МС ЭСИ m/z вычислено для $C_{44}H_{55}N_8O_{12}$ $[M+H]^+$ 886,39, найдено 886,80.

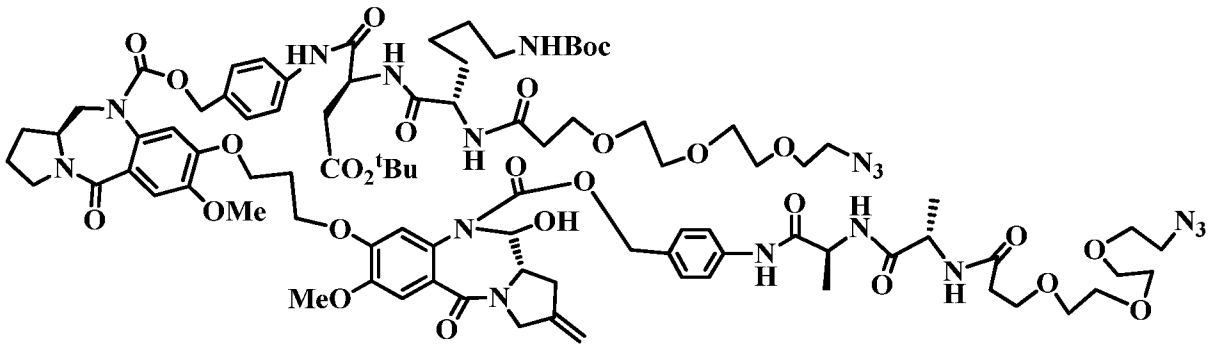
Пример 326. Синтез (11S,11aS)-4-((14S, 17S)-1-азидо-14,17-диметил-12,15- диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил8,11-дигидрокси-7-метокси-2-метилен-5-оксо-2,3,11,11a- тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-10(5H)-карбоксилата.



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-метилен-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-10(5H)-карбоксилата (2,90 г, 3,27 ммоль) в 40 мл CH_2Cl_2 добавляли 15 мл CH_3SO_3H при 0 °C. Смесь перемешивали при 0 °C в течение 10 минут, затем при комнатной температуре в течение 1 ч, разбавляли CH_2Cl_2, доводили pH до 4 холодным 1,0 н. $NaHCO_3$ и фильтровали. Водный слой экстрагировали CH_2Cl_2 (3 × 60 мл). Органические слои объединяли, сушили над Na_2SO_4, фильтровали, упаривали и очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (CH_3OH/CH_2Cl_2 с 1:15 до 1:5) с получением 1,95 г (75% выход) указанного в заголовке соединения. ЭСИ МС m/z рассчитано для $C_{37}H_{48}IN_8O_{12}$ $[M+H]^+$ 797,34, найдено 797,90.

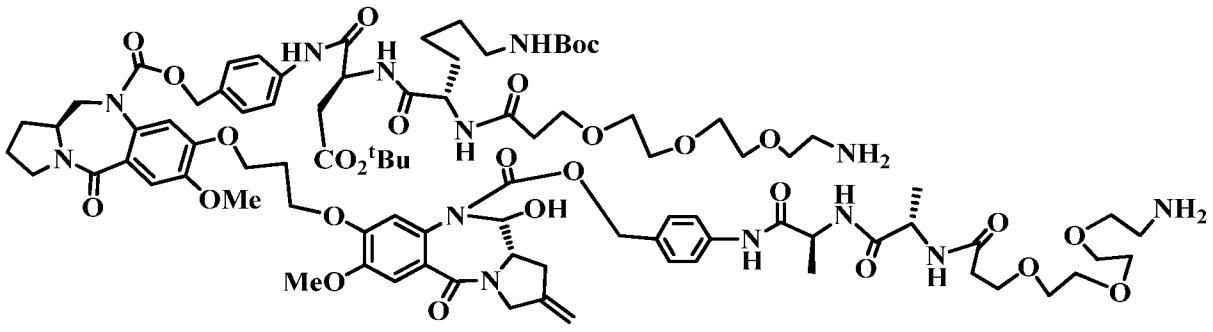
Пример 327. Синтез (11S, 11aS)-4-((14S, 17S)-1-азидо-14,17-диметил-12,15- диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил 8-(3- (((S)-10-(((4-((14S,17S)-1-азидо-17-(2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил)-14-(4-((трет-бутоксикарбонил) амино)бутил)-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил)окси)карбонил)-7-метокси-5-оксо-

2,3,5,10,11,11a- гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-8-ил)окси) пропокси)-11-гидрокси-7-метокси-2-метилен-5-оксо-2,3,11,11a- тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-10(5H)- карбоксилата.



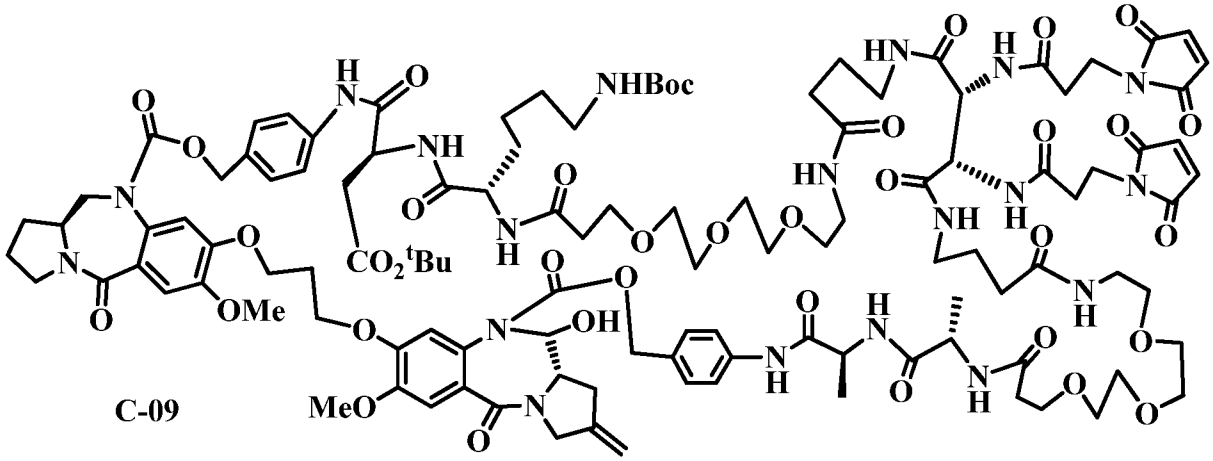
К раствору (11S,11aS)-4-((14S,17S)-1-азидо-14,17-диметил- 12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил 8,11-дигидрокси-7-метокси-2-метилен-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-10(5H) -карбоксилат (402 мг, 0,504 ммоль) и (S)-4-((14S,17S)-1-азидо- 17-(2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил)-14-(4-((трет-бутоксикарбонил) амино)бутил)-12,15-диоксо-3,6,9-триокса-13,16-диазаоктадеканамидо)бензил 8-(3-иодпропокси)-7-метокси-5-оксо- 2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин- 10(5H)-карбоксилатf (650 мг, 0,544 ммоль) в бутаноне (50 мл) добавляли Cs_2CO_3 (0,50 г, 1,53 ммоль). Смесь перемешивали при 45 °C в темноте в течение 36 часов, упаривали и очищали на колонке SiO_2, элюируя $EtOAc/CH_2Cl_2$ (от 1:8 до 1:3), с получением указанного в заголовке соединения (809 мг, выход 86%). МС ЭСИ m/z вычислено для $C_{89}H_{124}N_{17}O_{27}$ $[M+H]^+$ 1862,89, найдено 1863,45.

Пример 328. 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-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]диазепин-8-ил)окси)пропокси)-11-гидрокси-7-метокси- 2-метилен-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло [1,2-a][1,4]диазепин-10(5H)-карбоксилата.



(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]диазепин-8-ил)окси)пропокси)-11-гидрокси-7-метокси-2-метилен-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло [1,2-a][1,4]диазепин-10(5H)-карбоксилат (750 мг, 0,402 ммоль) в ТГФ (8 мл) добавляли Me_3P (1,0 М в толуоле, 2,0 мл, 2,0 ммоль) при 0-4 °C в атмосфере N_2. После перемешивания в течение 5 минут ледяную баню удаляли 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 упаривали совместно с диоксаном/толуолом досуха с получением сырого аминопродукта (725 мг, выход ~ 99%), который использовали непосредственно в следующей стадии без дополнительного очищение. МС ЭСИ m/z вычислено для $C_{89}H_{128}N_{13}O_{27}$ $[M+H]^+$ 1810,90, найдено 1811,50.

Пример 329. Синтез асимметрично сшитого димера PBD C-09.

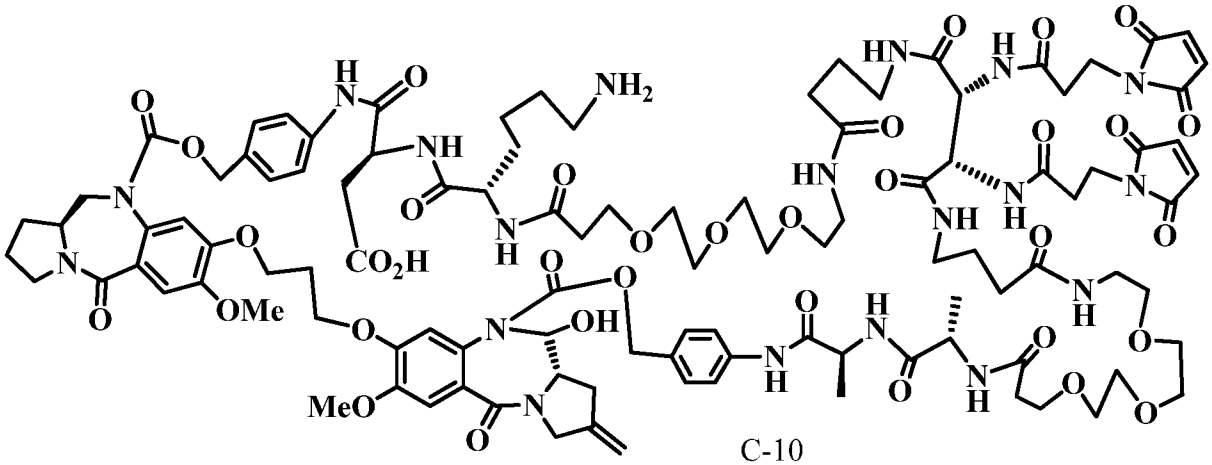


C-09

К вышеуказанному неочищенному аминосоединению ((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]диазепин-8-ил)окси)пропокси)-11-гидрокси-7-метокси-2-метилен-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазепин-10(5H)-карбоксилат) в сухом DMA (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 препаративной ВЭЖХ C_{18} (17% C18, 250 мм x 50 мм),

элюируя смесью вода/CH_3CN (от 80% воды до 30% воды за 40 минут, 9 мл/мин). с получением 488,1 мг (выход 51%) продукта C-9 после сушки в высоком вакууме. МС ЭСИ m/z $C_{115}H_{156}N_{19}O_{37}$ $[M+H]^+$, рассч. 2395,08, найдено 2395,90.

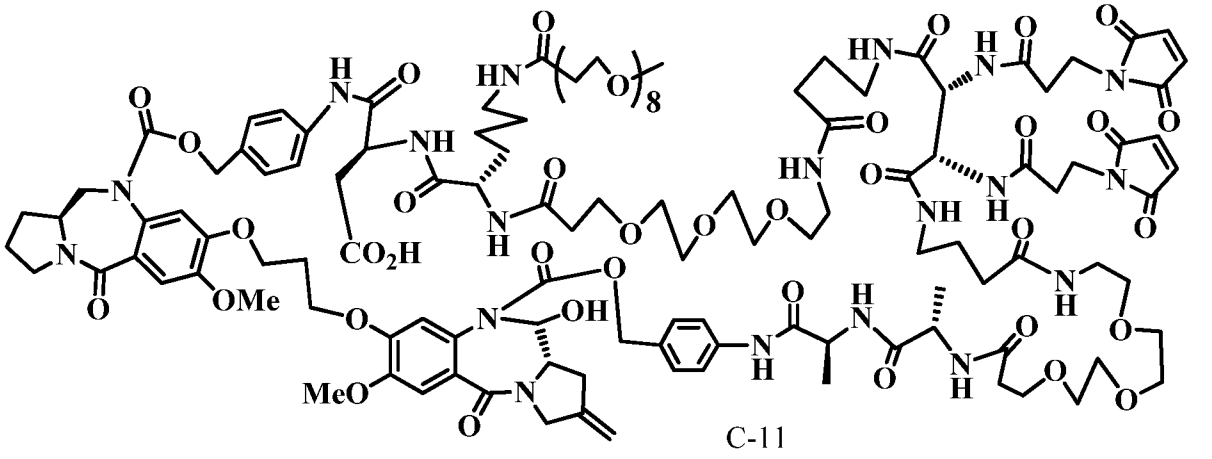
Пример 330. Синтез несимметрично сшитого димера C-10 PBD.



C-10

Соединение C-09 (465,0 мг, 0,194 ммоль) растворяли в DCM (4 мл) с последующим добавлением ТФУ (2 мл) при 0-4 °C. Затем реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, разбавляли толуолом (5 мл), затем упаривали и упаривали совместно с DCM/толуолом досуха с получением сырого продукта C-3 (48,0 мг, выход 100%, 92% чистоты по данным ВЭЖХ), который дополнительно очищали с помощью ВЭЖХ с обращенной фазой (250 (L) мм x 20 (d) мм, колонка C_{18}, 5-60% ацетонитрил/вода за 40 минут, v = 8 мл/мин) с получением чистого продукта **C-10** (373,1 мг, выход 85%, чистота 96%) в виде пены. МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{106}H_{140}N_{19}O_{35}$ $[M+H]^+$ 2238,97, найдено 2239,50.

Пример 331. Синтез асимметрично сшитого димера C-11 PBD.

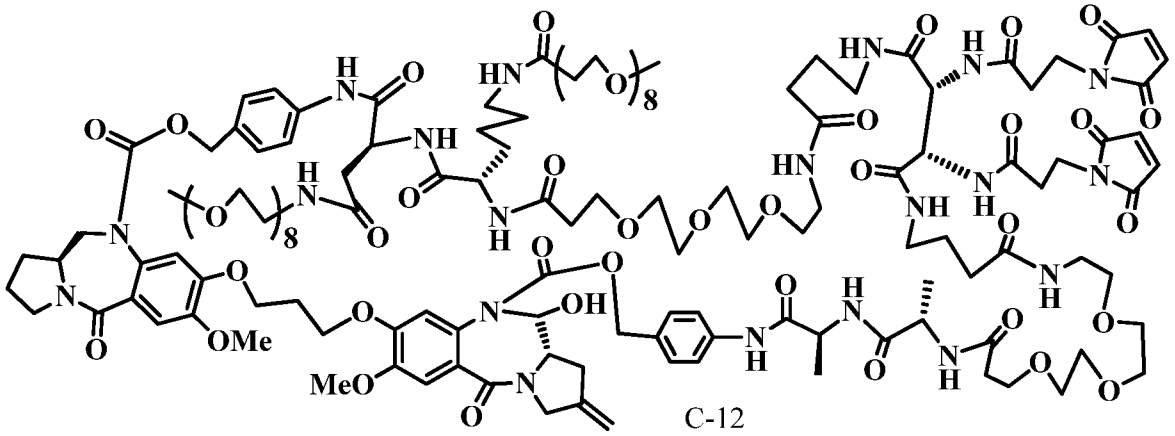


C-11

Соединение C-10 (235,0 мг, 0,105 ммоль) растворяли в смешанном растворе ТГФ (3 мл) и 0,1 М, NaH_2PO_4 (3 мл), pH 7,5, с последующим добавлением N-сукцинимидила 2,5,8,11,14,17,20,23-октаоксагексакозан-26-оата (43,0 мг, 0,084 ммоль) 4 порциями за 2

часа. Затем реакционную смесь продолжали перемешивать при комнатной температуре в течение 4 ч и упаривали совместно с ДМФА (10 мл) досуха с получением неочищенного продукта С-11, который дополнительно очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (L) мм x 50(d) мм, колонка C_{18}, 20-60% ацетонитрил/вода за 40 мин, v = 8 мл/мин) с получением чистого продукта **С-11** (215,5 мг, выход 78%, чистота 95%) в виде пены. МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{124}H_{174}N_{19}O_{44}$ $[M+H]^+$ 2633,20, найдено 2633,85.

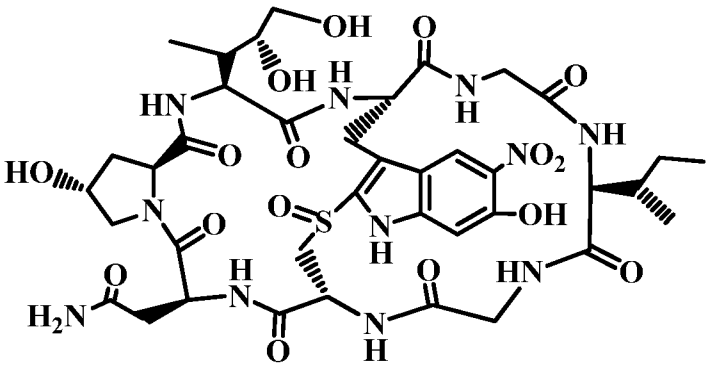
Пример 332. Синтез асимметрично сшитого димера С-12 PBD.



С-12

К раствору соединения С-11 (65,0 мг, 0,0246 ммоль) и 2,5,8,11,14,17,20,23-октаоксапентакозан-25-амина (15,1 мг, 0,0394 ммоль) в сухом DMA (2 мл) добавляли EDC (30,0 мг, 0,156 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 ч, упаривали, очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (250 (L) мм x 30 (d) мм, колонка C_{18}, 20-60% ацетонитрил/вода за 40 минут, объем = 8 мл/мин) с получением чистого продукта **С-12** (60,2 мг, выход 81%, чистота 95% по данным ВЭЖХ) в виде пены. МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{141}H_{209}N_{20}O_{51}$ $[M+H]^+$ 2998,43, найдено 2999,40.

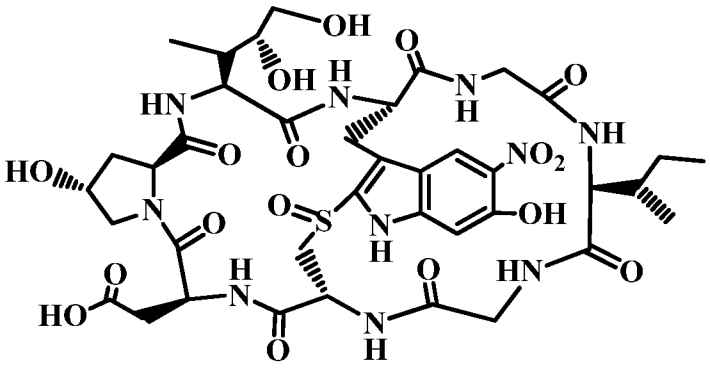
Пример 333. Синтез нитро-α-аманитина.



К раствору α-аманитина (15,0 мг, 0,0163 ммоль, PCT/IB2016/052246) в уксусной кислоте (0,5 мл) и CH_2Cl_2 (1 мл) добавляли 70% HNO_3 (0,3 мл) при 0 °С. Реакционную смесь перемешивали при 0 °С в течение 1 часа, затем при комнатной температуре 2 часа. Затем добавляли воду (5 мл) и DMA (4 мл), реакционную смесь упаривали и очищали

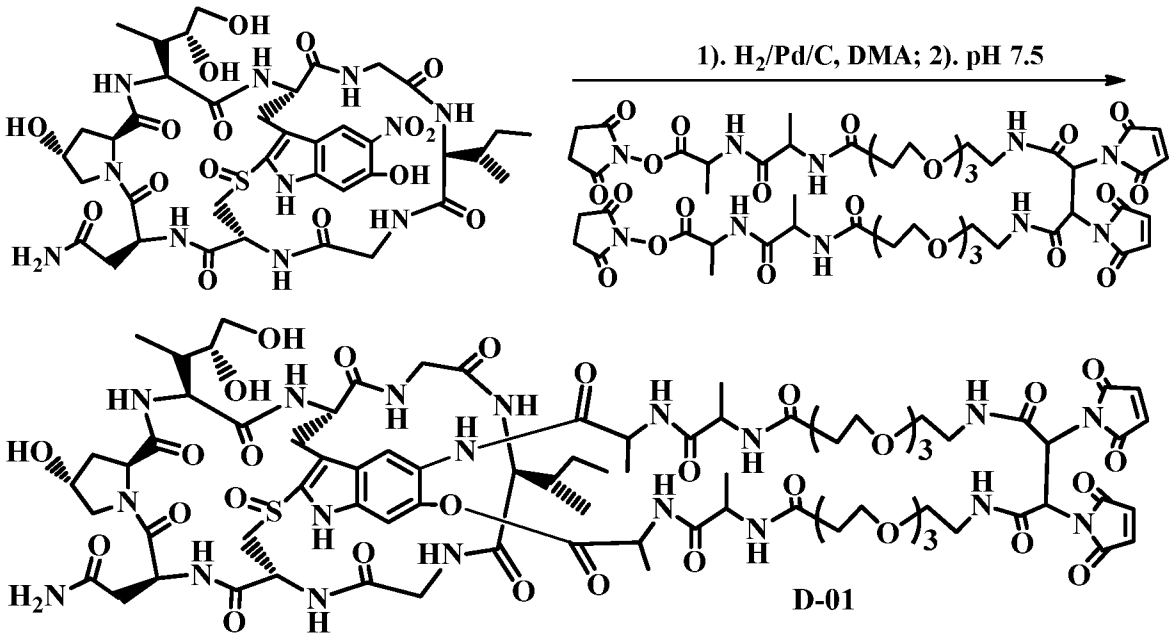
препаративной ВЭЖХ (H_2O/MeCN) с получением светло-желтого твердого вещества (9,8 мг, выход 62%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{39}H_{54}N_{11}O_{16}S$ $[M+H]^+$ 963,34, найдено 964,95.

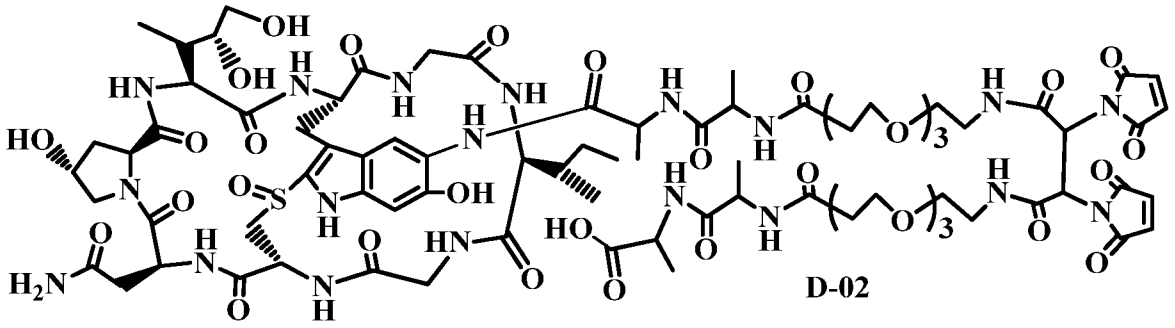
Пример 334. Синтез нитро-β-аманитина



К раствору β-аманитина (15,0 мг, 0,0163 ммоль, PCT/IB2016/052246) в уксусной кислоте (0,5 мл) и CH_2Cl_2 (1 мл) добавляли 70% HNO_3 (0,3 мл) при 0 °C. Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 1 часа, затем при комнатной температуре 2 часа. Затем добавляли воду (5 мл) и DMA (4 мл), реакционную смесь упаривали и очищали препаративной ВЭЖХ (H_2O/MeCN) с получением светло-желтого твердого вещества (9,8 мг, выход 62%). МС ЭСИ m/z: рассчитано для $C_{39}H_{53}N_{10}O_{17}S$ $[M+H]^+$ 965,32, найдено 965,86.

Пример 335. Синтез конъюгируемого аналога α-аманитина D-01 и D-02.

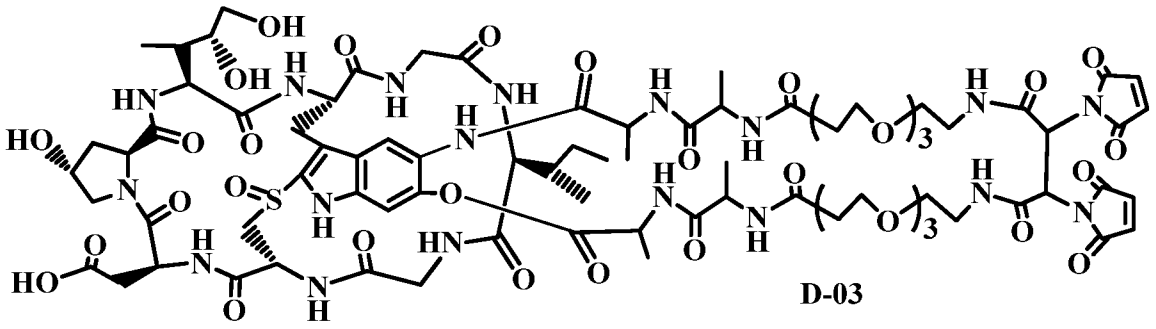




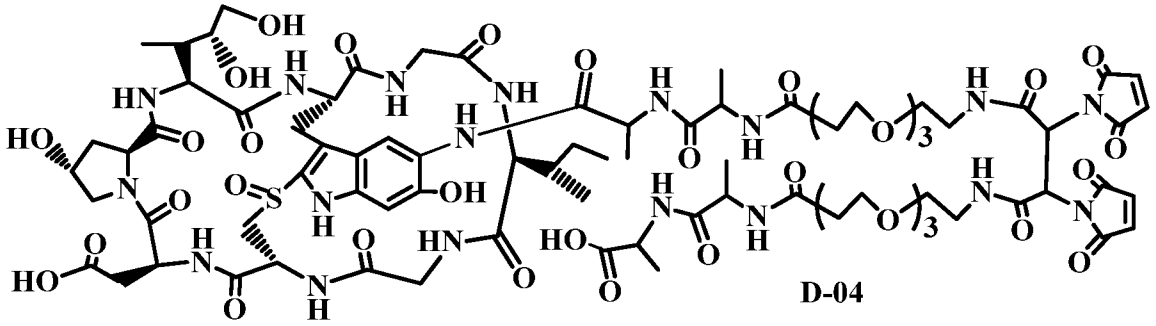
D-02

К раствору нитро-α-аманитина (9,0 мг, 0,0093 ммоль) в DMA (1 мл) добавляли Pd/C (3 мг, 50% влажности), затем гидрировали (1 атм) при комнатной температуре в течение 6 часов. Катализатор отфильтровывали с последующим добавлением 0,5 мл, 0,1 M NaH2PO4, pH 7,5 и 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 (11,0 мг, 0,0092 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре. в течение ночи, упаривали и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ C_{18} с элюированием вода/CH_3CN (от 95% воды до 25% воды за 45 мин). Фракции сбора ВЭЖХ, содержащие каждый продукт, объединяли, упаривали и сушили в высоком вакууме с получением продукта D-01 (6,1 мг, выход 35%), МС ЭСИ m/z $C_{81}H_{114}N_{19}O_{32}S$ $[M+H]^+$, рассч. 1896,75, найдено 1897,20; и продукт D-02 (4,9 мг, выход 27%), МС ЭСИ m/z $C_{81}H_{116}N_{19}O_{33}S$ $[M+H]^+$, рассч. 1914,76, найдено 1914,40.

Пример 336. Синтез конъюгированных аналогов β-аманитина D-03 и D-04.



D-03

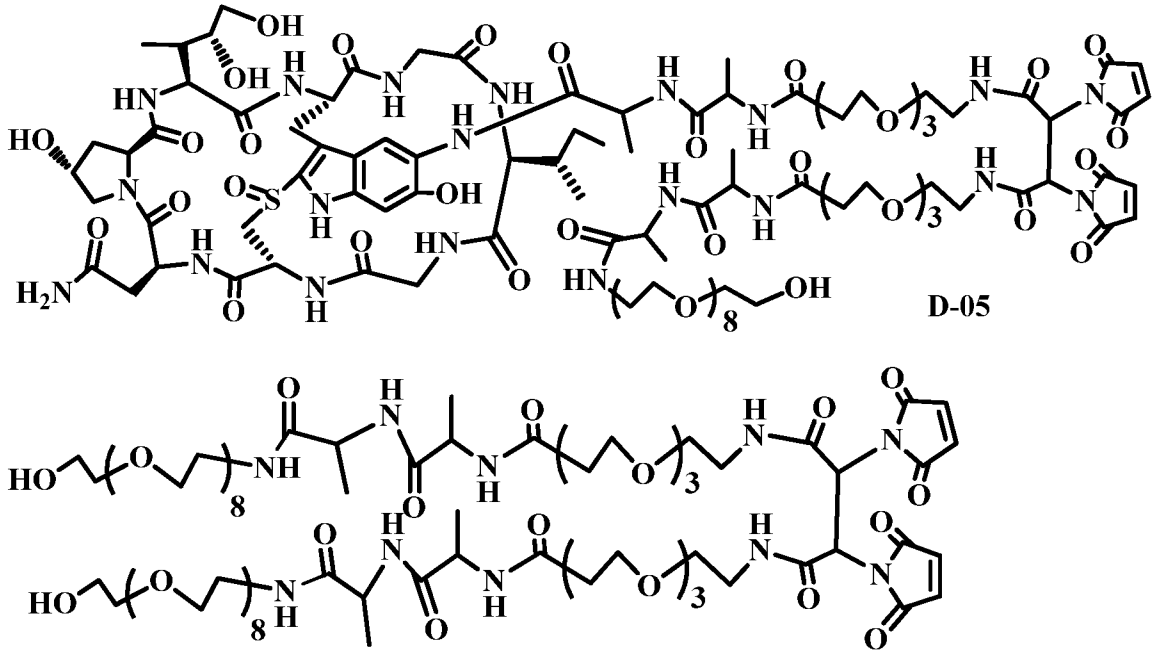


D-04

К раствору нитро-β-аманитина (9,0 мг, 0,0093 ммоль) в DMA (1 мл) добавляли Pd/C (3 мг, 50% влажности), затем гидрировали (1 атм) при комнатной температуре в течение 6

часов. Катализатор отфильтровывали с последующим добавлением 0,5 мл, 0,1 M NaH2PO4, pH 7,5 и 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 (11,0 мг, 0,0092 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре. в течение ночи, упаривали и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ C_{18} с элюированием вода/CH_3CN (от 95% воды до 25% воды за 45 мин). Фракции сбора ВЭЖХ, содержащие каждый продукт, объединяли, упаривали и сушили в высоком вакууме с получением продукта D-03 (7,0 мг, выход 40%), МС ЭСИ m/z $C_{81}H_{113}N_{18}O_{33}S$ $[M+H]^+$, рассчитано 1896,74, рассчитано 1897,20; и продукт D-04 (4,7 мг, выход 25%), МС ЭСИ m/z $C_{81}H_{115}N_{18}O_{34}S$ $[M+H]^+$, рассчитано 1915,75, найдено 1916,30.

Пример 337. Синтез конъюгируемого аналога -аманитина (D-05), имеющего бис-линкер.

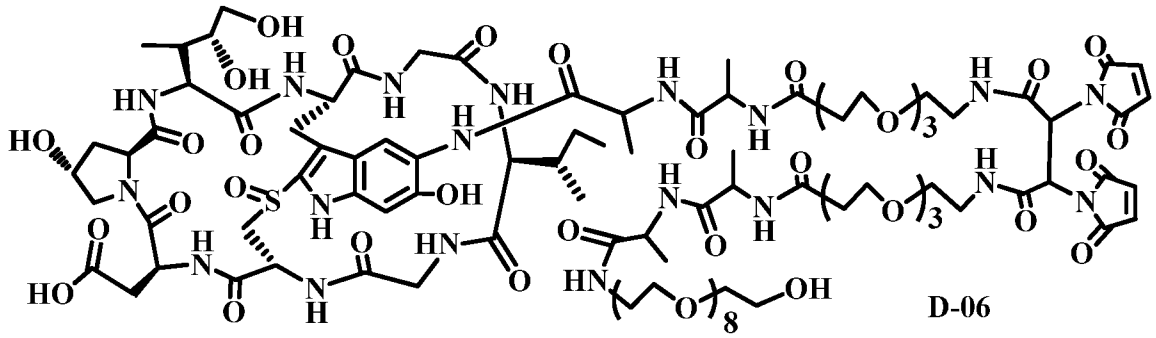


D-05

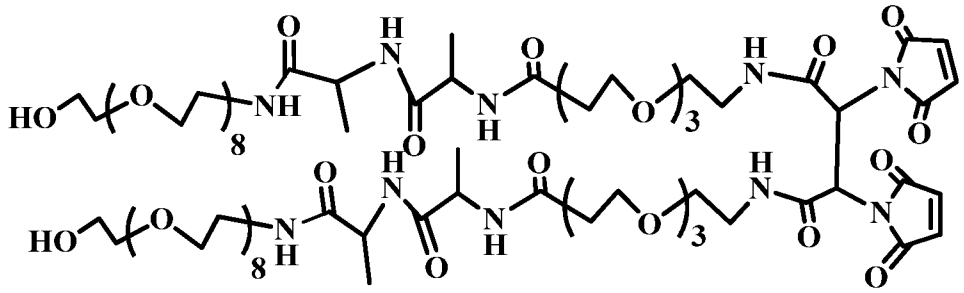
К раствору нитро-α-аманитина (9,0 мг, 0,0093 ммоль) в сухом DMA (1 мл)) добавляли Pd/C (3 мг, влажность 50%), затем гидрировали (1 атм) при комнатной температуре в течение 6 часов. Катализатор отфильтровывали, промывали DMA (1 мл), а затем бис (2,5-диоксопирролидин-1-ил) 21,22-бис (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1. -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-диоат (40,0 мг, 0,033 ммоль) и DIPEA (2 мкл, 0,011 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 часов. с последующим добавлением 26-амино-3,6,9,12,15,18,21,24-октаоксагексакозан-1-ола (30,0 мг, 0,072 ммоль). Смесь продолжали перемешивать в течение ночи, упаривали и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ C_{18}, элюируя смесью вода/CH_3CN (от 95% воды до 30%

воды за 45 минут) с получением (14,5 мг, выход 69%) указанного в заголовке продукта D-05 после сушки в высоком вакууме. МС ЭСИ m/z $C_{99}H_{153}N_{20}O_{41}S$ $[M+H]^+$, рассч. 2310,01, найдено 2310,90; и побочный продукт, 2,3-бис(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-N1,N4-бис(1-гидрокси-29,32-диметил-28,31,34-триоксо-3,6,9,12,15,18,21,24,37,40,43-ундекаокса-27,30,33-триазапентатетраконтан-45-ил)сукцинамид (24,3 мг, 0,013 ммоль), МС ЭСИ m/z $C_{78}H_{136}N_{10}O_{36}$ $[M+H]^+$, рассч. 1789,91, найдено 1790,20.

Пример 338. Синтез конъюгируемого аналога β-аманитина (D-06), имеющего бис-линкер.



D-06



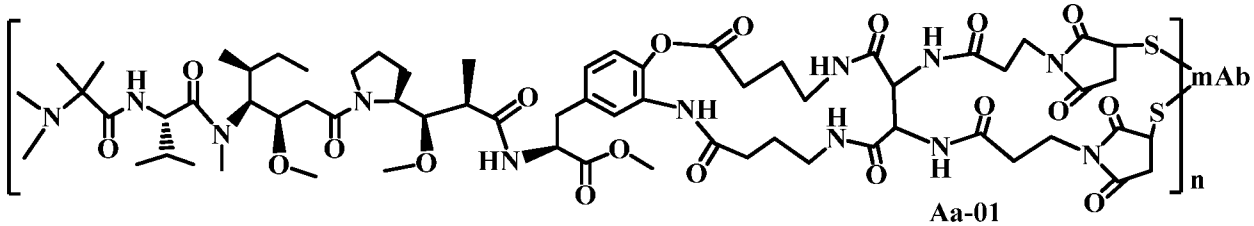
Pg-04,

К раствору нитро-β-аманитина (9,0 мг, 0,0093 ммоль) в сухом DMA (1 мл)) добавляли Pd/C (3 мг, влажность 50%), затем гидрировали (1 атм) при комнатной температуре в течение 6 часов. Катализатор отфильтровывали, промывали DMA (1 мл), а затем 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-диоат (40,0 мг, 0,033 ммоль) и DIPEA (2 мкл, 0,011 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 часов. с последующим добавлением 26-амино-3,6,9,12,15,18,21,24-октаоксагексакозан-1-ола (30,0 мг, 0,072 ммоль). Смесь продолжали перемешивать в течение ночи, упаривали и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ C_{18}, элюируя смесью вода/CH_3CN (от 95% воды до 30% воды за 45 минут) с получением (14,9 мг, выход 69%) указанного в заголовке продукта D-06 после сушки в высоком вакууме. МС ЭСИ m/z $C_{99}H_{152}N_{19}O_{42}S$ $[M+H]^+$, рассч. 2311,00, найдено 2311,90; и побочный продукт Pg-04, 2,3-бис (2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-N1,N4-бис (1-гидрокси-29,32-диметил-28,31,34-триоксо-3,6,9,12,15,18,21,24,37,40,43-ундекаокса-27,30,33-триазапентатетраконтан-45-ил)

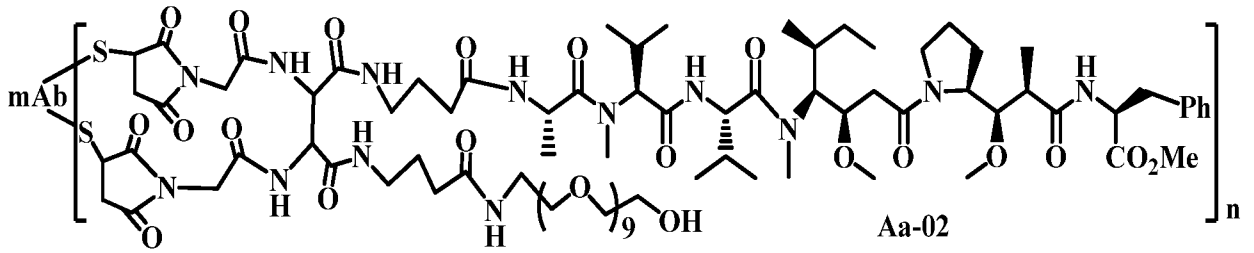
сукцинамид (24,8 мг, 0,013 ммоль), МС ЭСИ m/z $C_{78}H_{136}N_{10}O_{36}$ $[M+H]^+$, рассч. 1789,91, найдено 1790,20.

Пример 339. Общий способ приготовления конъюгата.

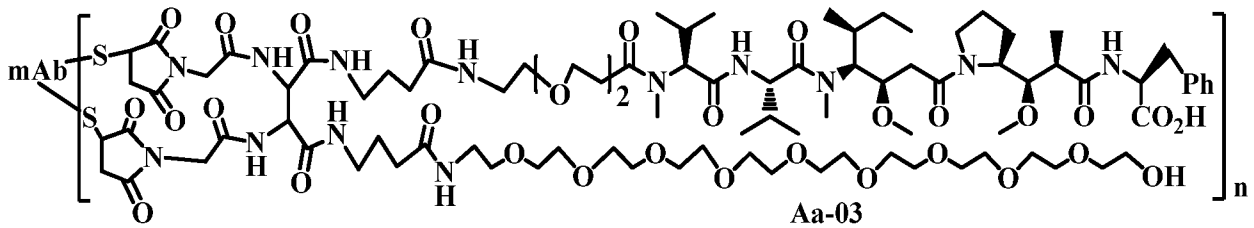
К смеси 2,0 мл 10 мг/мл антитела her2 при pH 6,0 ~ 8,0 добавляли 0,70 ~ 2,0 мл PBS-буфера 100 мМ NaH_2PO_4, буферы pH 6,5 ~ 8,5, TCEP (16-20 мкл, 20 мМ в вода) и соединения **A-01, A-02, A-03, A-04, B-01, B-02, B-03, B-04, B-05, B-06, B-07, B-08, B-09, B-10, B-11, B-12, B-13, B-14, B-15, B-16, C-02, C-03, C-04, C-05, C-06, C-07, C-08, C-09, C-10, C-11, C-12, D-01, D-02, D-03, D-04, D-05** или **D-06** (28-32 мкл, 20 мМ в DMA) независимо. Смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 4 ~ 18 часов, затем добавляли DHAA (135 мкл, 50 мМ). После непрерывной инкубации при комнатной температуре в течение ночи смесь очищали на колонке G-25, элюируя 100 мМ NaH_2PO_4, 50 мМ NaCl буфер с pH 6,0 ~ 7,5 для получения 12,8 ~ 18,1 мг конъюгированного соединения **Aa-01, Aa-02, Aa-03, Aa-04, Ba-01, Ba-02, Ba-03, Ba-04, Ba-05, Ba-06, Ba-07, Ba-08, Ba-09, Ba-10, Ba-11, Ba-12, Ba-13, Ba-14, Ba-15, Ba-16, Ca-02, Ca-03, Ca-04, Ca-05, Ca-06, Ca-07, Ca-08, Ca-09, Ca-10, Ca-11, Ca-12, Da-01, Da-02, Da-03, Da-04, Da-05** или **Da-06** (выход 75% ~ 90%) соответственно в 14,4 ~ 15,5 мл буфера. Соотношение лекарственное средство/антитело (DAR) для конъюгата составляло 3,1~4,2, что определяли с помощью масс-спектра СВЭЖХ-QTOF. Он представляет собой 94 ~ 99% мономер, исходя из анализа с помощью эксклюзионной ВЭЖХ (Tosoh Bioscience, Tskgel G3000SW, 7,8 мм ID × 30 см, 0,5 мл/мин, 100 мин), и одной полосы в ДСН-ПААГ-электрофорезе. Структуры конъюгатов представлены ниже:



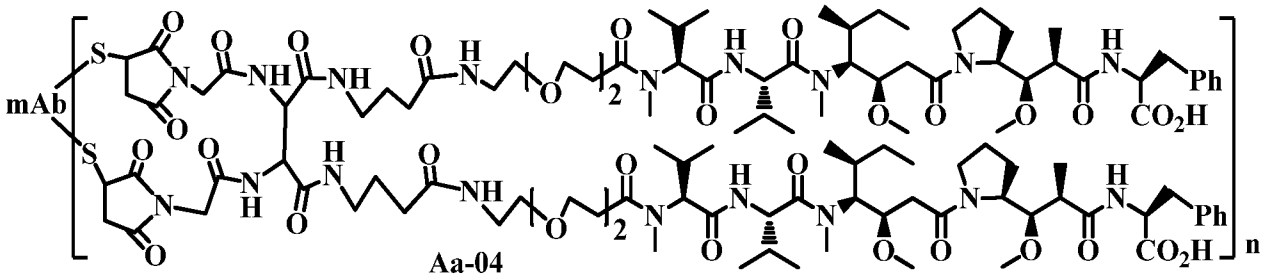
Aa-01



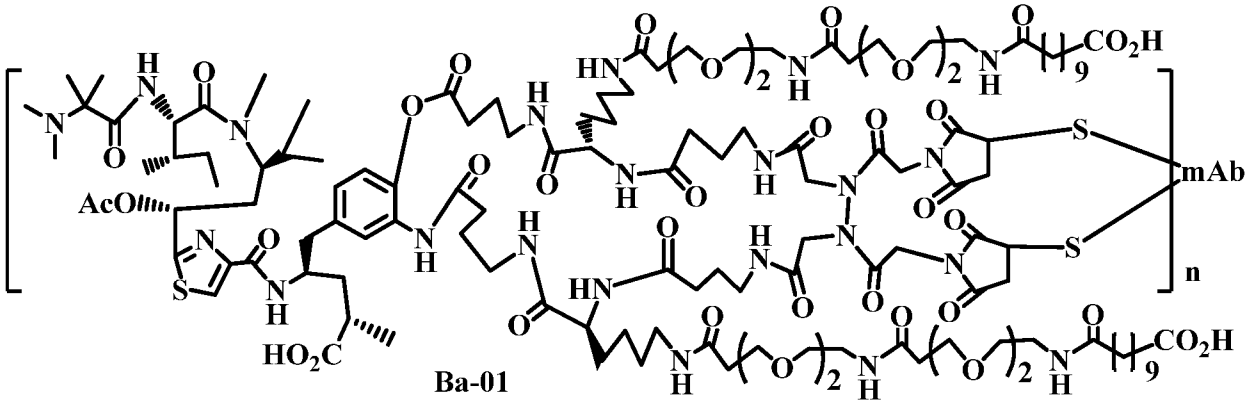
Aa-02



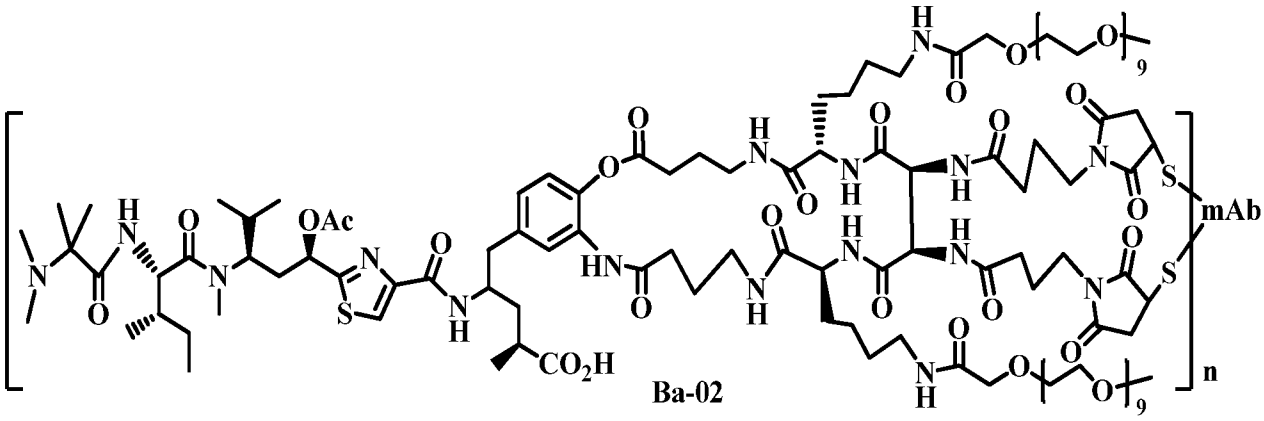
Aa-03



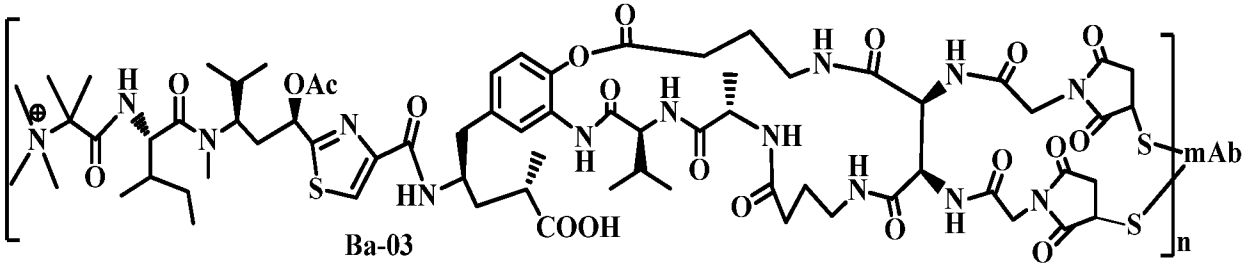
Aa-04



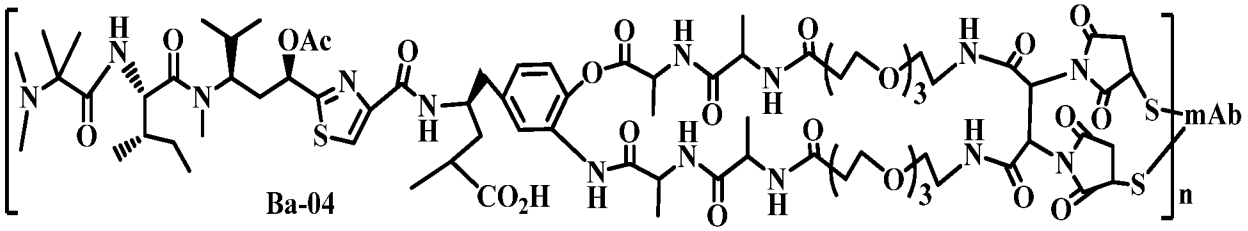
Ba-01



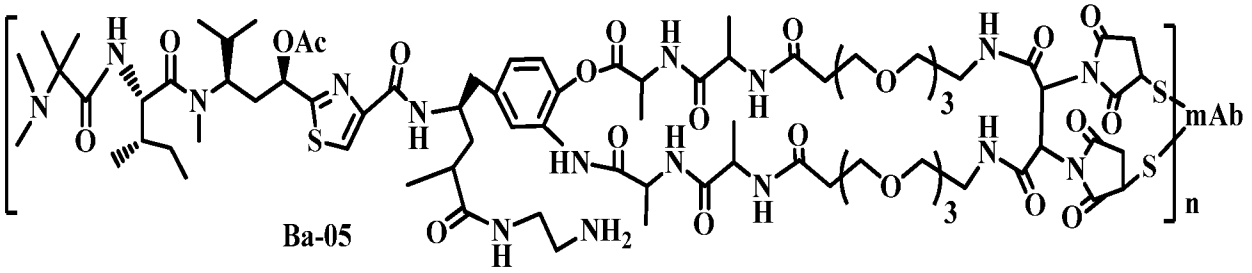
Ba-02



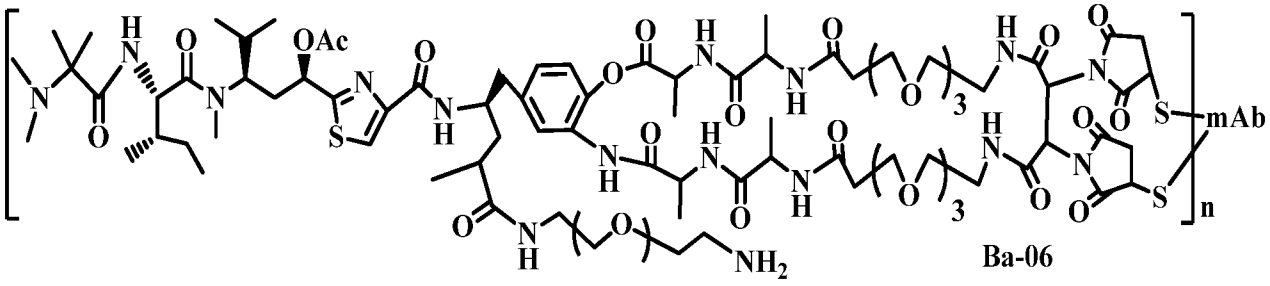
Ba-03



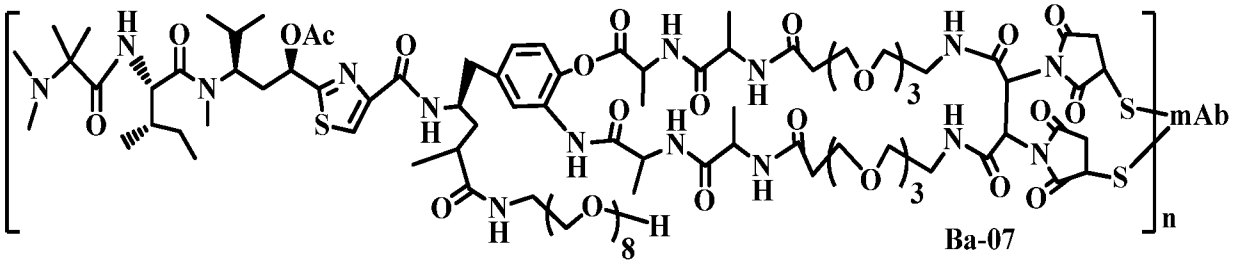
Ba-04



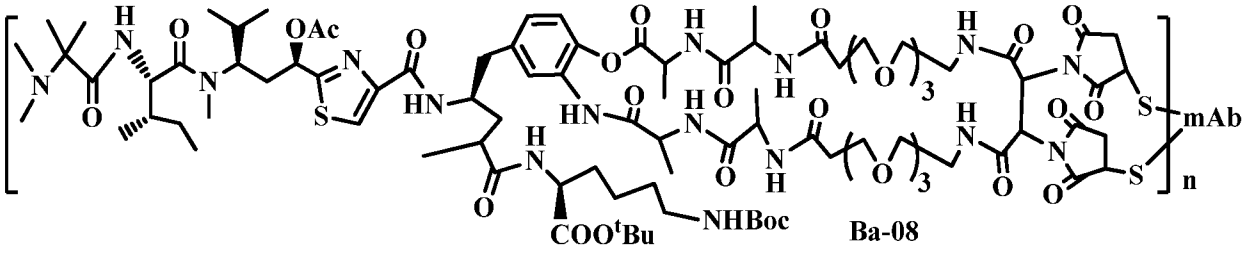
Ba-05



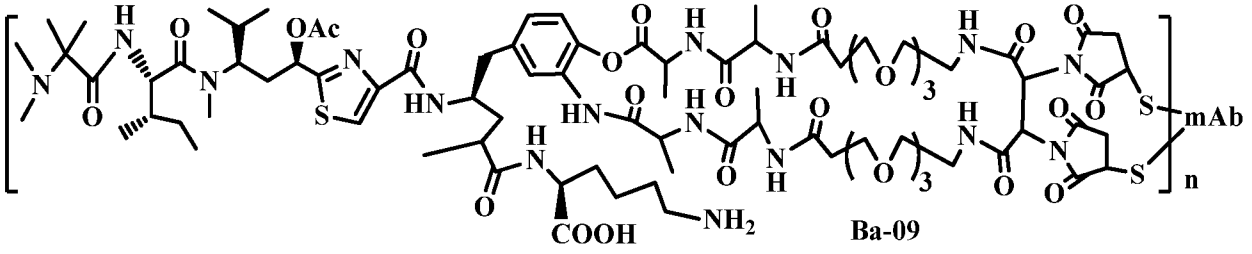
Ba-06



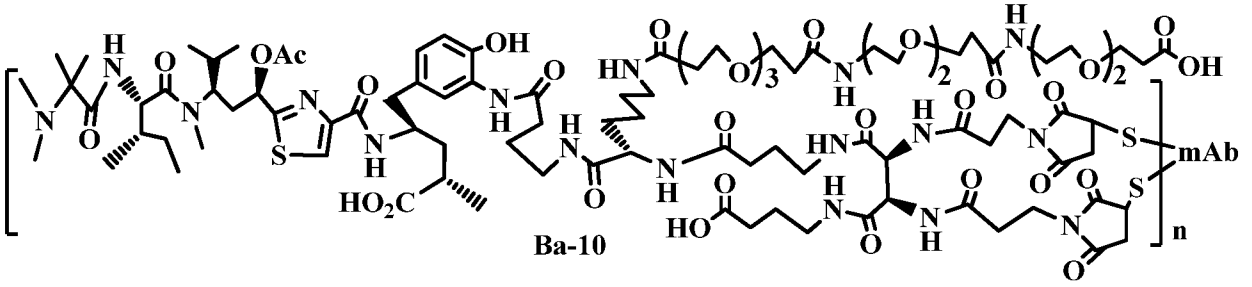
Ba-07



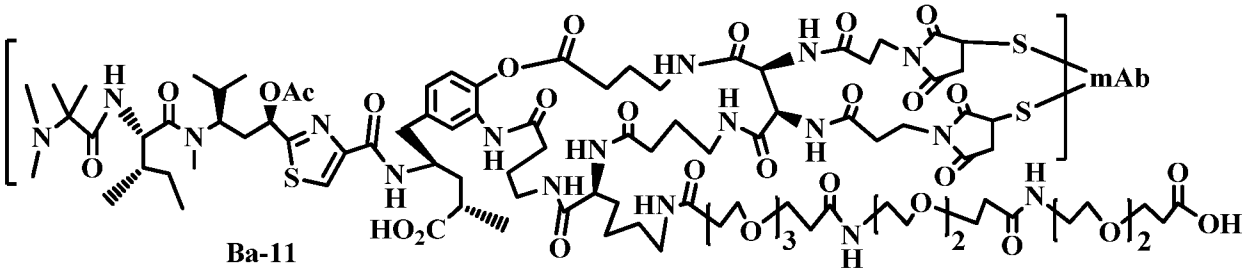
Ba-08



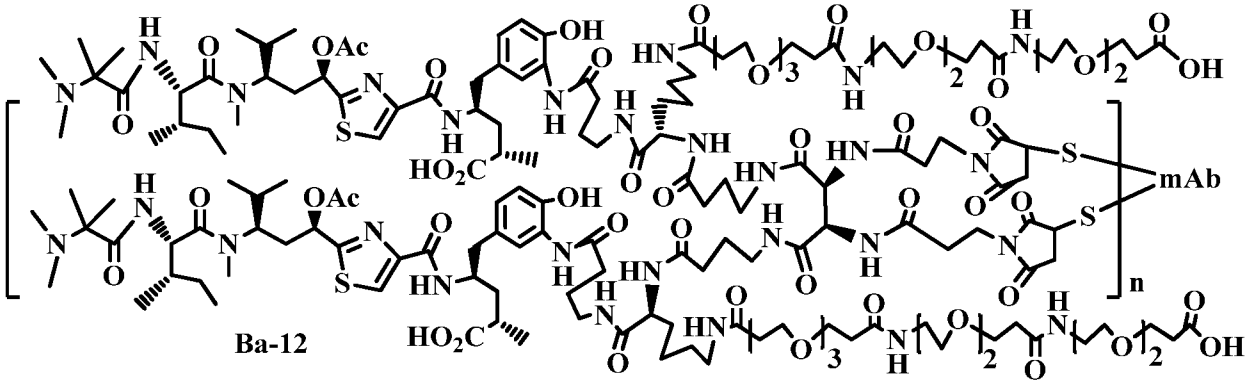
Ba-09



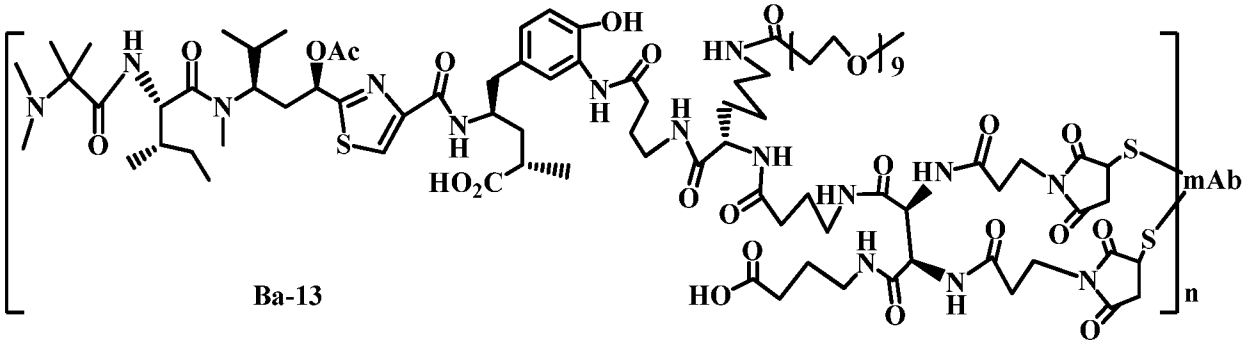
Ba-10



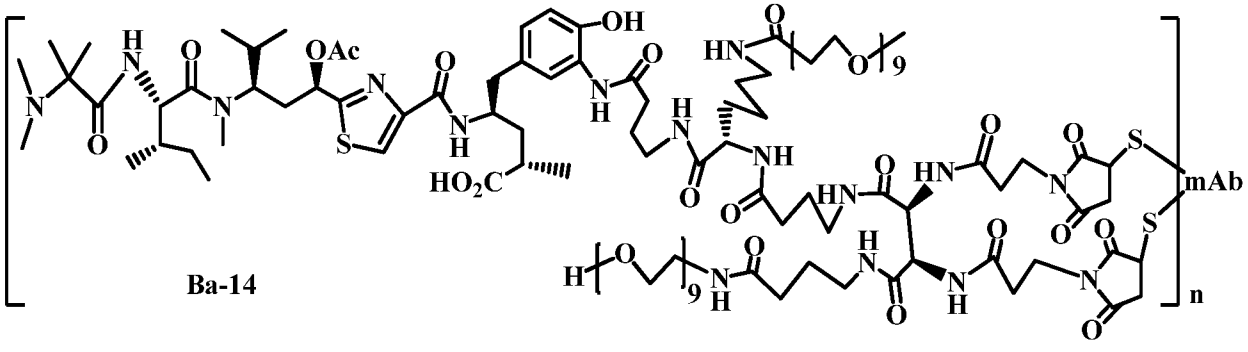
Ba-11



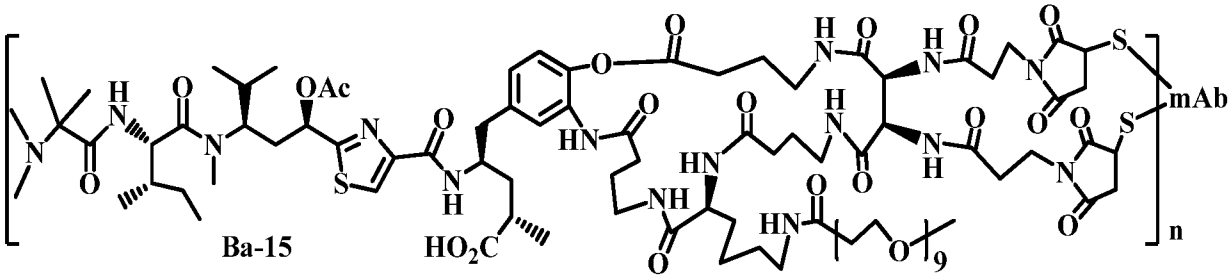
Ba-12



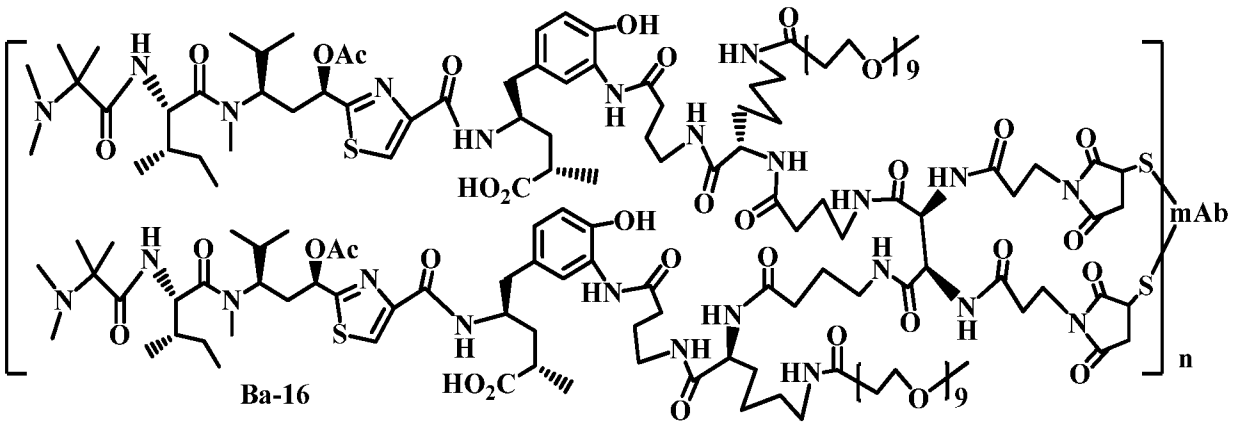
Ba-13



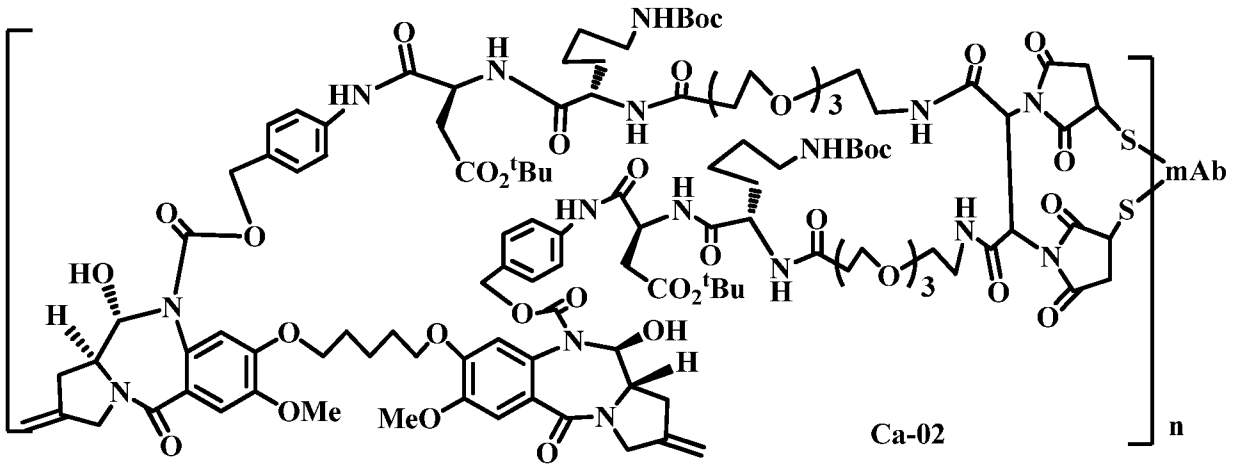
Ba-14



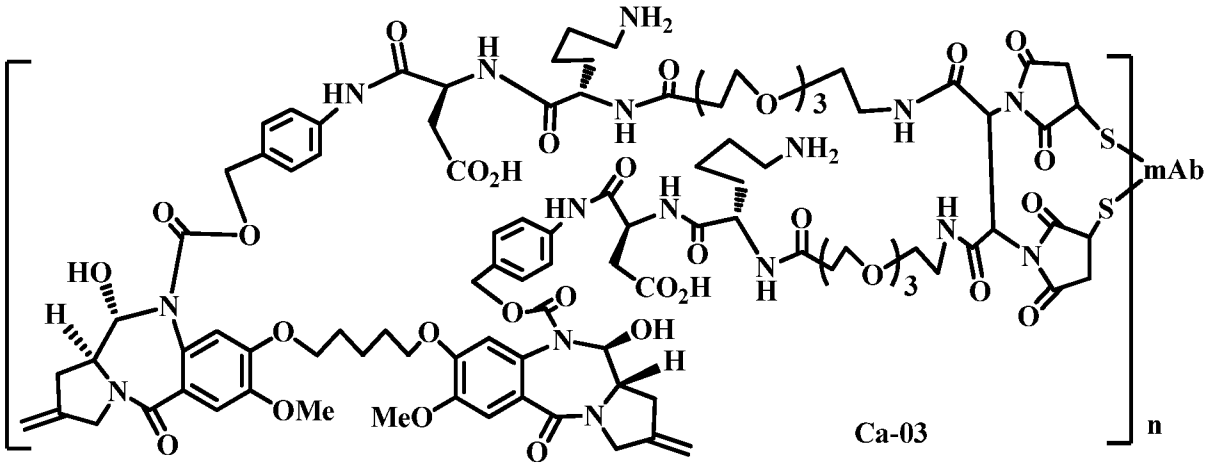
Ba-15



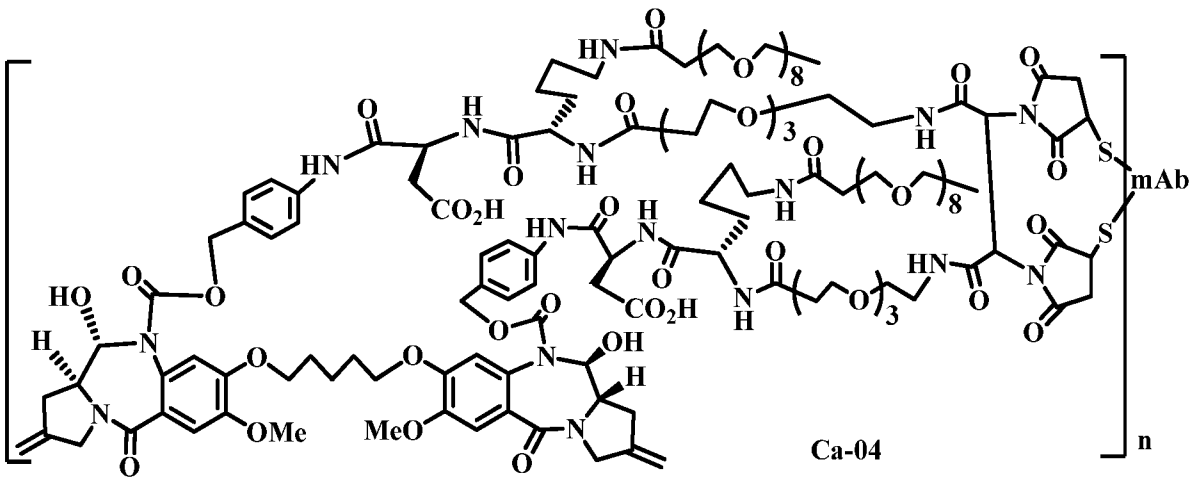
Ba-16



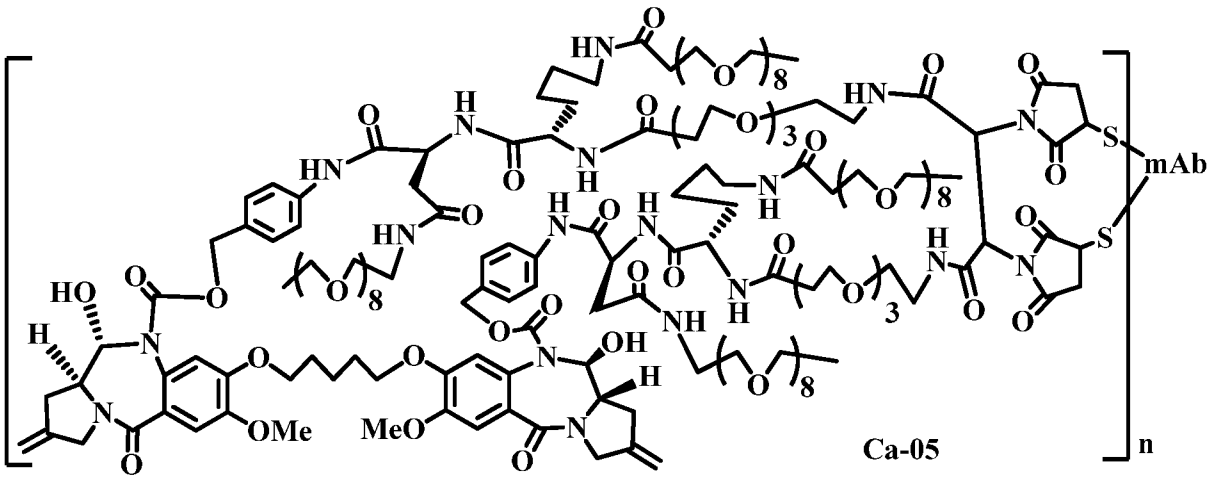
Ca-02



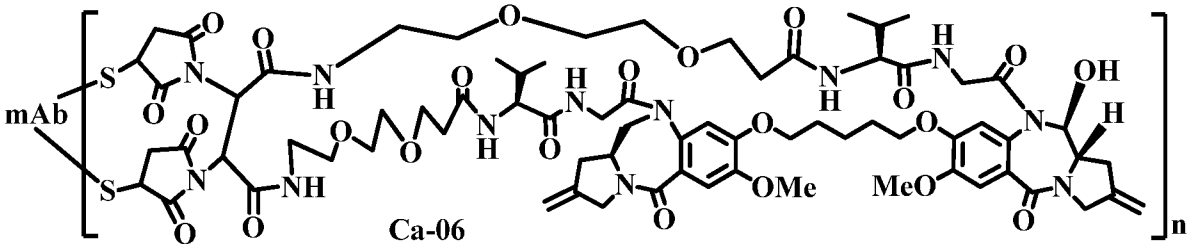
Ca-03



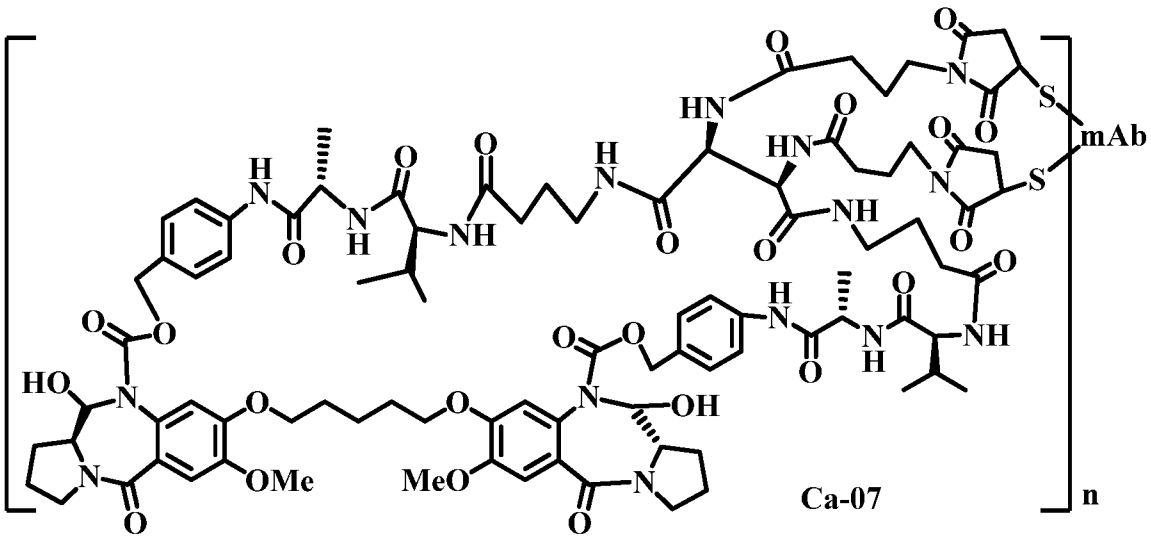
Ca-04



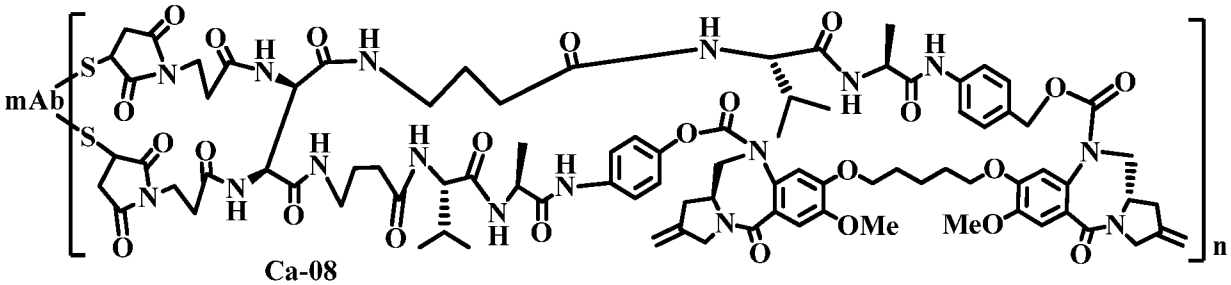
Ca-05



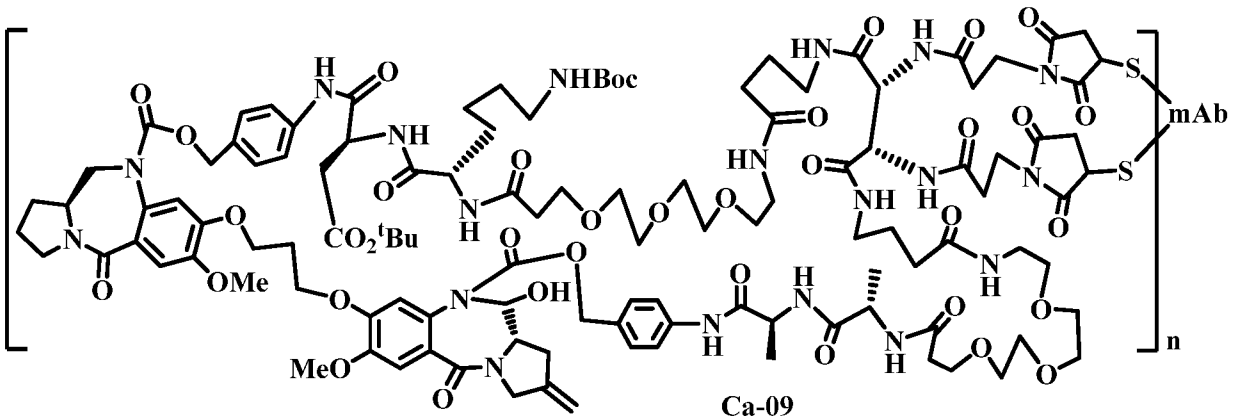
Ca-06



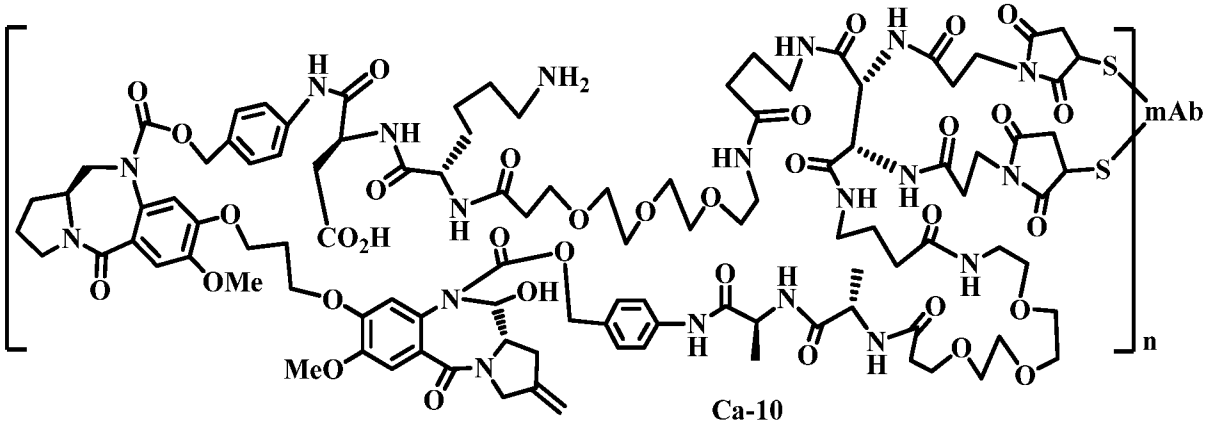
Ca-07



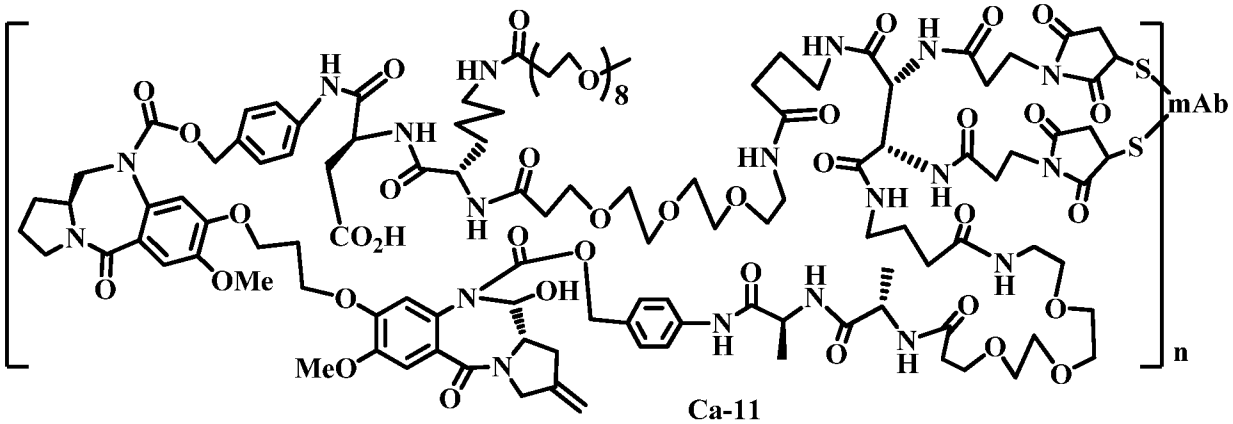
Ca-08



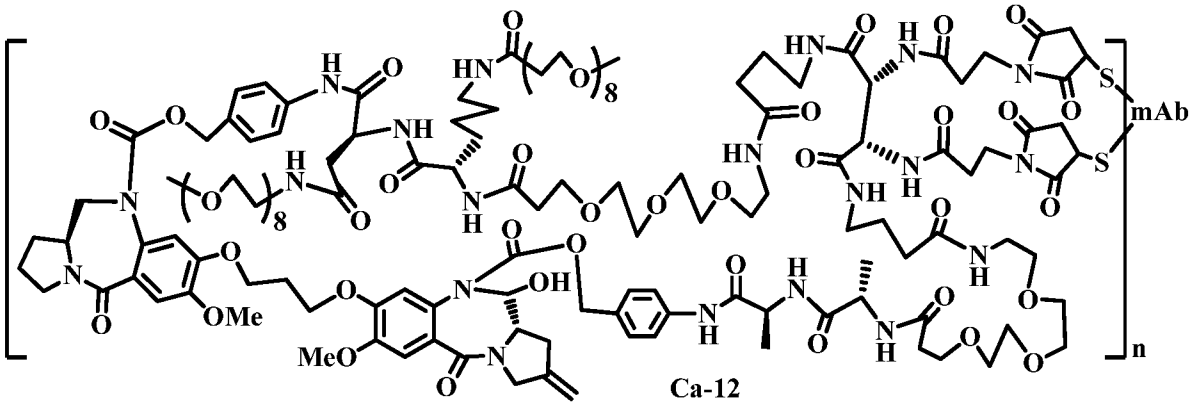
Ca-09



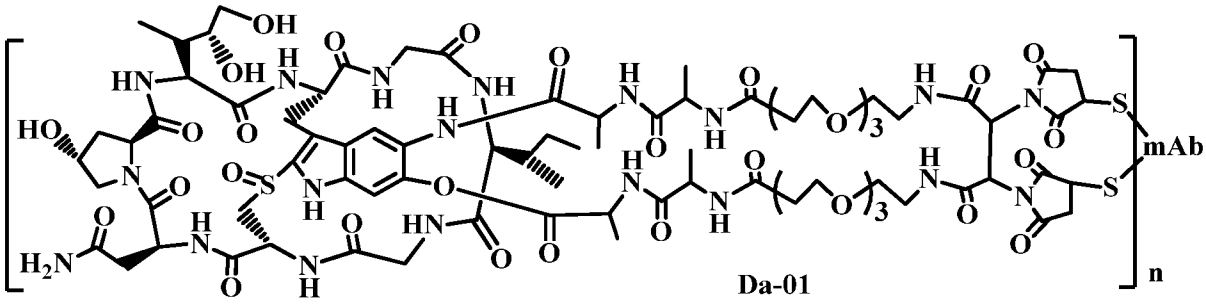
Ca-10



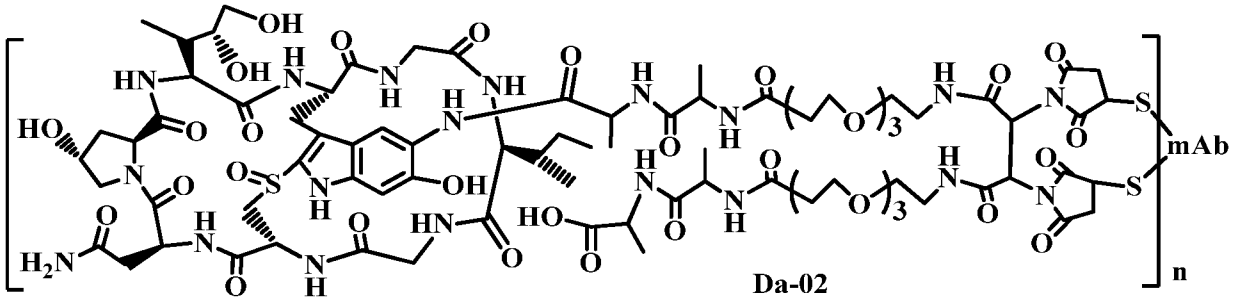
Ca-11



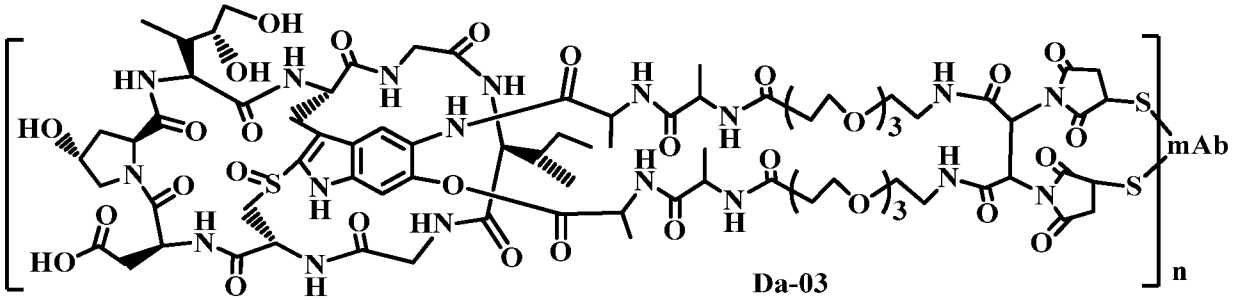
Ca-12



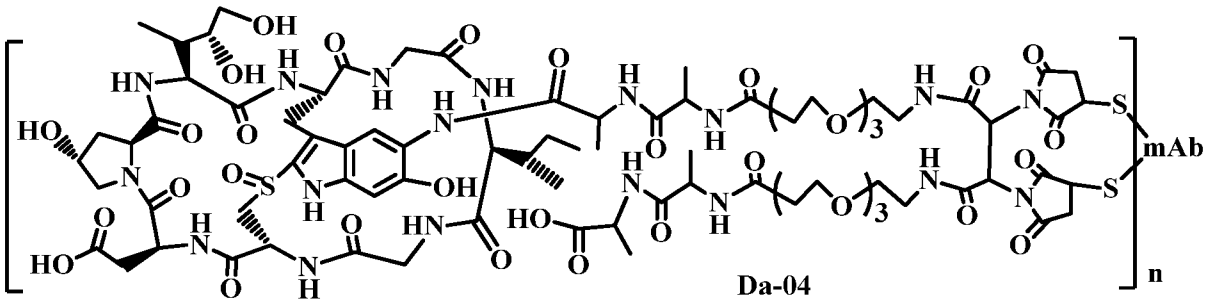
Da-01



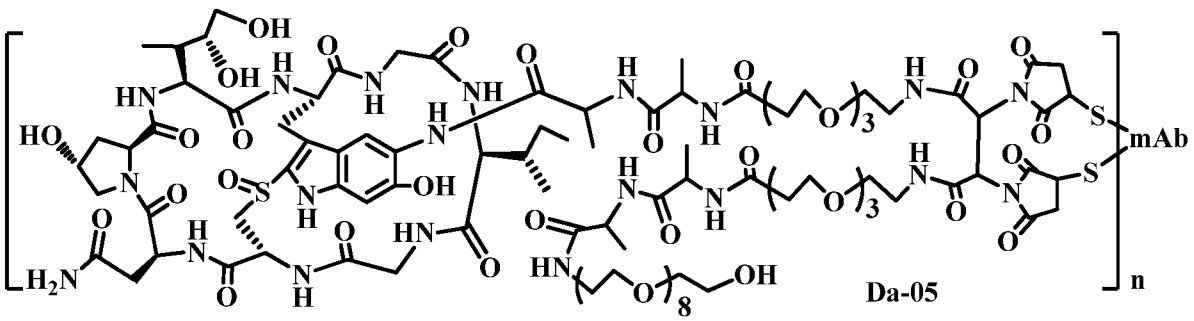
Da-02



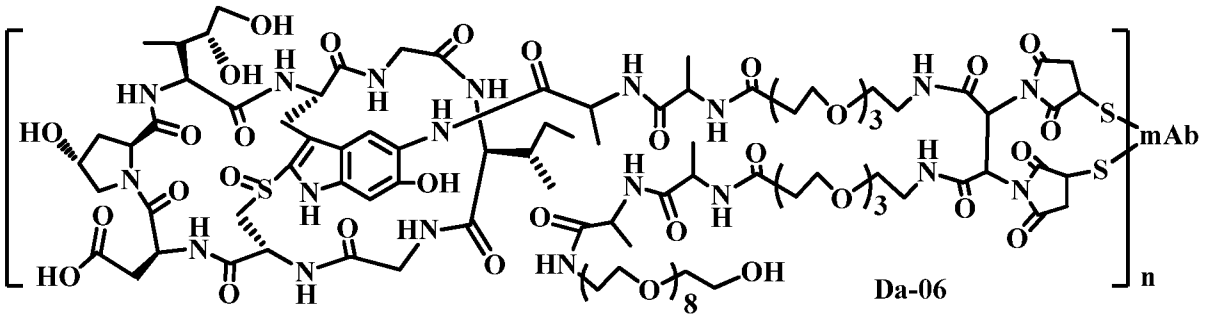
Da-03



Da-04



Da-05



Da-06

где n = 2,0 ~ 4,5

Пример 340. Оценка цитотоксичности in vitro конъюгатов **Aa-01, Aa-02, Aa-03, Aa-04, Ba-01, Ba-02, Ba-03, Ba-04, Ba-05, Ba-06, Ba-07, Ba-08, Ba-09, Ba-10, Ba-11, Ba-12, Ba-13, Ba-14, Ba-15, Ba-16, Ca-02, Ca-03, Ca-04, Ca-05, Ca-06, Ca-07, Ca-08, Ca-09, Ca-10, Ca-11, Ca-12, Da-01, Da-02, Da-03, Da-04, Da-05** или **Da-06** в сравнении 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-луночном планшете и инкубировали в течение 24 часов при 37 °C с 5% CO_2. 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% CO_2. Затем в лунки добавляли MTT (5 мг/мл) (20 мкл) и планшеты инкубировали в течение 1,5 часов 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 цитотоксичности IC_{50} и IC_{90}:

	DAR (соотношение лекарственных средств)	Клетки N87 (Ag+) IC_{50} (нМ)	Клетки N87 (Ag+) IC_{90} (нМ)
Конъюгат **Aa-01**	4,0	0,97 нМ	1,45 нМ
Конъюгат **Aa-02**	3,7	0,36 нМ	0,91 нМ

Конъюгат **Aa-03**	3,8	0,67 нМ	1,17 нМ
Конъюгат **Aa-04**	4,1	0,34 нМ	0,71 нМ
Конъюгат **Ba-01**	3,9	0,34 нМ	0,68 нМ
Конъюгат **Ba-02**	3,6	0,78 нМ	1,45 нМ
Конъюгат **Ba-03**	3,9	0,14 нМ	0,28 нМ
Конъюгат **Ba-04**	3,8	0,42 нМ	1,10 нМ
Конъюгат **Ba-05**	3,8	0,83 нМ	1,46 нМ
Конъюгат **Ba-06**	3,8	0,72 нМ	1,82 нМ
Конъюгат **Ba-07**	3,7	0,93 нМ	1,93 нМ
Конъюгат **Ba-08**	3,2	0,22 нМ	0,72 нМ
Конъюгат **Ba-09**	3,6	0,45 нМ	0,78 нМ
Конъюгат **Ba-10**	3,9	0,19 нМ	0,69 нМ
Конъюгат **Ba-11**	3,8	0,13 нМ	0,76 нМ
Конъюгат **Ba-12**	3,8	0,22 нМ	0,78 нМ
Конъюгат **Ba-13**	3,6	0,29 нМ	0,93 нМ
Конъюгат **Ba-14**	3,8	0,28 нМ	0,81 нМ
Конъюгат **Ba-15**	3,8	0,83 нМ	1,26 нМ
Конъюгат **Ba-16**	3,8	0,22 нМ	0,82 нМ
Конъюгат **Ca-02**	3,7	0,93 нМ	1,93 нМ

Конъюгат **Ca-03**	4,1	0,017 нМ	0,12 нМ
Конъюгат **Ca-04**	3,8	0,039 нМ	0,22 нМ
Конъюгат **Ca-05**	4,0	0,10 нМ	0,82 нМ
Конъюгат **Ca-06**	3,8	1,13 нМ	3,48 нМ
Конъюгат **Ca-07**	3,8	0,021 нМ	0,088 нМ
Конъюгат **Ca-08**	3,8	61,36 нМ	98,6 нМ
Конъюгат **Ca-09**	2,1	0,51 нМ	1,252 нМ
Конъюгат **Ca-10**	3,9	0,13 нМ	0,72 нМ
Конъюгат **Ca-11**	3,8	0,43 нМ	1,10 нМ
Конъюгат **Ca-12**	3,6	0,71 нМ	1,32 нМ
Конъюгат **Da-01**	3,8	0,041 нМ	0,087 нМ
Конъюгат **Da-02**	3,8	0,038 нМ	0,12 нМ
Конъюгат **Da-03**	3,9	0,033 нМ	0,072 нМ
Конъюгат **Da-04**	3,8	0,047 нМ	1,31 нМ
Конъюгат **Da-05**	3,8	0,21 нМ	0,82 нМ

Конъюгат **Da-06**	3,9	0,34 нМ	0,73 нМ
Конъюгат **T-1a**	3,8	0,25 нМ	0,51 нМ
T-DM1	3,5	0,12 нМ	0,26 нМ

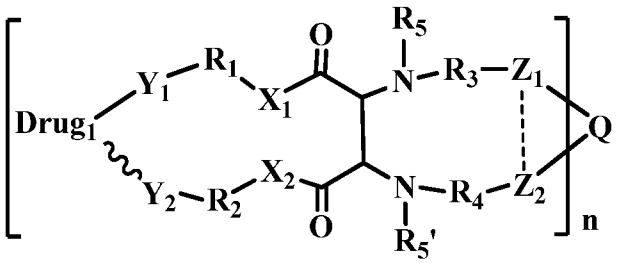
Пример 341. Противоопухолевая активность in vivo (мыши линии BALB/c Nude, имеющих ксенотрансплантатную опухоль NCI-N87).

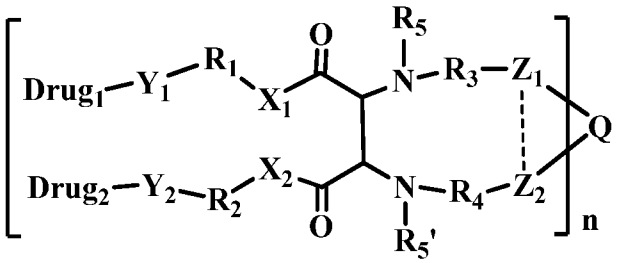
in vivo эффективность конъюгатов **Ba-12, Ba-14, B-16, Ca-03, Ca-04, Ca-05, Ca-06, Ca-07, Ca-10, Ca-11, Ca-12,** наряду с T-DM1 оценивали на моделях ксенотрансплантатной опухоли линии клеток N-87 карциномы желудка человека. Пятинедельным самкам мышей линии BALB/c Nude (104 животных) подкожно инокулировали в область под правым плечом клетки карциномы N-87 (5×10^6 клеток/мышь) в 0,1 мл бессывороточной среды. Опухоли давали вырасти в течение 8 дней до среднего размера 110 $мм^3$. Затем животные были случайным образом разделены на 13 групп (по 8 животных в группе). Первая группа мышей служила в качестве контрольной группы и получала носитель с фосфатно-солевым буфером (PBS). 12 групп обрабатывали конъюгатами **Ba-12, Ba-14, B-16, Ca-03, Ca-04, Ca-05, Ca-06, Ca-07, Ca-10, Ca-11, Ca-12** и T-DM1 соответственно в дозе 3 мг/кг, вводимой внутривенно. Оставшиеся 2 группы обрабатывали конъюгатом **C-3a** и **D-1a** соответственно в дозе 1 мг/кг, вводимой внутривенно. Три измерения опухоли проводили каждые 4 дня, и объемы опухоли рассчитывали по формуле объем опухоли = 1/2 (длина × ширина × высота). В то же время измеряли массу животных . Мышей умерщвляли по достижению одного из следующих критериев: (1) потеря в весе тела составляла более чем 20% от веса тела до введения соединения, (2) объем опухоли более чем 2000 $мм^3$, (3) слишком больны, чтобы самостоятельно достигнуть источника еды и воды, или (4) некроз кожи. Мышь считалась не имеющей опухоли, при отсутствии опухоли при пальпации.

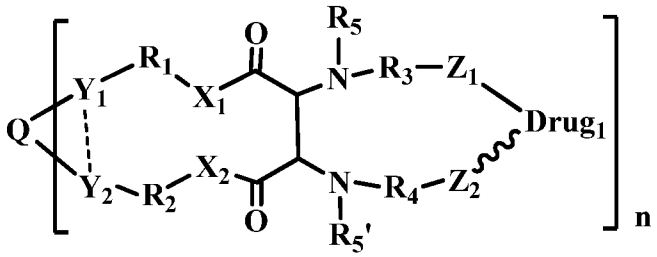
Результаты представлены на Фиг.27. Все 12 конъюгатов не вызывали потери в весе тела животных. И животных в контрольной группе умерщвляли на день 35 из-за объема опухоли более чем 2000 $мм^3$ и животные были очень больны. Здесь все 12 протестированных конъюгатов, кроме Ca-06, продемонстрировали лучшую противоопухолевую активность, чем T-DM1. Все 6/6 животных в группах соединений Ca-04 и Ca-3 полностью не имели поддающейся измерению опухоли. Напротив, T-DM1 в дозе 3 мг/кг не мог устранить опухоли.

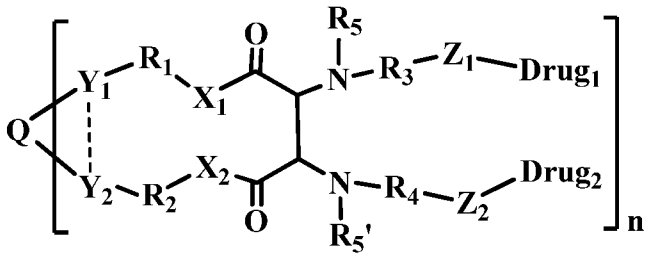
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение конъюгата, содержащее 2,3-диаминосукцинильную группу, имеющую Формулу (I), (II), (III) или (IV):


(I),


(II),


(III),


(IV),

или их оптические изомеры, рацематы, диастереомеры или энантиомеры;

где

«——» представляет собой одинарную связь;

«〰» необязательно представляет собой либо одинарную связь, либо отсутствует;

«-----» представляет собой необязательно либо одинарную связь, либо двойную связь или может необязательно отсутствовать;

n равно независимо 1-30

Q представляет собой агент/молекулу, связывающийся с клеткой, который связывается с R_3 и R_4, может быть любого вида, известного в настоящее время или который станет известным, молекулы, которая связывается, образует комплексы или контактирует с

некоторой частью клеточной популяции, которую требуется терапевтически или иным образом биологически модифицировать. Агент/молекула, связывающийся с клеткой, представляет собой иммунотерапевтический белок, антитело, одноцепочечное антитело; фрагмент антитела, который связывается с клеткой-мишенью; моноклональное антитело; одноцепочечное моноклональное антитело; или фрагмент моноклонального антитела, который связывается с клеткой-мишенью; химерное антитело; фрагмент химерного антитела, который связывается с клеткой-мишенью; домен антитела; фрагмент домена антитела, который связывается с клеткой-мишенью; аднектины, которые имитируют антитела; DARPins (дарпины); лимфокин; гормон; витамин; фактор роста; колониестимулирующий фактор; или молекулу, переносящую питательные вещества в клетку (трансферрин); связывающие пептиды, содержащие более четырех аминокислот, или белок, или антитело, или малую молекулу, связывающуюся с клеткой, или лиганд, присоединенный к альбумину, полимерам, дендримерам, липосомам, наночастицам, везикулам или (вирусным) капсидам;

Лекарственное средство$_1$ или/и Лекарственное средство$_2$ представляют собой цитотоксическую молекулу/агент, которая является терапевтическим лекарственным средством/молекулой/агентом, или иммунотерапевтическим белком/молекулой, или функциональной молекулой для усиления связывания или стабилизации связывающего клетки агента или лиганд, связывающий рецептор клеточной поверхности, или для ингибирования пролиферации клеток, или для мониторинга, обнаружения или изучения действия связывающей клетки молекулы. Также это может быть аналог, или пролекарство, или фармацевтически приемлемая соль, гидрат или гидратированная соль, или кристаллическая структура, или оптический изомер, рацемат, диастереомер или энантиомер, иммунотерапевтического соединения, химиотерапевтическое соединение, антитело (проантитело) или фрагмент антитела (проантитела), или миРНК, или молекула ДНК, или лиганд, связывающийся с клеточной поверхностью;

X_1 и X_2 одинаковые или разные и независимо выбраны из NH; NHNH; $N(R_1)$; $N(R_1)N(R_2)$; O; S; S-S, O-NH. $O-N(R_1)$, CH_2-NH. $CH_2-N(R_1)$, CH=NH. $CH=N(R_1)$, S(O), $S(O_2)$, P(O)(OH), S(O)NH, $S(O_2)NH$, P(O)(OH)NH, NHS(O)NH, $NHS(O_2)NH$, NHP(O)(OH)NH, $N(R_1)S(O)N(R_2)$, $N(R_1)S(O_2)N(R_2)$, $N(R_1)P(O)(OH)N(R_2)$, OS(O)NH, $OS(O_2)NH$, OP(O)(OH)NH, C(O), C(NH), $C(NR_1)$, C(O)NH, C(NH)NH, $C(NR_1)NH$, OC(O)NH, OC(NH)NH; $OC(NR_1)NH$, NHC(O)NH; NHC(NH)NH; $NHC(NR_1)NH$, C(O)NH, C(NH)NH, $C(NR_1)NH$, $OC(O)N(R_1)$, $OC(NH)N(R_1)$, $OC(NR_1)N(R_1)$, $NHC(O)N(R_1)$, $NHC(NH)N(R_1)$, $NHC(NR_1)N(R_1)$, $N(R_1)C(O)N(R_1)$, $N(R_1)C(NH)N(R_1)$, $N(R_1)C(NR_1)N(R_1)$; или C_1-C_6 алкила; C_2-C_8 алкенила, гетероалкила, алкилциклоалкила или гетероциклоалкила; C_3-C_8 арила, Ar-

алкила, гетероциклила, карбоциклила, циклоалкила, гетероалкилциклоалкила, алкилкарбонила или гетероарила;

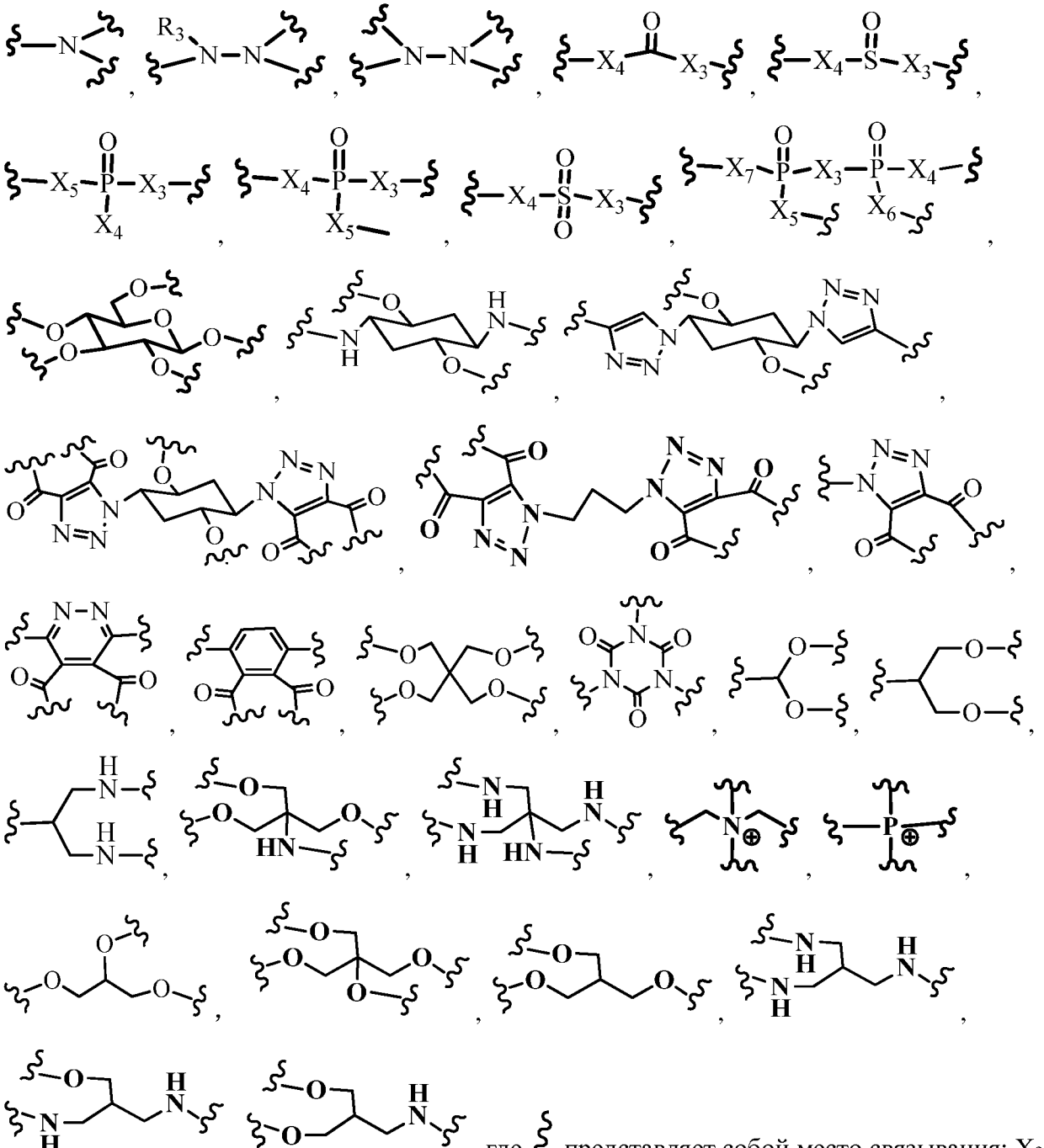
Y_1, Y_2, Z_1 и Z_2, одинаковые или разные, и независимо представляют собой функциональную группу, которая связана с клеточно-связывающей молекулой Q, или лекарственным средством$_1$ или лекарственным средством$_2$, в форме дисульфида, простого эфира, сложного эфира, сложного тиоэфира, простого тиоэфира, пептида. гидразона, карбамата, карбонат, амина (вторичный, третичный или четвертичный), имина, циклогетероалкиановой, гетероароматической, алкилоксимной или амидной связи; Y_1, Y_2, Z_1 и Z_2 независимо имеют следующие структуры: C(O)CH, C(O)C, $C(O)CH_2$, $ArCH_2$, C(O), NH, NHNH, $N(R_1)$, $N(R_1)N(R_2)$, O, S, S-S, O-NH, $O\text{-}N(R_1)$, CH_2-NH. $CH_2\text{-}N(R_1)$, CH=NH. $CH=N(R_1)$, $S(O)$, $S(O_2)$, P(O)(OH), S(O)NH, $S(O_2)NH$, P(O)(OH)NH, NHS(O)NH, $NHS(O_2)NH$, NHP(O)(OH)NH, $N(R_1)S(O)N(R_2)$, $N(R_1)S(O_2)N(R_2)$, $N(R_1)P(O)(OH)N(R_2)$, $OS(O)NH$, $OS(O_2)NH$, OP(O)(OH)NH, C(O), C(NH), $C(NR_1)$, C(O)NH, C(NH)NH, $C(NR_1)NH$, OC(O)NH, OC(NH)NH; $OC(NR_1)NH$, NHC(O)NH; NHC(NH)NH; $NHC(NR_1)NH$, C(O)NH, $C(NR_1)NH$, $OC(O)N(R_1)$, $OC(NH)N(R_1)$, $OC(NR_1)N(R_1)$, $NHC(O)N(R_1)$, $NHC(NH)N(R_1)$, $NHC(NR_1)N(R_1)$, $N(R_1)C(O)N(R_1)$, $N(R_1)C(NH)N(R_1)$, $N(R_1)C(NR_1)N(R_1)$; или C_1-C_8 алкила; C_2-C_8 гетероалкила, алкилциклоалкила, гетероциклоалкила; C_3-C_8 арила, Ar-алкила, гетероциклила, карбоциклила, циклоалкила, гетероалкилциклоалкила, алкилкарбонила, гетероарила;

R_1, R_2, R_3, и R_4, одинаковые или разные, независимо выбраны из O, NH, S, NHNH, N(R5), N(R3)N(R3'), полиэтиленокси-звена формулы $(OCH_2CH_2)_pOR_5$, или $(OCH_2CH\text{-}(CH_3))_pOR_5$, или $NH(CH_2CH_2O)_pR_5$, или $NH(CH_2CH(CH_3)O)_pR_5$, или $N[(CH_2CH_2O)_pR_5]\text{-}[(CH_2CH_2O)_{p'}R_{5'}]$, или $(OCH_2CH_2)_pCOOR_5$, или $CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_pCOOR_5$, причем p и p' независимо представляют собой целое число, выбранное от 0 до около 1000, или их комбинацию; C_1-C_8 алкила; C_2-C_8 гетероалкила, алкилциклоалкила, гетероциклоалкила, сложного эфира, простого эфира или амида; C_3-C_8 арила, Ar-алкила, гетероциклила, карбоциклила, циклоалкила, гетероалкилциклоалкила, алкилкарбонила или гетероарила; или 1~24 аминоксилот; причем R_5 и $R_{5'}$ независимо представляют собой H; C_1-C_8 алкил; C_2-C_8 гетероалкил, алкилциклоалкил или гетероциклоалкил; C_3-C_8 арил, Ar-алкил, гетероциклил, или C_2-C_8 атомов углерода сложных эфиров, простых эфиров или амидов; или 1 ~ 24 аминокислот;

или R_1, R_2, R_3 и R_4 могут необязательно состоять из одного или более линкерных компонентов 6-малеимидокапроила («MC»), малеимидопропаноила («MP»), валина-цитруллина («val-cit» или «vc»), аланина-фенилаланина («ala-phe» или «af»), п-аминобензилоксикарбонила («PAB»), 4-тиопентаноата («SPP»), 4-(N-

малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилата («MCC»), (4-ацетил)аминобензоата («SIAB»), 4-тиобутирата (SPDB), 4-тио-2-гидроксисульфонил-бутирата (2-сульфо-SPDB) или природных или неприродных пептидов, содержащих 1~8 природных или неприродных аминокислот. Природная аминокислота предпочтительно выбрана из аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, аргинина, гистидина, лизина, серина, треонина, аспарагина, глютамина, цистеина, селеноцистеина, тирозина, фенилаланина, глицина, пролина, триптофана и аланина;

или R_1, R_2, R_3 и R_4 могут независимо содержать одну из следующих гидрофильных структур:



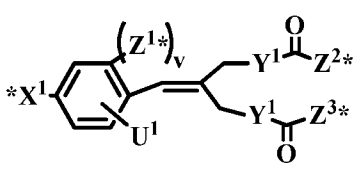
, где представляет собой место связывания; X_3, X_4, X_5, X_6, и X_7 независимо выбраны из NH; NHNH; $N(R_5)$; $N(R_5)N(R_{5'})$; O; S; C_1-C_6 алкила;

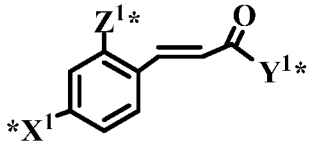
C_2-C_6 гетероалкила, алкилциклоалкила или гетероциклоалкила; C_3-C_8 арила, Ar-алкила, гетероциклила, карбоциклила, циклоалкила, гетероалкилциклоалкила, алкилкарбонила, гетероарила; или 1~8 аминокислот; где R_5 и $R_{5'}$ независимо представляют собой H; C_1-C_8 алкил; C_2-C_8 гетероалкил, алкилциклоалкил или гетероциклоалкил; C_3-C_8 арил, Ar-алкил, гетероциклил, карбоциклил, гетероалкилциклоалкил, алкилкарбонил или гетероарил; или сложных эфиров, простых эфиров или амидов, включающих C_1-C_8 атомов углерода; или полиэтиленокси, имеющих формулу $(OCH_2CH_2)_p$ или $(OCH_2CH(CH_3))_p$, где p равно целому числу от 0 до около 5000, или их комбинации;

или R_1, R_2, R_3, R_4, Y_1, Y_2, Z_1, и Z_2 независимо содержат саморасщепляющийся или несаморасщепляющийся компонент, пептидные звенья, гидразоновую связь, дисульфидную, сложноэфирную, оксимную, амидную или простую тиоэфирную связь.

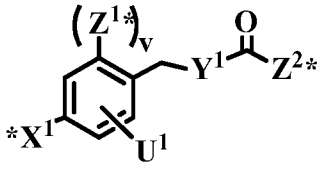
Саморасщепляющийся фрагмент включает ароматические соединения, которые в электронном виде сходны с пара-аминобензилкарбамоильными (PAB) группами, такими как производные 2-аминоимидазол-5-метанола, гетероциклические аналоги PAB, бета-глюкуронид и орто- или пара-аминобензилацетали;

Саморасщепляющийся линкерный компонент может иметь одну из следующих структур:

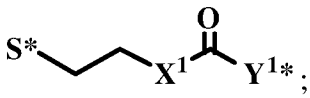




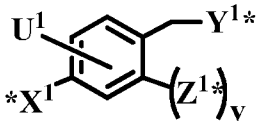
;



;.

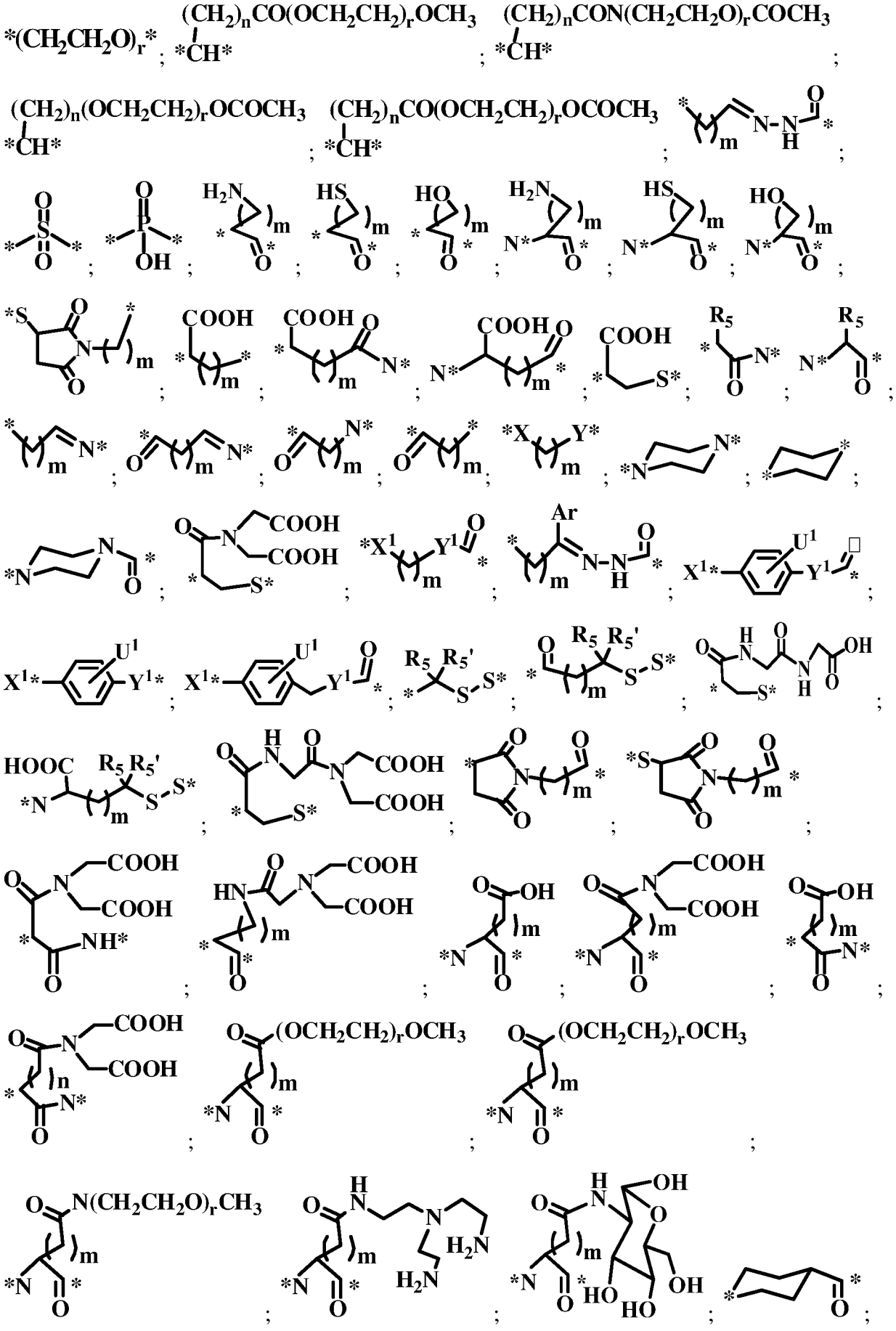


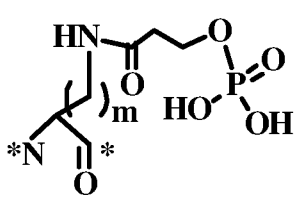
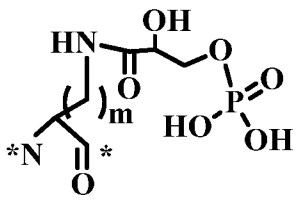
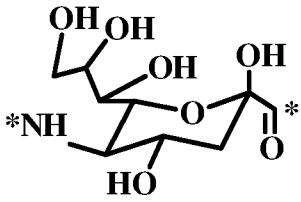
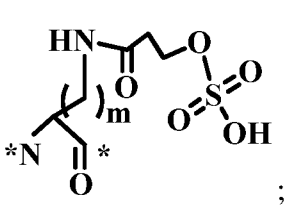
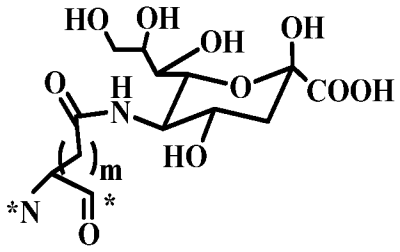
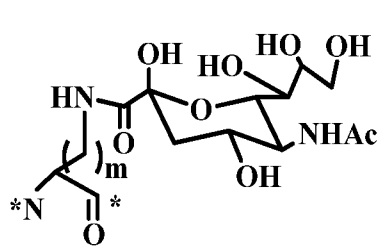
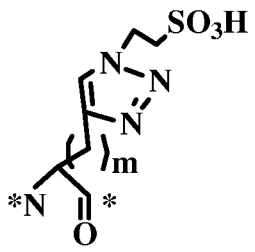
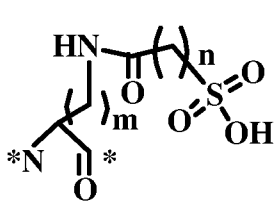
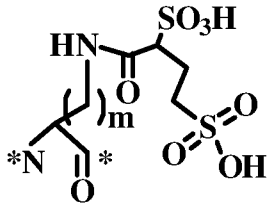
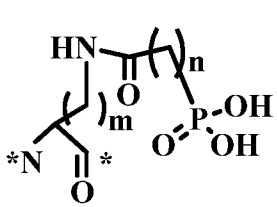
; или



где (*) атом представляет собой точку присоединения дополнительных спейсерных или высвобождаемых линкерных фрагментов или цитотоксического агента и/или связывающейся молекулы (CBA); X^1, Y^1, Z^2 и Z^3 независимо представляют собой NH, O или S; Z^1 независимо представляет собой H, NHR_5, OR_1, SR_5, COX_1R_5 где X_1 и R_5 являются такими, как определено выше; v равно 0 или 1; U^1 независимо представляет собой H, OH, C_1~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~C_8 алкила; C_2~C_8 алкенила, алкинила, гетероалкила, или аминокислоты; C_3~C_8 арила, гетероциклила, карбоциклила, циклоалкила, гетероциклоалкила, гетероаралкила, алкилкарбонила или гликозида; или фармацевтических катионных солей;

Несаморасщепляющийся линкерный компонент имеет одну из следующих структур:




;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

где (*) атом представляет собой точку присоединения дополнительных спейсерных или высвобождаемых линкеров, цитотоксических агентов и/или молекул связывания; X^1, Y^1, U^1, R_5, R_5' являются такими, как определено выше; r составляет 0 ~ 100; m и n независимо равны 0~20;

или R_1, R_2, R_3 и R_4 могут независимо содержать высвобождаемый компонент, который включает по меньшей мере одну связь, которая может быть разорвана в физиологических условиях: pH-лабильная, кислотно-лабильная, щелочно-лабильная, окислительно-лабильная, метаболически лабильная, биохимически лабильная или фермент-лабильная связь, которая имеет одну из следующих структур:

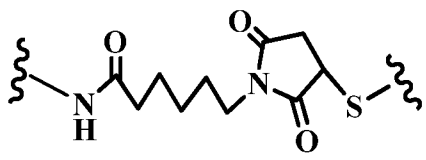
-$(CR_5R_6)_m$(Aa)r$(CR_7R_8)_n(OCH_2CH_2)_t$-, -$(CR_5R_6)_m(CR_7R_8)_n$$(Aa)_r(OCH_2CH_2)_t$-, -$(Aa)_r$-$(CR_5R_6)_m(CR_7R_8)_n(OCH_2CH_2)_t$-, -$(CR_5R_6)_m(CR_7R_8)_n(OCH_2CH_2)_r(Aa)_t$-, -$(CR_5R_6)_m$-$(CR_7{=}CR_8)(CR_9R_{10})_n(Aa)_t(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_5R_6)_m(NR_{11}CO)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n$-$(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_5R_6)_m(Aa)_t(NR_{11}CO)(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-,-$(CR_5R_6)_m(OCO)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n$-$(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_5R_6)_m(OCNR_7)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_5R_6)_m(CO)(Aa)_t$-$(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_5R_6)_m(NR_{11}CO)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_5R_6)_m$-$(OCO)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n$-$(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_5R_6)_m(OCNR_7)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_5R_6)_m(CO)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n$-$(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_5R_6)_m$-фенил-$CO(Aa)_t(CR_7R_8)_n$-, -$(CR_5R_6)_m$-фурил-$CO(Aa)_t(CR_7R_8)_n$-, -$(CR_5R_6)_m$-оксазолил-$CO(Aa)_t(CR_7R_8)_n$-, -$(CR_5R_6)_m$-тиазолил-$CO(Aa)_t(CCR_7R_8)_n$-, -$(CR_5R_6)_t$-тиенил-$CO(CR_7R_8)_n$-, -$(CR_5R_6)_t$-имидазолил-CO-$(CR_7R_8)_n$-, -$(CR_5R_6)_t$-морфолино-$CO(Aa)_t$-$(CR_7R_8)_n$-, -$(CR_5R_6)_t$пиперазино-$CO(Aa)_t$-$(CR_7R_8)_n$-, -$(CR_5R_6)_t$-N-метилпиперазин-$CO(Aa)_t$-$(CR_7R_8)_n$-, -$(CR_5R)_m$-$(Aa)_t$фенил-, -$(CR_5R_6)_m$-$(Aa)_t$фурил-, -$(CR_5R_6)_m$-оксазолил$(Aa)_t$-, -

$(CR_5R_6)_m$-тиазолил$(Aa)_t$-, -$(CR_5R_6)_m$-тиенил-$(Aa)_t$-, -$(CR_5R_6)_m$-имидазолил$(Aa)_t$-, -(C $R_5R_6)_m$-морфолино-$(Aa)_t$-, -$(CR_5R_6)_m$-пиперазино-$(Aa)_t$-, -$(CR_5R_6)_m$-N-метилпиперазино-$(Aa)_t$-, -$K(CR_5R_6)_m(Aa)r(CR_7R_8)_n(OCH_2CH_2)_t$-, -$K(CR_5R_6)_m(CR_7R_8)_n(Aa)_r(OCH_2CH_2)_t$-, -$K(Aa)_r$-$(CR_5R_6)_m(CR_7R_8)_n(OCH_2CH_2)_t$-, -$K(CR_5R_6)_m(CR_7R_8)_n(OCH_2CH_2)_r(Aa)_t$-, -$K(CR_5R_6)_m$-$(CR_7{=}CR_8)(CR_9R_{10})_n(Aa)_t(OCH_2CH_2)_r$-, -$K(CR_5R_6)_m(NR_{11}CO)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$K(CR_5R_6)_m(Aa)_t(NR_{11}CO)(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$K(CR_5R_6)_m(OCO)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n$-$(OCH_2CH_2)_r$-, -$K(CR_5R_6)_m(OCNR_7)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$K(CR_5R_6)_m(CO)(Aa)_t$-$(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$K(CR_5R_6)_m(NR_{11}CO)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$K(CR_5R_6)_m$-$(OCO)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$K(CR_5R_6)_m(OCNR_7)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -K-$(CR_5R_6)_m(CO)(Aa)_t(CR_9R_{10})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$K(CR_5R_6)_m$-фенил-$CO(Aa)_t(CR_7R_8)_n$-, -K-$(CR_5R_6)_m$-фурил-$CO(Aa)_t$-$(CR_7R_8)_n$-, -$K(CR_5R_6)_m$-оксазолил-$CO(Aa)_t(CR_7R_8)_n$-, -$K(CR_5R_6)_m$-тиазолил-$CO(Aa)_t$-$(CR_7R_8)_n$-, -$K(CR_5R_6)_t$-тиенил-$CO(CR_7R_8)_n$-, -$K(CR_5R_6)_t$имидазолил-CO-$(CR_7R_8)_n$-, -$K(CR_5R_6)_t$морфолино-$CO(Aa)_t(CR_7R_8)_n$-, -$K(CR_5R_6)_t$пиперазино-$CO(Aa)_t$-$(CR_7R_8)_n$-, -$K(CR_5R_6)_t$-N-метилпиперазин$CO(Aa)_t(CR_7R_8)_n$-, -$K(CR_5R)_m(Aa)_t$фенил, -K-$(CR_5R_6)_m$-$(Aa)_t$фурил-, -$K(CR_5R_6)_m$-оксазолил$(Aa)_t$-, -$K(CR_5R_6)_m$-тиазолил$(Aa)_t$-, -$K(CR_5R_6)_m$-тиенил-$(Aa)_t$-, -$K(CR_5R_6)_m$-имидазолил$(Aa)_t$-, -$K(CR_5R_6)_m$-морфолино$(Aa)_t$-, -$K(CR_5R_6)_m$-пиперазино-$(Aa)_t$G,

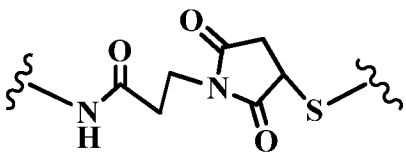
-$K(CR_5R_6)_m$N-метилпиперазино$(Aa)_t$-; где m, Aa, m и n описаны выше; t и r независимо равны 0 – 100; R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, и R_8 независимо выбраны из H; галогенида; C_1-C_8 алкила ; C_2~C_8 арила, алкенила, алкинила, простого эфира, сложного эфира, амина или амида, который необязательно замещен одним или несколькими галогенидами, CN, NR_1R_2, CF_3, OR_1, арилом, гетероциклом, $S(O)R_1$, SO_2R_1, $-CO_2H$, $-SO_3H$, $-OR_1$, $-CO_2R_1$, $-CONR_1$, $-PO_2R_1R_2$, $-PO_3H$ или $P(O)R_1R_2R_3$; K представляет собой NR_1, -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 C_3-C_8) или пептиды, содержащие 1-20 аминокислот;

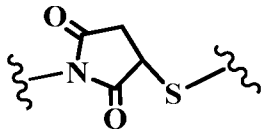
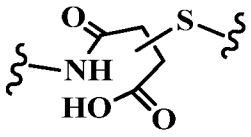
или R_1, R_2, R_3 и R_4 независимо представляют собой линейный алкил, содержащий от 1 до 18 атомов углерода, или полиэтиленокси-звено, имеющее формулу $(OCH_2CH_2)_p$, p = 1~5000, или пептид, содержащий 1~20 звеньев аминокислот (L или D форма) или комбинацию выше.

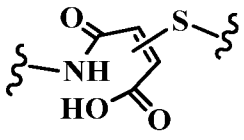
кроме того, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, Z_1 или Z_2могут независимо состоять из одного или нескольких следующих компонентов, как показано ниже:

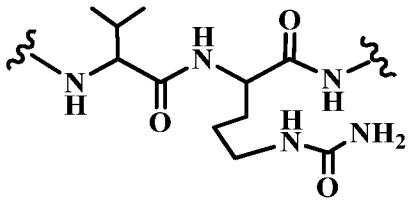
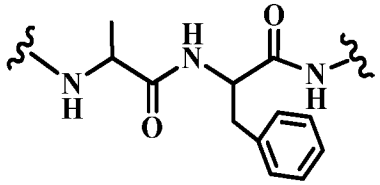


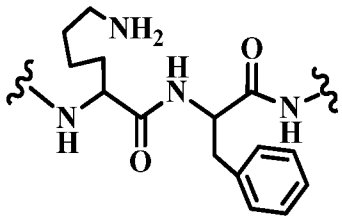
6-малеимидокапроила (MC),



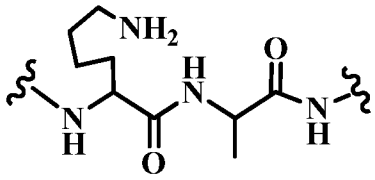
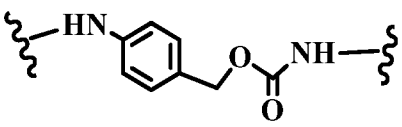
малеимидопропаноила (MP),  тиомалеидо, 

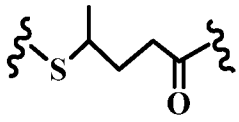
тиоаминооксобутановой кислоты,  тиоаминооксобутеновой кислоты,

 валин-цитруллина (val-cit), 

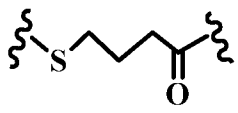
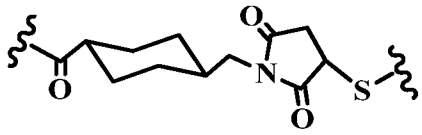


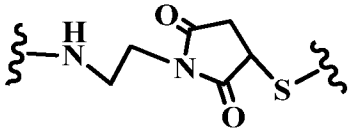
аланин-фенилаланина (ala-phe), лизин-фенилаланина (lys-phe) ,

 лизин-аланина (lys-ala),  пара-

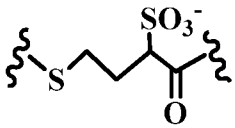


аминобензилоксикарбонила (PAB), 4-тиопентаноата (SPP),

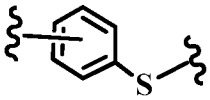
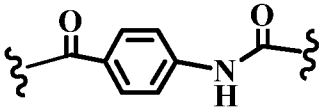
 4-тиобутирата (SPDB),  4-(N-

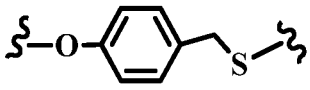
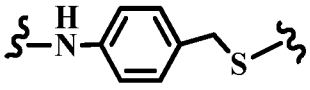


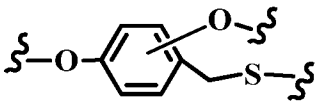
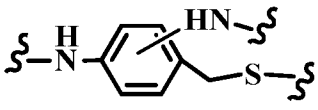
малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилата (MCC),

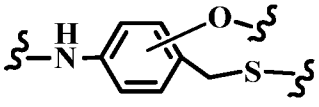
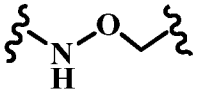


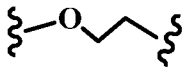
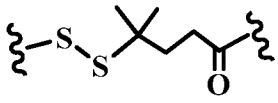
малеимидоэтила (ME), 4-тио-2-гидроксисульфонилбутирата (2-сульфо-

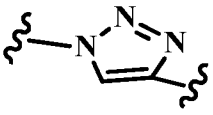
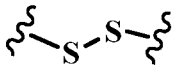
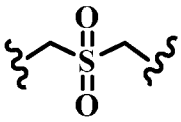
SPDB),  арилтиола (PySS),  (4-ацетил)аминобензоата

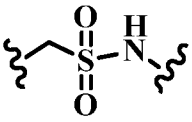
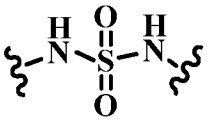
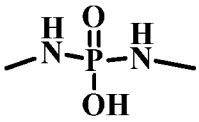
(SIAB),  оксилбензилтио,  аминобензилтио,

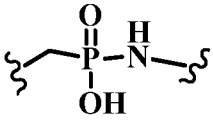
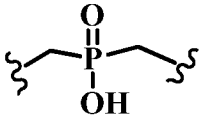
 диоксилбензилтио,  диаминобензилтио,

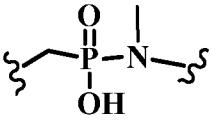
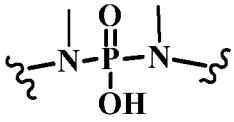
 аминооксилбензилтио,  алкоксиамино (AOA),

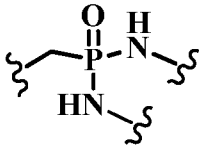
 этиленокси (EO),  4-метил-4-дитиопентаноила (MPDP),

 триазола,  дитио,  алкилсульфонила,

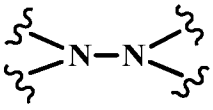
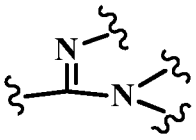
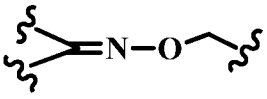
 алкилсульфонамида,  сульфон-бисамида, 

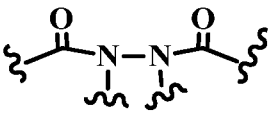
фосфондиамида,  алкилфосфонамида,  фосфиновой кислоты,

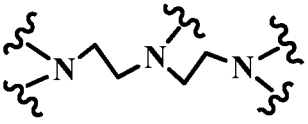
 N-метилфосфонамидной кислоты,  N,N’-



диметилфосфонамидной кислоты, N,N’-диметилфосфондиамида,

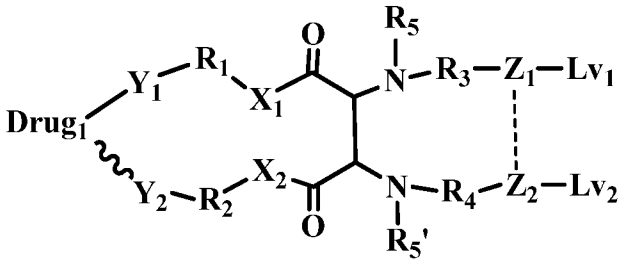
 гидразина,  ацетимидамида;  оксима,

 ацетилацетогидразида, аминоэтиламина,

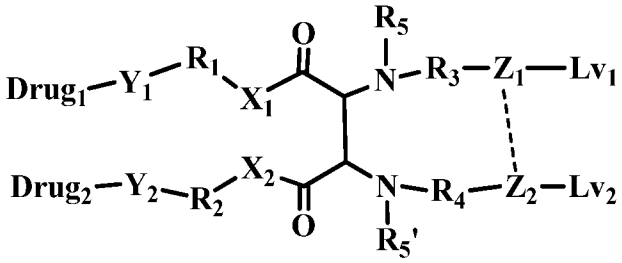
 аминоэтиламиноэтиламина и L- или D-, природных или неприродных пептидов, содержащих 1-20 аминокислот; где связующая связь между атомами означает, что она может соединять любые соседние углеродные связи; волнистая линия - место, с которым может быть связана другая связь;

В качестве альтернативы, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, Z_1 или Z_2 могут отсутствовать независимо, но Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, Z_1 и Z_2 не могут отсутствовать одновременно.

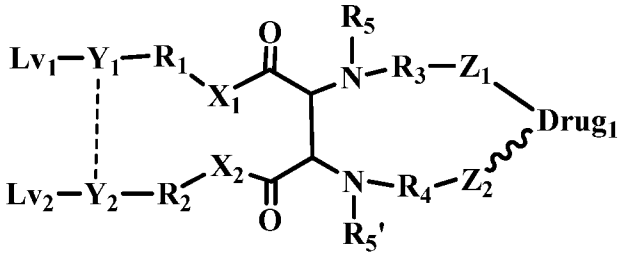
2. Соединения конъюгата Формулы (I), (II), (III) и (IV) по п. 1 получают из легко реакционноспособного бис-линкерного соединения Формулы (V), (VI), (VII) или (VIII), содержащего 2,3-диаминосукцинильную группу, указанную ниже, где два или более остатка связывающейся с клеткой молекулы могут одновременно или последовательно реагировать с соединением Формулы (V), (VI), (VII) или (VIII) соответственно:



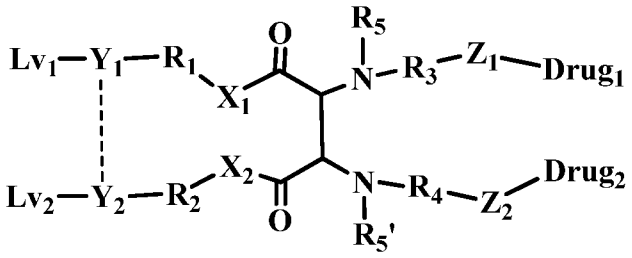
(V),



(VI),



(VII),



(VIII),

где

«-----» необязательно представляет собой или одинарную связь, или двойную связь, или тройную связь, или может необязательно отсутствовать; при условии, что когда ----- представляет собой тройную связь, Lv_1 и Lv_2 отсутствуют;

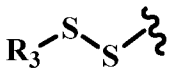
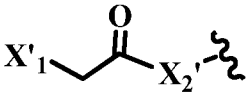
«——», «〰», Лекарственное средство$_1$, Лекарственное средство$_2$, n, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 , $R_{5'}$, Z_1, и Z_2 определены так же, как в Формуле (I)-(IV);

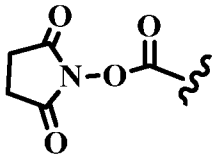
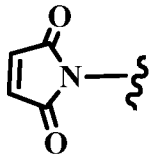
Lv_1 и Lv_2 представляют собой одинаковую или различную уходящую группу, которую могут приводить в контакт с тиольной, амино, карбоксильной, селенольной, фенольной или гидроксильной группой в молекуле, связывающейся с клеткой. Lv_1 и Lv_2 независимо

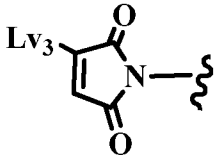
выбраны из OH; F; Cl; Br; I; нитрофенола; N-гидроксисукцинимида (NHS); фенола; динитрофенола; пентафторфенола; тетрафторфенола; дифторфенола; монофторфенола; пентахлорфенола; трифлата; имидазола; дихлорфенола; тетрахлорфенола; 1-гидроксибензотриазола; тозилата; мезилата; 2-этил-5-фенилизоксазолий-3'-сульфоната, простых и смешанных ангидридов, уксусного ангидрида или формил ангидрида; или молекулы интермедиата, полученной с использованием реагента конденсации для реакций пептидного сочетания или для реакций Мицунобу, выбранных из: EDC (N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимид), DCC (дициклогексилкарбодиимид), N, N'-диизопропилкарбодиимид (DIC), N-циклогексил-N'-(2-морфолино-этил)карбодиимид мезо п-толуолсульфонат (CMC или CME-CDI), 1,1'-карбонилдиимидазол (CDI), TBTU (O-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония тетрафторборат), N,N,N',N'-тетраметил-O-(1H-бензотриазол-1-ил)урония гексафторфосфат (HBTU), (бензотриазол-1-илокси)трис(диметиламино)фосфонийгексафторфосфат(BOP), (бензотриазол-1-илокси)трипирролидинофосфонийгексафторфосфат (PyBOP), диэтилцианофосфонат (DEPC), хлор-N,N,N',N'-тетраметилформамидинийгексафторфосфат, 1-[бис(диметиламино)метилен]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридиния-3-оксид гексафторфосфат (HATU), 1-[(диметиламино)(морфолино)метилен]-1H-[1,2,3]триазоло[4,5-b]пиридин-1-ий 3-оксид гексафторфосфат (HDMA), 2-хлор-1,3-диметилимидазолидиния гексафторфосфат (CIP), хлортрипирролидинофосфония гексафторфосфат (PyCloP), фтор-N,N,N',N'-бис(тетраметилен)формамидиния гексафторфосфат (BTFFH), N,N,N',N'-тетраметил-S-(1-оксидо-2-пиридил)тиурония гексафторфосфат, O-(2-оксо-1(2H)пиридил)-N,N,N',N'-тетраметилуроний тетрафторборат (TPTU), S-(1-оксидо-2-пиридил)-N,N,N',N'-тетраметилтиуроний тетрафторборат, O-[(этоксикарбонил)-цианометиленамино]-N,N,N',N'-тетраметилуронийгексафторфосфат (HOTU), (1-циано-2-этокси-2-оксоэтилиденаминокси)диметиламиноморфолинокарбений гексафторфосфат (COMU), O-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-бис(тетраметилен)уроний гексафторфосфат (HBPyU), N-бензил-N'-циклогексилкарбодиимид (связанный или нет с полимером), дипирролидино (N-сукцинимидилокси)карбений гексафторфосфат (HSPyU), хлордипирролидинокарбения гексафторфосфат (PyClU), 2-хлор-1,3-диметилимидазолидин тетрафторбират (CIB), (бензотриазол-1-илокси)дипиперидинокарбений гексафторфосфат (HBPipU), O-(6-хлорбензотриазол-1-ил)-N,N,N′,N′-тетраметилуроний тетрафторборат (TCTU), бромтрис(диметиламино)фосфоний гексафторфосфат (BroP) пропилфосфоновый ангидрид PPACA, T3P®) , 2-морфолиноэтилизоцианид (MEI), N,N,N′,N′-тетраметил-O-(N-сукцинимидил)уроний гексафторфосфат (HSTU), 2-бром-1-этилпиридиний тетрафторборат (BEP) , O-[(этоксикарбонил)цианометиленамино]-N,N,N′,N′-

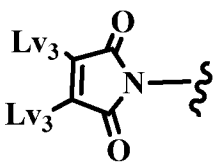
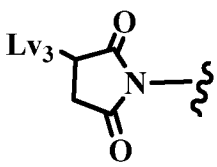
тетраметилуроний тетрафторборат (TOTU), 4-(4,6-диметокси-1,3,5-триазин-2-ил)-4-метилморфолинийхлорид (MMTM, DMTMM), N,N,N′,N′-тетраметил-O-(N-сукцинимидил)уроний тетрафторборат (TSTU), O-(3,4-дигидро-4-оксо-1,2,3-бензотриазин-3-ил)-N,N,N′,N′-тетраметилуроний тетрафторборат (TDBTU), 1,1'-(азодикарбонил)дипиперидин (ADD), ди-(4-хлорбензил)азодикарбоксилат (DCAD), ди-трет-бутилазодикарбоксилат (DBAD), диизопропилазодикарбоксилат (DIAD), диэтилазодикарбоксилат (DEAD). Кроме того, Lv_1 и Lv_2 могут быть простым или смешанным ангидридом, кислот C_1~C_8;

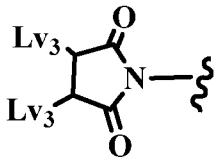
или Lv_1 и Lv_2 могут быть независимо выбранными из галогенида (фторида, хлорида, бромида и йодида), метансульфонила (мезила), толуолсульфонила (тозила), трифторметилсульфонила (трифлата), трифторметилсульфоната, нитрофеноксила, N-сукцинимидилгидроксила (NHS) феноксила; динитрофеноксила; пентафторфеноксила, тетрафторфеноксила, трифторфеноксила, дифторфеноксила, монофторфеноксила, пентахлорфеноксила, 1H-имидазол-1-ила, хлорфеноксила, дихлорфеноксила, трихлорфеноксила, тетрахлорфеноксила, N-(бензотриазол-ил)оксила, 2-этил-5-фенилизоксазолий-3'-сульфонила, фенилоксадиазолсульфонила (-сульфон-ODA), 2-этил-5-фенилизоксазолий-ила, фенилоксадиазолила (ODA), оксадиазолила, ненасыщенного атома углерода (двойная или тройная связь между атомами углерод-углерод, углерод-азот, углерод-сера, углерод-фосфор, сера-азот, фосфор-азот, кислород-азот или углерод-кислород) или одной из следующих структур:

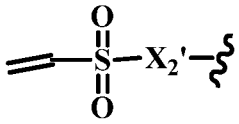
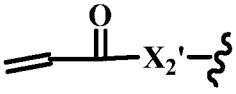

дисульфид;

галогенацетил; ацилгалогенид (галогенангидрид);

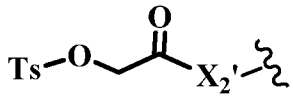
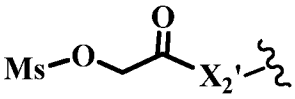

сложный эфир *N*-гидроксисукцинимида;

малеимид;

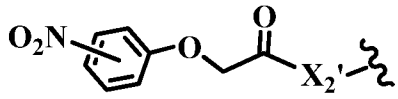
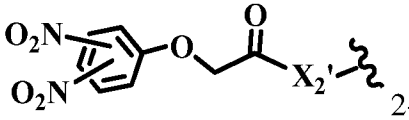
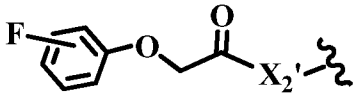


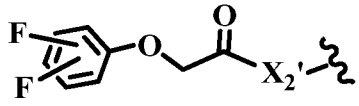
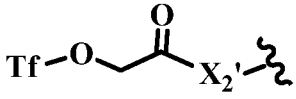
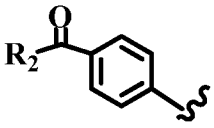

монозамещенный малеимид;
дизамещенный малеимид;


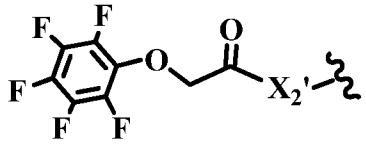
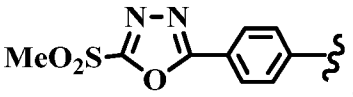
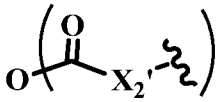
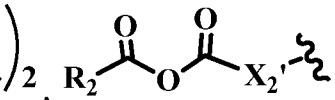
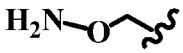
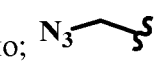
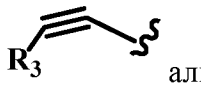
монозамещенный сукцинимид;  дизамещенный сукцинимид; -CHO альдегид;

 этенсульфонил;  акрил (акрилоил);

 2-(тозилокси)ацетил;  2-(мезилокси)ацетил;

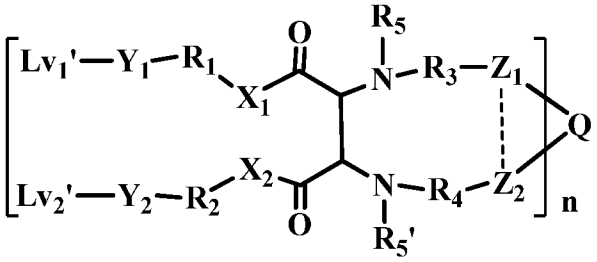
 2-(нитрофенокси)ацетил;  2-(динитрофенокси)ацетил;  2-(фторфенокси)ацетил;

 2-(дифторфенокси)ацетил;  2-(((трифторметил)сульфонил)окси)ацетил;  кетон или альдегид,

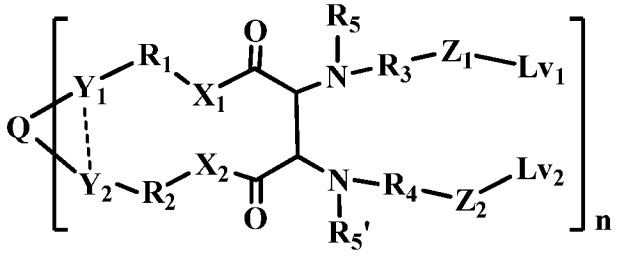
 2-(пентафторфенокси)ацетил;  , метилсульфонфенилоксадиазол (ODA);  ,  ангидрид кислоты,  алкилоксиамино;  азидо,  алкинил или гидразид, где X_1' представляет собой F, Cl, Br, I или Lv_3; X_2' представляет собой O, NH, N(R_1), или CH_2; R_3 независимо представляет собой H, ароматическую, гетероароматическую 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 F, Cl, Br, I, нитрофенола; N-гидроксисукцинимида (NHS); фенола; динитрофенола; пентафторфенола, тетрафторфенола, дифторфенола, монофторфенола, пентахлорфенола, трифлата;

имидазола; дихлорфенола, тетрахлорфенола, 1-гидроксибензотриазола; тозилата; мезилата; 2-этил-5-фенилизоксазолий-3′-сульфоната, R_1 и R_2 определены выше.

3. Соединения конъюгата Формулы (I), (II), (III) и (IV) по п. 1 получают из легко реагирующего бис-линкерного соединения Формул (IX) и (X), содержащего 2,3-диаминосукцинильную группу, представленную ниже, в которой две или более функциональные группы цитотоксической молекулы могут одновременно или последовательно реагировать с соединением Формулы (IX) и (X):



(IX),



(X),

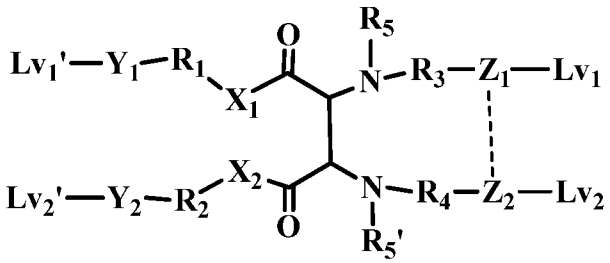
где

«——», «〰», Q, n, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 , R_5', Z_1 и Z_2 определены так же, как в п. 1;

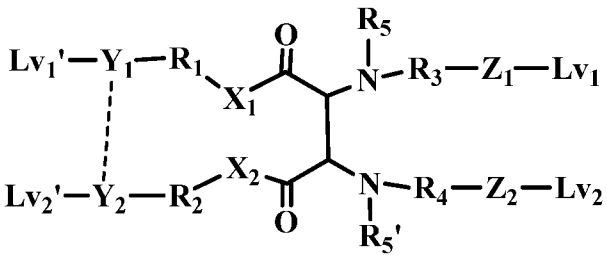
Lv_1, Lv_2, Lv_1' и Lv_2' представляют собой функциональную группу, которая может независимо реагировать с группами остатков цитотоксического лекарственного средства одновременно или последовательно с образованием соединения Формулы (I), (II), (III) и (IV) соответственно;

Lv_1' или Lv_2' определены так же, как Lv_1 или Lv_2 в п. 2.

4. Соединение-конъюгат Формулы (I), (II), (III) и (IV) по п. 1 получают из легко реакционноспособной бис-линкерной молекулы Формулы (XI) и (XII) ниже, где цитотоксическая молекула и связывающаяся с клеткой молекула может реагировать с соединением формулы (XI) и (XII) независимо, одновременно или последовательно:



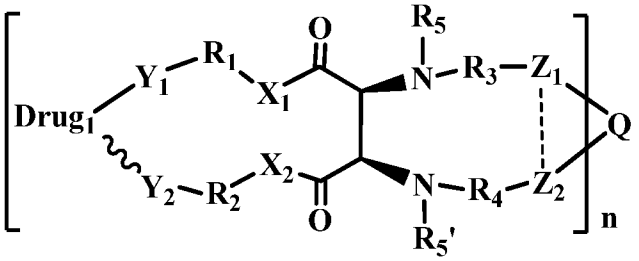
(XI),



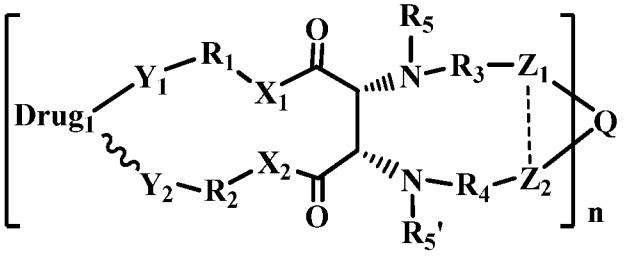
(XII),

где «——»,X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 , $R_{5'}$, Z_1, и Z_2 определены так же, как в п. 1; и «-----», Lv_1, Lv_2, Lv_1' и Lv_2' определены так же, как Lv_1 и Lv_2 в п. 2.

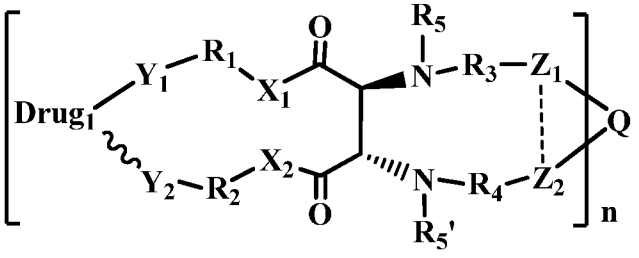
5. Конъюгат соединения формулы (I), (II), (III) и (IV) по п. **1**, имеющий структуру, представленную формулой (Ia), (Ib), (Ic), (IIa), (IIb), (IIc), (IIIa), (IIIb), (IIIc), (IVa), (IVb) и (IVc) ниже:



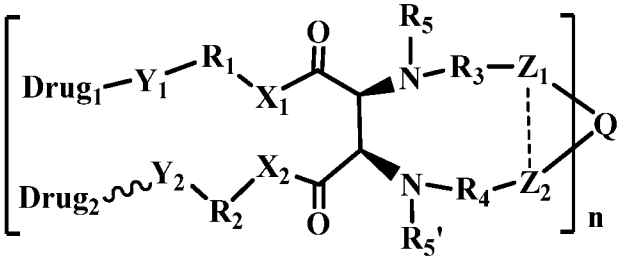
(Ia),



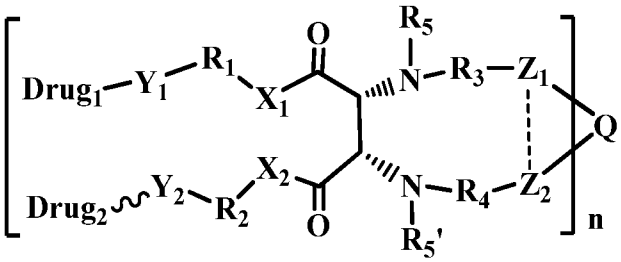
(Ib),



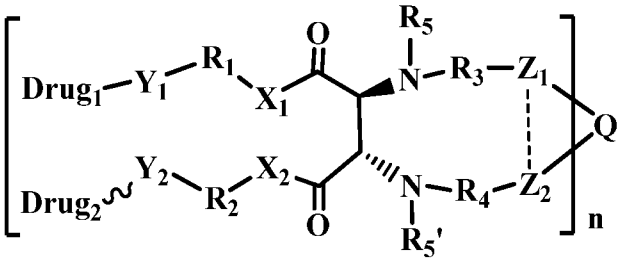
(Ic),



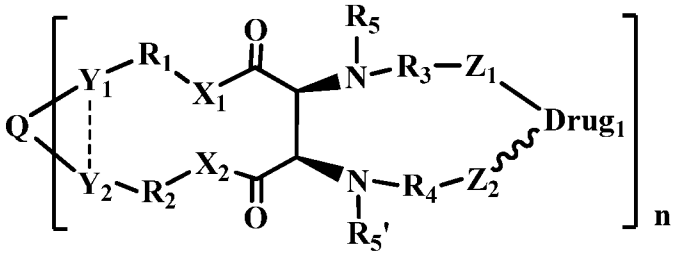
(IIa),



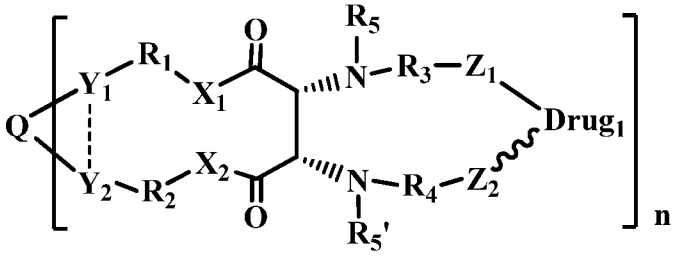
(IIb),



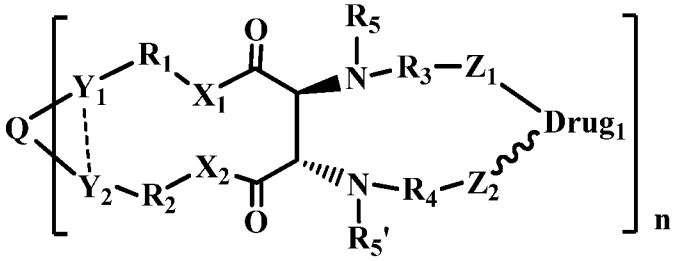
(IIc),



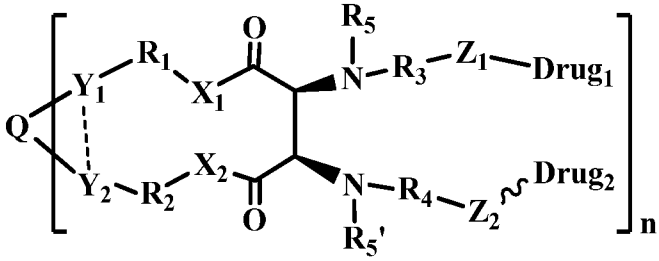
(IIIa),



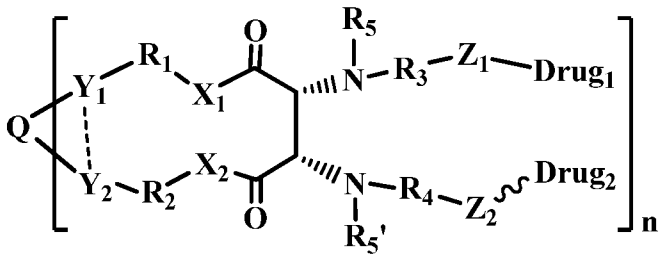
(IIIb),



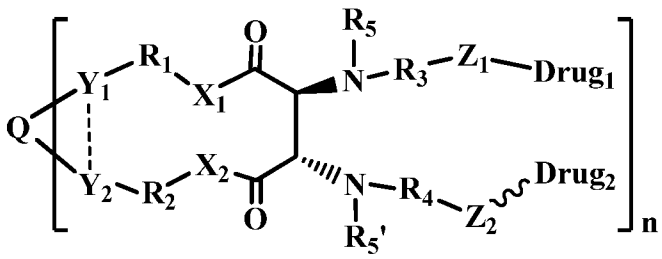
(IIIc),



(IVa),



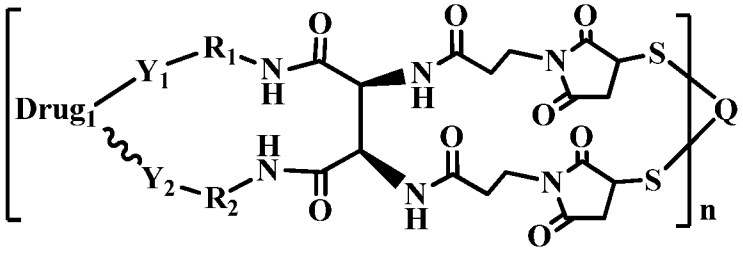
(IVb),



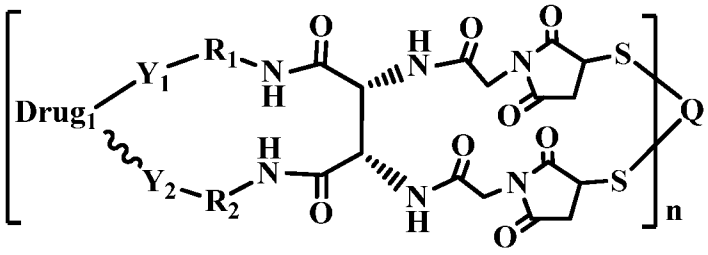
(IVc),

где «-----», Q, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, $R_{5'}$, Z_1, Z_2, Лекарственное средство$_1$ и Лекарственное средство$_2$ определены так же как в п. 1.

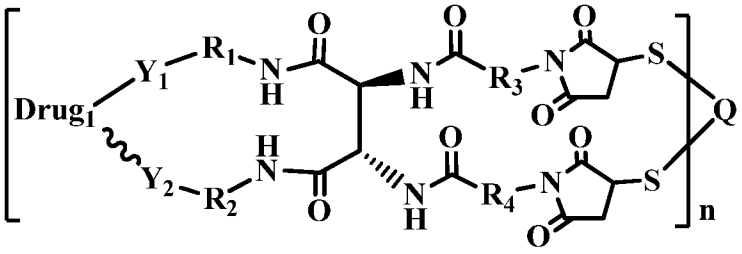
6. Конъюгат соединения формулы (I), (II), (III) или (IV) по п. **1** , дополнительно представленный формулой (I-01), (I-02), (I-03), (I-04), (I-05), (I-06), (I-07), (I-08), (I-09), (I-10), (I-11), (I-12), (I-13), (I-14), (I-15), (I-16), (I-17), (I-18), (I-19), (I-20), (I-21), (I-22), (I-23), (II-01), (II-02), (II-03), (II-04), (II-05), (II-06), (II-07), (II-08), (II-09), (II-10), (II-11), (II-12), (II-13), (II-14), (II-15), (II-16), (II-17), (II-18), (III-01), (III-02), (III-03), (III-04), (III-05), (III-06), (III-07), (III-08), (III-09), (III-10), (III-11), (III-12), (III-13), (III-14), (III-15), (III-16), (III-17), (III-18), (III-19), (III-20), (IV-01), (IV-02), (IV-03), (IV-04), (IV-05), (IV-06), (IV-07), (IV-08), (IV-09), (IV-10), (IV-11), (IV-12), (IV-13), (IV-14), (IV-15), (IV-16), (IV-17), (IV-18), (IV-19) и (IV-20) ниже:



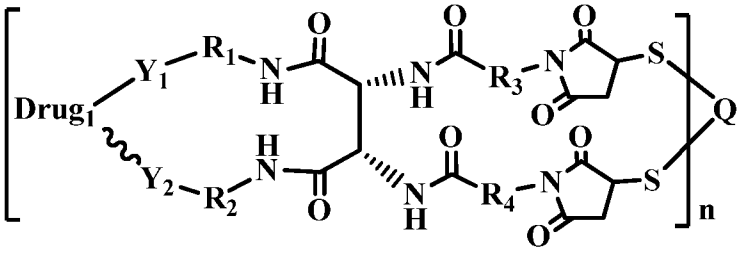
(I-01),



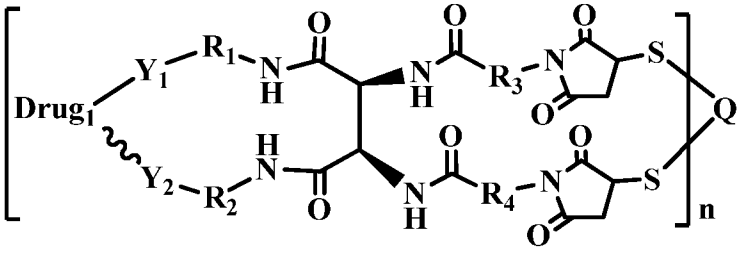
(I-02),



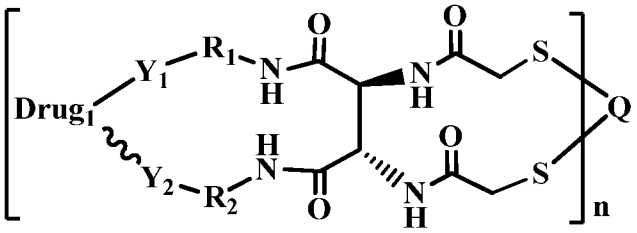
(I-03),



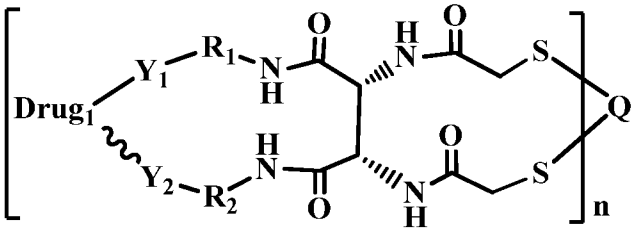
(I-04),



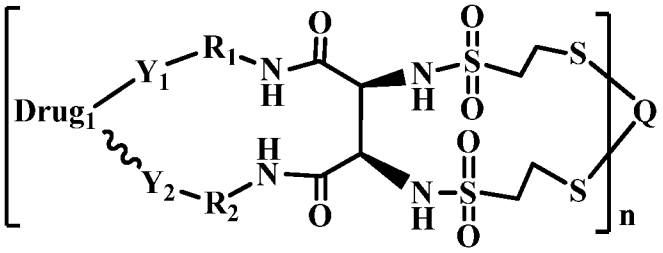
(I-05),



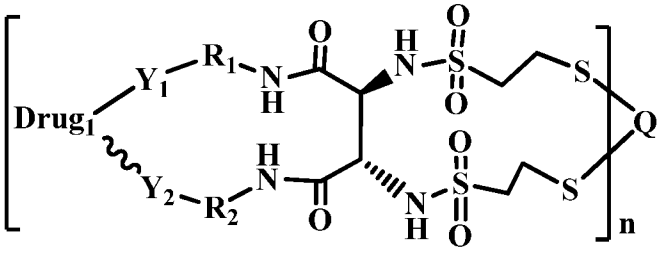
(I-06),



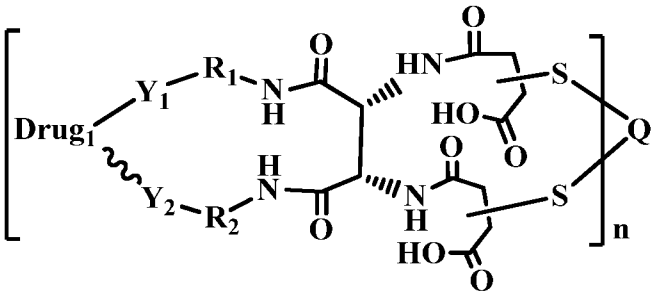
(I-07),



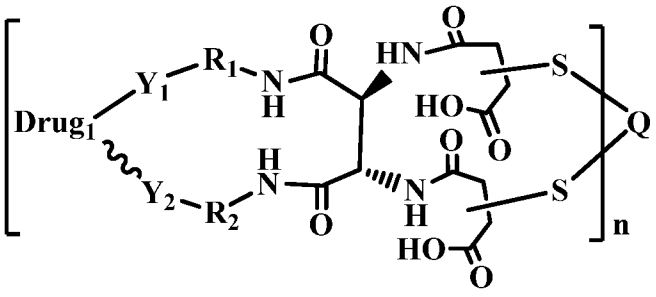
(I-08),



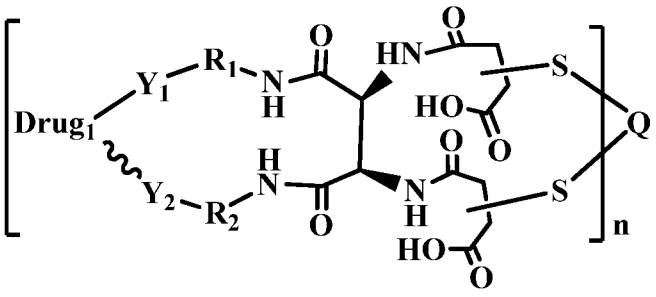
(I-09),



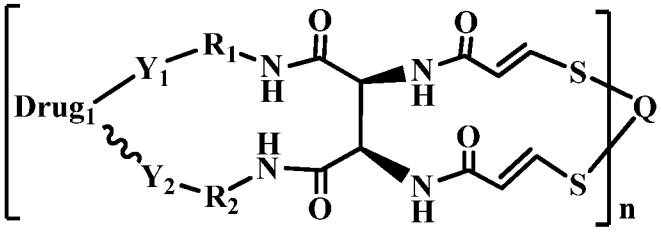
(I-10),



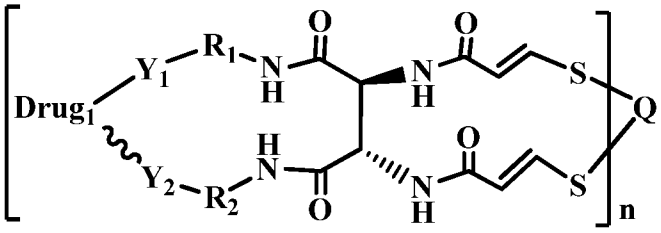
(I-11),



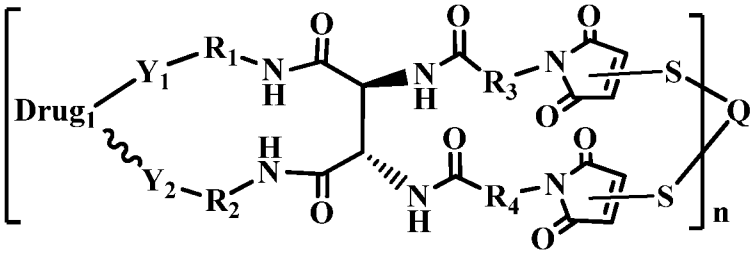
(I-12),



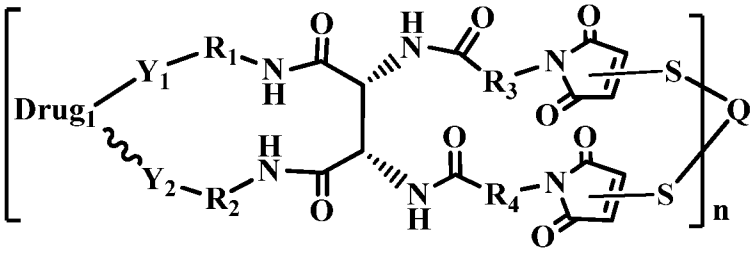
(I-13),



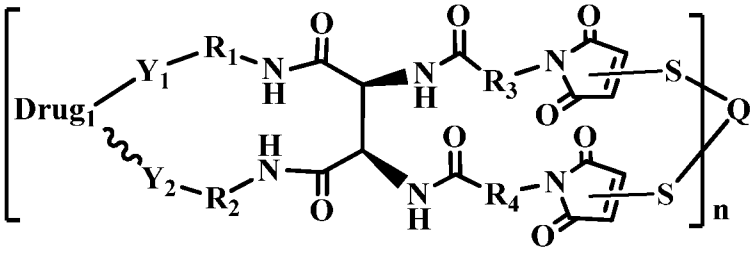
(I-14),



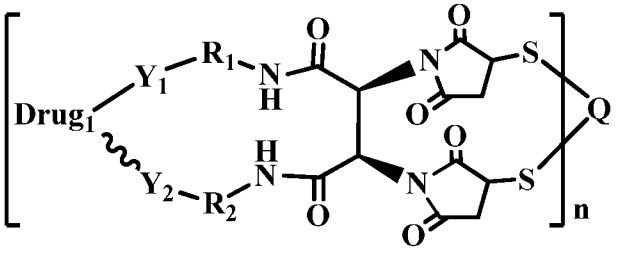
(I-15),



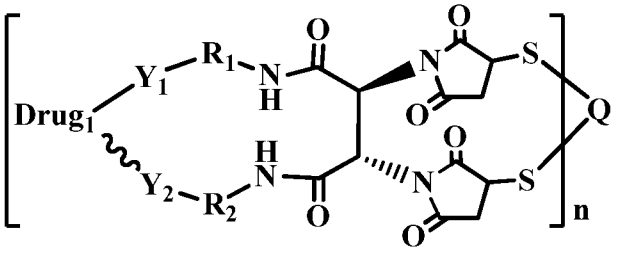
(I-16),



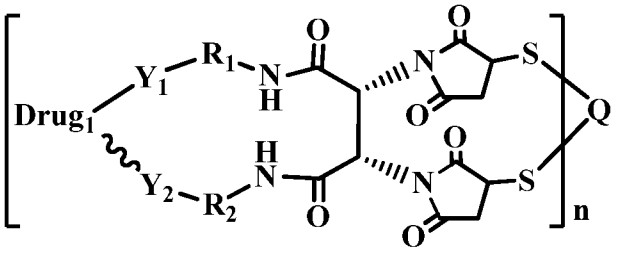
(I-17)



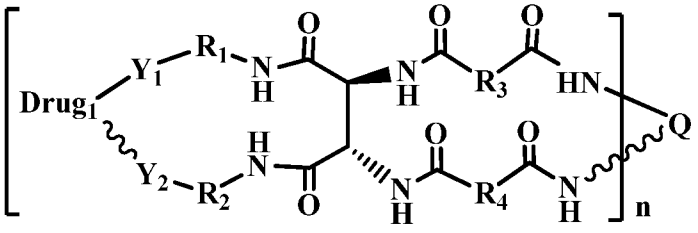
(I-18),



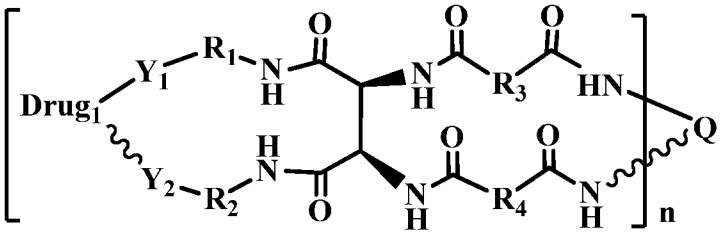
(I-19),



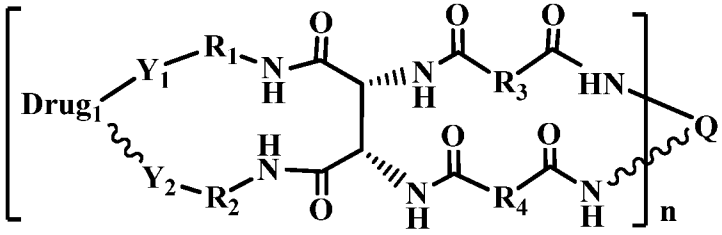
(I-20),



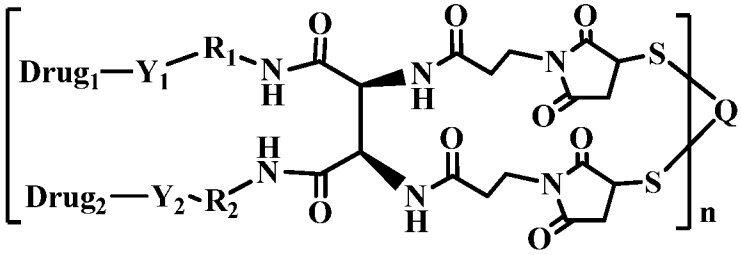
(I-21),



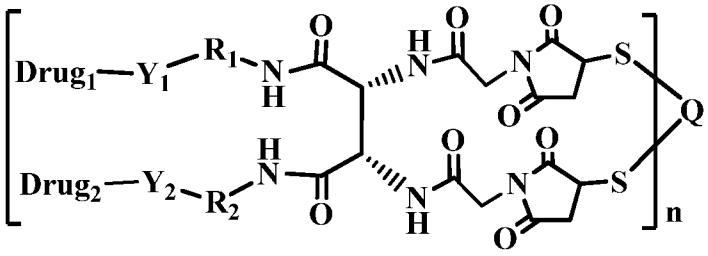
(I-22),



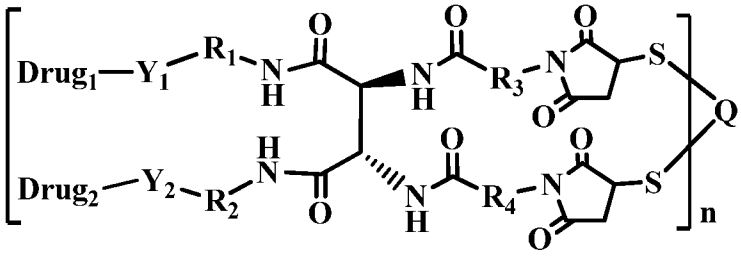
(I-23),



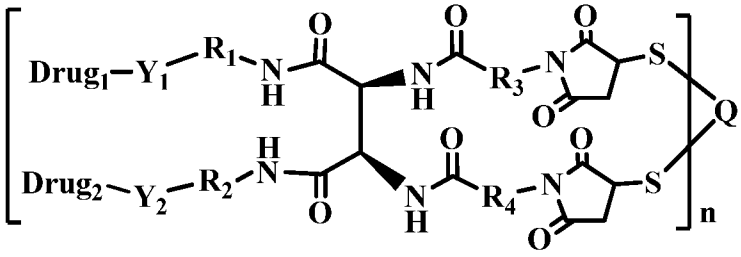
(II-01),



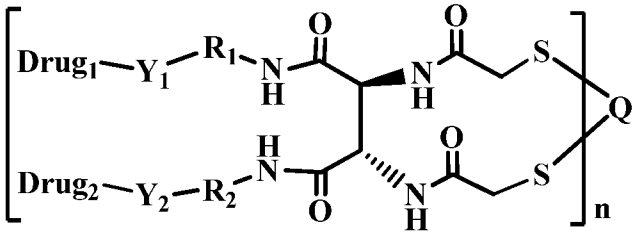
(II-02),



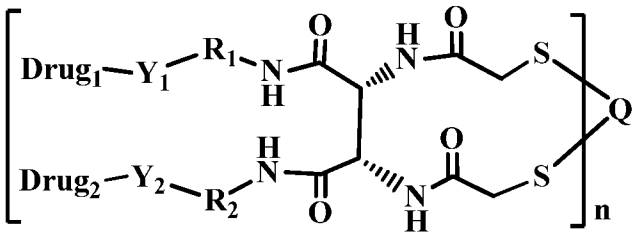
(II-03),



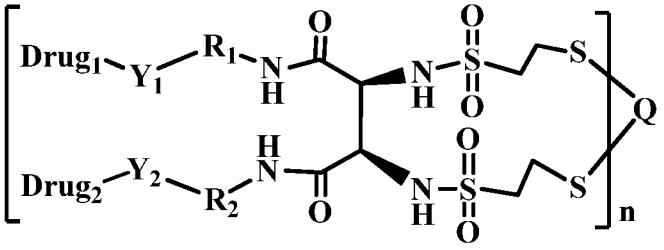
(II-04),



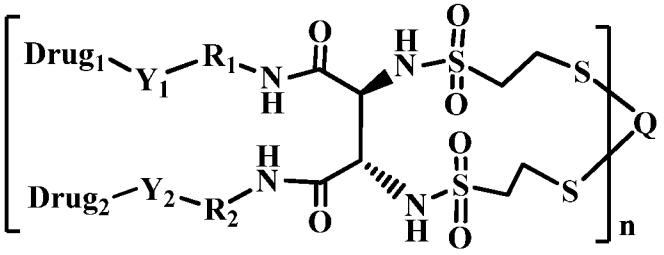
(II-05),



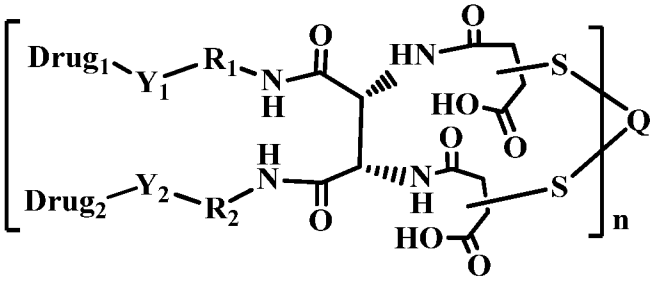
(II-06),



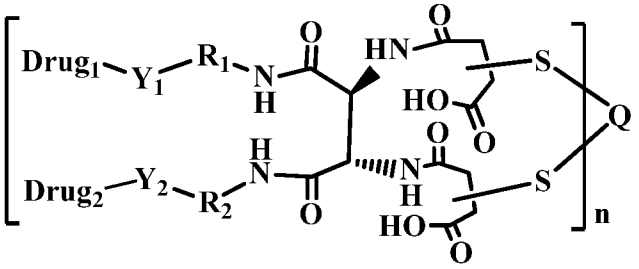
(II-07),



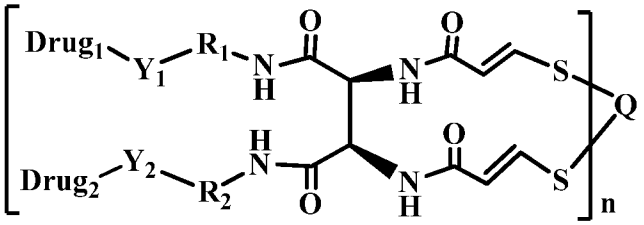
(II-08),



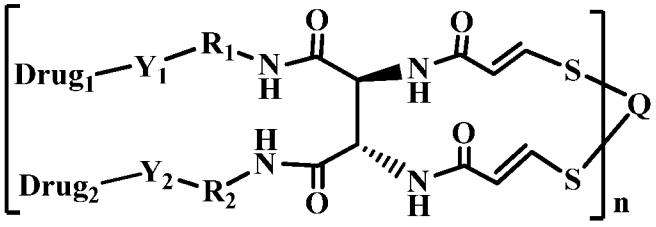
(II-09),



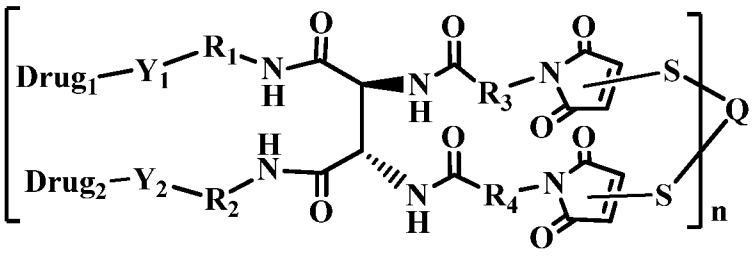
(II-10),



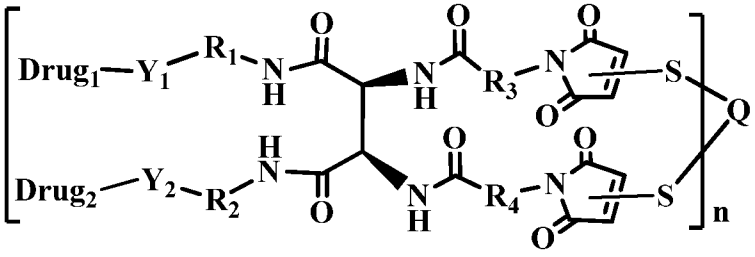
(II-11),



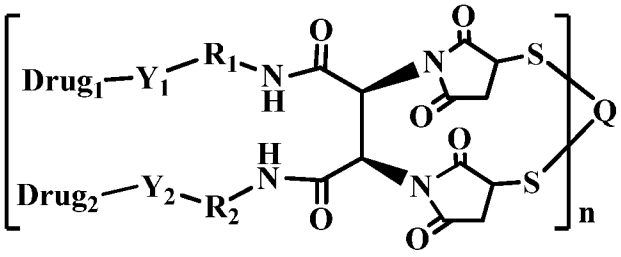
(II-12),



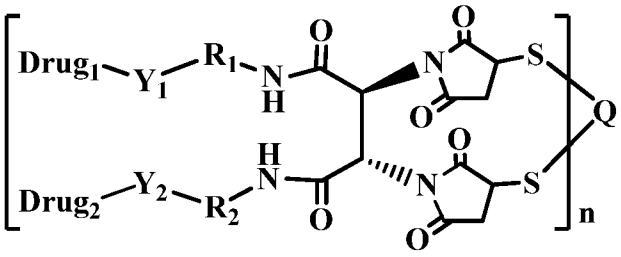
(II-13),



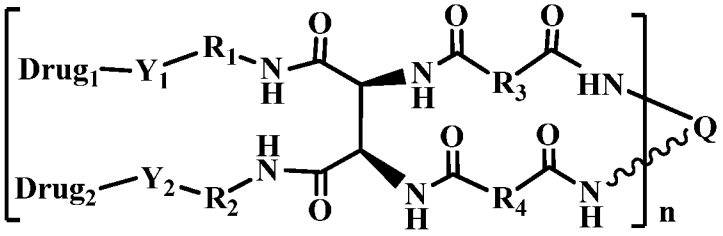
(II-14)



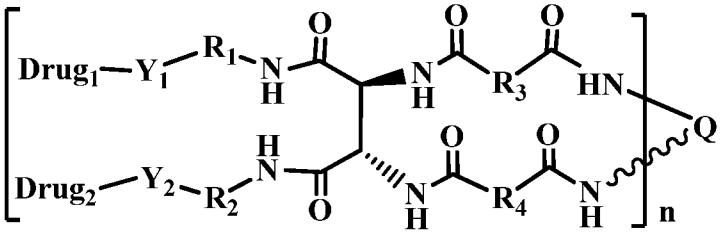
(II-15),



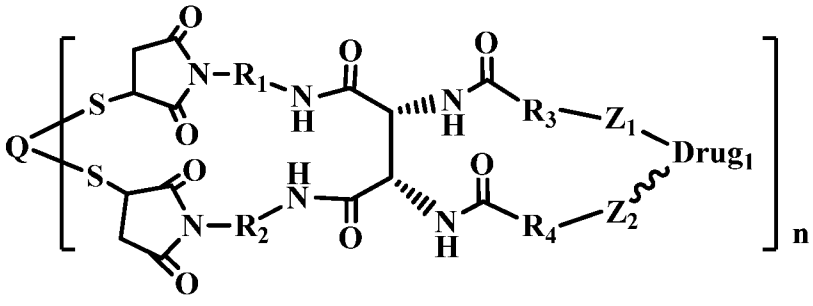
(II-16),



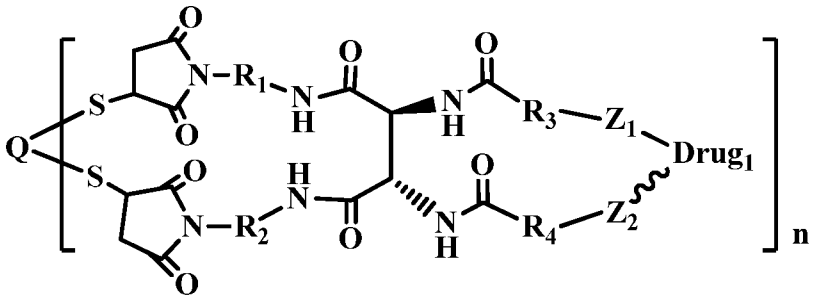
(II-17),



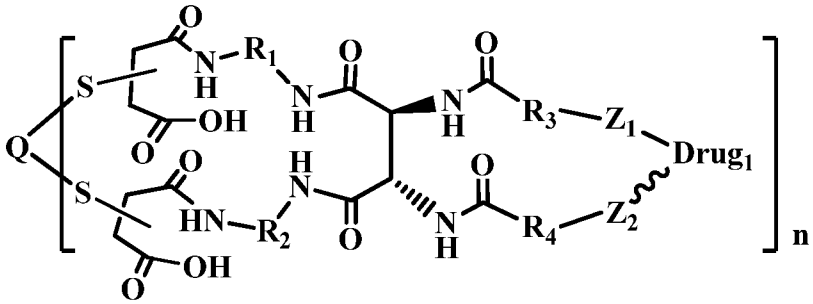
(II-18),



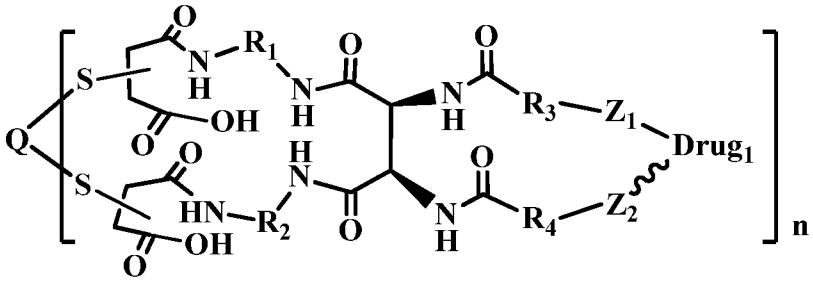
(III-01),



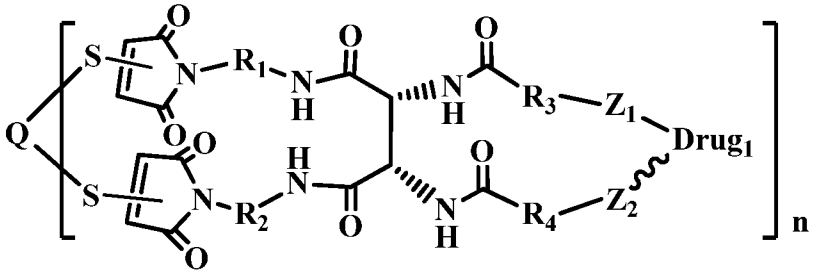
(III-02),



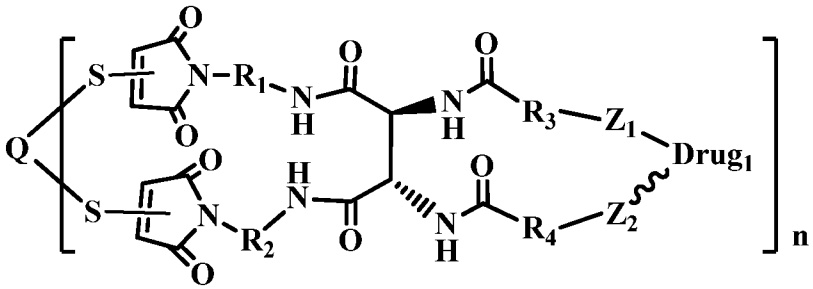
(III-03),



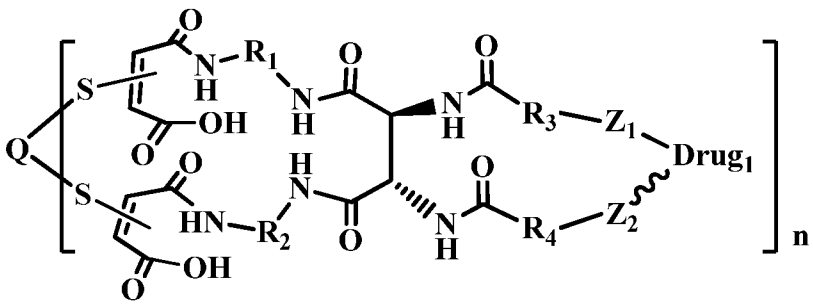
(III-04),



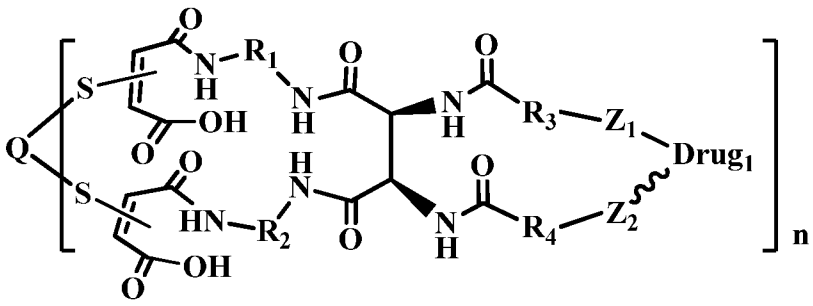
(III-05),



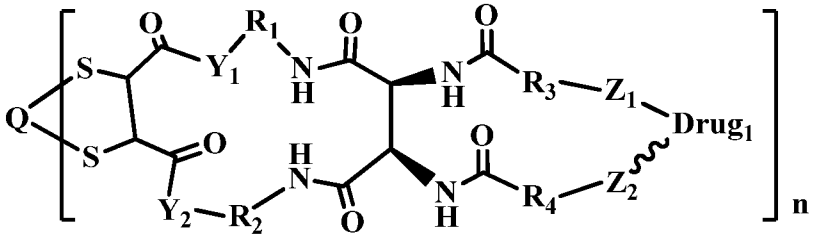
(III-06),



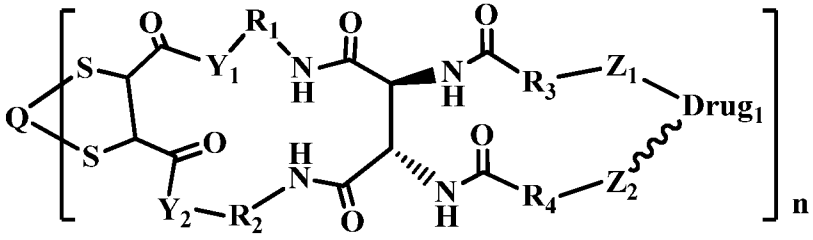
(III-07),



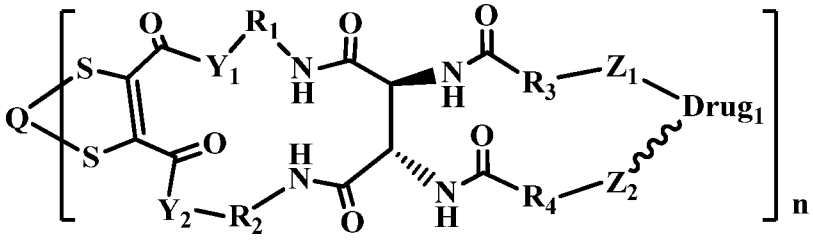
(III-08),



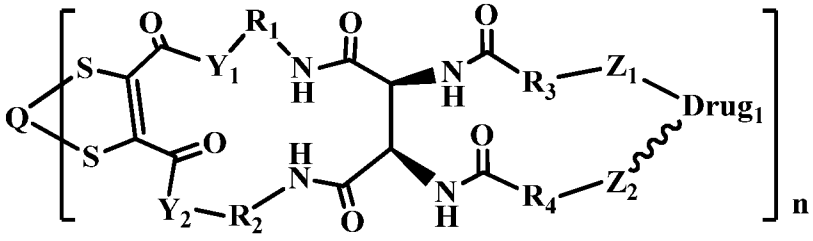
(III-09),



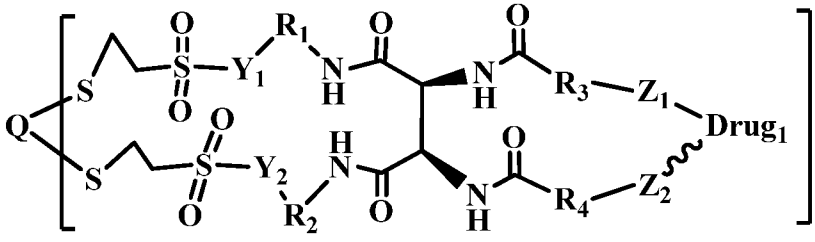
(III-10),



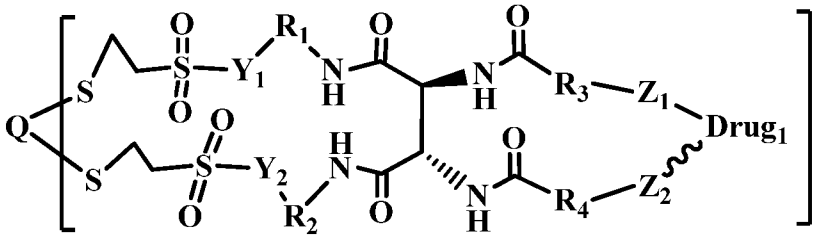
(III-11),



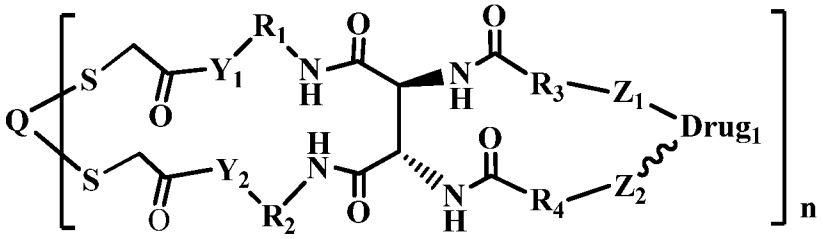
(III-12),



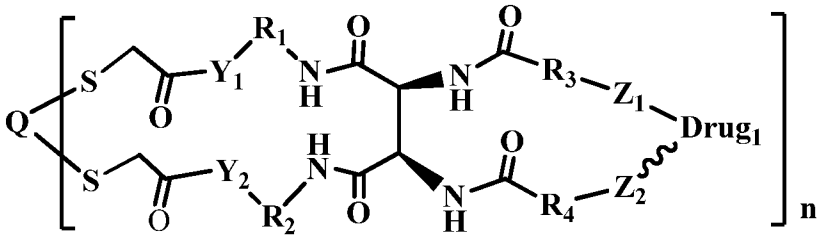
(III-13),



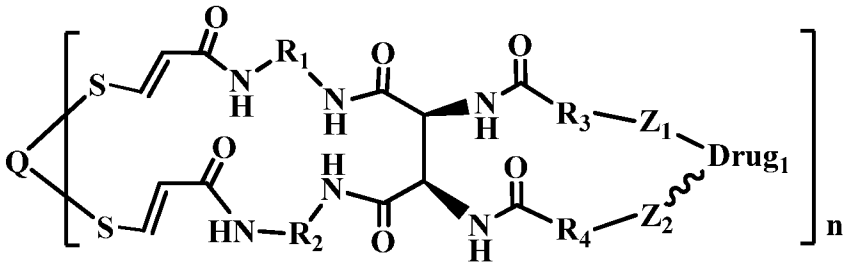
(III-14),



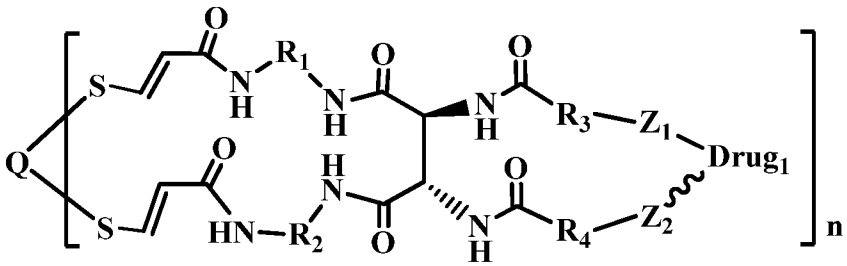
(III-15),



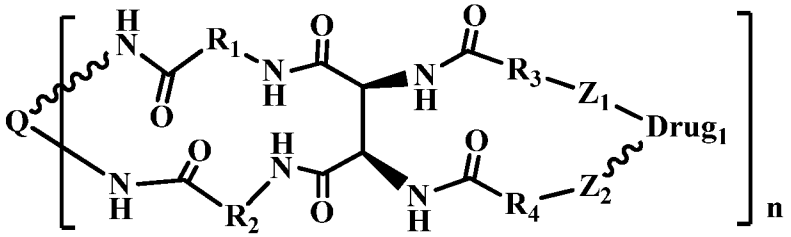
(III-16),



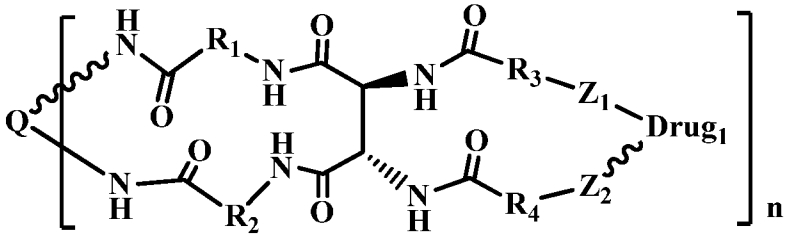
(III-17),



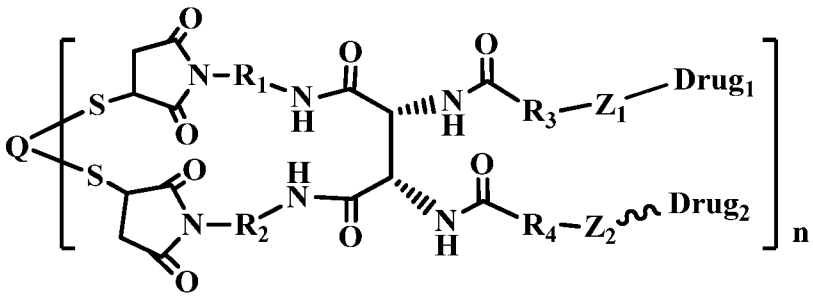
(III-18),



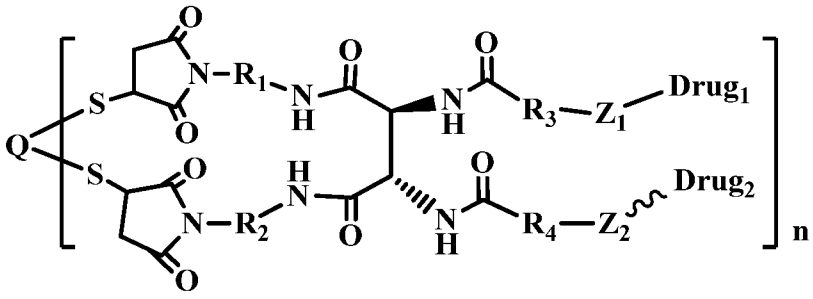
(III-19),



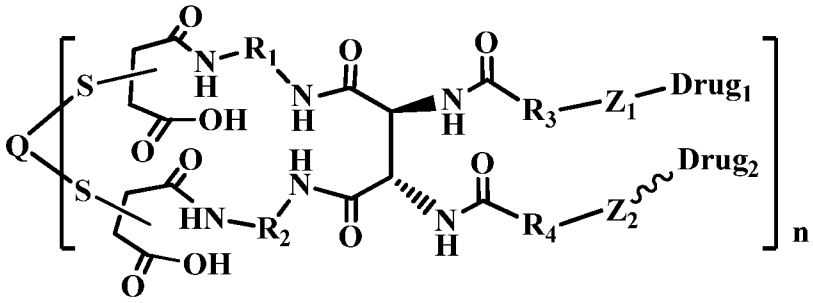
(III-20),



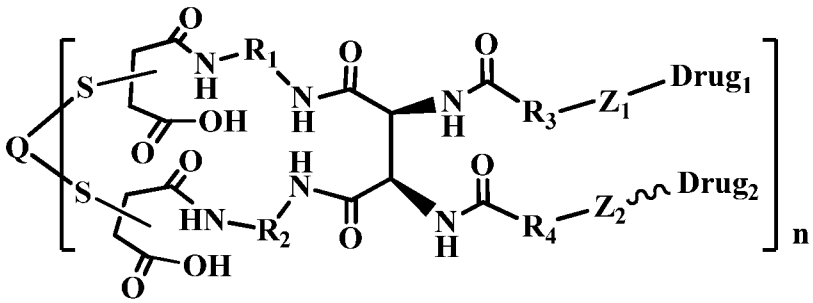
(IV-01),



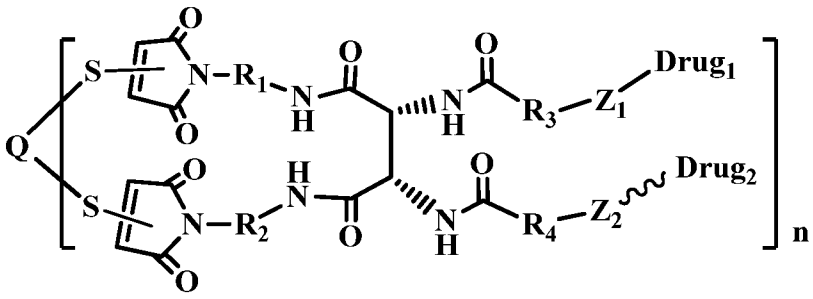
(IV-02),



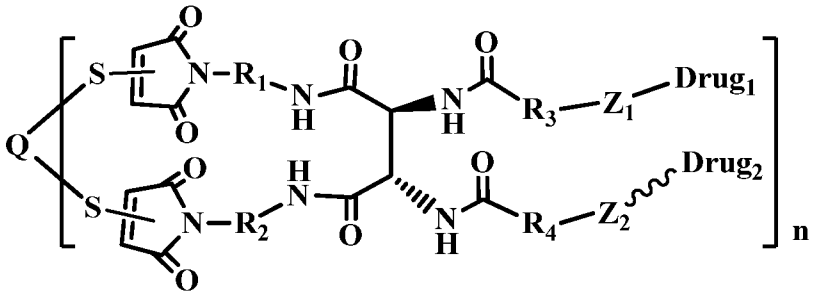
(IV-03),



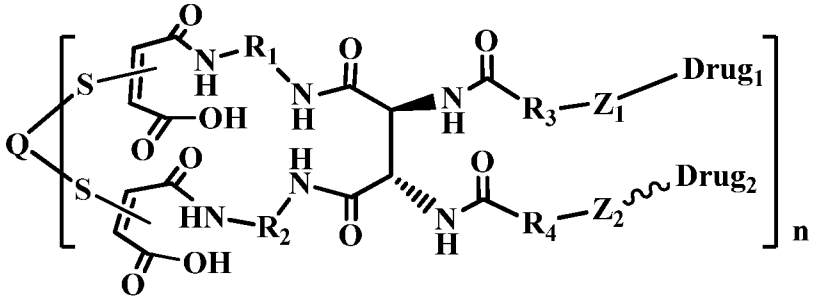
(IV-04),



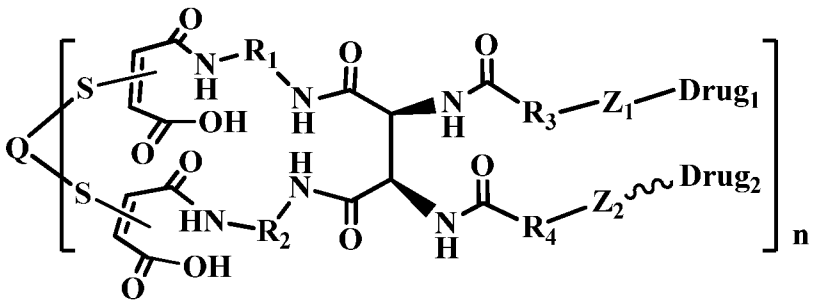
(IV-05),



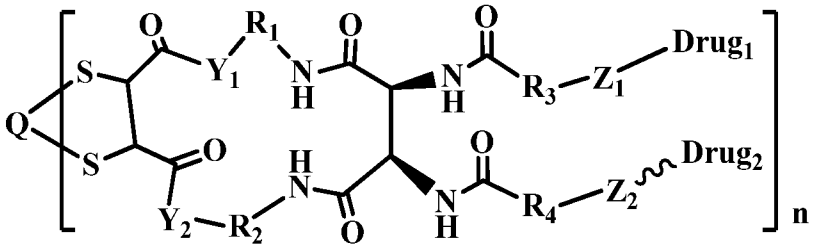
(IV-06),



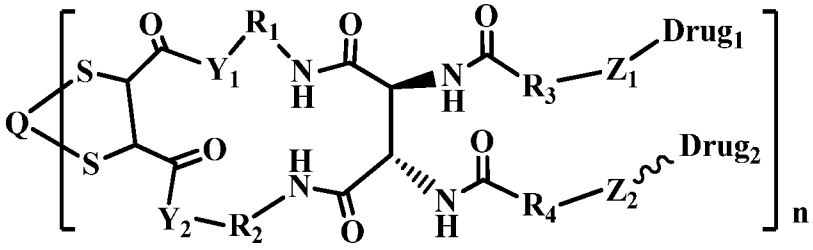
(IV-07),



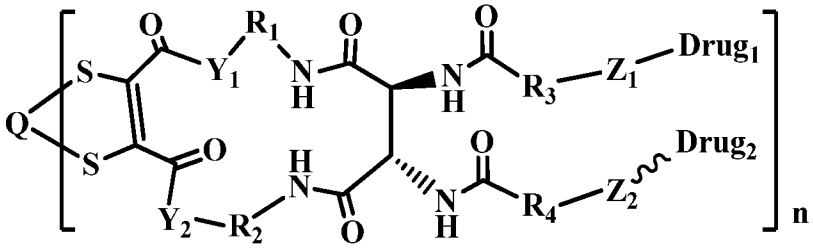
(IV-08),



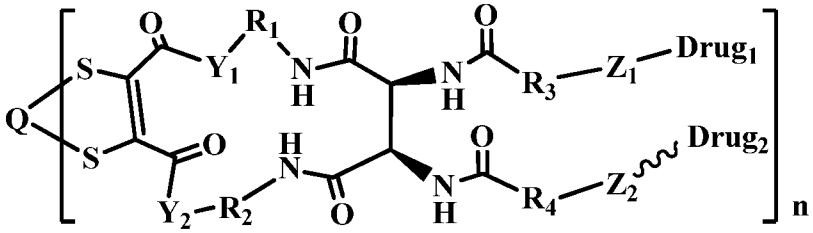
(IV-09),



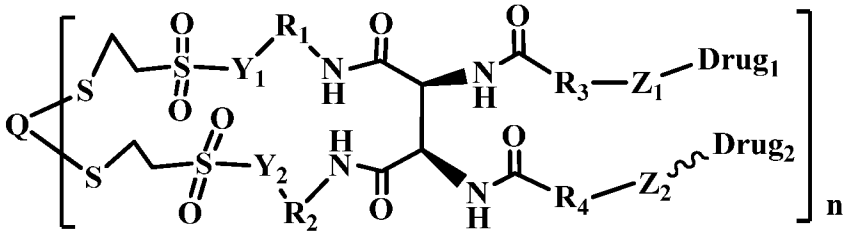
(IV-10),



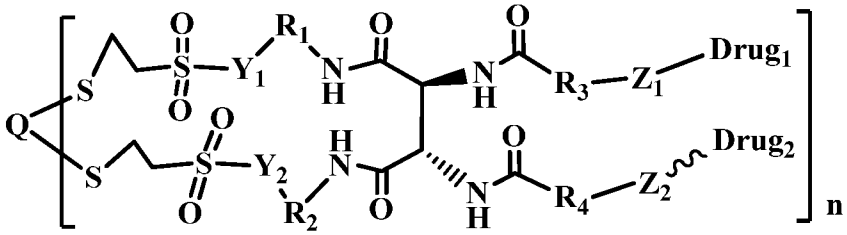
(IV-11),



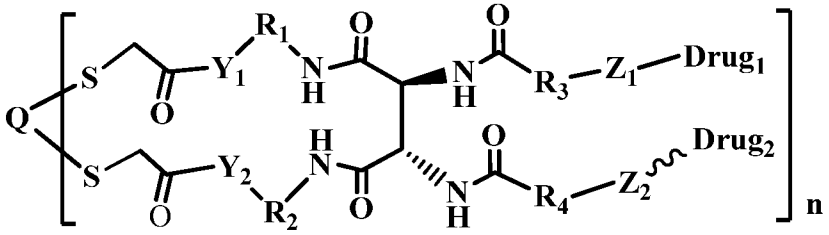
(IV-12),



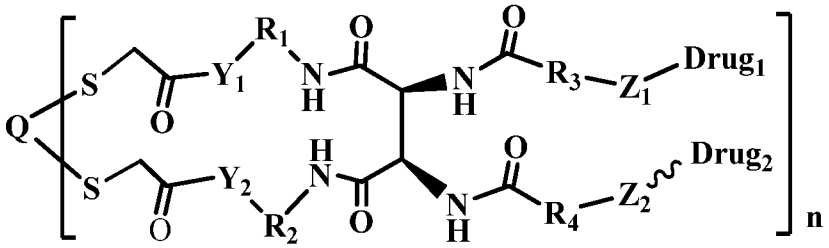
(IV-13),



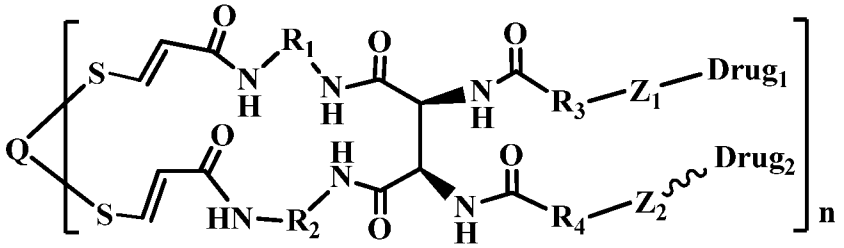
(IV-14),



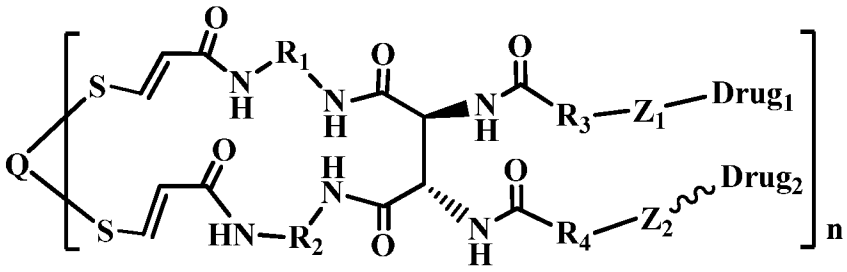
(IV-15),



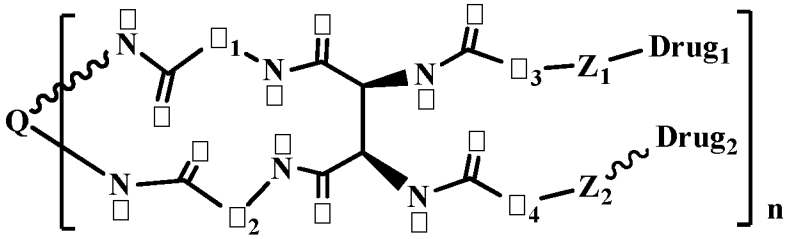
(IV-16),



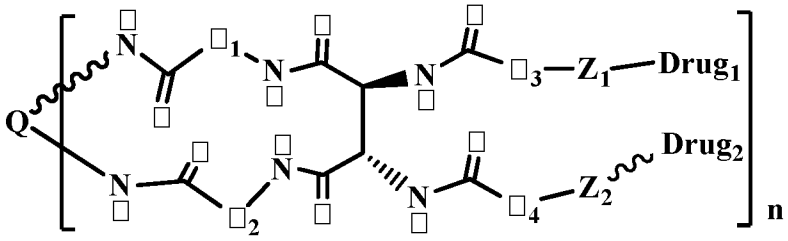
(IV-17),



(IV-18),



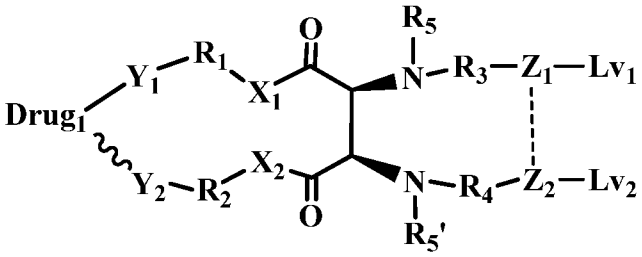
(IV-19),



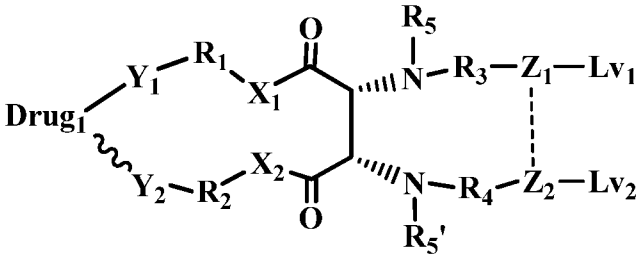
(IV-20),

где «-----», «〰», Q, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, $R_{5'}$, Z_1, Z_2, Лекарственное средство$_1$ и Лекарственное средство$_2$ определены так же, как в п. 1. Кроме того, одно из Лекарственного средства$_1$ и Лекарственного средства$_2$ может отсутствовать независимо, но оба не могут отсутствовать одновременно.

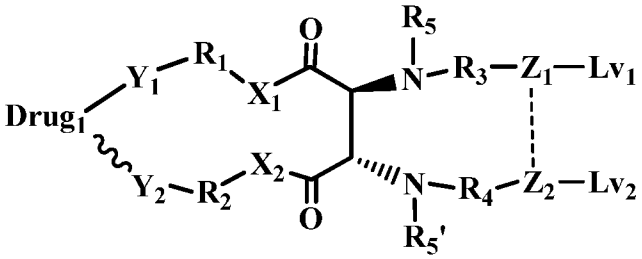
7. Соединение формулы (V), (VI), (VII) или (VIII) по п. **2**, имеющее структуру, представленную формулой (Va), (Vb), (Vc), (VIa), (VIb), (VIc), (VIIa), (VIIb), (VIIc), (VIIIa), (VIIIb) и (VIIIc):



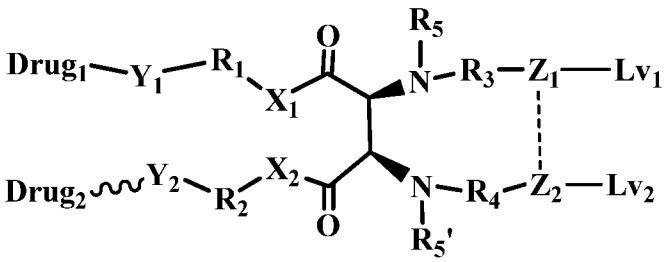
(Va),



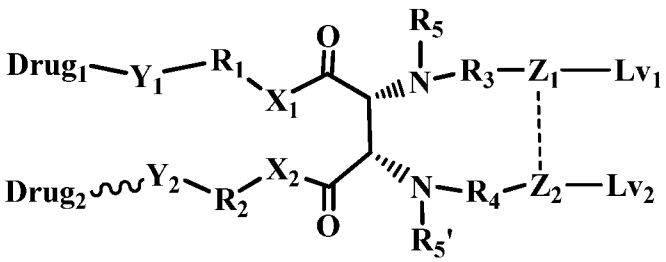
(Vb),



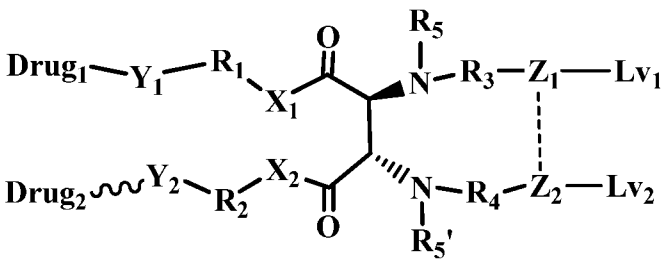
(Vc),



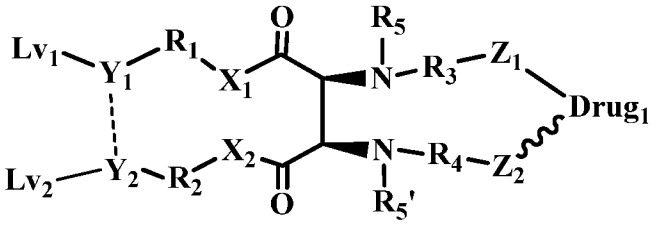
(VIa),



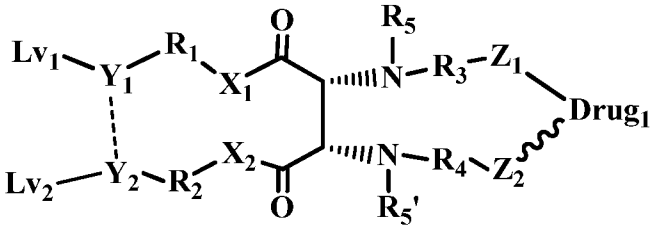
(VIb),



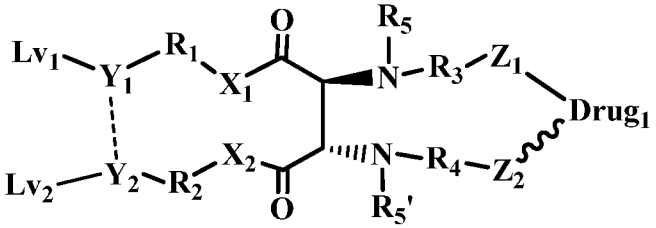
(VIc),



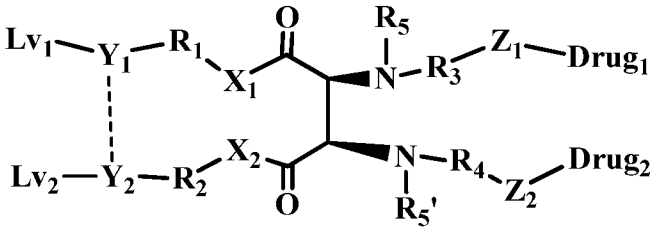
(VIIa),



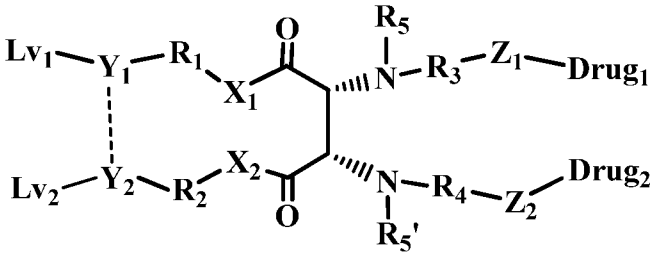
(VIIb),



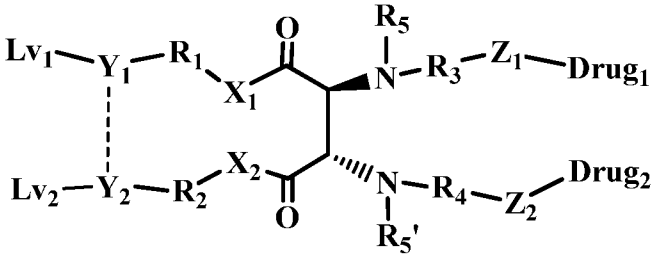
(VIIc),



(VIIIa),



(VIIIb),

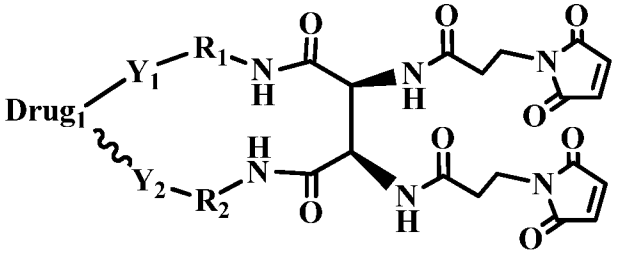


(VIIIc),

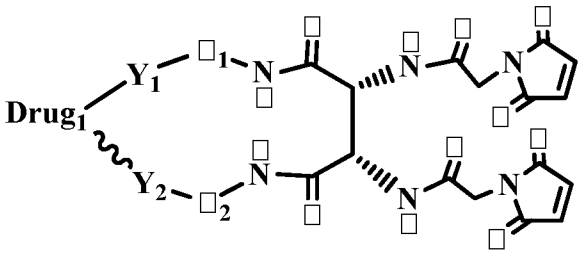
где «-----», Q, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, $R_{5'}$, Z_1, Z_2, Lv_1, Lv_2, Лекарственное средство$_1$ и Лекарственное средство$_2$ определены так же, как и выше.

8. Соединение формулы (V), (VI), (VII) или (VIII) по п. **2** имеющее структуру, дополнительно представленную формулой (V-01), (V-02), (V-03), (V-04), (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), (V-21), (V-22), (V-23), (VI-01), (VI-02), (VI-03), (VI-04), (VI-05), (VI-06),

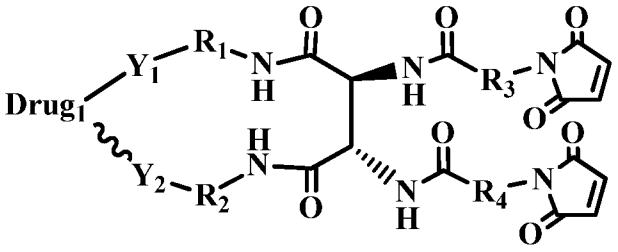
(VI-07), (VI-08), (VI-09), (VI-10), (VI-11), (VI-12), (VI-13), (VI-14), (VI-15), (VI-16), (VI-17), (VI-18), (VII-01), (VII-02), (VII-03), (VII-04), (VII-05), (VII-06), (VII-07), (VII-08), (VII-09), (VII-10), (VII-11), (VII-12), (VII-13), (VII-14), (VII-15), (VII-16), (VII-17), (VII-18), (VII-19), (VII-20), (VIII-01), (VIII-02), (VIII-03), (VIII-04), (VIII-05), (VIII-06), (VIII-07), (VIII-08), (VIII-09), (VIII-10), (VIII-11), (VIII-12), (VIII-13), (VIII-14), (VIII-15), (VIII-16), (VIII-17), (VIII-18), (VIII-19) и (VIII-20) ниже:



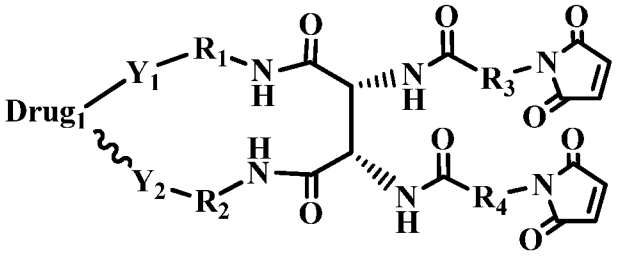
(V-01),



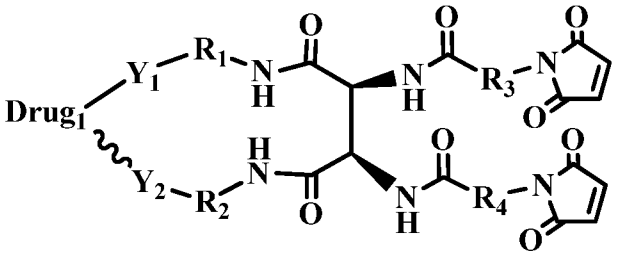
(V-02),



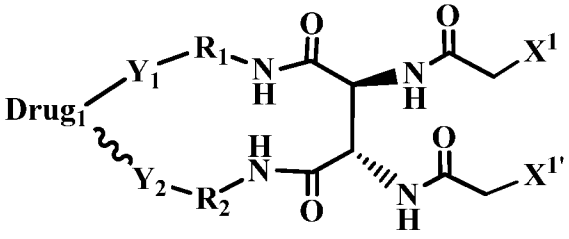
(V-03),



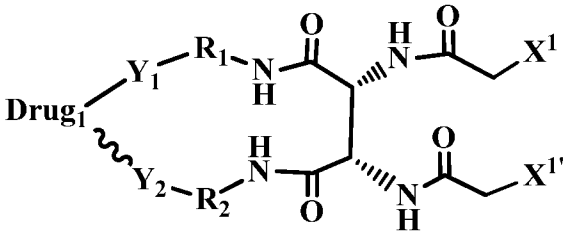
(V-04),



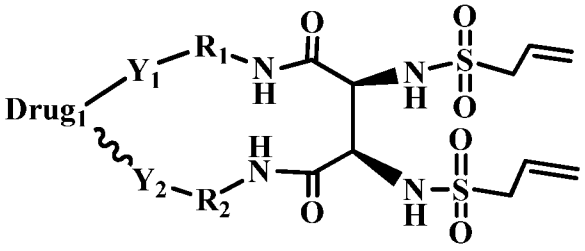
(V-05),



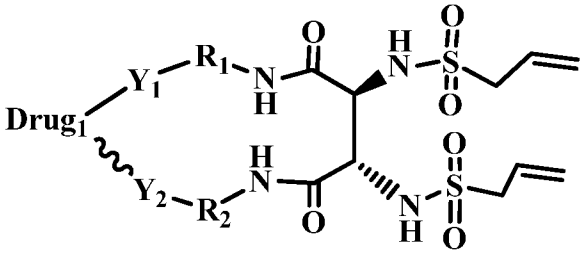
(V-06),



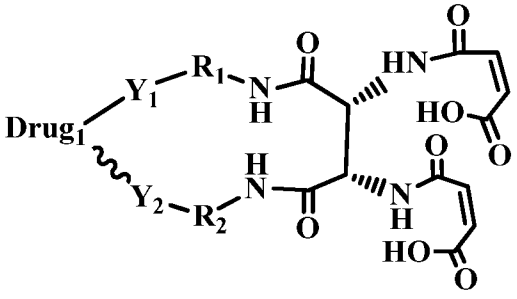
(V-07),



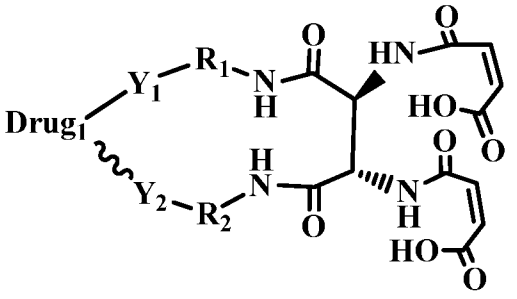
(V-08),



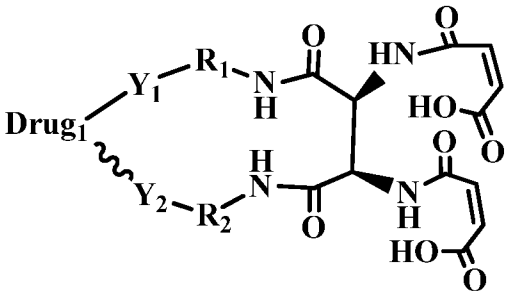
(V-09),



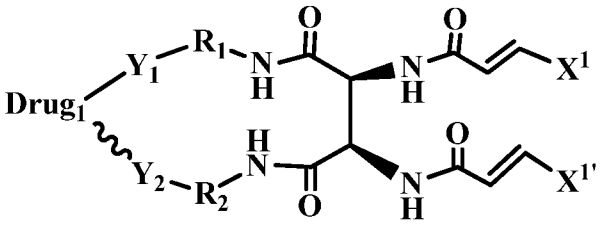
(V-10),



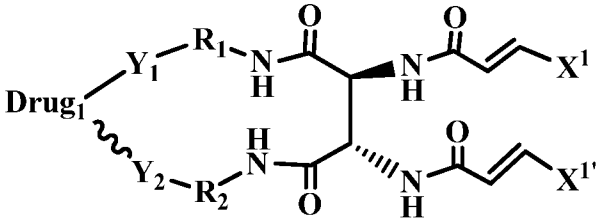
(V-11),



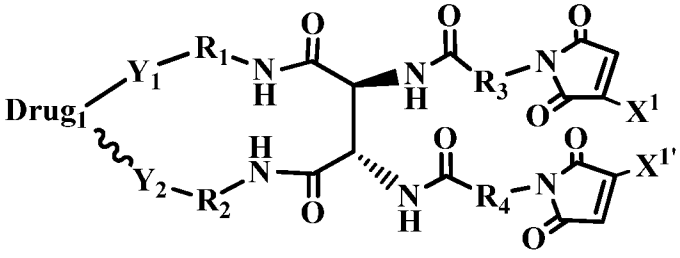
(V-12),



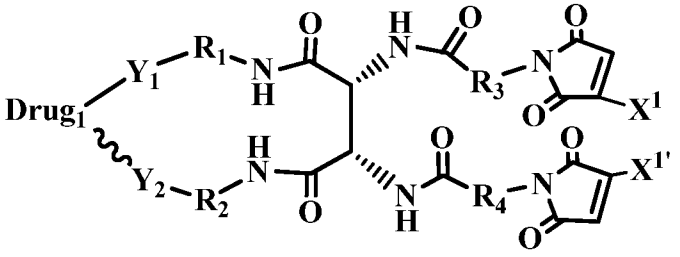
(V-13),



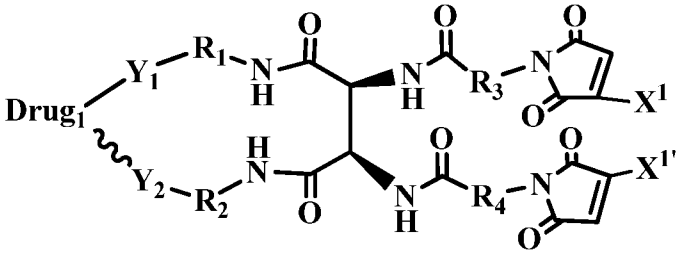
(V-14),



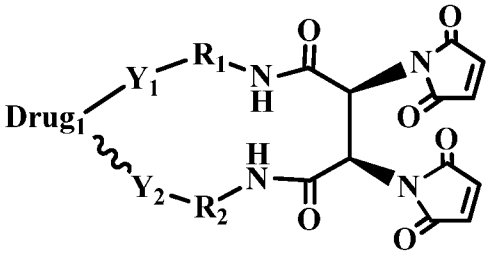
(V-15),



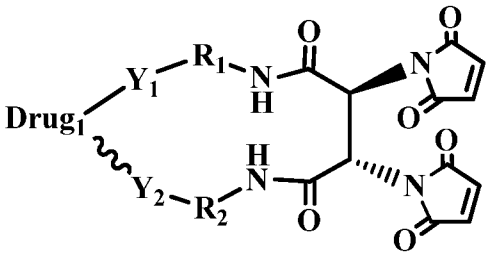
(V-16),



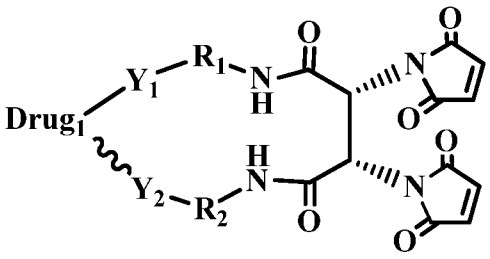
(V-17)



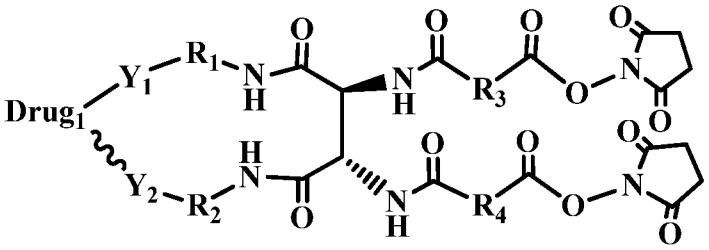
(V-18),



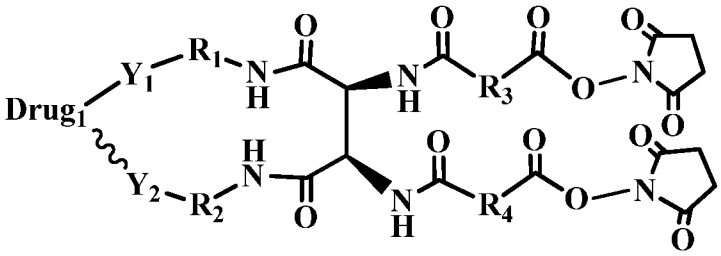
(V-19),



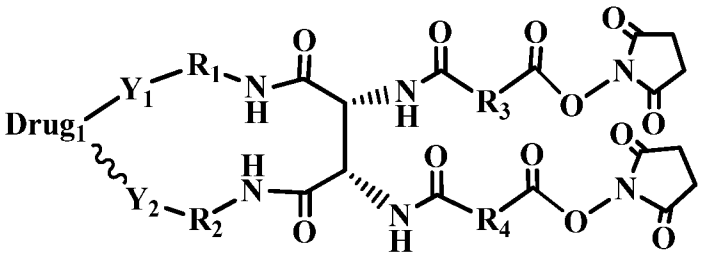
(V-20),



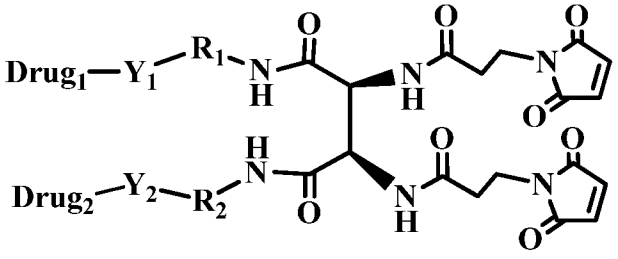
(V-21),



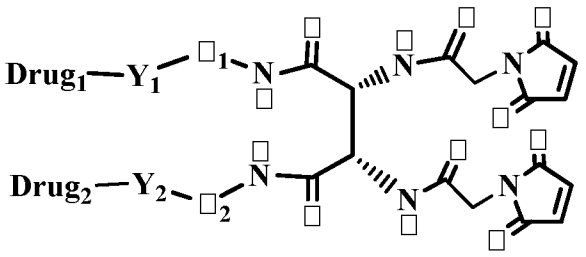
(V-22),



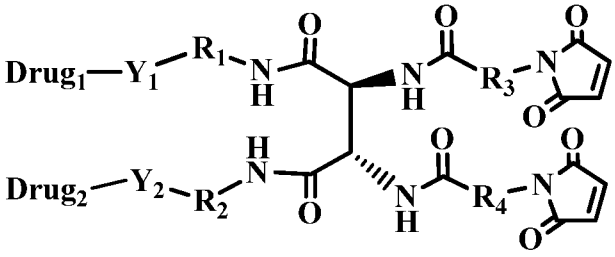
(V-23),



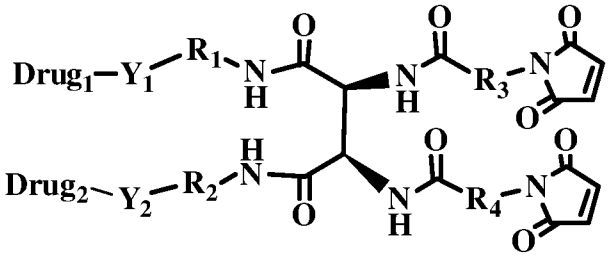
(VI-01),



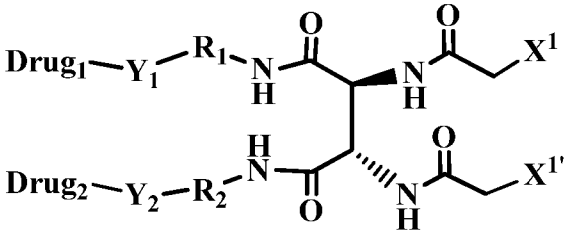
(VI-02),



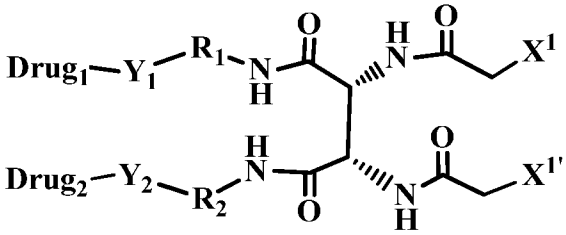
(VI-03),



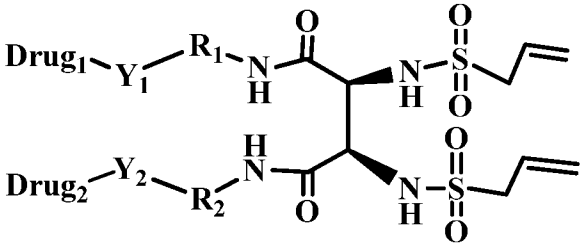
(VI-04),



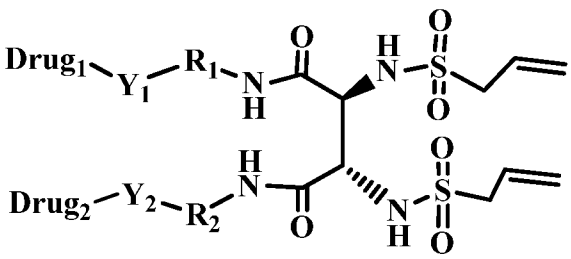
(VI-05),



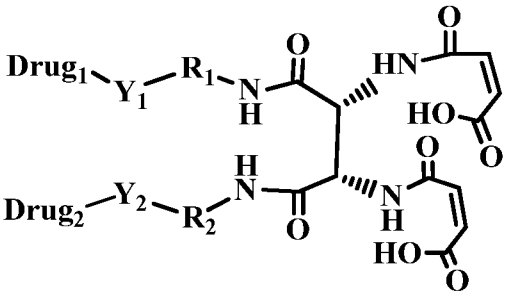
(VI-06),



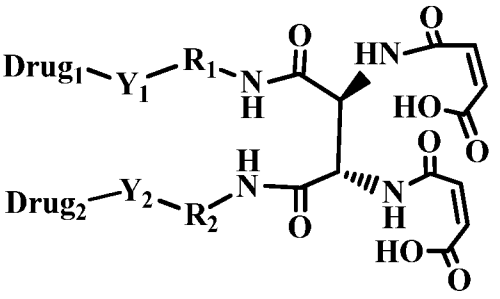
(VI-07),



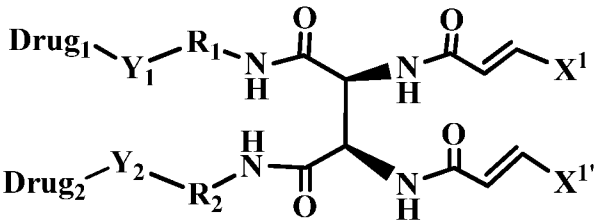
(VI-08),



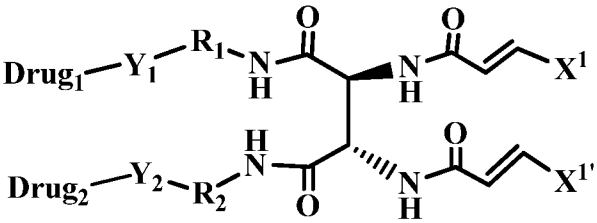
(VI-09),



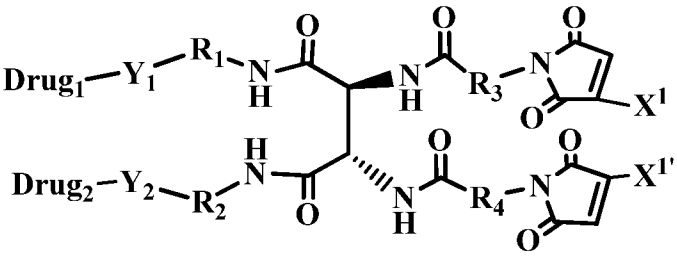
(VI-10),



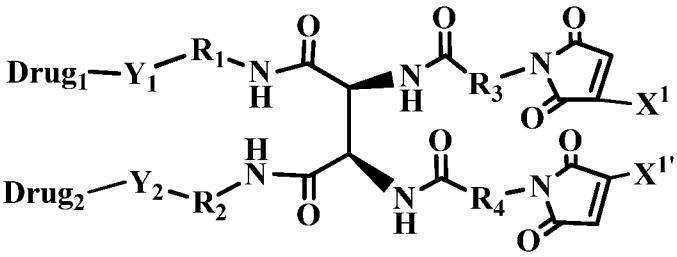
(VI-11),



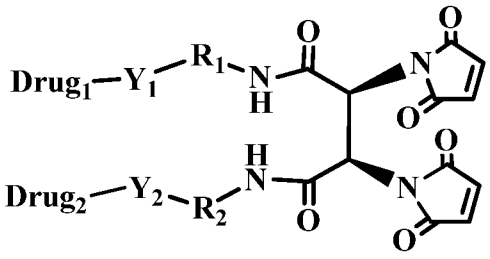
(VI-12),



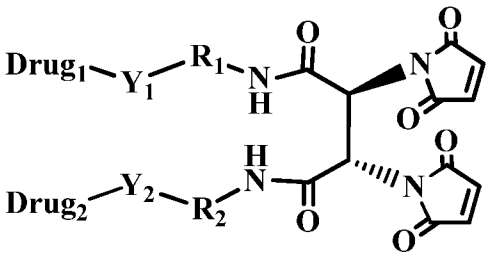
(VI-13),



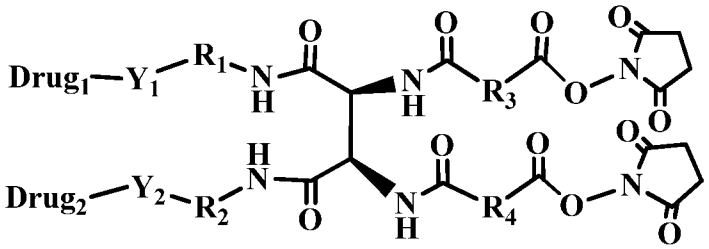
(VI-14)



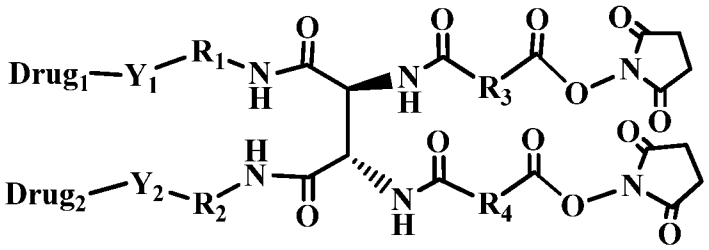
(VI-15),



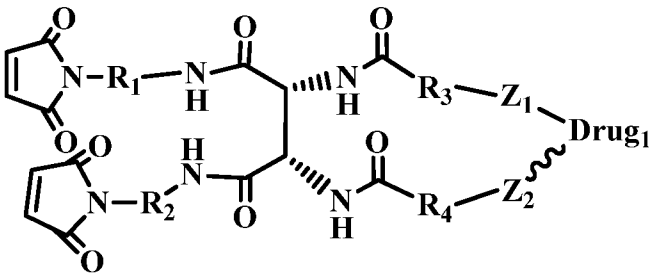
(VI-16),



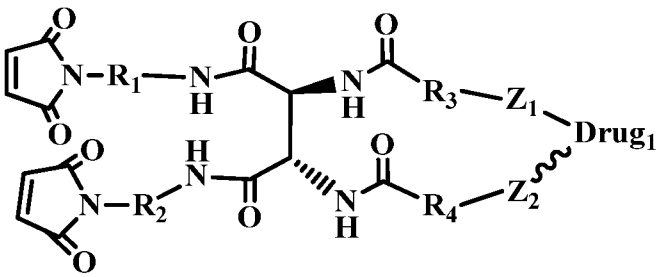
(VI-17),



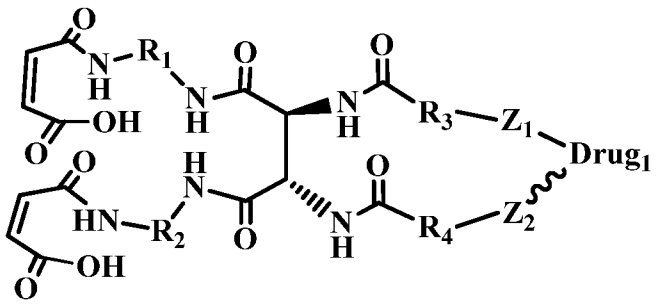
(VI-18),



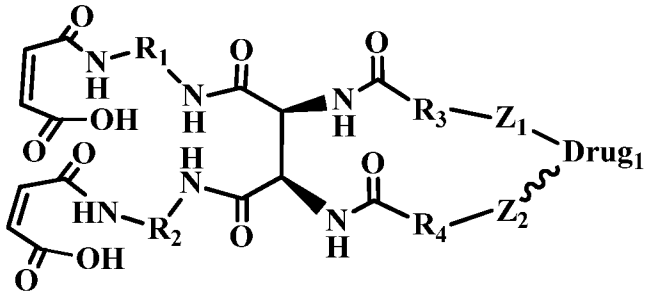
(VII-01),



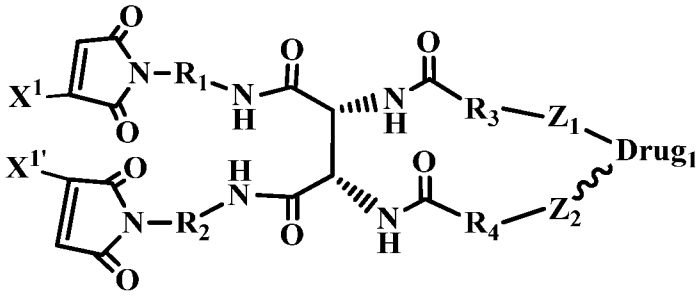
(VII-02),



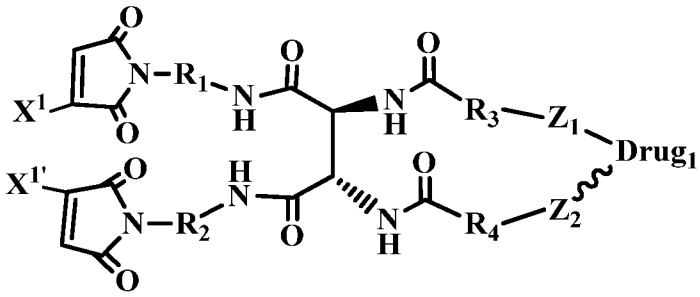
(VII-03),



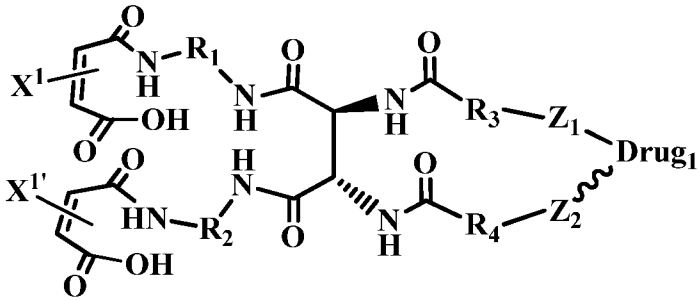
(VII-04),



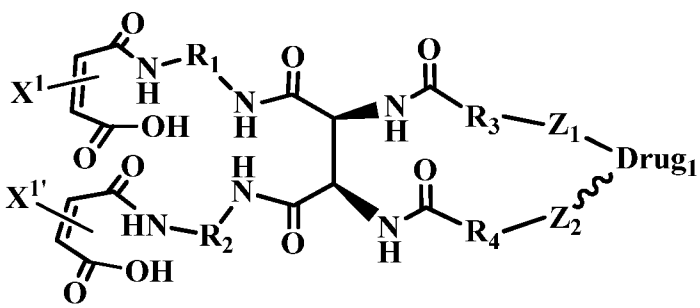
(VII-05),



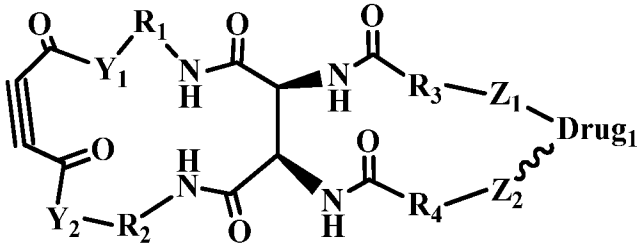
(VII-06),



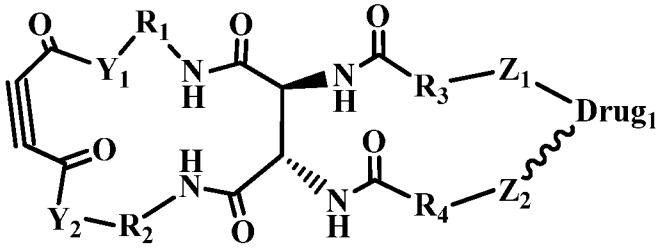
(VII-07),



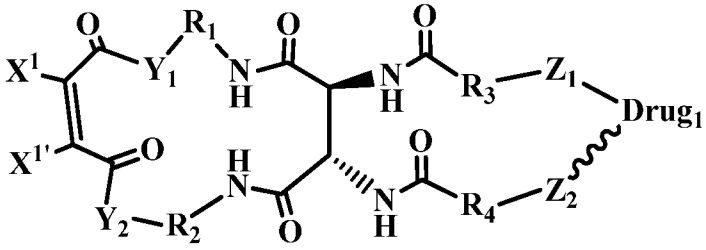
(VII-08),



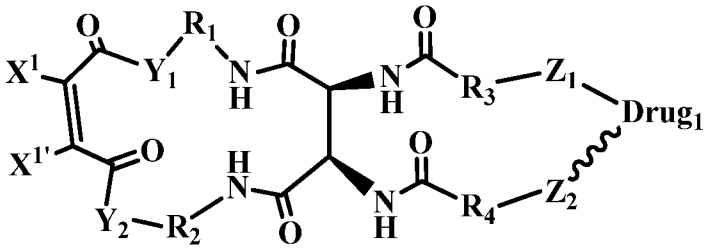
(VII-09),



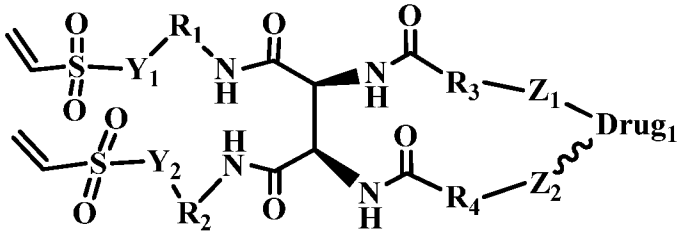
(VII-10),



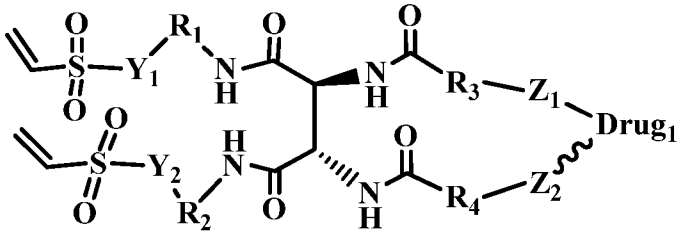
(VII-11),



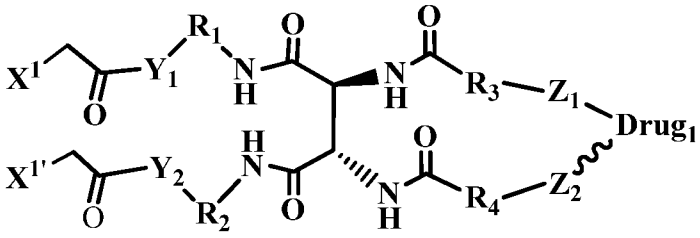
(VII-12),



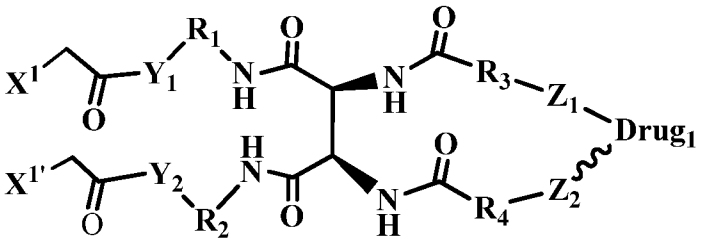
(VII-13),



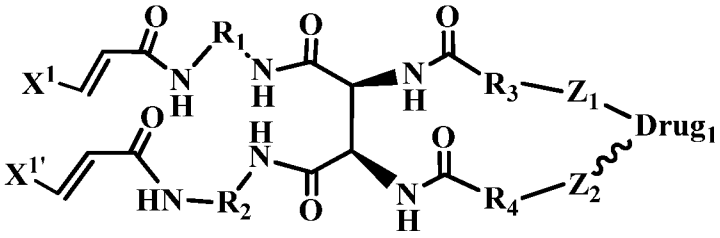
(VII-14),



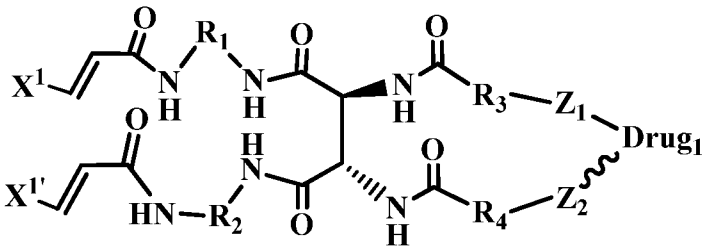
(VII-15),



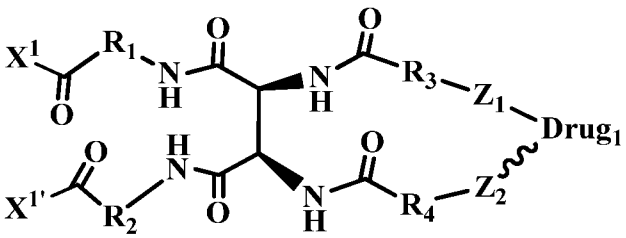
(VII-16),



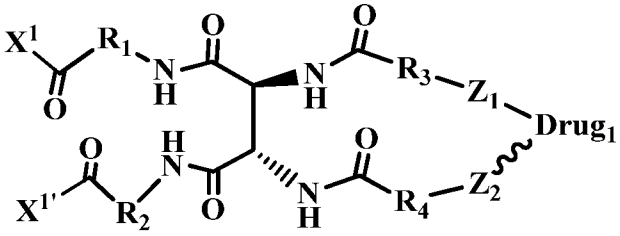
(VII-17),



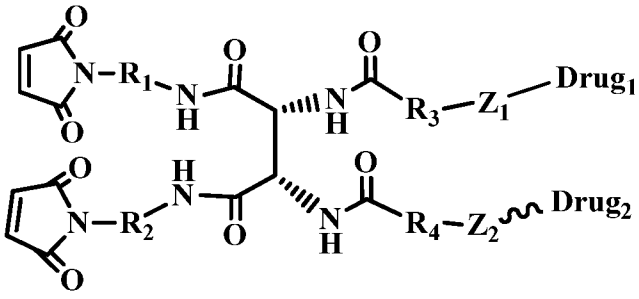
(VII-18),



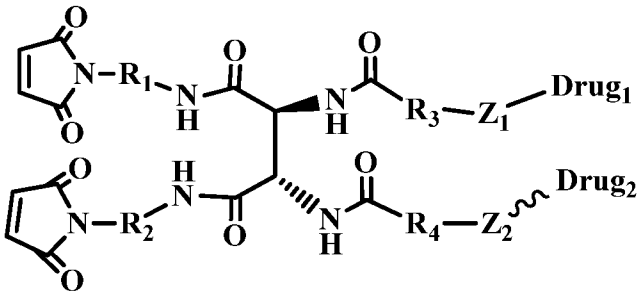
(VII-19),



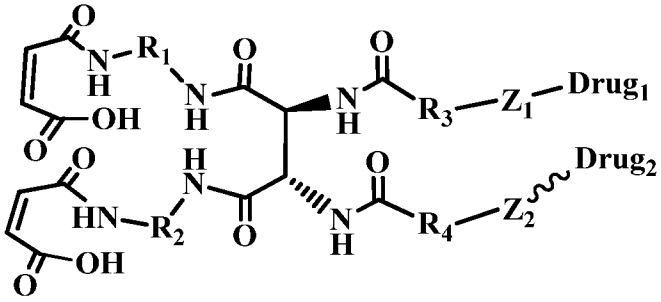
(VII-20),



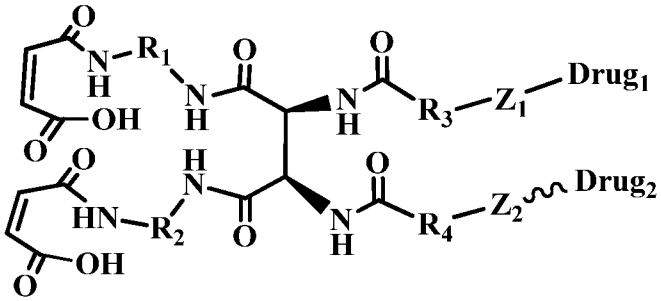
(VIII-01),



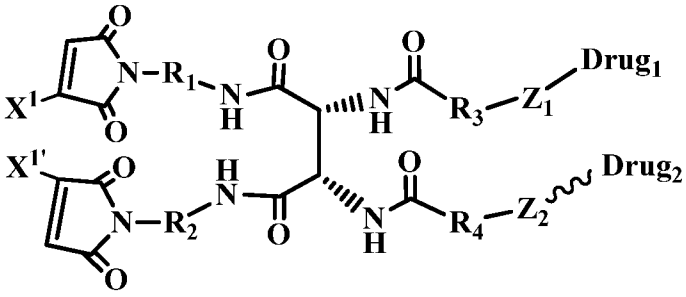
(VIII-02),



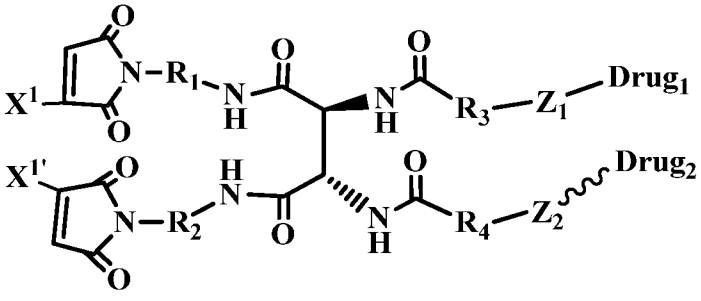
(VIII-03),



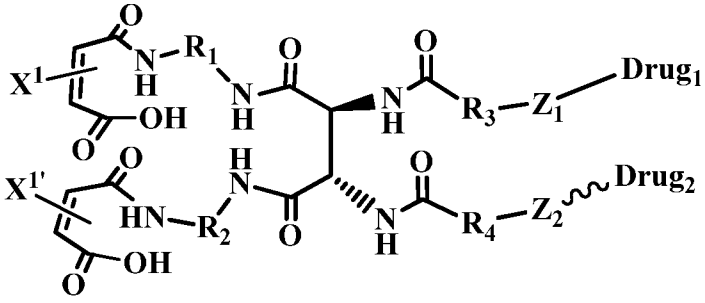
(VIII-04),



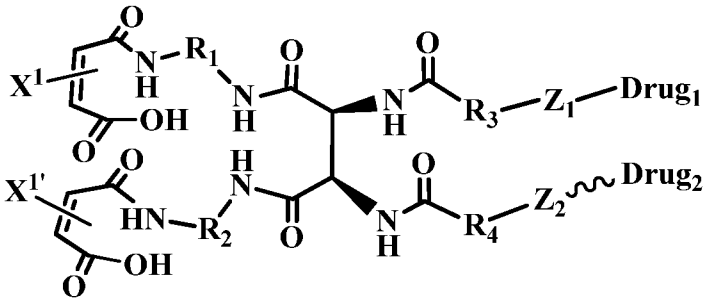
(VIII-05),



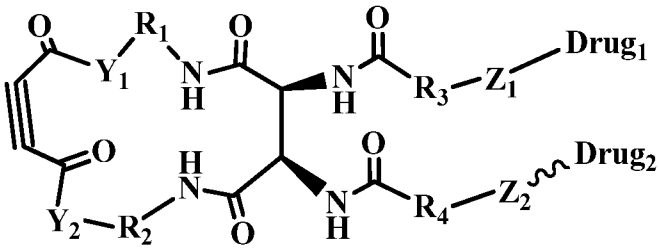
(VIII-06),



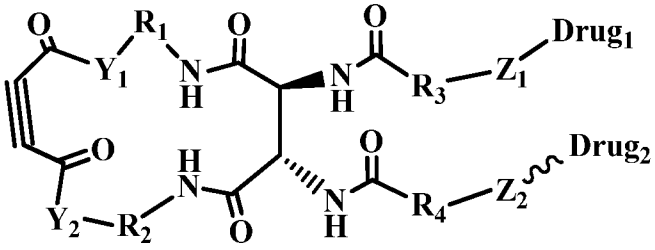
(VIII-07),



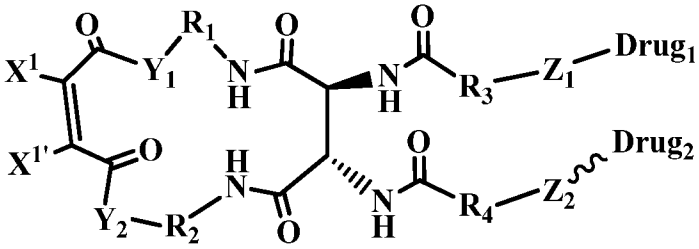
(VIII-08),



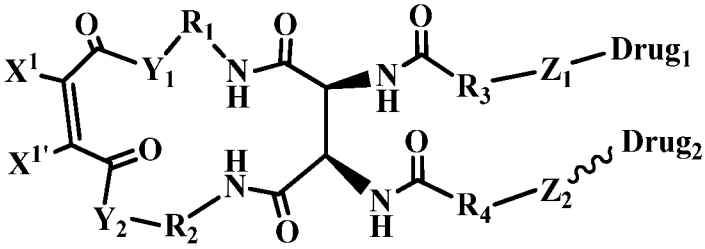
(VIII-09),



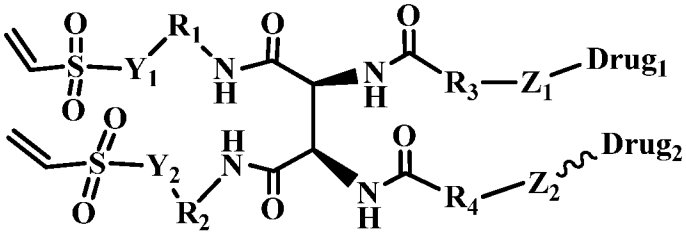
(VIII-10),



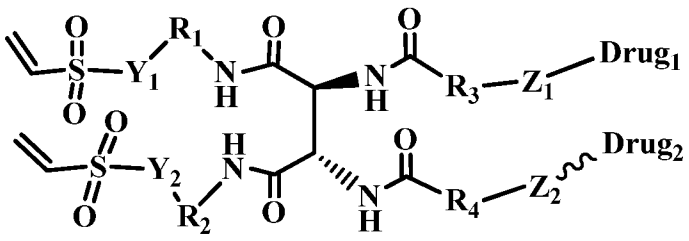
(VIII-11),



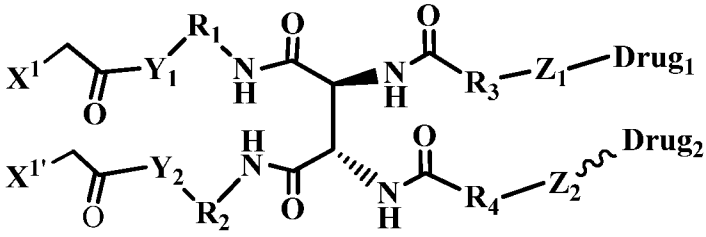
(VIII-12),



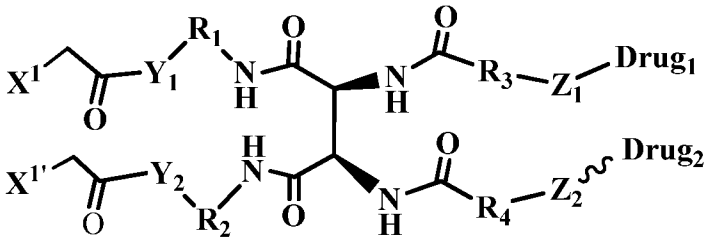
(VIII-13),



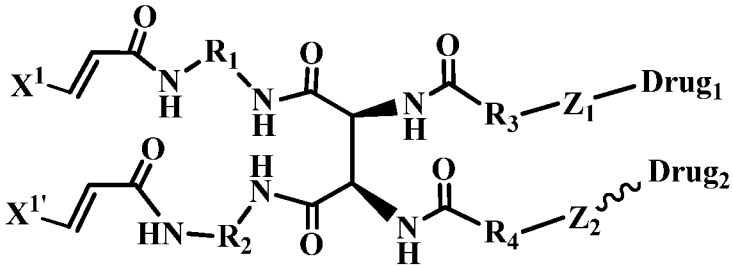
(VIII-14),



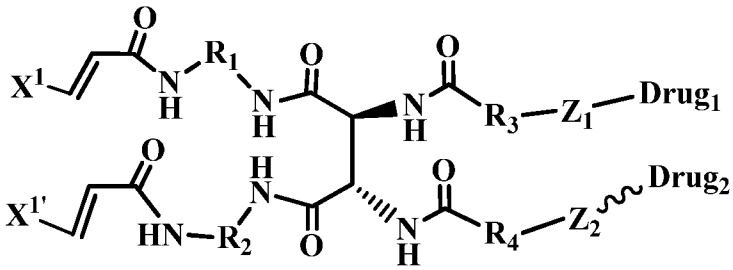
(VIII-15),



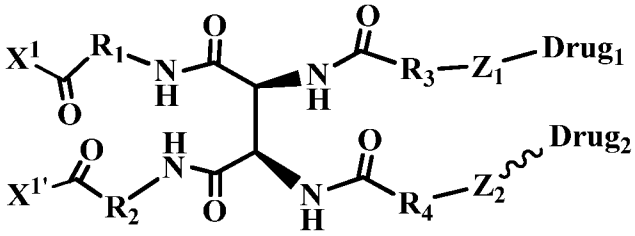
(VIII-16),



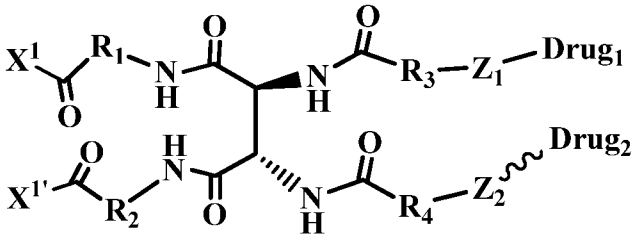
(VIII-17),



(VIII-18),



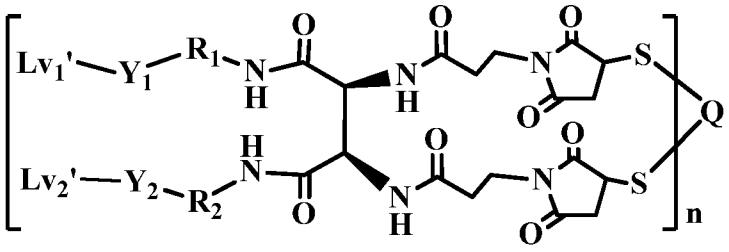
(VIII-19),



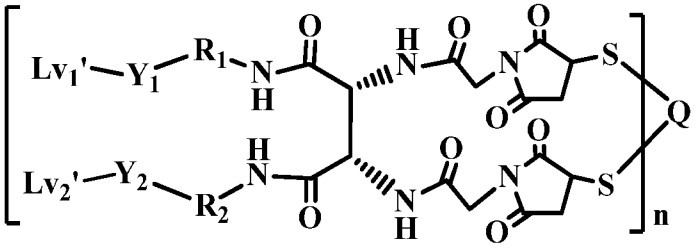
(VIII-20),

где «-----», «〰», Q, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, $R_{5'}$, Z_1, Z_2, Лекарственное средство$_1$ и Лекарственное средств$_2$ определены так же, как выше, X^1 и $X^{1'}$ независимо представляют собой H, F, Cl, Br, I, OTs, OMs, OTf, N_3, CHO, -C=CH, $-C\equiv C-$, $ArC(=O)R_1$, $C(=O)NHNH_2$, $-O-NH_2$, нитрофенол; N-гидроксисукцинимид (NHS); фенол; динитрофенол; пентафторфенол; тетрафторфенол; дифторфенол; монофторфенол; пентахлорфенол; трифлат; имидазол; дихлорфенол; тетрахлорфенол; 1-гидроксибензотриазол; тозилат; мезилат; 2-этил-5-фенилизоксазолий-3'-сульфонат, ангидриды, образованные сами по себе, или ангидриды, образованные с ацетилангидридом или формилангидридом; O-NHS (O-N-гидроксисукцинимид), O-имидазол, O-триазол, O-тетразол, O-Ar, $O-ArNO_2$, $O-Ar(NO_2)_2$, $O-ArF_4$, $O-ArF_3$, $O-ArF_5$, $O-ArF_2$, O-ArF, $O-ArCl_4$, $O-ArCl_3$, $O-ArCl_5$, $O-ArCl_2$, O-ArCl, $O-ArSO_3H$, $O-ArOPO_3H_2$, $O-Ar(NO_2)COOH$, $S-Ar(NO_2)_2COOH$, O-пиридин, O-нитрофенол, O-динитрофенол, O-пентафторфенол, O-тетрафторфенол, O-трифторфенол, O-дифторфенол, O-фторфенол, O-пентахлорфенол, O-тетрахлорфенол, O-трихлорфенол, O-дихлорфенол, O-хлорфенол, O-пиридин, O-нитропиридин, O-динитропиридин, O-C_1-C_8 алкил, O-трифлат, O-бензотриазол, S-Ar, $S-ArNO_2$, $S-Ar(NO_2)_2$, $S-ArF_4$, $S-ArF_3$, $S-ArF_5$, $S-ArF_2$, S-ArF, $S-ArCl_4$, $S-ArCl_3$, $S-ArCl_5$, $S-ArCl_2$, S-ArCl, S-ArSO3H, $S-ArOPO_3H_2$, $S-Ar(NO_2)COOH$, $S-Ar(NO_2)_2COOH$, S-пиридин, S-S-пиридин, S-нитропиридин, S-динитропиридин, S-C_1-C_8 алкил, S-S-C_1-C_8 алкил, S-трифлат, S-бензотриазол, где Ar представляет собой ароматическое кольцо C_3-C_8; или промежуточная молекула, полученная с помощью реагента конденсации для реакций пептидного сочетания, или для реакций Мицунобу.

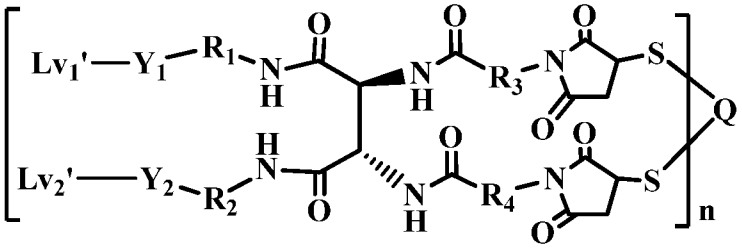
9. Соединения формулы (IX) или (X) по п. **3**, имеющее структуру, представленную формулой (IX-01), (IX-02), (IX-03), (IX-04), (IX-05), (IX-06), (IX-07), (IX-08), (IX-09), (IX-10), (IX-11), (IX-12), (IX-13), (IX-14), (IX-15), (IX-16), (IX-17), (IX-18), (IX-19), (IX-20), (IX-21), (IX-22), (IX-23), (X-01), (X-02), (X-03), (X-04), (X-05), (X-06), (X-07), (X-08), (X-09), (X-10), (X-11), (X-12), (X-13), (X-14), (X-15), (X-16), (X-17), (X-18), (X-19) и (X-20) ниже:



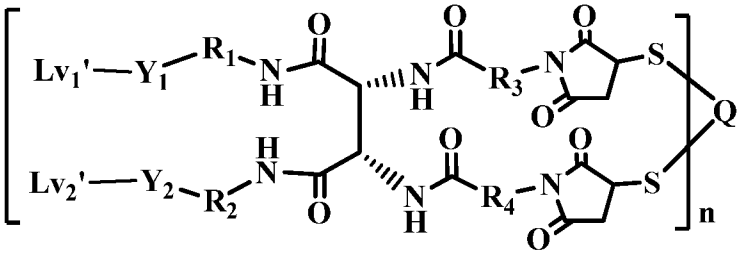
(IX-01),



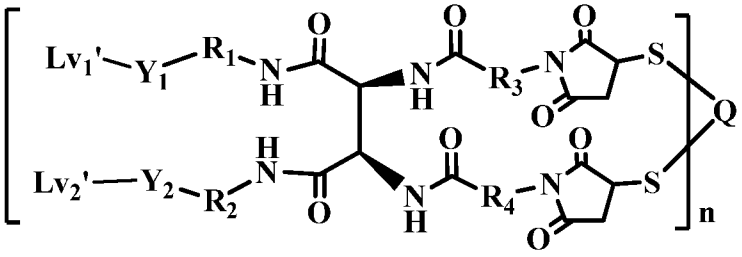
(IX-02),



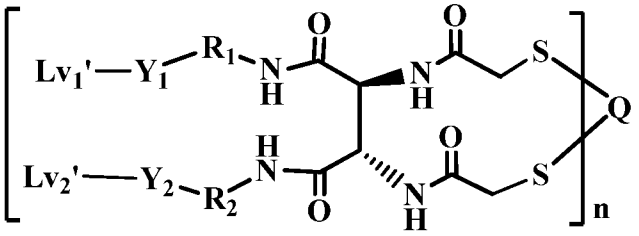
(IX-03),



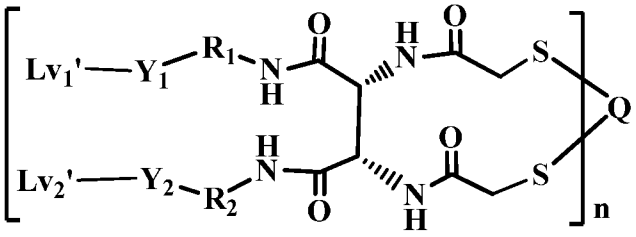
(IX-04),



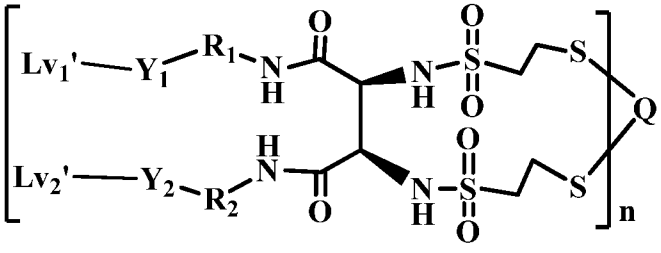
(IX-05),



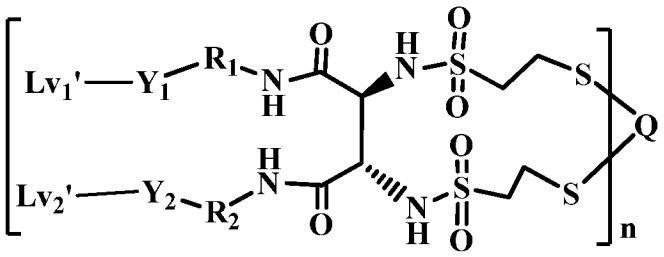
(IX-06),



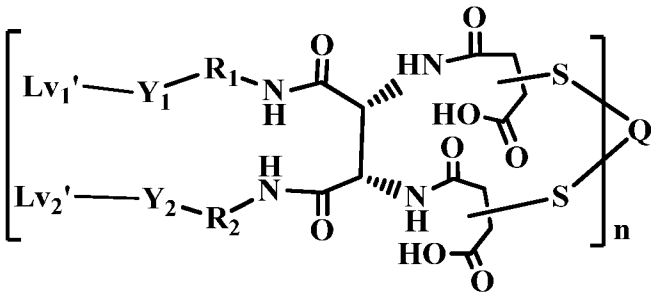
(IX-07),



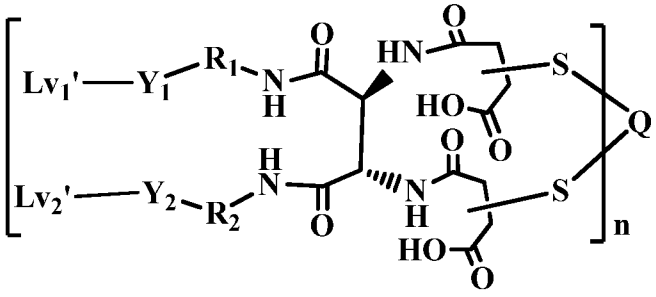
(IX-08),



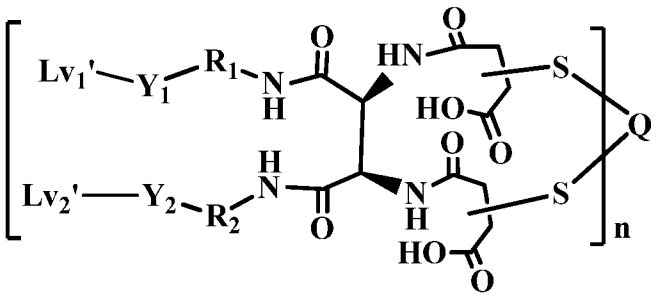
(IX-09),



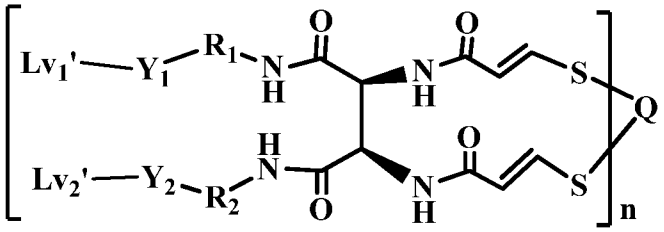
(IX-10),



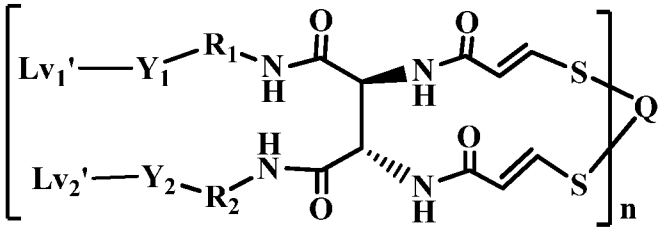
(IX-11),



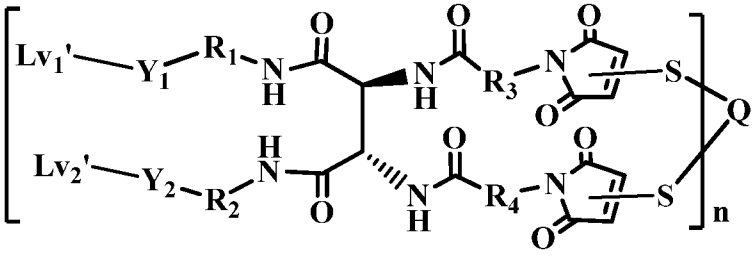
(IX-12),



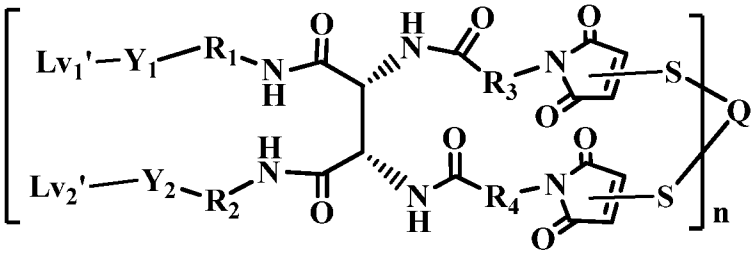
(IX-13),



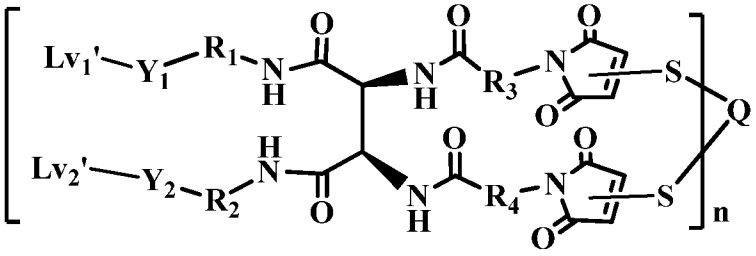
(IX-14),



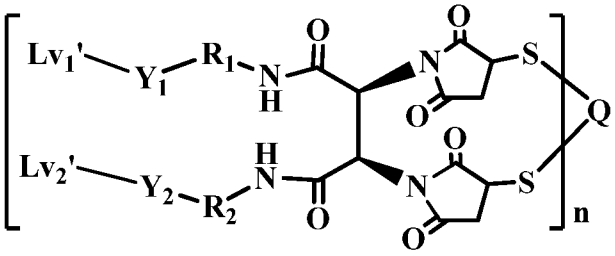
(IX-15),



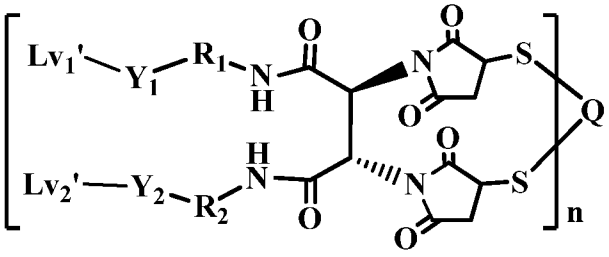
(IX-16),



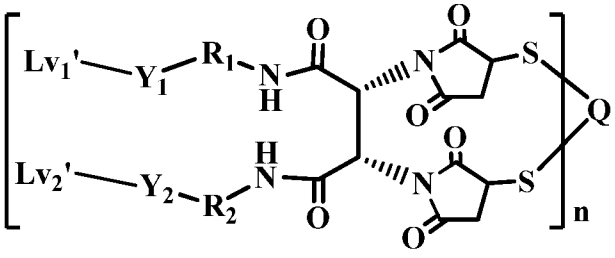
(IX-17)



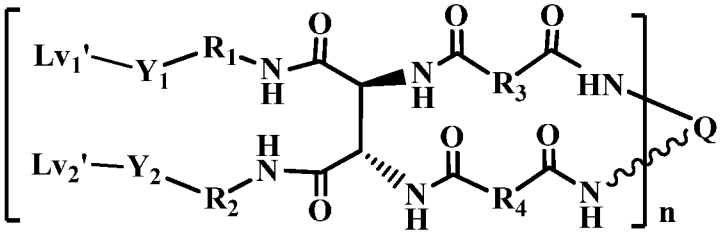
(IX-18),



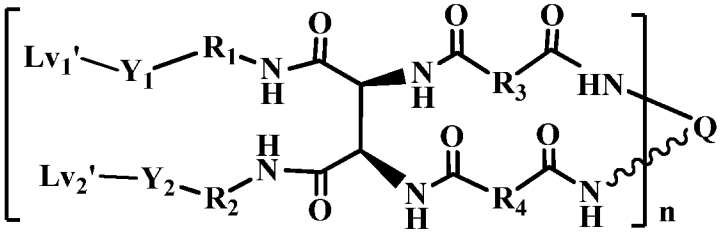
(IX-19),



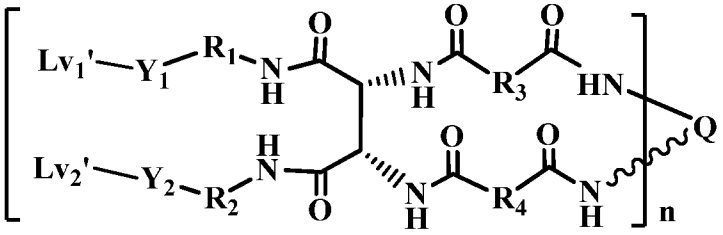
(IX-20),



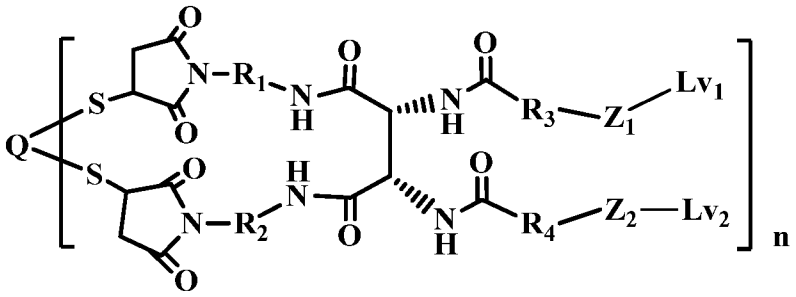
(IX-21),



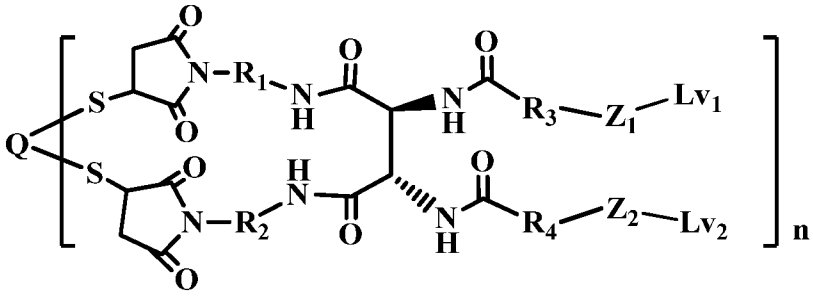
(IX-22),



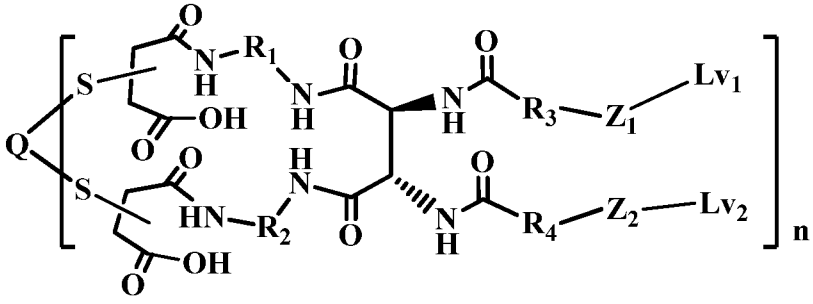
(IX-23),



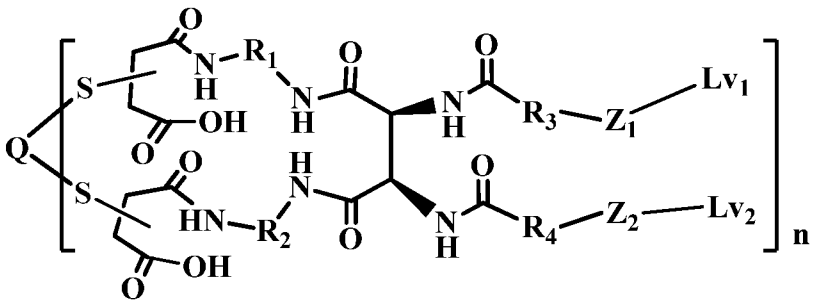
(X-01),



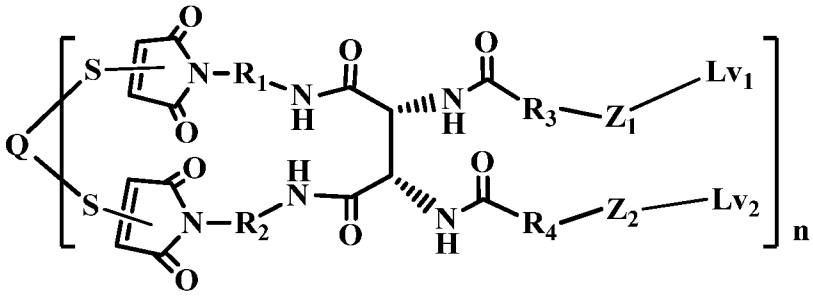
(X-02),



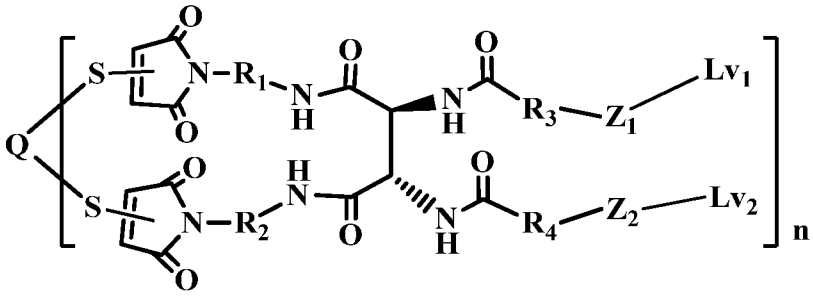
(X-03),



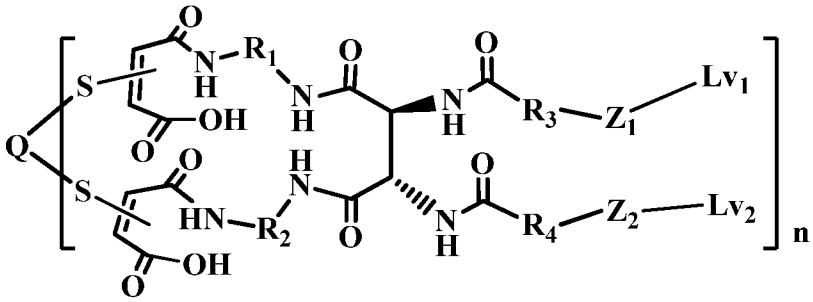
(X-04),



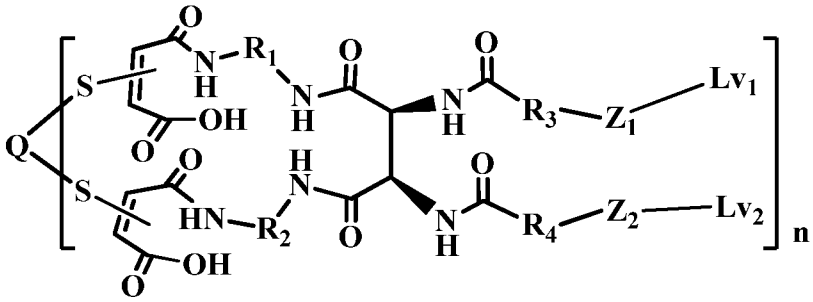
(X-05),



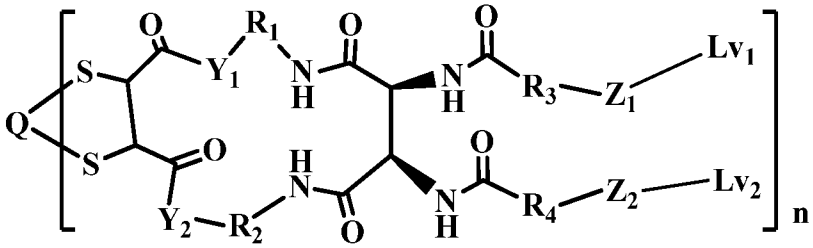
(X-06),



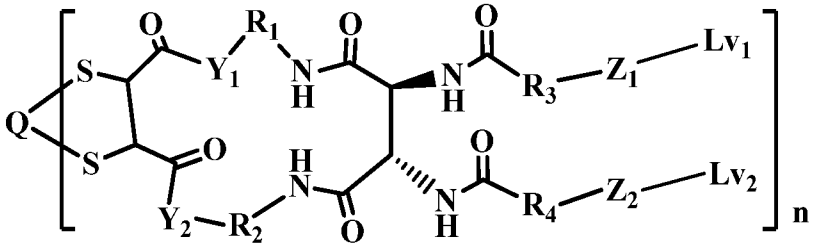
(X-07),



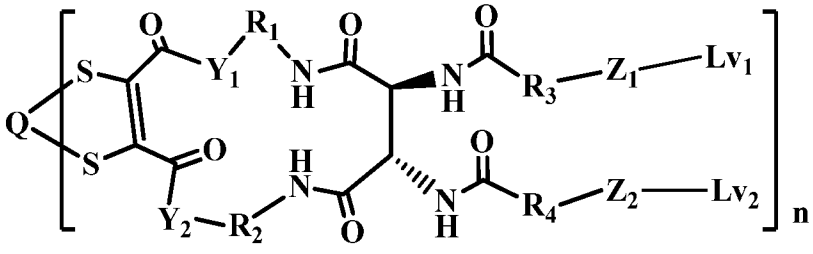
(X-08),



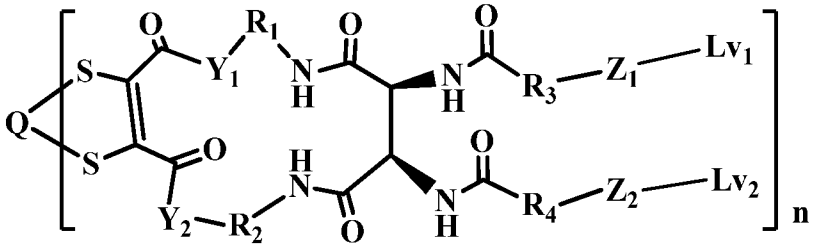
(X-09),



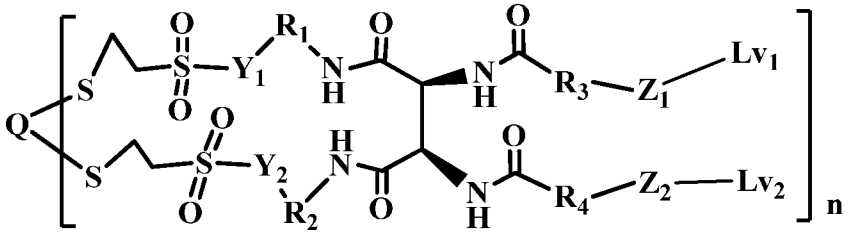
(X-10),



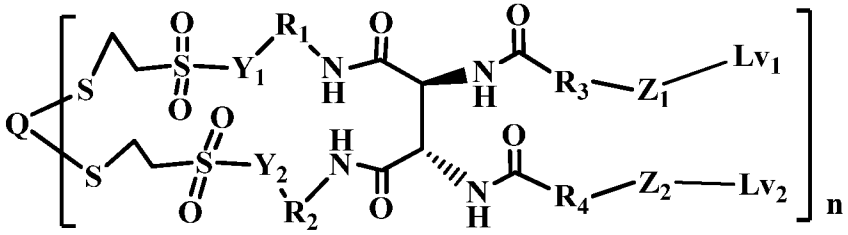
(X-11),



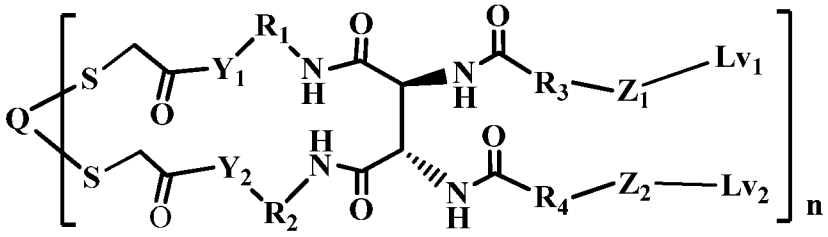
(X-12),



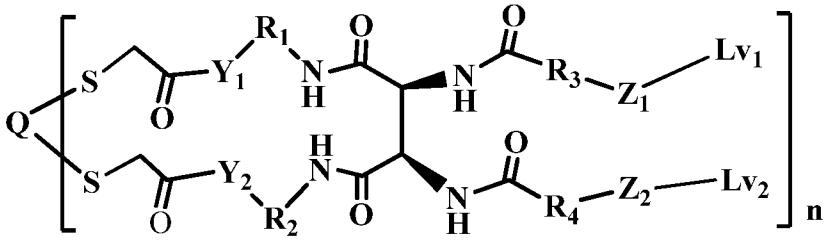
(X-13),



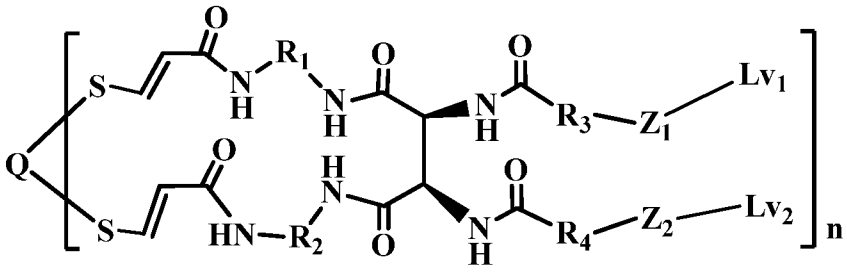
(X-14),



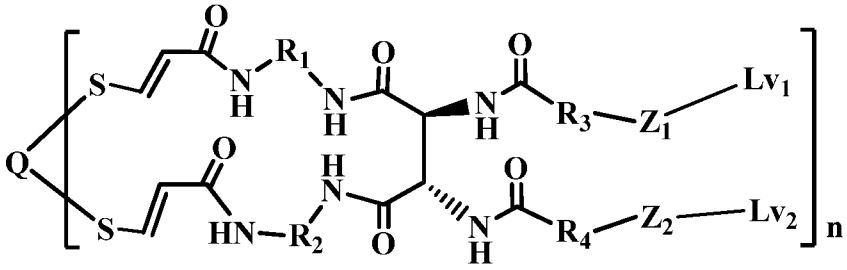
(X-15),



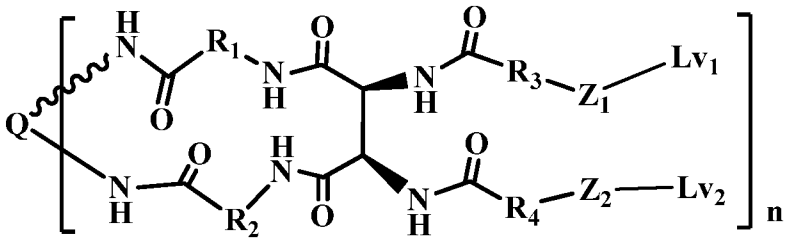
(X-16),



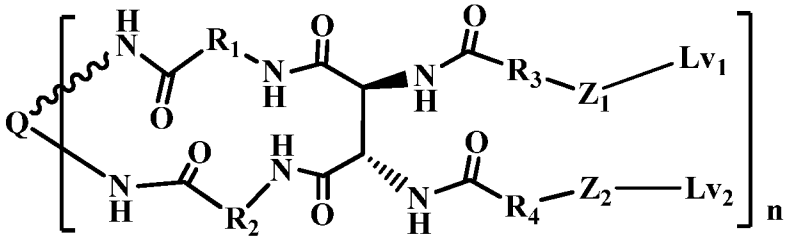
(X-17),



(X-18),



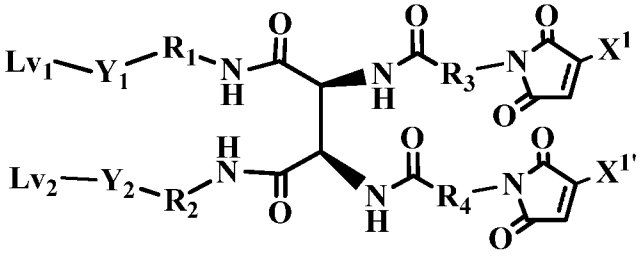
(X-19),



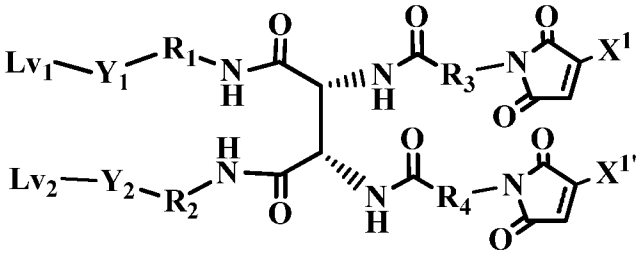
(X-20),

где «-----», «〰», Q, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, Lv_1, Lv_2, Lv_1' и Lv_2' определены так же, как и выше. Кроме того, одно из Лекарственного средства$_1$ и Лекарственного средства$_2$ может отсутствовать независимо, но оба не могут отсутствовать одновременно.

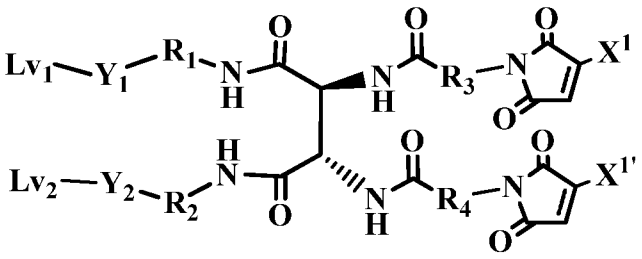
10. Соединение формулы (XI) или (XII) по п. **4**, имеющее структуру, представленную формулой (XI-01), (XI-02), (XI-03), (XI-04), (XI-05), (XI-06), (XI-07), (XI-08), (XI-09), (XI-10), (XI-11), (XI-12), (XI-13), (XI-14), (XI-15), (XI-16), (XI-17), (XI-18), (XII-01), (XII-02), (XII-03), (XII-04), (XII-05), (XII-06), (XII-07), (XII-08), (XII-09), (XII-10), (XII-11), (XII-12), (XII-13), (XII-14), (XII-15), (XII-16), (XII-17), (XII-18), (XII-19), (XII-20), (XII-21), (XII-22), (XII-23) и (XII-24) ниже:



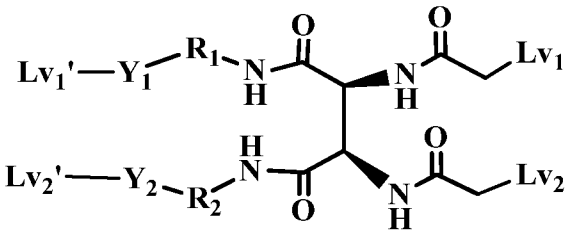
(XI-01),



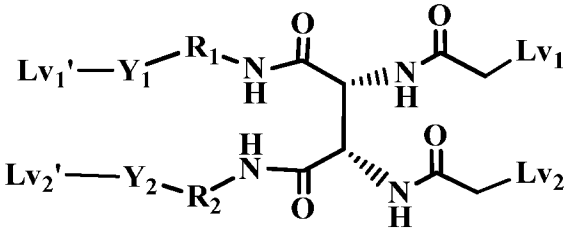
(XI-02),



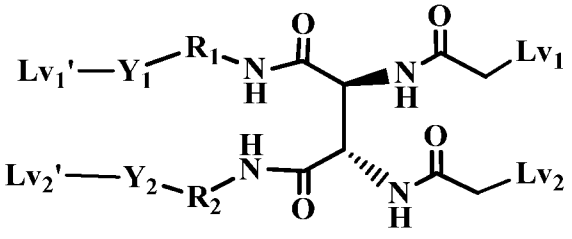
(XI-03),



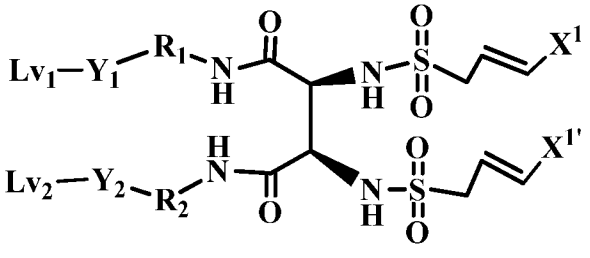
(XI-04),



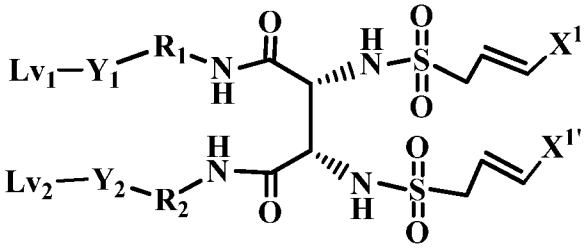
(XI-05),



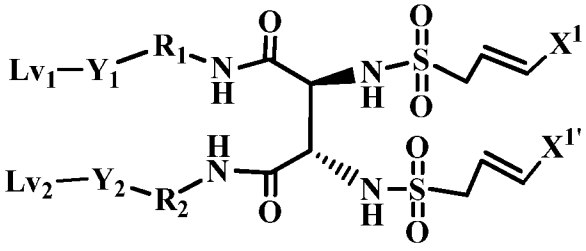
(XI-06)



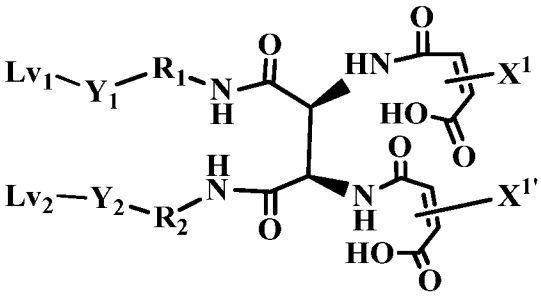
(XI-07),



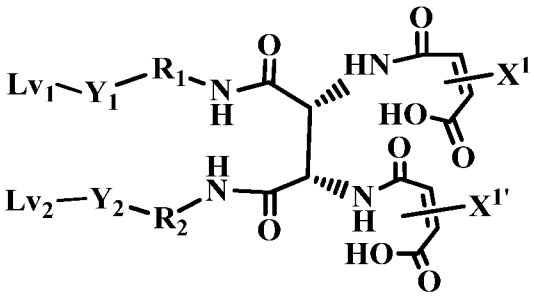
(XI-08),



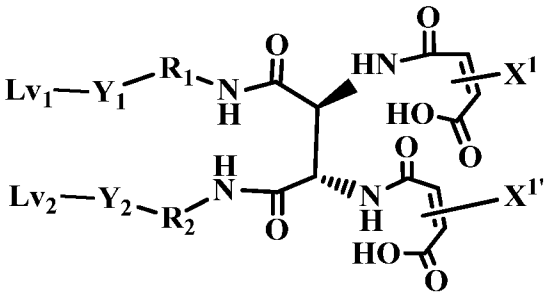
(XI-09),



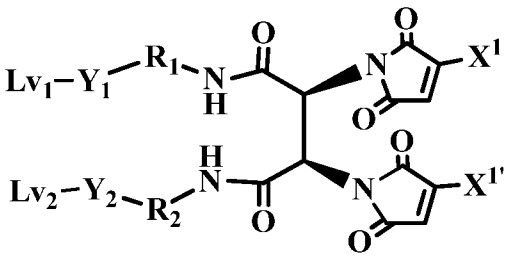
(XI-10),



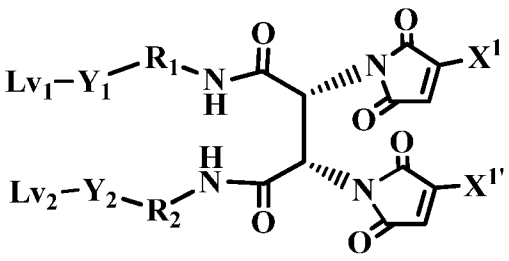
(XI-11),



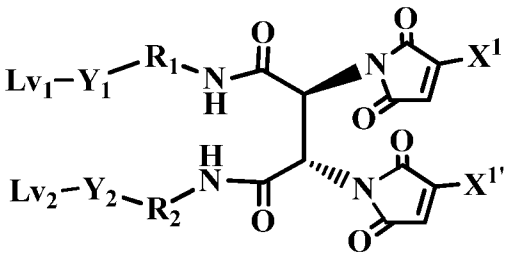
(XI-12),



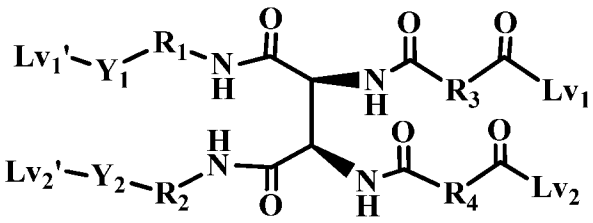
(XI-13),



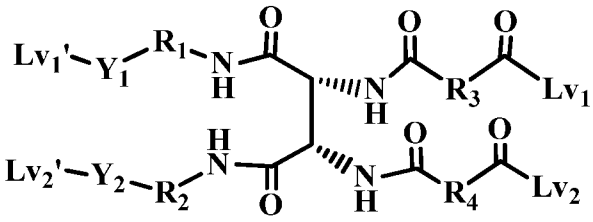
(XI-14),



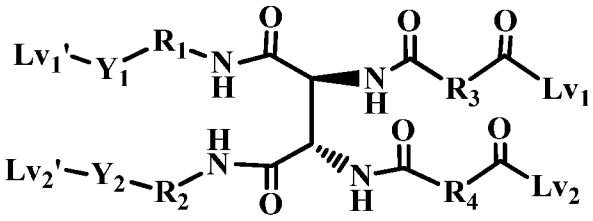
(XI-15),



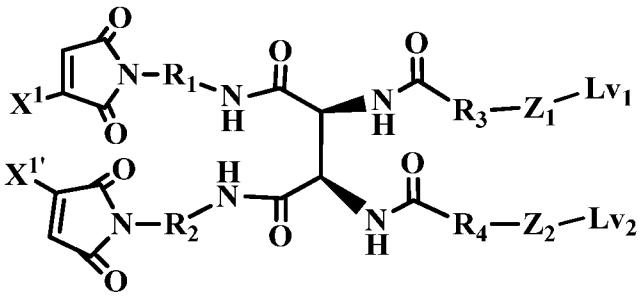
(XI-16),



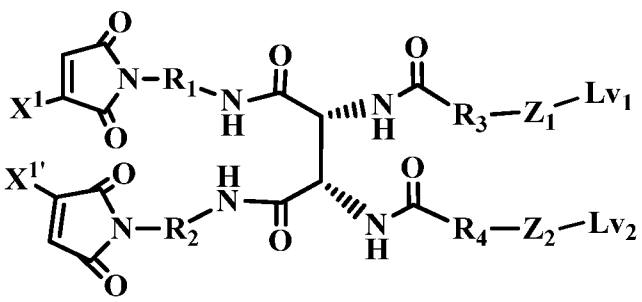
(XI-17),



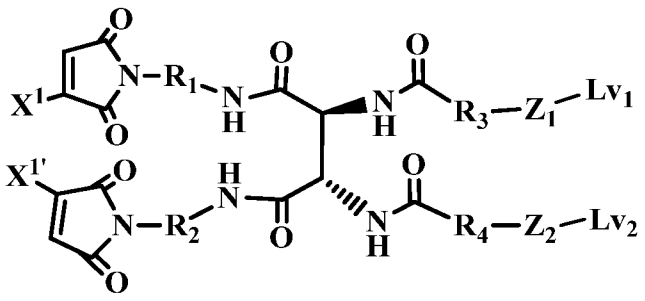
(XI-18),



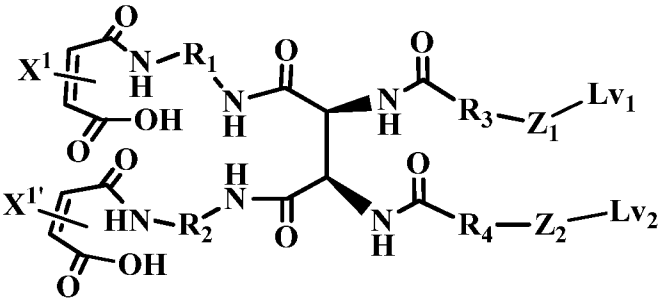
(XII-01),



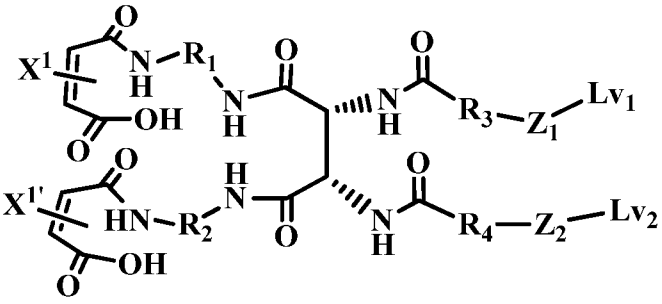
(XII-02),



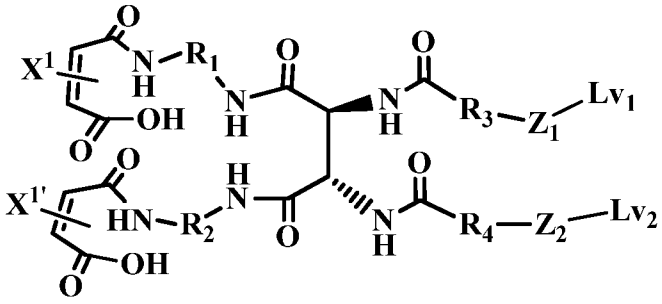
(XII-03),



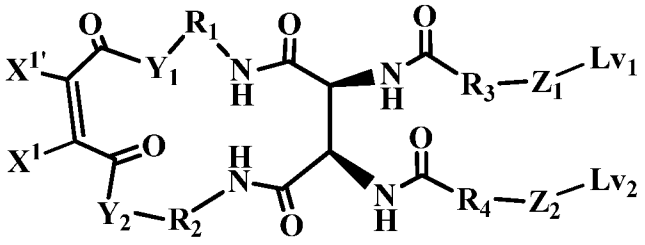
(XII-04),



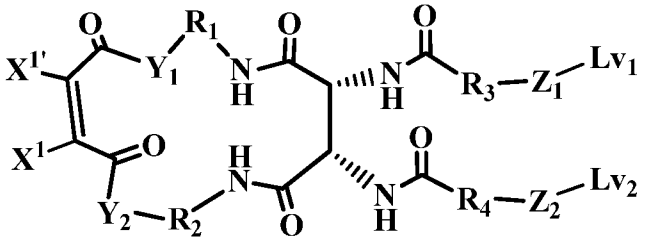
(XII-05),



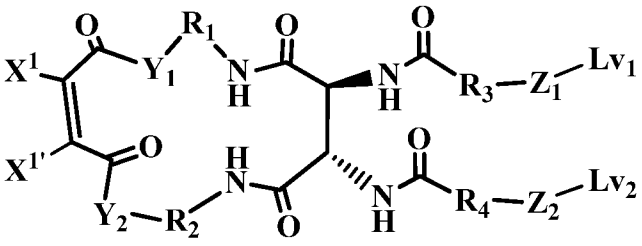
(XII-06),



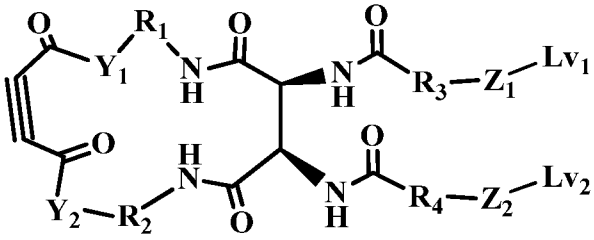
(XII-07),



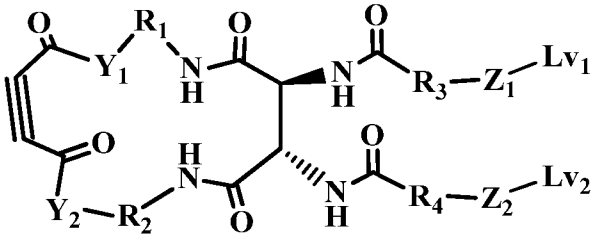
(XII-08),



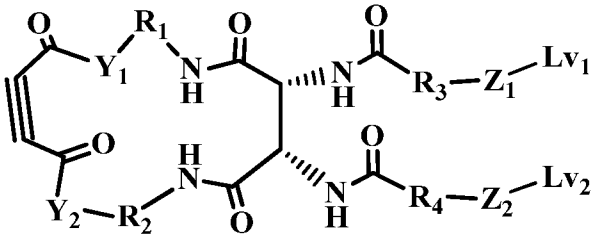
(XII-09),



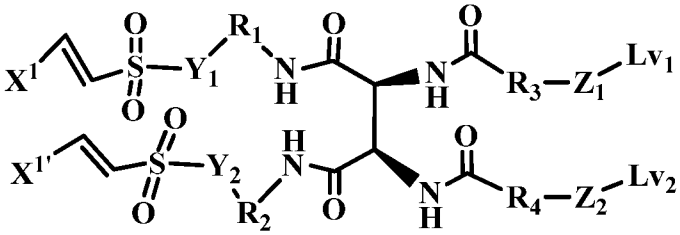
(XII-10),



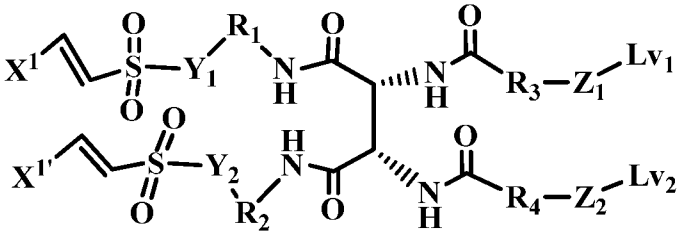
(XII-11),



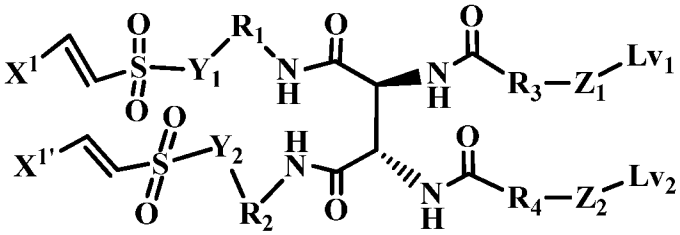
(XII-12),



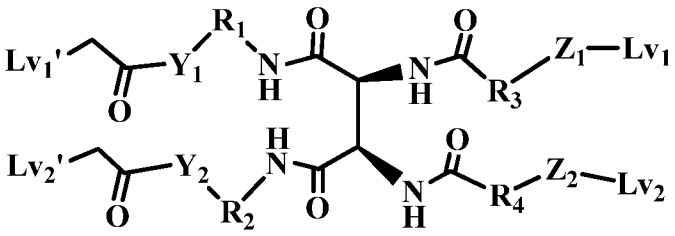
(XII-13),

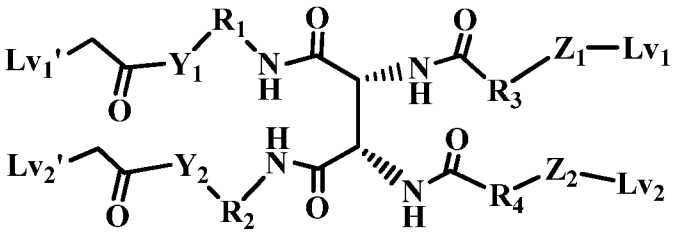


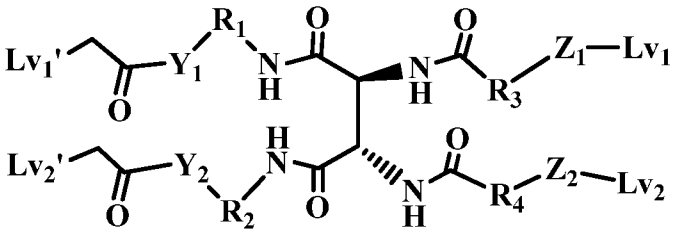
(XII-14),

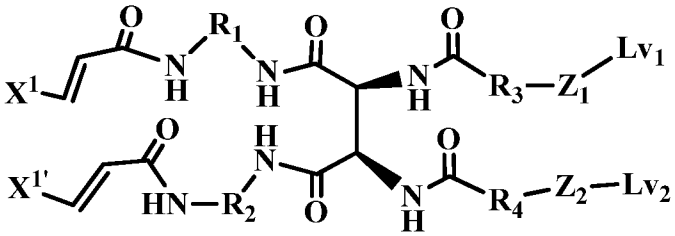


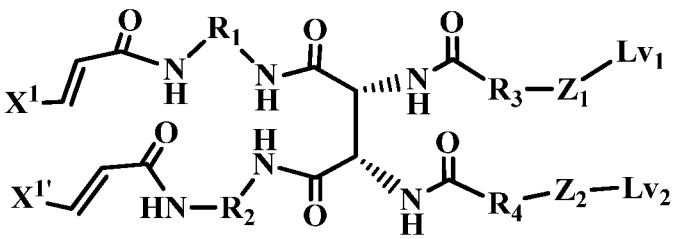
(XII-15),

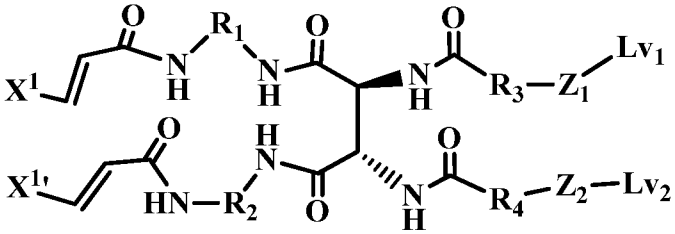

(XII-16),

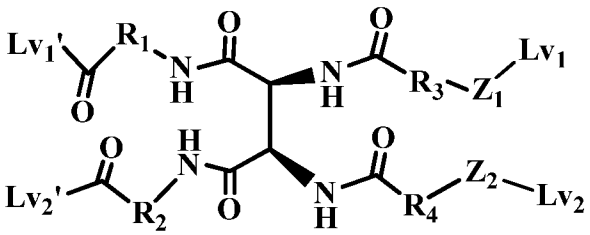

(XII-17),

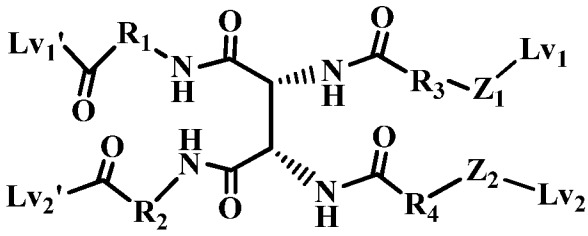

(XII-18),

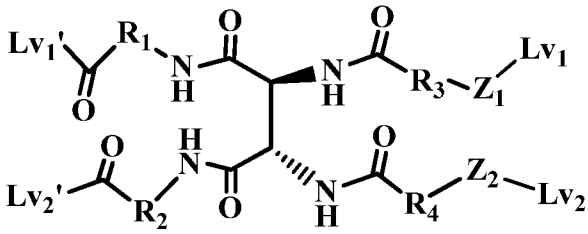

(XII-19),


(XII-20),


(XII-21),


(XII-22),


(XII-23),


(XII-24),

где «-----», «〰», Q, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, $R_{5'}$, Z_1, Z_2, Lv_1, Lv_2, Lv_1', Lv_2', X^1 и $X^{1'}$ определены так же, как и выше.

11. Конъюгат по п. 1, отличающийся тем, что Y_1, Y_2, Z_1 и Z_2 могут связываться с парами тиолов клеточно-связывающего агента/молекулы посредством восстановления межцепочечных дисульфидных связей клеточно-связывающего агента с *дитиотреитолом (DTT)*, дитиоэритритом (*DTE*), L-глутатионом (GSH), трис (2-карбоксиэтил)фосфином *(TCEP),* 2-меркаптоэтиламином (β-MEA) *или/и* бета-меркаптоэтанолом (β-ME, 2-ME)

12. Соединение конъюгата по п. 1, отличающееся тем, что Лекарственное средство$_1$ или Лекарственное средство$_2$ выбрано из:

(1). Химиотерапевтического средства выбранного из группы, состоящей из:

а). алкилирующих агентов, выбранных из группы, состоящей из азотистых ипритов: хлорамбуцила, хлорнафазина, циклофосфамида, дакарбазина, эстрамустина, ифосфамида, мехлоретамина, мехлорэтамин оксид гидрохлорида, манномустина, митобронитола, мельфалана, митолактола, пипобромана, новембихина, фенестерина, преднимустина, тиотепы, трофосфамида, урацильного иприта; CC-1065 и адозелезина, карзелезина, бизелезина или его синтетических аналогов; дуокармицина и его синтетических аналогов, димеров KW-2189, CBI-TMI и CBI; димеров бензодиазепина или димеров пирролобензодиазепина (PBD), димеров томаймицина, димеров индолинобензодиазепина, димеров имидазобензотиадиазепина или димеров оксазолидинобензодиазепина; нитрозомочевины: включая кармустин, ломустин, хлорозотоцин, фотемустин, нимустин, ранимустин; алкилсульфонатов: включая бусульфан, треосульфан, 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, триэтилентиофосфорамид и триметилоломеламин];

b). Растительных алкалоидов: выбранных из группы, состоящей из алкалоидов барвинка: включая винкристин, 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 (включая группу состоящую из криптофицина 1 и криптофицина 8); эпотилона, элеутеробина, дискодермолида, бриостатинов, долостатинов, ауристатинов, тубулизинов, цефалостатинов; панкратистатина; эрбулинов, саркодиктина; спонгистатина;
c). Ингибиторов ДНК-топоизомеразы: выбранных из группы эпиподофиллинов: включая 9-аминокамптотецин, камптотецин, криснатол, дауномицин, этопозид, этопозид фосфат, иринотекан, митоксантрон, новантрон, ретиноевые кислоты (или ретинолы), тенипозид, топотекан, 9-нитрокамптотецин или RFS 2000; и митомицины, и их аналоги;
d). Анти-метаболитов: выбранных из группы, состоящей из {[анти-фолатов: (ингибиторы DHFR: включая метотрексат, триметрексат, деноптерин, птероптерин, аминоптерин (4-аминоптероевая кислота) или другие аналоги фолиевой кислоты); ингибиторов IMP-дегидрогеназы: (включая микофеноловую кислоту, тиазофурин, рибавирин, EICAR); ингибиторов рибонуклеотидредуктазы: (включая гидроксимочевину, дефероксамин)]; [аналогов пиримидина: аналогов урацила: (включая анцитабин, азацитидин, 6-азауридин, капецитабин (кселода), кармофур, цитарабин, дидезоксуридин, доксифлуридин, эноцитабин, 5-фторурацил, флоксуридин, ратитрексед (томудекс)); аналогов цитозина: (включая цитарабин, цитозинарабинозид, флударабин); аналогов пурина: (включая азатиоприн, флударабин, меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин)]; пополнителей запаса фолиевой кислоты, фролиновой кислоты}; и ингибиторов никотинамидфосфорибозилтрансферазы (NAMPT);
e). Гормональной терапии: выбранной из группы, состоящей из {антагонистов рецепторов: [антиэстрогенов: (включая мегестрол, ралоксифен, тамоксифен); агонистов LHRH: (включая госкрклин, 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 KH 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)]};
f). ингибитора киназы, выбранного из группы состоящей из BIBW 2992 (анти-EGFR/Erb2), иматиниба, гефитиниба, пегаптаниба, сорафениба, дазатиниба, сунитиниба, эрлотиниба,

нилотиниба, лапатиниба, акситиниба, пазопаниба, вандетаниба, E7080 (анти-VEGFR2), мумбритиниба, понатиниба (AP24534), бафетиниба (INNO-406), бозутиниба (SKI-606), кабозантиниба, висмодегиба, инипариба, руксолитиниба, CYT387, акситиниба, тивозаниба, сорафениба, бевацизумаба, цетуксимаба, трастузумаба, ранибизумаба, панитумумаба, испинесиба;

g). Ингибиторов поли(АДФ-рибозо)полимеразы (ПАРП), выбранных из группы состоящей из олапариба, нирапариба, инипариба, талазопариба, велипариба, велипариба, CEP 9722 (Цефалон), E7016 (Эизаи), BGB-290 (БеиГен), 3-аминобензамида.

h). Антибиотиков, выбранных из группы, состоящей из энедииновых антибиотиков (выбранных из группы, состоящей из калихеамицина, калихеамицина γ1, δ1, α1 или β1; динемицина, включая динемицин А и дезоксидинемицин; эсперамицина, кедарцидина, С-1027, мадуропептина или неокарзиностатинового хромофора и родственных хромопротеиновых хромофоров энедииновых антиобиотиков), аклациномизинов, актиномицинов, аутрамицинов, азасеринов, блеомицинов, кактиномицинов, карабицинов, карминомицинов, карзинофилинов; 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, зиностатина, зорубицина;

i). Поликетида (ацетогенина), булатацина и булатацинона; гемцитабина, эпоксомицинов и карфилзомиба, бортезомиба, талидомида, леналидомида, помалидомида, тозедостата, зибрестата, PLX4032, STA-9090, стимувакса, алловектин-7, ксегевы, провенжа, йервоя, ингибиторов изопренилирования и ловастатина, допаминергичных нейротоксинов и 1-метил-4-фенилпиридиниевого иона, ингибиторов клеточного цикла (выбранных из стауроспорина), актиномицинов (включая актиномицин D, дактиномицин), аманитинов, блеомицинов (включая блеомицин А2, блеомицин В2, пепломицин), антрациклинов (включая даунорубицин, доксорубицин (адриамицин), идарубицина, эпирубицина, пирарубицина, зорубицина, метоксантрона, ингибиторов MDR или верапамила, ингибиторов Ca^{2+} -АТФазы или тапсигаргинв, ингибиторов гистондеацетилазы (включая вориностат, ромидепсин, панобиностат, вальпруевую кислоту, моцетиностат (MGCD0103), белиностат, PCI-24781, энтиностат, SB939, ресминостат, гивиностат, AR-42, CUDC-101, сульфорафан, трихостатин А); тапсигаргина, целекоксиба, глитазонов, эпигаллокатехина галлат, дисульфирама, салиноспорамида А; антиадреналовых средств,

выбранных из группы, состоящей из аминоглутетимида, митотана, трилостана; ацеглатона; альдофосфамидного гликозида; аминолевулиновой кислоты; амсакрина; арабинозида, бестрабуцила; бизантрена; эдатраксата; дефофамина; демеколцина; диазиквона; эфлорнитина (DFMO), эльфомитина; эллиптиния ацетата, этоглюцида; нитрата галлия; гацитозина, гидроксимочевины; 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, роридина А и ангуидина); уретана, миРНК, антисмысловых лекарственных средств;

(2). Агента против аутоиммуных заболеваний: циклоспорина, циклоспорина А, аминокапроновой кислоты, азатиоприна, бромокриптина, хлорамбуцила, хлорохина, циклофосфамида, кортикостероидов (включая группу, состоящую из амцинонида, бетаметазона, будезонида, гидрокортизона, флунизолида, флутиказона пропионата, флуокортолона даназола, дексаметазона, триамцинолона ацетонида, беклометазона дипропионата), DHEA, энанерцепта, гидроксихлорохина, инфликсимаба, мелоксикама, метотрексата, мофетила, микофенилата, преднизона, сиролимуса, такролимуса.

(3). Агентов против инфекционного заболевания, включающих:

a). 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: биапенем, дорипенем, эртапенем, имипенем/циластатин, меропенем, панипенем;

e). Цефемы: карбацефем (лоракарбеф), цефацетрил, цефаклор, цефрадин, цефадроксил, цефалониум, цефалоридин, цефалотин или цефалосин, цефалексин, цефалоглицин, цефамандол, цефапирин, цефатризин, цефазафлур, цефаседон, 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, цефуроксим, цефузонам, цефамицин (цефокситин, цефотетан, цефметазол), оксацефем (фломоксеф, латамоксеф);

f). Гликопептиды: блеомицин, ванкомицин (оритаванцин, телаванцин), тейкопланин (далбаванцин), рамопланин;

g). Глицилциклины: тигециклин;

h). 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, флуритромицин, 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 B;

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). Стрептограмины: пристинамицин, хинупристин/дальфопристин;

r). Сульфонамиды: мафенид, пронтозил, сульфацетамид, сульфаметизол, сульфанилимид, сульфасалазин, сульфизоксазол, триметоприм, триметоприм-сульфаметоксазол (ко-тримоксазол);

s). Стероидные антибактериальные средства: выбранные из фузидовой кислоты;

t). Тетрациклины: доксициклин, хлортетрациклин, кломоциклин, демеклоциклин, лимециклин, меклоциклин, метациклин, миноциклин, окситетрациклин, пенимециклин, ролитетрациклин, тетрациклин, глицилциклины (включая тигециклин);

u). 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:

a). Ингибиторы входа/слияния: аплавирок, маравирок, викривирок, *gp41* (энфувиртид), PRO 140, CD4 (ибализумаб);

b). Ингибиторы интегразы: ралтегравир, элвитегравир, глобоиднан А;

c). Ингибиторы созревания: бевиримат, вивекон;

d). Ингибиторы нейраминидазы**:** осельтамивир, занамивир, перамивир;

e). Нуклеозиды и нуклеотиды: абакавир, ацикловир, адефовир, амдоксовир, априцитабин, бривудин, цидофовир, клевудин, дексельвуцитабин, диданозин (ddI), элвуцитабин, 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 (3TC), l-нуклеозиды (включая группу состоящую из β- l -тимидин и β- l -2'-дезоксицитидин), пенцикловир, рацивир, рибавирин, стампидин, ставудин (d4T), тарибавирин (вирамидин), телбивудин, тенофовир, трифлуридин валацикловир, валганцикловир, зальцитабин (ddC), зидовудин (AZT);

f). Ненуклеозиды: амантадин, атевиридин, каправирин, диарилпиримидины (этравирин, рилпивирин), делавирдин, докозанол, эмивирин, эфавиренц, фоскарнет (фосфономуравьина кислота), имиквимод, интерферон-альфа, ловирид, 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, телапревир (VX-950), типранавир;

h). Другие типы антивирусных лекарственных средств: абзим, арбидол, каланолид А, церагенин, циановирин-н, диарилпиримидины, эпигаллокатехин галлат (EGCG), фоскарнет, гриффитсин, тарибавирин (вирамидин), гидроксимочевина, KP-1461, милтефозин, плеконарил, комбинированные гибридные ингибиторы рибавирин, селицилиб.

(5). Радиоизотопа, который может быть выбран из группы, состоящей из (радионуклидов) ^{3}H, ^{11}C, ^{14}C, ^{18}F, ^{32}P, ^{35}S, ^{64}Cu, ^{68}Ga, ^{86}Y, ^{99}Tc, ^{111}In, ^{123}I, ^{124}I, ^{125}I, ^{131}I, ^{133}Xe, ^{177}Lu, ^{211}At или ^{213}Bi.

(6). Молекулы хромофора, которая обладает способностью поглощать ультрафиолетовый свет, флуоресцентный свет, инфракрасный свет, ближний инфракрасный свет, видимый свет; класс или подкласс ксантофоров, эритрофоров, иридофоров, лейкофоров, меланофоров, цианофоров, молекулы флуорофоров, которые представляют собой флуоресцентные химические соединения, переизлучающие свет после облучения, молекулы видимой фототрансдукции, фотофорные молекулы, люминесцентные молекулы; соединения люциферина; небелковые органические флуорофоры, выбранные из: производных ксантена (включая флуоресцеин, родамин, орегоновый зеленый, эозин и техаский красный); производных цианина: (включая цианин, индокарбоцианин, оксакарбоцианин, тиакарбоцианин и мероцианин); производные скварина и замещенные в кольце сквараины, включая красители Seta, SeTau и Square; производных нафталина (включая производные дансила и продана); производных кумарина; производных оксадиазола (включая пиридилоксазол, нитробензоксадиазол и бензоксадиазол); производных антрацена (включая антрахиноны, включая DRAQ5, DRAQ7 и CyTRAK Orange); производных пирена (включая каскадный синий); производных оксазина (включая нильский красный, нильский синий, крезиловый фиолетовый, оксазин 170). Производных акридина (включая профлавин, акридиновый оранжевый, акридиновый желтый). Производных арилметина (включая аурамин, кристаллический фиолетовый, малахитовый зеленый). Производных тетрапиррола (включая порфин, фталоцианин, билирубин); любые аналоги и производные следующих флуорофорных соединений, включающих CF краситель, зонды DRAQ и CyTRAK, BODIPY, Alexa Fluor, DyLight Fluor, Atto и Tracy, FluoProbes, красители Abberior, красители DY и MegaStokes, красители Sulfo Cy, HiLyte Fluor, Seta, SeTau и Square Dyes, красители Quasar Cal Fluor, красители SureLight (APC, RPEPerCP, Phycobilisomes), APC, APCXL, RPE, BPE, аллофикоцианин (APC), аминокумарин, конъюгаты APC-Cy7, BODIPY-FL, Cascade Blue, Cy2, Cy3, Cy3.5, Cy3B, Cy5, Cy5.5, Cy7, флуоресцеин, FluorX, гидроксикумарин, лисамин родамин B, люциферин желтый, метоксикумарин, NBD, Pacific Blue, Pacific Orange, конъюгаты

PE-Cy5, конъюгаты PE-Cy7, PerCP, R-фикоэритрин (PE), красный 613, Seta-555-азид, Seta-555-DBCO, Seta-555-NHS, Seta-580-NHS, Seta-680-NHS, Seta-780-NHS, Seta-APC-780, Seta-PerCP-680, Seta-R-PE-670, SeTau-380-NHS, SeTau-405-малеимид, SeTau-405-NHS, SeTau-425-NHS, SeTau-647-NHS, техаский красный, TRITC, TruRed, X- родамин, 7-AAD (7- аминоактиномицин D, CG- селективный), акридиновый оранжевый, хромомицин A3, CyTRAK оранжевый (красный свет возбуждения темный), DAPI, DRAQ5, DRAQ7, бромид этидия, Hoechst33258, Hoechst33342, LDS 751, митрамицин, пропидиум йодид (PI), SYTOX Blue, SYTOX Green, SYTOX Orange, тиазольный оранжевый, TO-PRO: цианиновый мономер, TOTO-1, TO-PRO-1, TOTO-3, TO-PRO-3, YOSeta-1, YOYO-1; флуорофорное соединение: включающее DCFH (дихородигидрофлуоресцеин, окисленная форма), DHR (дигидрородамин 123, окисленная форма, свет катализирует окисление), Fluo-3 (AM сложный эфир pH > 6), Fluo-4 (AM сложный эфир pH 7.2), Indo-1 (AM сложный эфир, низкий/высокий уровень кальция (Ca^{2+})), SNARF(pH 6/9), аллофикоцианин (APC), AmCyan1 (тетрамер, Clontech), AsRed2 (тетрамер, Clontech), Azami Green (мономер), азурит, B-фикоэритрин (BPE), Cerulean, CyPet, DsRed мономер (Clontech), DsRed2 ("RFP"), EBFP, EBFP2, ECFP, EGFP (слабый димер), Emerald (слабый димер), EYFP (слабый димер), GFP (мутация S65A), GFP (мутация S65C), GFP (мутация S65L), GFP (мутация S65T), GFP (мутация Y66F), GFP (мутация Y66H), GFP (мутация Y66W), GFPuv, HcRed1, J-Red, Katusha, Kusabira Orange (мономер, MBL), mCFP, mCherry, mCitrine, Midoriishi Cyan (димер, MBL), mKate (TagFP635, мономер), mKeima-Red (мономер), mKO, mOrange, mPlum, mRaspberry, mRFP1 (мономер), mStrawberry, mTFP1, mTurquoise2, P3 (комплекс фикобилизомы), Peridinin Chlorophyll (PerCP), R- фикоэритрин (RPE), T-Sapphire, TagCFP (димер), TagGFP (димер), TagRFP (димер), TagYFP (димер), tdTomato (тандемный димер), Topaz, TurboFP602 (димер), TurboFP635 (димер), TurboGFP (димер), TurboRFP (димер), TurboYFP (димер), Venus, GFP дикого типа, YPet, ZsGreen1 (тетрамер), ZsYellow1 (тетрамер) и их производные.

(7). Лигандов, связывающихся с клеткой, или агонистов рецепторов, которые могут быть выбраны из: Производных фолата; производных мочевины из глутаминовой кислоты; соматостатина и его аналогов (выбранные 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 Pyr-Gln-Arg-Leu-Gly-Asn-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH_2)/ гастрин-высвобождающий пептид (GRP); Нейротензиновых рецепторных лигандов

(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 (рецептор хондроитинсульфата протеогликана NG2) и F3 пептидов, проникающих в клетки (CPPs); пептидных гормонов, выбранных из группы, состоящей из агонистов и антагонистов рилизинг-фактор лютеинизирующего гормона (LHRH) и агониста гонадотропин-рилизинг-гормона (GnRH), воздействующих на выработку фолликулостимулирующего гормона (FSH) и выработку лютеинизирующего гормона (LH), а также на выработку тестостерона, выбранных из группы, состоящей из бусерелина (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser(OtBu)-Leu-Arg-Pro-NHEt), гонадорелина (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH_2), гозерелина (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-Ser(OtBu)-Leu-Arg-Pro-AzGly-NH_2), 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-NH_2), трипторелина (Pyr-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH_2), 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-NH_2), цетрореликса (Ac-D-2Nal-D-4-хлорPhe-D-3-(3- пиридил)Ala-Ser-Tyr-D-Cit-Leu-Arg-Pro-D-Ala-NH_2), 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-NH_2); рецепторов распознавания патернов (PRRs), выбранных из группы, состоящей из Toll-подобных рецепторов (TLRs), лектинов C-типа и Nodlike-рецепторов (NLRs); агонистов рецепторов кальцитонина; рецепторов интегрина и подтипов его рецепторов (выбранных из группы, состоящей из агонистов $\alpha v\beta_1$, $\alpha v\beta_3$, $\alpha v\beta_5$, $\alpha v\beta_6$, $\alpha_6\beta_4$, $\alpha_7\beta_1$, $\alpha_L\beta_2$, $\alpha_{IIb}\beta_3$) (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 диателo); переориентирующегося антитела с двойной аффинностью (DART, биспецифическое диателo); четырехвалентных тандемных антител (TandAb, димеризованное биспецифичное диателo); антикалин (производного липокалинов); аднектинов (10th FN3 (фибронектин)); разработанных белков с анкириновым повтором (DARPins); авимеров; рецепторов EGF и агонистов рецептора VEGF.

(8). Фармацевтически приемлемых солей, кислот, производных, гидратной или гидратированной соли; или кристаллической структуры; или оптического изомера, рацемата, диастереомера или энантиомера любого из вышеуказанных лекарственных средств.

13. Соединение конъюгата по п. 1, отличающееся тем, что Лекарственное средство$_1$ или Лекарственное средство$_2$ представляет собой молекулу хромофора, используется для обнаружения, мониторинга или изучения взаимодействий и/или функций связывающей клетку молекулы и/или взаимодействий конъюгата с целевой клеткой.

14. Соединение конъюгата по п. 1, отличающееся тем, что Лекарственное средство$_1$ или Лекарственное средство$_2$ представляет собой полиалкиленгликоли [содержащие поли(этиленгликоль) (PEG), поли(пропиленгликоль), сополимер этиленоксида или пропиленоксида или их аналоги], используется для продления периода полужизни клеточно-связывающей молекулы при введении млекопитающему.

15. Соединение конъюгата по п. 1, отличающееся тем, что Лекарственное средство$_1$ или Лекарственное средство$_2$ представляет собой клеточно-связывающий лиганд, агонист клеточного рецептора или рецептор клетки связывающей молекулы, используется в качестве нацеленного проводника/направления для доставки соединения конъюгата к злокачественным клеткам, или для модуляции или совместной стимуляции желаемого иммунного ответа, или для изменения сигнальных путей.

16. Соединение конъюгата по любому из п. 1 или п. 2, отличающееся тем, что Лекарственное средство$_1$ или Лекарственное средство$_2$ выбрано из группы, состоящей из тубулизинов, калихеамицинов, ауристатинов, майтанзиноидов, аналогов CC-1065, соединений даунорубицина и доксорубица, таксаноидов (таксанов), криптофицинов, эпотилонов, димеров бензодиазепинов (включая димеры пирролобензодиазепина (PBD), димеров томаямицина, димеров антрамицина, димеров индолинобензодиазепина, димеров имидазобензотиазепина или димеров оксазолидинобензодиазепина и их производных), калихеамицинов и энедииновых антибиотиков, актиномицинов, аматоксинов, аманитинов, азасеринов, блеомицинов, эпирубицинов, тамоксифена, идарубицина, доластатинов/ауристатинов (включая монометилауристатин E, MMAE , MMAF, ауристатин PYE, ауристатин TP, ауристатины 2-AQ, 6-AQ, EB (AEB), EFP (AEFP) и их аналоги), гелданамицинов, метотрексатов, тиотепы, виндезинов, винкристинов, гемиастерлинов, назумамидов, микрогининов, радиозуминов, альтеробактинов, микросклеродерминов, теонелламидов, эсперамицинов, эрбулинов, ингибиторов никотинамидфосфорибозилтрансферазы (NAMPT), миРНК, микроРНК, пиРНК, нуклеолитических ферментов и/или их фармацевтически приемлемых солей, кислот или/и

их аналогов, производных, гидрата или гидратированной соли; или кристаллической структуры; или оптического изомера, рацемата, диастереомера или энантиомера любого из вышеуказанных лекарственных средств.

17. Соединение конъюгата по пп. **1, 5, 6, 12, 13, 14, 15** или **16**, отличающееся тем, что агент/молекула, связывающая клетки, выбрана из группы, состоящей из антитела, белка, протела, нанотела, витамина (включая фолат), пептидов, полимерных мицелл, липосомы, носителя лекарственного средства на основе липопротеинов, носителя лекарственного средства в виде наночастиц, дендримера и указанной выше молекула или частицы, покрытой клеточно-связывающими лигандами, или комбинация указанного выше.

18. Конъюгат по любому из пп. **1, 5, 6, 12, 13, 14, 15, 16,** or **17,** в котором агент/молекула, связывающийся с клеткой, выбран из антитела, антитело-подобного белка, полноразмерного антитела (поликлонального антитела, моноклонального антитела, димеров антител, мультимеров антител) или мультиспецифичного антитела (выбранного из биспецифичного антитела, триспецифичного антитела или тетраспецифичного антитела); одноцепочечного антитела; фрагмента антитела, который связывается с клеткой-мишенью, моноклонального антитела; одноцепочечного моноклонального антитела или фрагмента моноклонального антитела, который связывается с клеткой-мишенью, химерного антитела; фрагмента химерного антитела, который связывается с клеткой-мишенью, домена антитела; фрагмент домена антитела, который связывается с клеткой-мишенью, антитела с измененной поверхностью, одноцепочечного антитела с измененной поверхностью или фрагмента антитела с измененной поверхностью, который связывается с клеткой-мишенью, гуманизированного антитела или антитела с измененной поверхностью, гуманизированного одноцепочечного антитела или фрагмента гуманизированного антитела, который связывается с клеткой-мишенью, антиидиотипических (анти-Id) антител, CDR, диатела, триатела, тетратела, миниантитела, проантитела, фрагмента проантитела, малых иммунных белков (SIP), лимфокина; гормона; витамина; фактора роста; колониестимулирующего фактора; или молекулы, переносящей питательные вещества в клетку, белка с большой молекулярной массой, наночастиц или полимеров, модифицированных антителами, или белками с большой молекулярной массой.

19. Молекулы конъюгата по любому из пп. 1, 5, 6, 12, 13, 14, 15, 16, 17, или 18, отличающиеся тем, что агент/молекула, связывающийся с клеткой, способен связываться с опухолевыми клетками, инфицированными вирусом клетками, инфицированными микроорганизмами клетками, инфицированными паразитами клетками, аутоиммунными клетками, активированными клетками, миелоидными клетками, активированными Т-

клетками, В-клетками или меланоцитами или любыми клетками, экспрессирующими любой из следующих антигенов или рецепторов: 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, CD211, CD212, CD213a1, CD213a2, CD214, CD215, CD216, CDw217, CDw218a, CDw218b, CD219, CD220, CD221, CD222, CD223, CD224, CD225, CD226, CD227, CD228, CD229, CD230, CD231, CD232, CD233, CD234, CD235a, CD235ab, CD235b, CD236, CD236R, CD237, CD238, CD239, CD240, CD240CE, CD240D, CD241, CD242, CD243, CD244, CD245, CD246, CD247, CD248, CD249, CD250, CD251, CD252, CD253, CD254, CD256, CD257, CD258, CD259, CD260, CD261, CD262, CD263, CD264, CD265, CD266, CD267, CD268, CD269, CD270, CD271, CD272, CD273, CD274, CD275, CD276 (B7-H3), CD277, CD278, CD279, CD280, CD281, CD282, CD283, CD284, CD285, CD286, CD287, CD288, CD289, CD290, CD291,

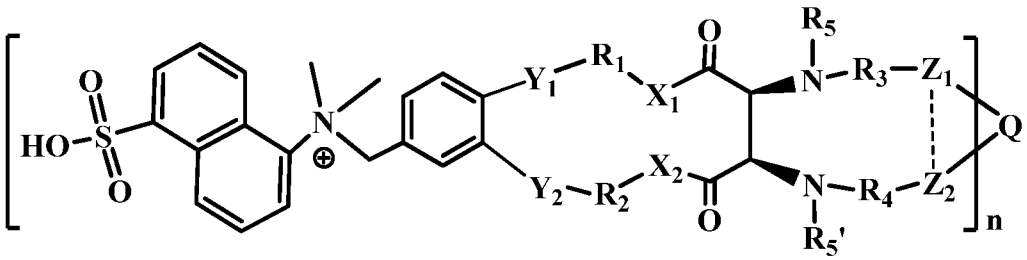
CD292, CDw293, CD294, CD295, CD296, CD297, CD298, CD299, CD300a, CD300c, CD300e, CD301, CD302, CD303, CD304, CD305, CD306, CD307, CD308, CD309, CD310, CD311, CD312, CD314, CD315, CD316, CD317, CD318, CD319, CD320, CD321, CD322, CD323, CD324, CDw325, CD326, CDw327, CDw328, CDw329, CD330, CD331, CD332, CD333, CD334, CD335, CD336, CD337, CDw338, CD339, 4-1BB, 5AC, 5T4 (гликопротеин трофобласта, TPBG, 5T4, Wnt-активируемый ингибиторный фактор 1 или WAIF1), аденокарциноманантиген, AGS-5, AGS-22M6, Активин-рецептор-подобная киназа 1, AFP, AKAP-4, ALK, альфа-интергрин, альфа- v бета6, амино-пептидаза N, амилоид бета, рецептор андрогена, ангиопоэтин 2, ангиопоэтин 3, аннексин A1, токсин-защитный антиген сибирской язвы, рецептор анти-трансферрина, AOC3 (VAP-1), B7-H3, Bacillus anthracisanthrax, BAFF (фактор активации B-клеток)), клетка B-лимфомы, bcr-abl, бомбезин, BORIS, C5, антиген C242, CA125 (углеводный антиген 125, MUC16), CA-IX (или CAIX, карбоангидраза 9), CALLA, CanAg, Canis lupus familiaris IL31, карбоангидраза IX, сердечный миозин, CCL11 (CC-мотив, хемокина 11), CCR4 (рецептор C-C хемокина типа 4, CD194), CCR5, CD3E (эпсилон), CEA (карциноэмбриональный антиген), CEACAM3, CEACAM5 (карциноэмбриональный антиген), CFD (фактор D), Ch4D5, холецистокинин 2 (CCK2R), CLDN18 (клаудин-18), агглютинирующий фактор A, CRIPTO, FCSF1R (рецептор колониестимулирующего фактора 1, CD115), CSF2 (колониестимулирующий фактор 2, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF)), CTLA4 (цитотоксический белок 4, ассоциированный с T-лимфоцитами), опухолевый антиген CTAA16.88, CXCR4 (CD184), C-X-C хемокиновый рецептор типа 4, циклическая АДФ-рибоза гидролаза, циклин B1, CYP1B1, цитомегаловирус, цитомегаловирусный гликопротеин B, дабигатран, DLL3 (дельта-подобный лиганд 3), DLL4 (дельта-подобный лиганд 4), DPP4 (дипептидил-пептидаза 4) DR5 (рецептор смерти 5), токсин типа 1 кишечной палочки E.coli, токсин типа 2 кишечной палочки E.coli, ED-B, EGFL7 (EGF-подобный белок, содержащий домен 7), EGFR, EGFRII, EGFRvIII, эндоглин (CD105), рецептор эндотелина B, эндотоксин, EpCAM (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-фетопротеин, фибрин II, бета-цепь, дополнительный домен фибронектина-B, 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-гликолилнейраминовая кислота, GM3, α-цепь рецептора

GMCSF, фактор дифференцировки роста 8, GP100, GPNMB (трансмембранный гликопротеин NMB), GUCY2C (гуанилатциклаза 2C, гуанилилциклаза C (GC-C), кишечная гуанилатциклаза, рецептор гуанилатциклаза C, рецептор термостабильного энтеротоксина (hSTAR), белки теплового шока, гемагглютинин, поверхностный антиген гепатита B, вирус гепатита B, HER1 (рецептор 1 эпидермального фактора роста человека), HER2, HER2/neu, HER3 (ERBB-3), IgG4, HGF/SF (фактор роста гепатоцитов/фактор рассеяния), HHGFR, ВИЧ-1, комплекс гистонов, HLA-DR (антиген лейкоцитов человека), HLA-DR10, HLA-DRB, HMWMAA, хорионический гонадотропин человека, HNGF, разброс киназа рецептора рассеяния, HPV E6/E7, Hsp90, hTERT, ICAM-1 (молекула межклеточной адгезии 1), идиотип, IGF1R (IGF-1, рецептор инсулиноподобного фактора роста 1), IGHE, IFN-γ, гемаглютинин вируса гриппа, IgE, IgE область Fc, IGHE, интерлейкины (например, 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, ILGF2 (инсулиноподобный фактор роста 2), интегрины (α4, αIIbβ3, αvβ3, α4β7, α5β1, α6β4, α7β7,αllβ3, α5β5, αvβ5), интерферон гамма-индуцированный белок, ITGA2, ITGB2, KIR2D, LCK, Le, Legumain, 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-х доменный член 1 подсемейства A), MSLN (мезотелин), MUC1 (Mucin 1, ассоциированный с клеточной поверхностью (MUC1) или полиморфный эпителиальный муцин (PEM)), MUC1-KLH, MUC16 (CA125), MCP1 (хемотаксический белок 1 моноцитов), Melan-A/MART1, ML-IAP, MPG, MS4A1 (белок мембранного охвата 4-х 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 клетки 1, CD279), PDGF-Rα (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 d, протеиназа 3 (PR1), рак предстательной железы, PS (фосфатидилсерин), клетки карциномы предстательной железы, Pseudomonas aeruginosa,

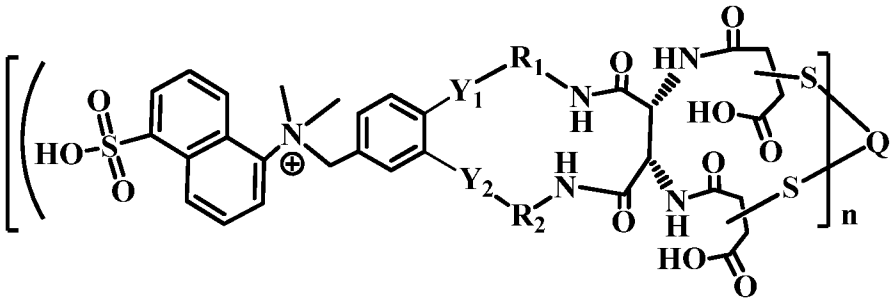
PSMA, PSA, PSCA, гликопротеин вируса бешенства, RHD (Rh полипептид 1 (RhPI), CD240), резус-фактор, RANKL, рецепторы RANTES (CCR1, CCR3, CCR5), RhoC, мутант Ras, RGS5, ROBO4, респираторно-синцитиальный вирус, RON, точки инициации транслокации саркомы, SART3, склеростин, SLAMF7 (член семейства SLAM 7), селектин P, SDC1 (синдекан 1), sLe(a), соматомедин C, SIP (сфингозин-1-фосфат), соматостатин, белок 17 сперматозоидов, SSX2, STЭAP1 (шести трансмембранный эпителиальный антиген продстательной железы 1), STЭAP2, STn, TAG-72 (ассоциированный с опухолью гликопротеин 72) , сурвивин, Т-клеточный рецептор, Т-клеточный трансмембранный белок, TEM1 (опухолевый эндотелиальный маркер 1), TENB2, тенасцин C (TN-C), TGF-α, TGF-β (трансформирующий фактор роста бета), TGF-β1, TGF -β2 (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), TNFRSF13B (член суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли 13B), TPBG (гликопротеин трофобласта), TRAIL-R1 (рецептор 1 лиганда индуцирующего некроз апоптоз опухоли), TRAILR2 (рецептор смерти 5 (DR5)), ассоциированный с опухолью кальциевый сигнальный преобразователь 2, специфичное для опухоли гликозилирование MUC1, рецептор TWEAK, TYRP1 (гликопротеин 75), TROP-2, TRP-2, тирозиназа, VCAM-1 (CD106), VEGF, VEGF-A, VEGF-2 (CD309), VEGFR-1, VEGFR2 или виментин, WT1, XAGE 1 или клетки, экспрессирующие любые рецепторы инсулинового фактора роста или любые рецепторы эпидермального фактора роста.

20. Клетки рака по п. 19. выбранные 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, клеток немелкоклеточного рака, клеток рака яичников, злокачественных клеток или любых клеток, которые растут и делятся в нерегулируемой, ускоренной манере приводя к раку.

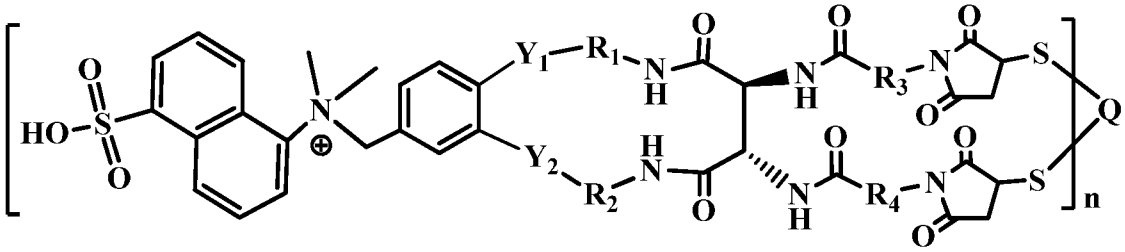
21. Соединение конъюгата по п. 1, отличающееся тем, что Лекарственное средство$_1$ или Лекарственное средство$_2$ представляет собой молекулу хромофора, и выбрано из группы, состоящей из структур Ac01, Ac02, Ac03, Ac04, Ac05, Ac06 и Ac07, Ac08, Ac09, Ac010 и Ac11 указанных ниже:



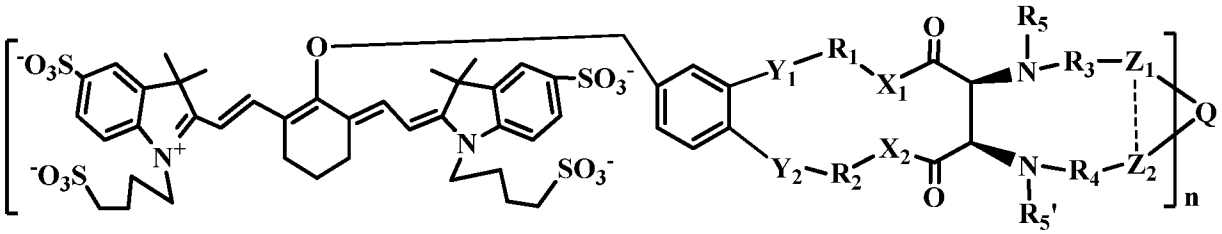
Ac01,



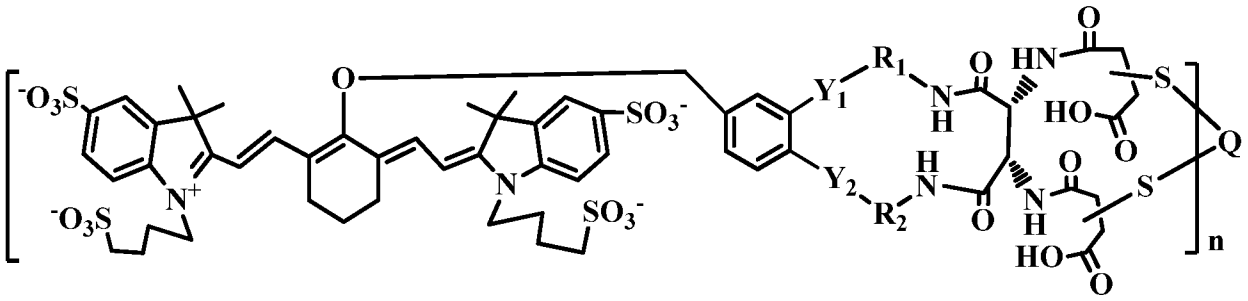
Ac02,



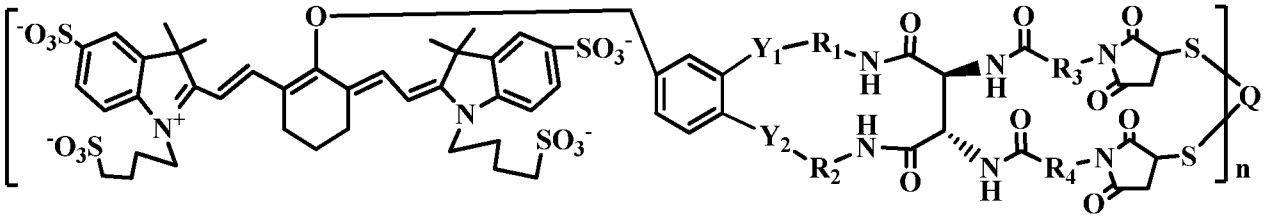
Ac03,



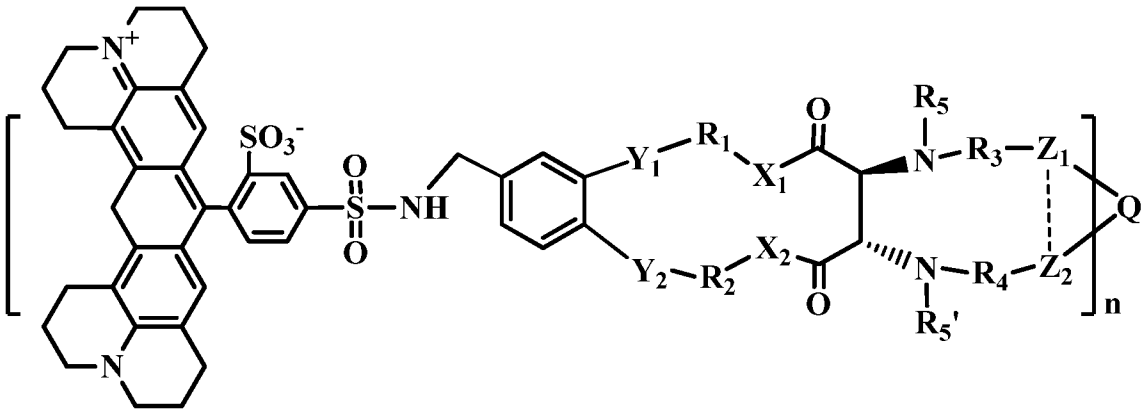
Ac04,



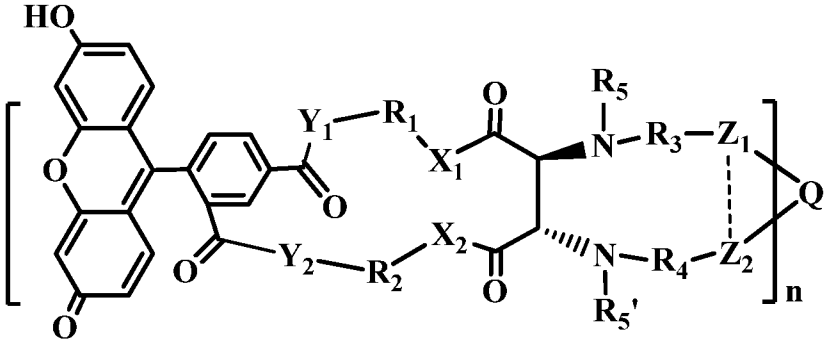
Ac05,



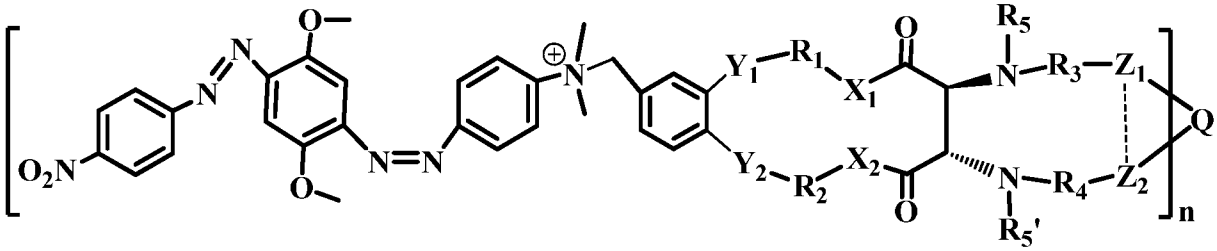
Ac06,



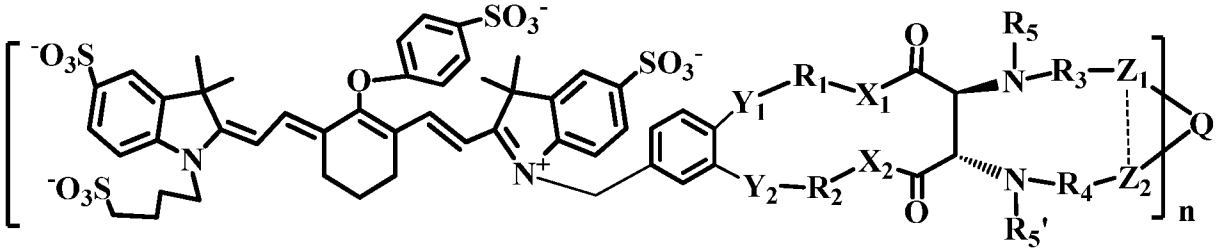
Ac07,



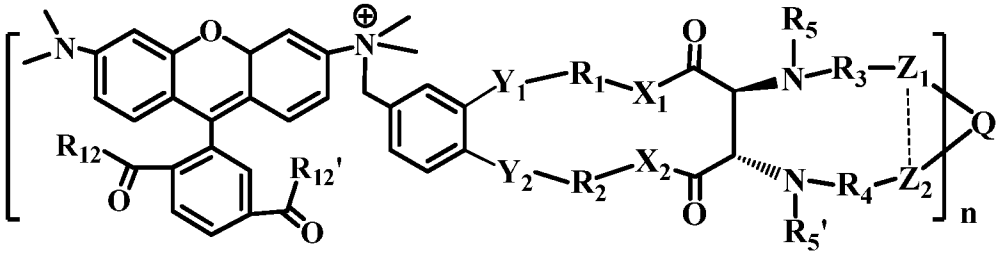
Ac08,



Ac09,



Ac10 (конъюгат IR800CW)

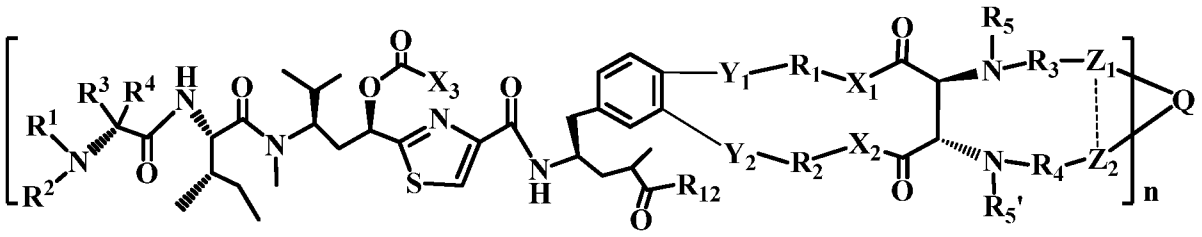


Ac11,

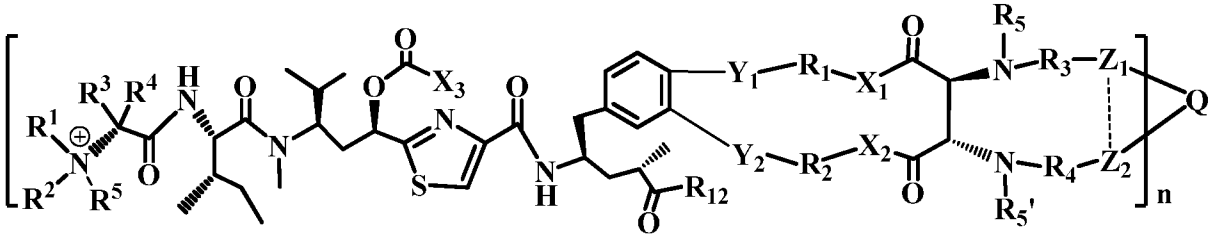
где «-----», Q, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, и n определены так же, как выше; R_{12} и R_{12}' независимо представляют собой OH, NH_2, NHR_1, $NHNH_2$, NHNHCOOH, O-R_1-COOH, NH-R_1-COOH, NH-$(Aa)_n$COOH, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2OH$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2COOH$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2COOH$,

$O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHSO_3H$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHSO_3H$, R_1-$NHSO_3H$, NH-R_1-$NHSO_3H$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, R_1-$NHPO_3H_2$, R_1-OPO_3H_2, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2OPO_3H_2$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, OR_1-$NHPO_3H_2$, NH-R_1-$NHPO_3H_2$, NH-Ar-COOH, NH-Ar-NH_2, где p = 0-5000, Aa представляет собой аминокислоту, (Aa_n содержит одинаковые или разные, природные или неприродные аминокислоты, n = 1-30.

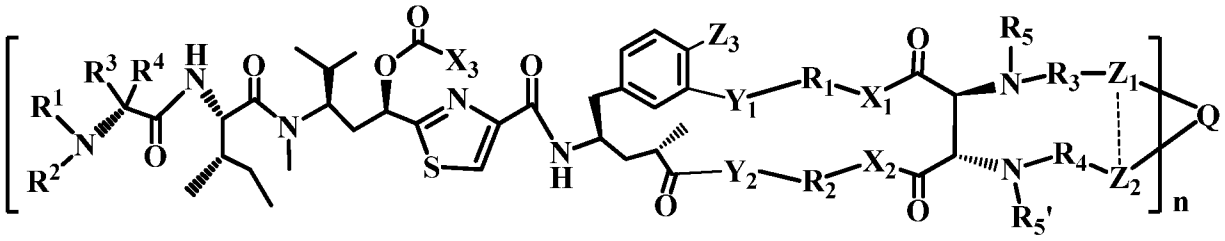
22. Соединение конъюгата по п. 1, отличающееся тем, что Лекарственное средство$_1$ или Лекарственное средство$_2$ представляет собой аналог тубулизина, выбранный из структур T01, T02, T03, T04, T05, T06 T07, T08, T09, T10, T11, T12, T13, T14, T15, T16, T017, T18, T19, T20, T21, T22 и T23 указанных ниже:



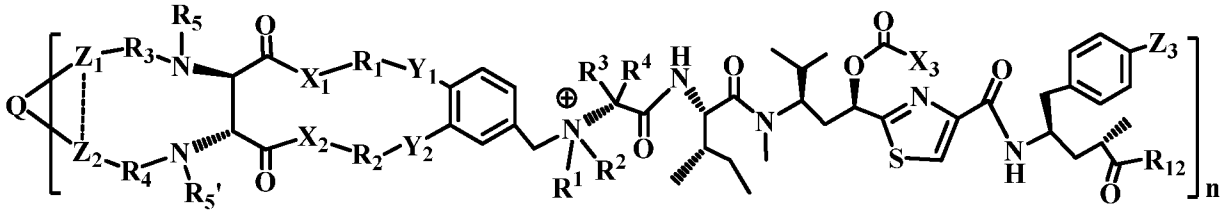
T01,



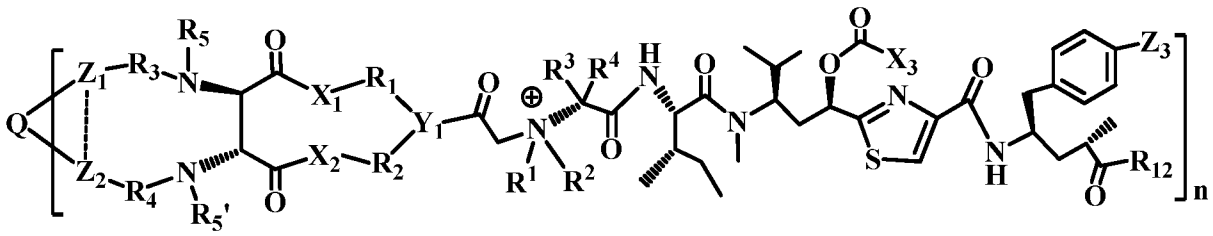
T02,



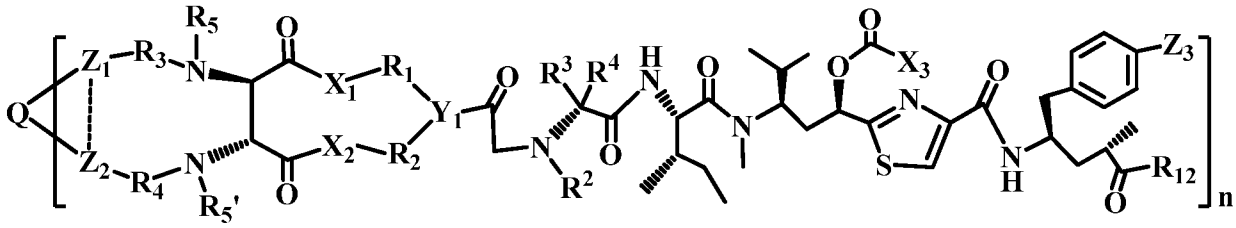
T03,



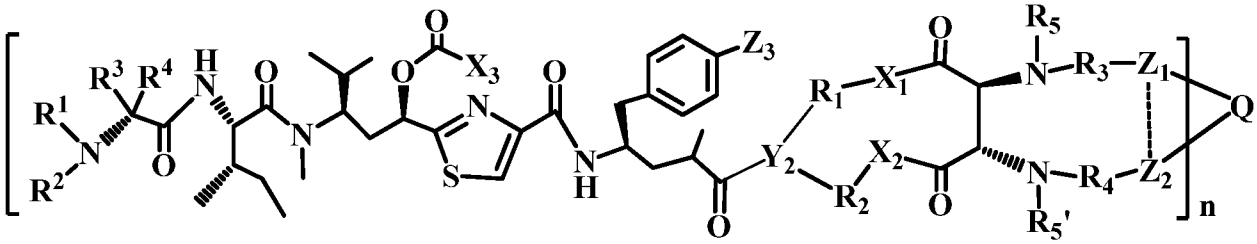
T04,



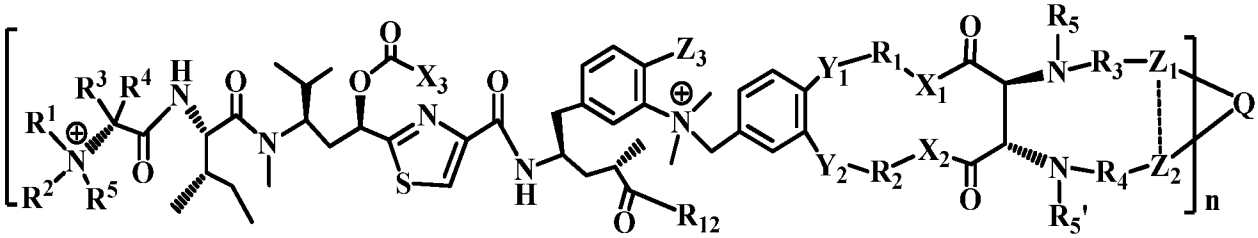
T05



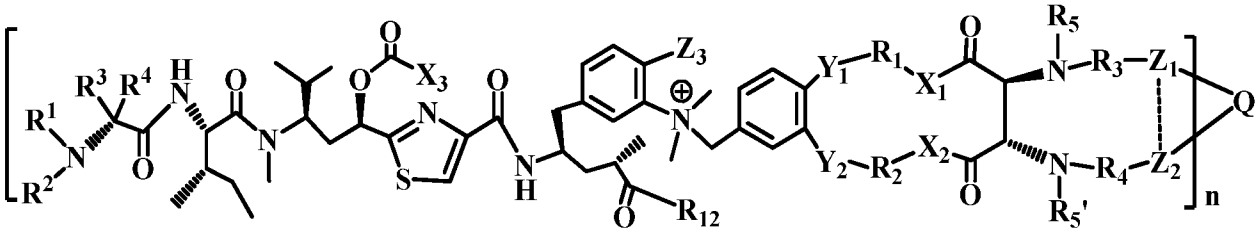
T06



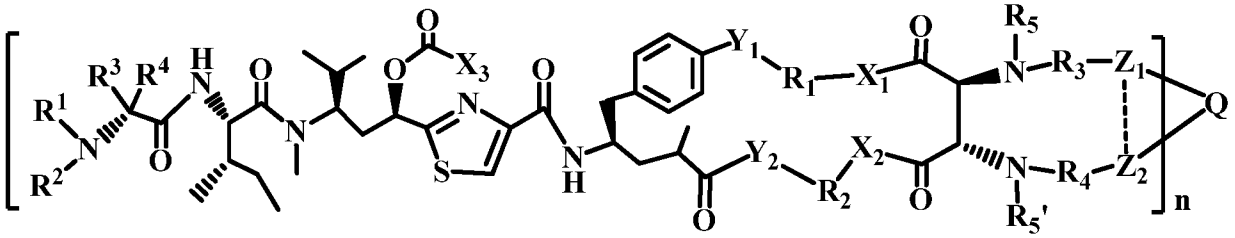
T07



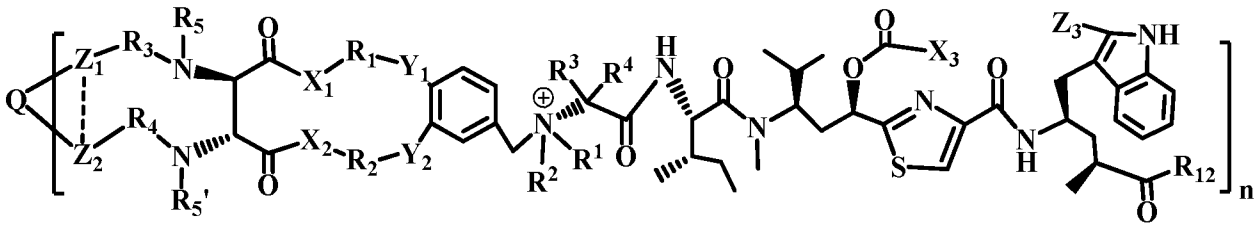
T08



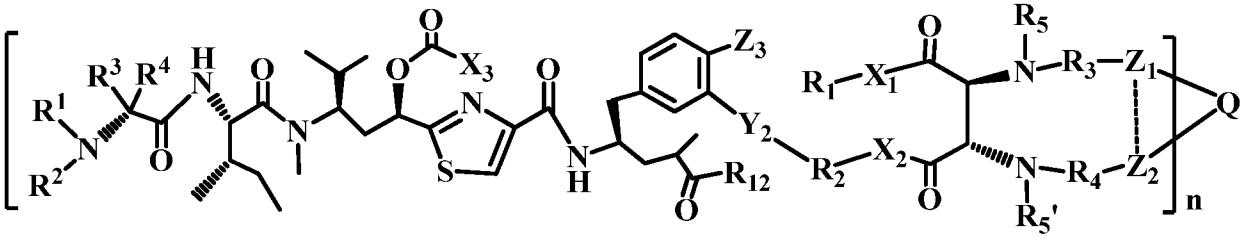
T09



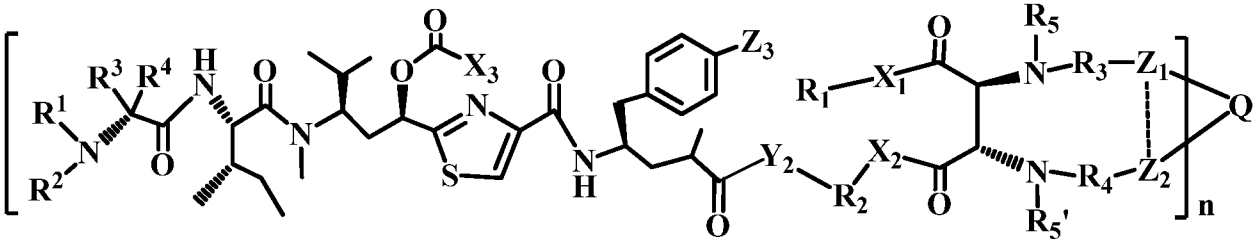
T10



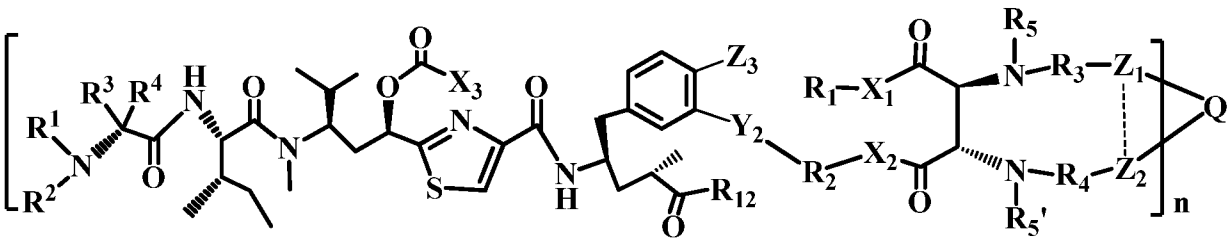
T11,



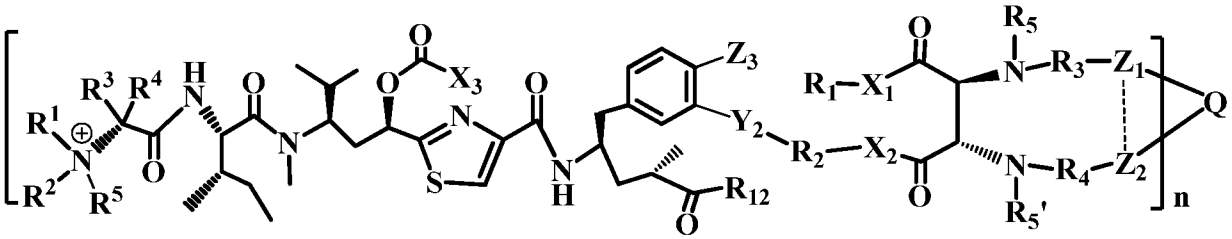
T12,



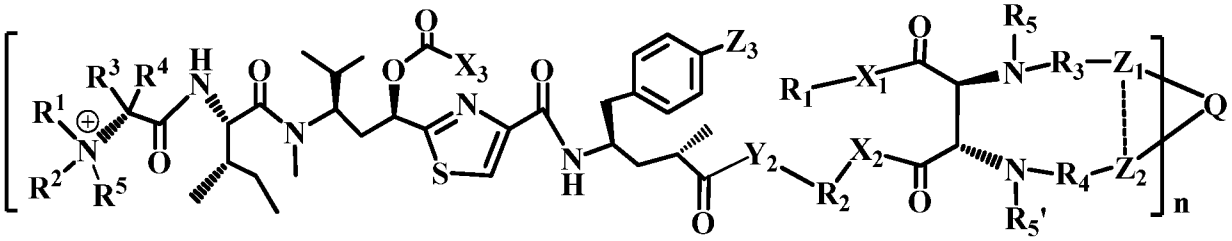
T13,



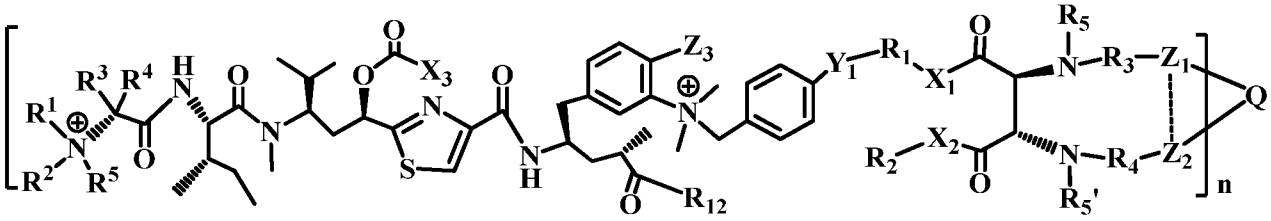
T14,



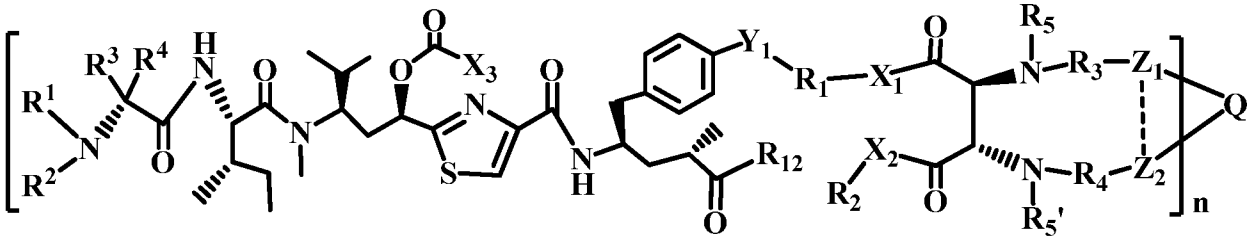
T15,



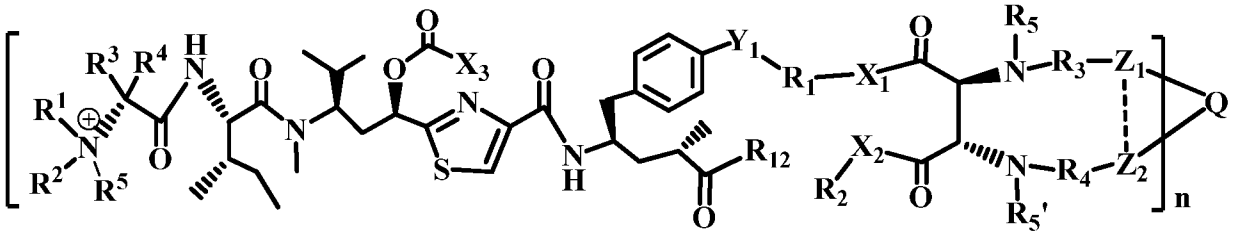
T16,



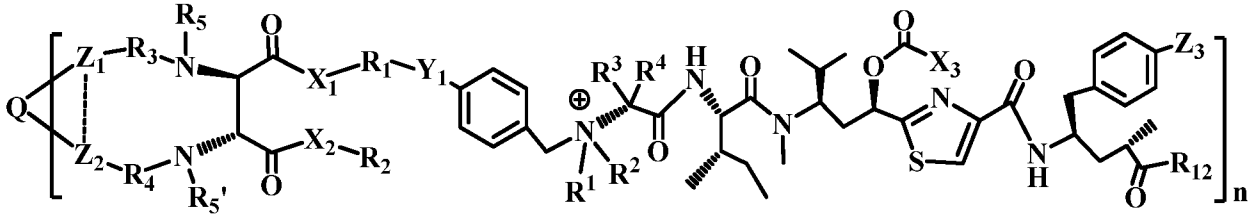
T17,



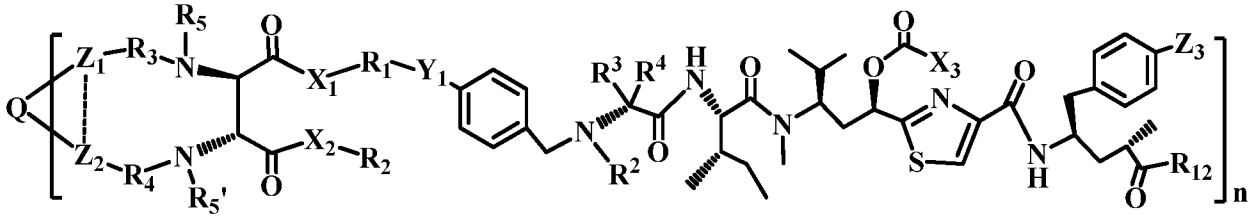
T18,



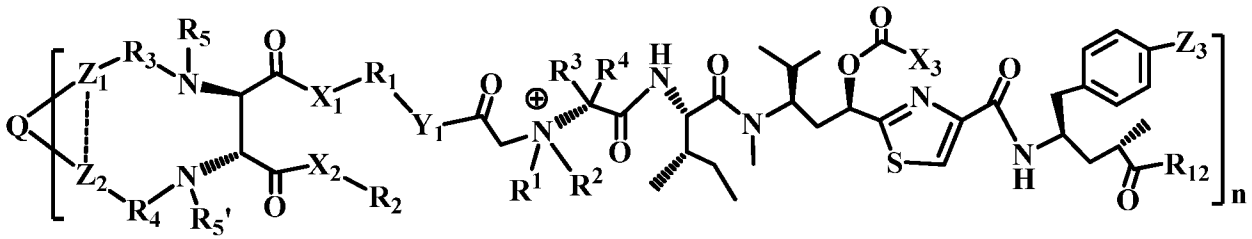
T19,



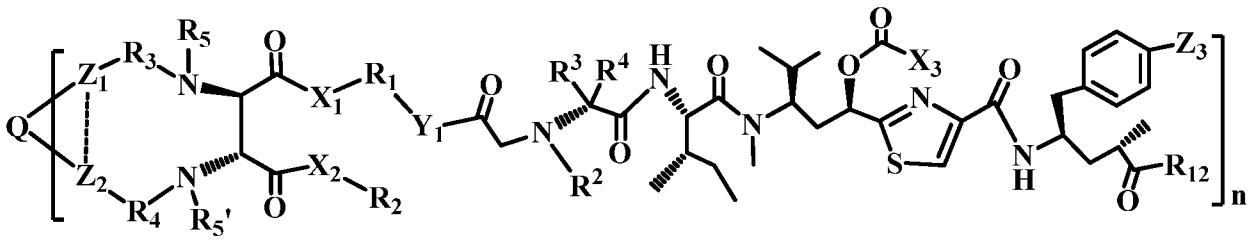
T20,



T21,



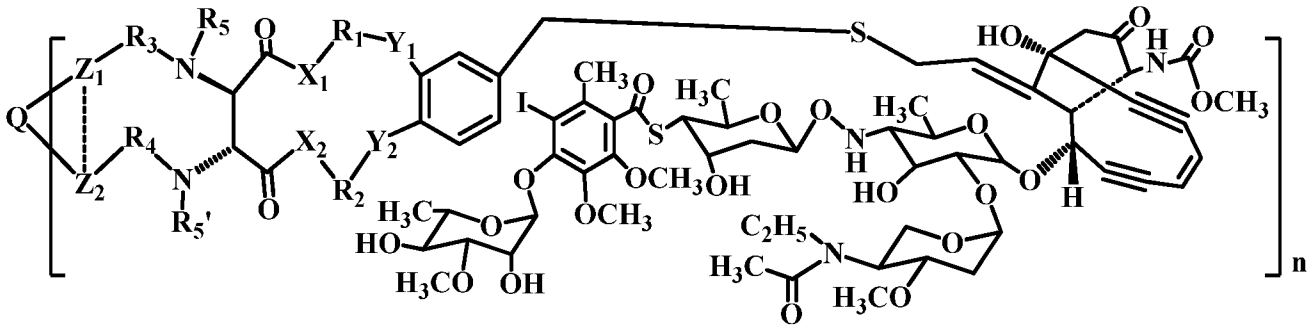
T22,



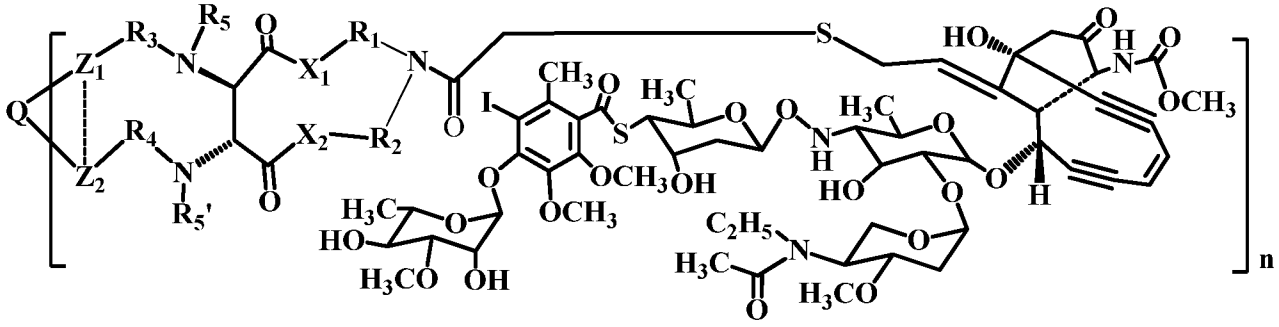
T23,

где «-----», Q, X_1, X_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Aa, $(Aa)_n$, Z_1, Z_2, p, и n определены так же, как и выше; Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, 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, C(O)NHNHC(O) и $C(O)NR_1$; mAb представляет собой антитело, предпочтительно моноклональное антитело; R_{12} представляет собой OH, NH_2, NHR_1, $NHNH_2$, NHNHCOOH, O-R_1-COOH, NH-R_1-COOH, NH-$(Aa)_n$COOH, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2OH$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, NR_1R_1', NHOH, $NHOR_1$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2COOH$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2COOH$, NH-Ar-COOH, NH-Ar-$NH_2$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHSO_3H$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHSO_3H$, R_1-$NHSO_3H$, NH-R_1-$NHSO_3H$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, OR_1, R_1-$NHPO_3H_2$, R_1-OPO_3H_2, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2OPO_3H_2$, OR_1-$NHPO_3H_2$, NH-R_1-$NHPO_3H_2$, $NH(CH_2CH_2NH)_pCH_2CH_2NH_2$, $NH(CH_2CH_2S)_pCH_2CH_2NH_2$, $NH(CH_2CH_2NH)_pCH_2CH_2OH$, $NH(CH_2CH_2S)_pCH_2CH_2OH$, NH-$R_1$-$NH_2$, или $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$; R^1, $R^{1'}$, R^2, R^3, R^4 и R^5 независимо представляют собой H, C_1-C_8 линейный или разветвленный алкил, амид или амины; C_2-C_8 арил, алкенил, алкинил, гетероарил, гетероалкил, алкилциклоалкил, сложный эфир, простой эфир, гетероциклоалкил или ацилоксиламины; или пептиды, содержащие 1-8 аминокислот, или полиэтиленокси-звено, имеющее формулу $(OCH_2CH_2)_p$ или $(OCH_2CH(CH_3))_p$, где p равно целому числу от 1 до около 5000; два R: R^1R^2, R^2R^3, R^1R^3 или R^3R^4 могут образовывать 3-8-членное циклическое кольцо из алкильной, арильной, гетероарильной, гетероалкильной или алкилциклоалкильной группы; X_3 представляет собой H, CH_3, CH_2CH_3, C_3H_7 или $X_1'R_1'$, где X_1' представляет собой NH, $N(CH_3)$, NHNH, O или S; R_1' представляет собой H или C_1-C_8 линейный или разветвленный алкил, арил, гетероарил, гетероалкил, алкилциклоалкил или ацилоксиламины; R_3' представляет собой H или C_1-C_6 линейный или разветвленный алкил; Z_3 представляет собой H, $COOR_1$, NH_2, NHR_1, OR_1, $CONHR_1$,$NHCOR_1$, $OCOR_1$, $OP(O)(OM_1)(OM_2)$, $OCH_2OP(O)(OM_1)(OM_2)$, OSO_3M_1, R_1, O-гликозид (глюкозид, галактозид, маннозид, глюкуронозид/глюкуронид, аллозид, фруктозид и др.), NH-гликозид, S-гликозид или CH_2-гликозид; M_1 и M_2 независимо представляют собой H, Na, K, Ca, Mg, NH_4, $NR_1R_2R_3$.

23. Соединение конъюгата по п. 1, отличающееся тем, что Лекарственное средство$_1$ или Лекарственное средство$_2$ представляет собой аналог калихеамицина, выбранный из структур C01 и C02, указанных ниже:



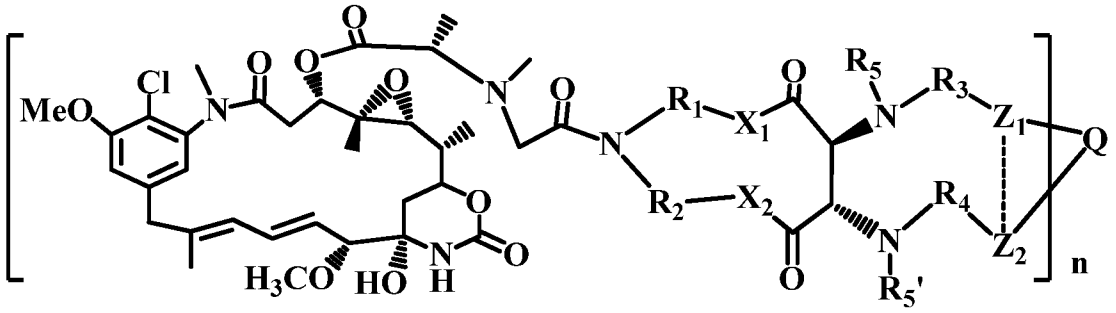
C01.



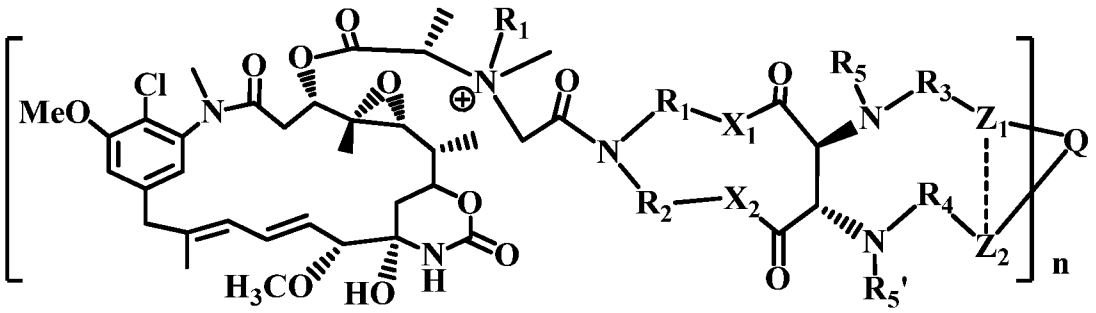
C02

где "-----", Q, X_1 X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, и n определены так же, как описано выше; предпочтительно X_1 X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, 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, C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1.

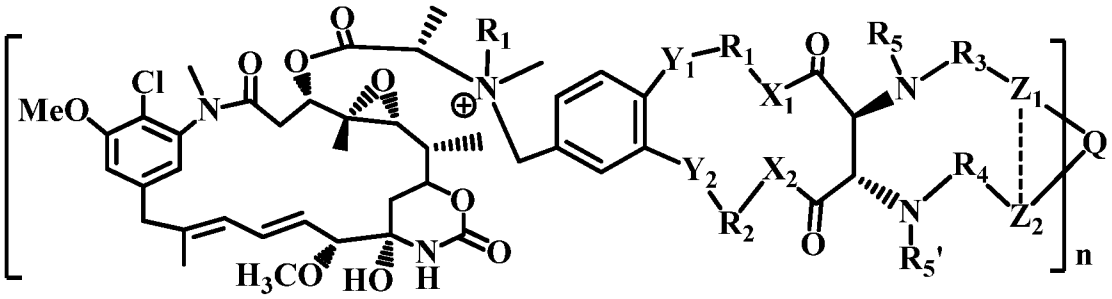
24. Соединение конъюгата по п. 1, отличающееся тем, что Лекарственное средство$_1$ или Лекарственное средство$_2$ представляет собой аналог майтансиноида, выбранный из следующих структур My01, My02, My03, My04, My05, My06, My07 и My08:



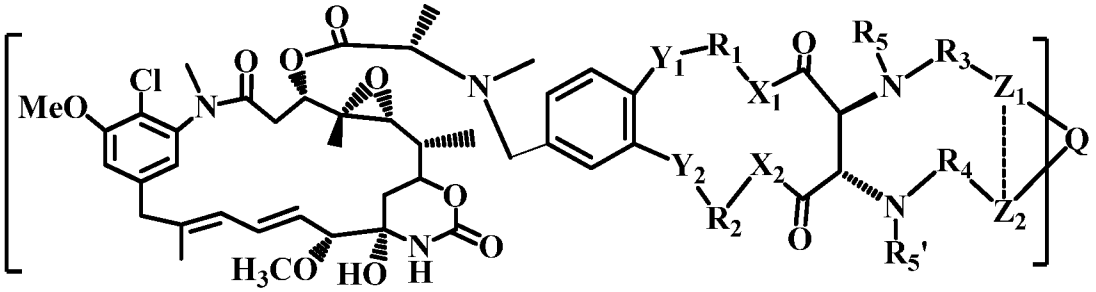
My01,



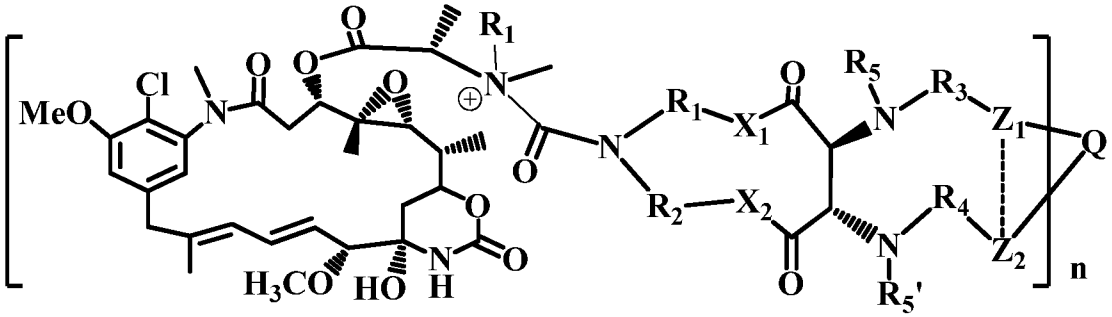
My02,



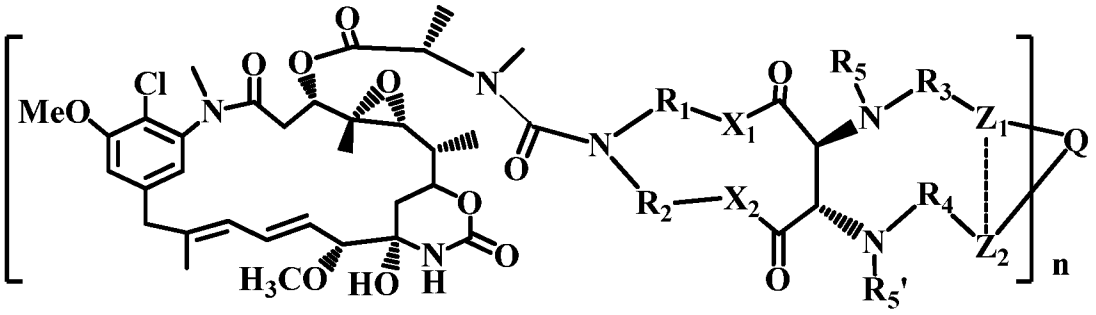
My03,



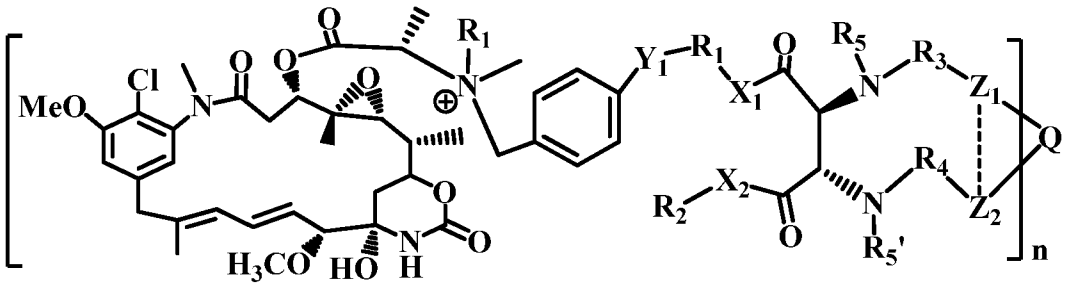
My04,



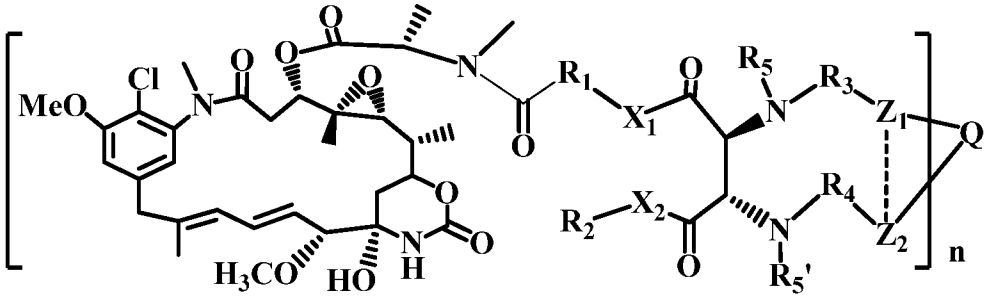
My05,



My06,



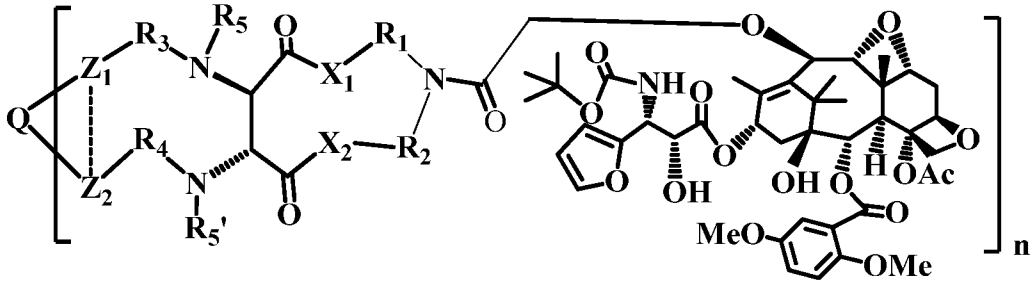
My07,



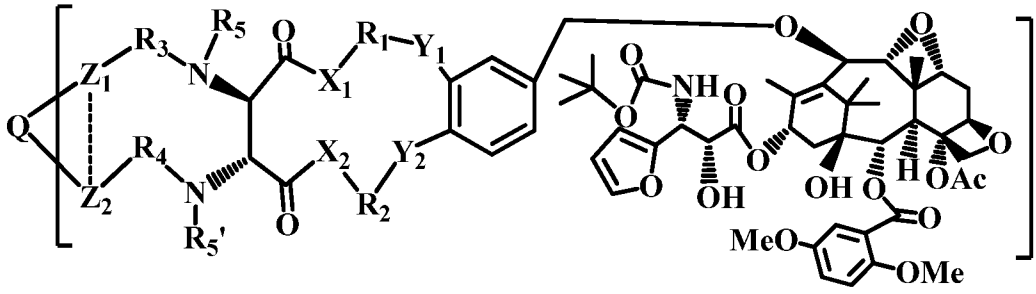
My08,

где "-----", Q, X_1 X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, и n определены так же, как описано выше; предпочтительно X_1 X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, 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, C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1.

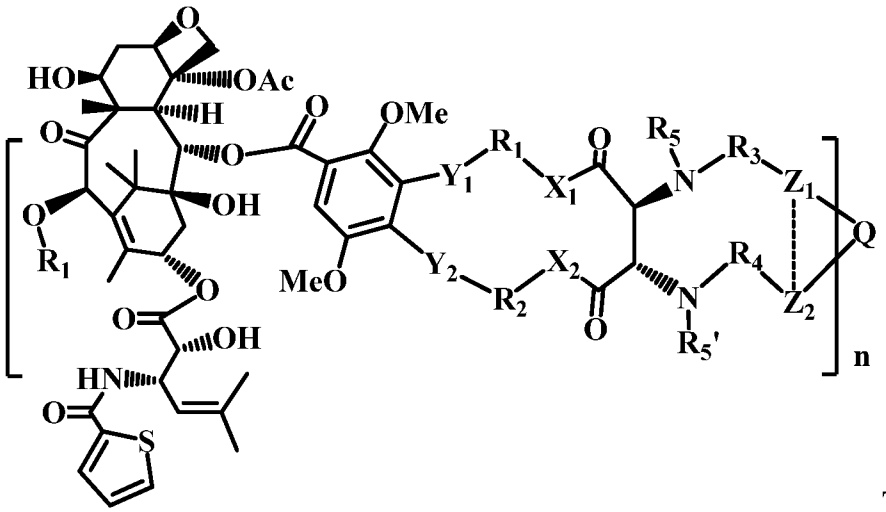
25. Соединение конъюгата по п. 1, отличающееся тем, что Лекарственное средство$_1$ или Лекарственное средство$_2$ представляет собой аналог таксана, выбранный из структур Tx01, Tx02 и Tx03, указанных ниже:



Tx01



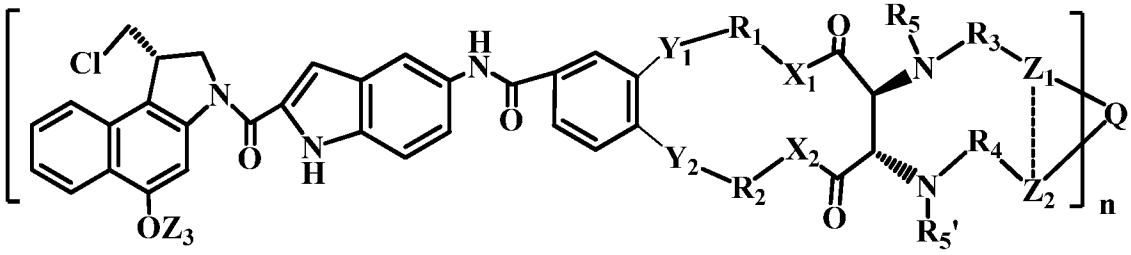
Tx02



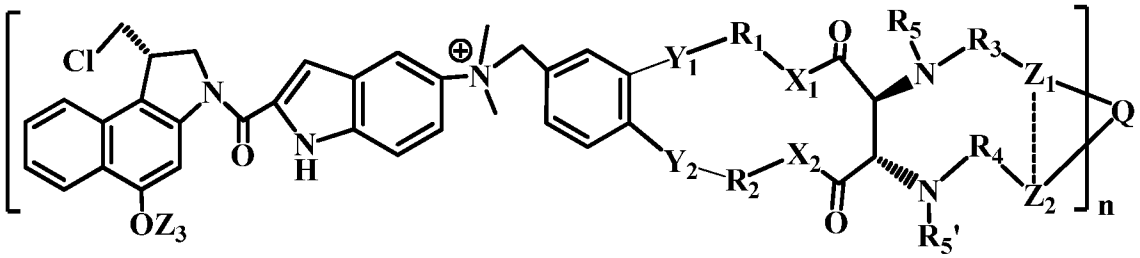
Tx03

где "-----", Q, X_1 X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, и n определены так же, как описано выше; предпочтительно X_1 X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, 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, C(O)NHNHC(O) и $C(O)NR_1$.

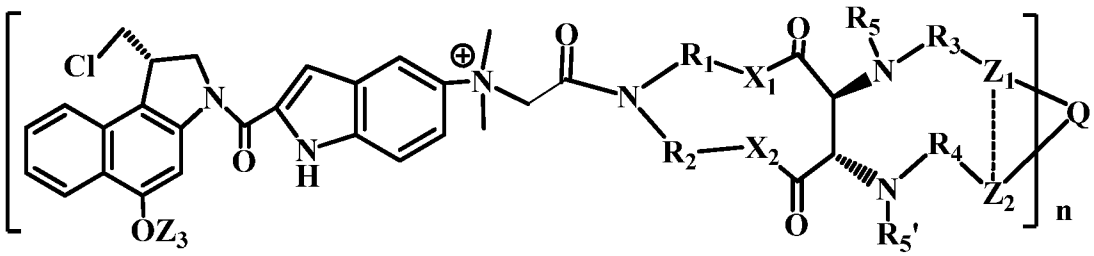
26. Соединение конъюгата по п. 1, отличающееся тем, что Лекарственное средство$_1$ или Лекарственное средство$_2$ представляет собой аналог CC-1065 и/или аналог дуокармицина, выбранный из структур CC01, CC02, CC03, CC04, CC05, CC06 и CC07, указанных ниже:



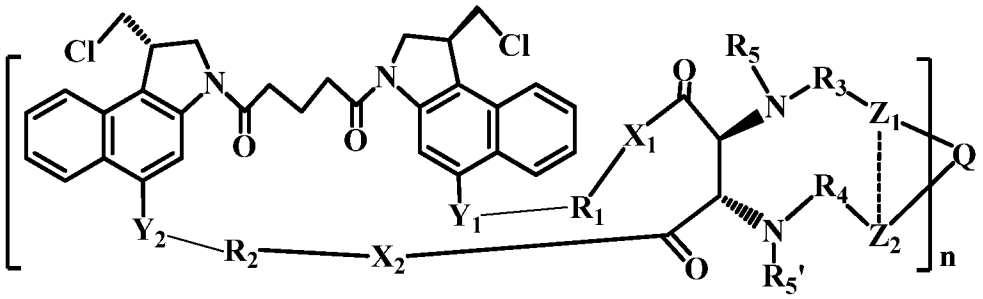
CC01,



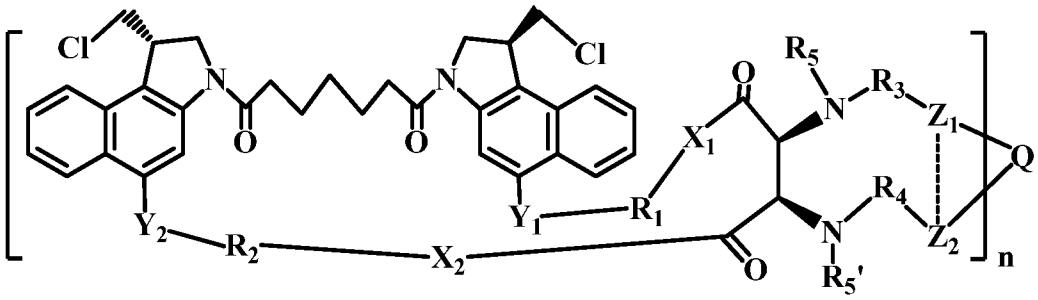
CC02,



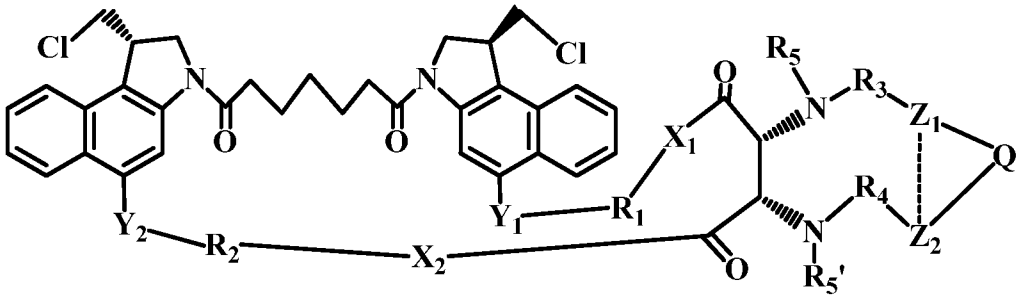
CC03,



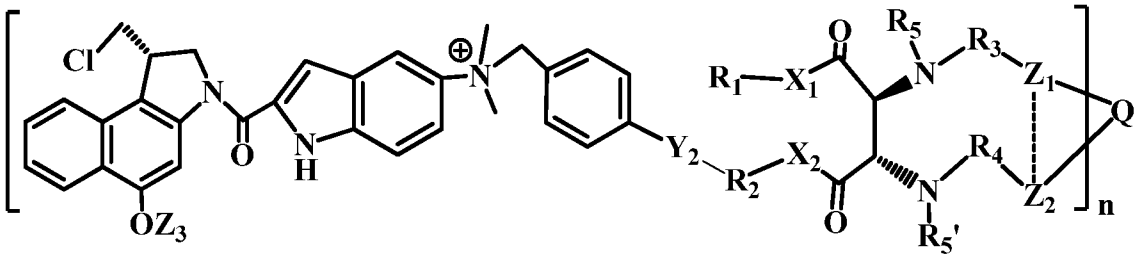
CC04,



CC05,



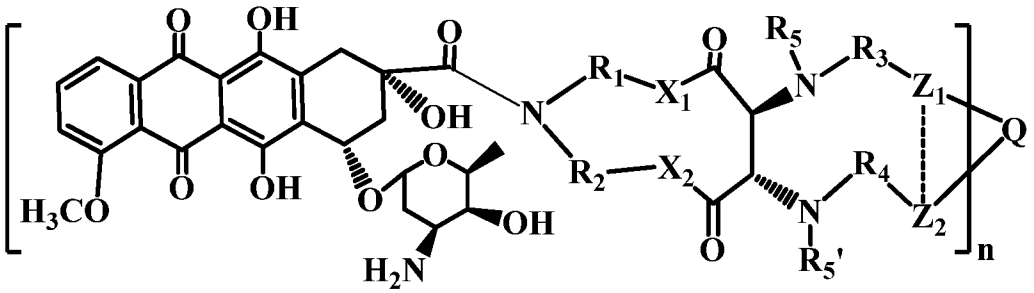
CC06,



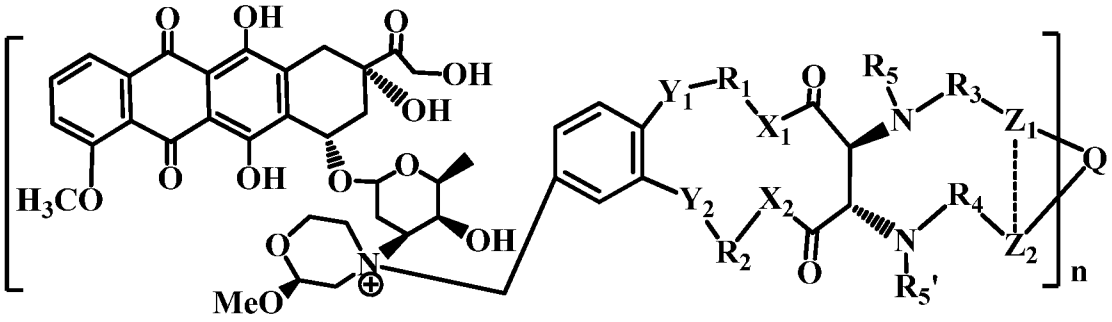
CC07,

где "-----", Q, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, и n определены так же, как описано выше ; предпочтительно X_1, X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, S, C(O)O, C(O)NH, OC(O)NH, OC(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)S, $OC(O)N(R_1)$, $N(R_1)C(O)N(R_1)$, $CH_2C(O)NHNHC(O)$ и $C(O)NR_1$; Q предпочтительно представляет собой моноклональное антитело; Z_3 представляет собой H, $PO(OM_1)(OM_2)$, SO_3M_1, $CH_2PO(OM_1)(OM_2)$, $CH_3N(CH_2CH_2)_2NC(O)$-, $O(CH_2CH_2)_2NC(O)$-, R_1или гликозид.

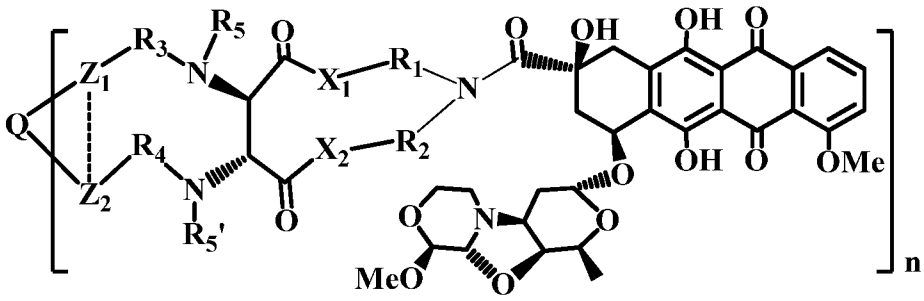
27. Соединение конъюгата по п. 1, отличающееся тем, что Лекарственное средство$_1$ или Лекарственное средство$_2$ представляет собой аналог даунорубицина или доксорубицина, выбранный из структур Da01, Da02, Da03, Da04, Da05, Da06, Da07, Da08, Da09, Da10 и Da11, указанных ниже:



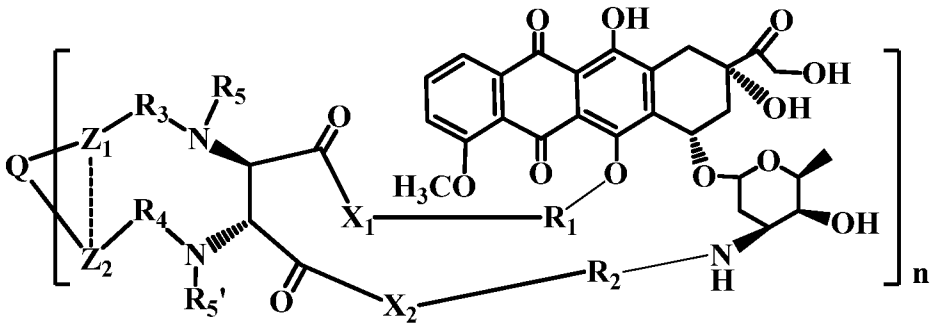
Da01,



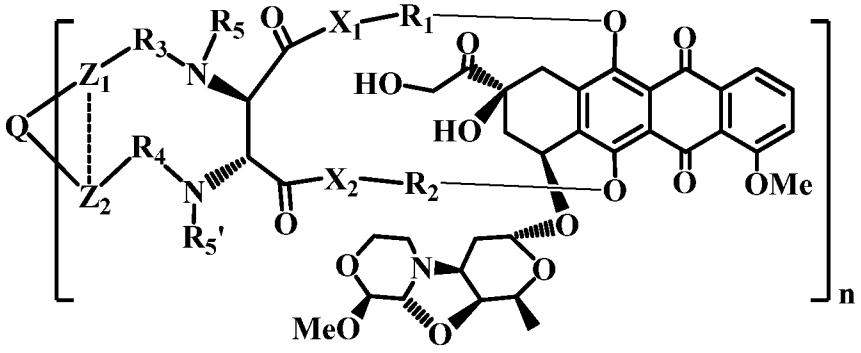
Da02,



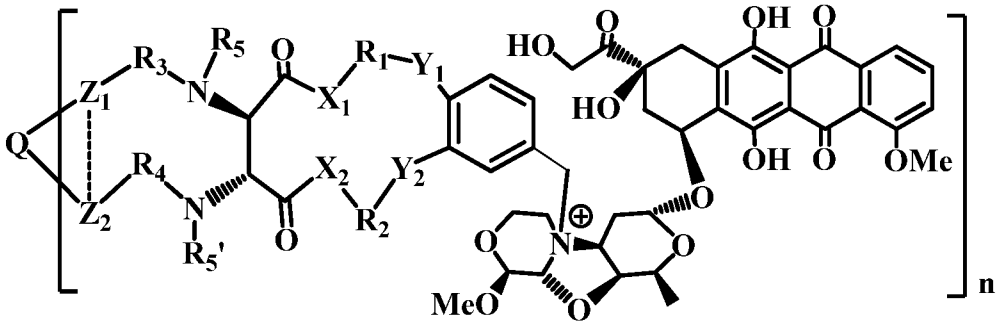
Da03,



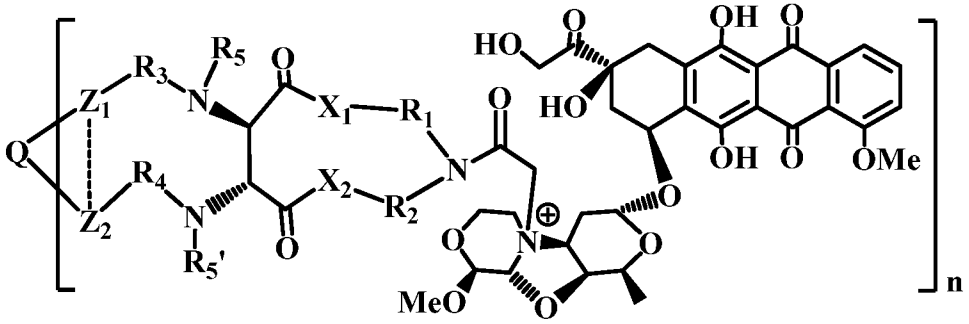
Da04,



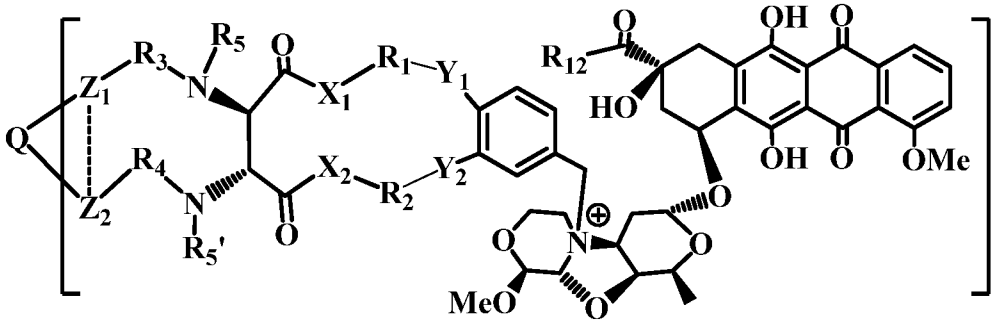
Da05,



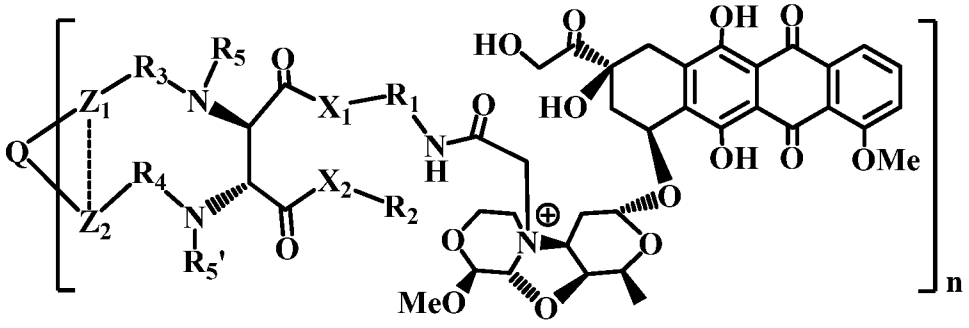
Da06,



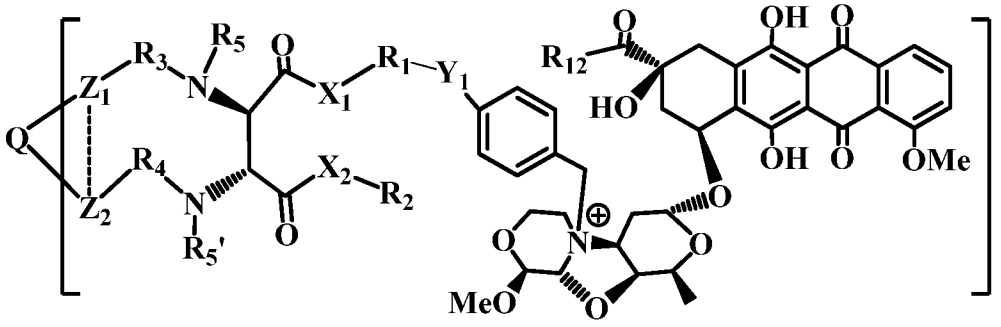
Da07,



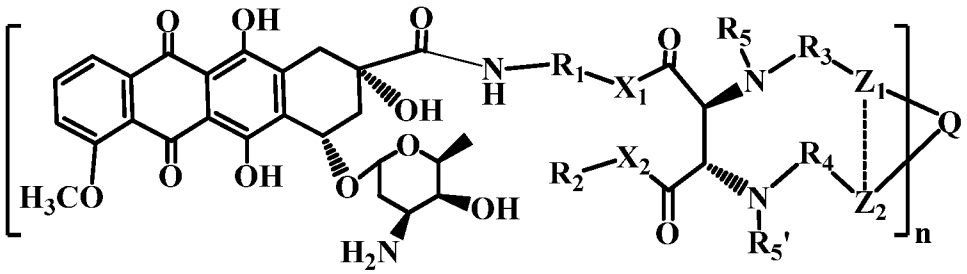
Da08,



Da09,



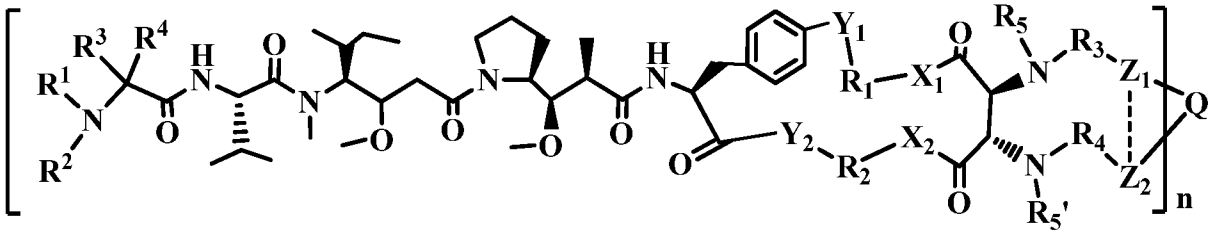
Da10,



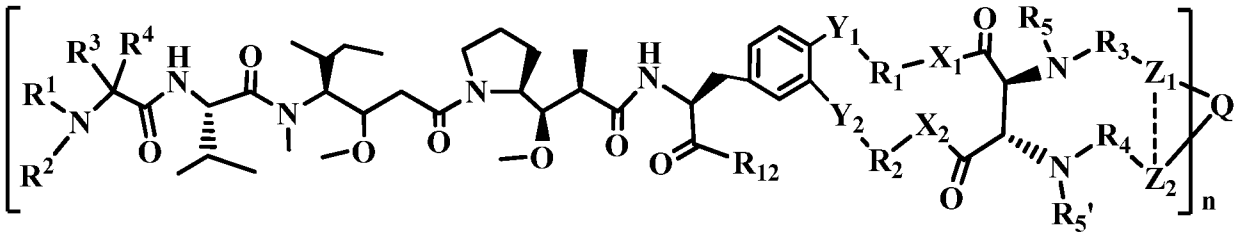
Da11,

где "-----", Q, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, Aa, $(Aa)_n$, p и n определены так же, как описано выше; предпочтительно X_1, X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, 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, C(O)NHNHC(O) и $C(O)NR_1$; R_{12} представляет собой OH, NH_2, NHR_1, $NHNH_2$, NHNHCOOH, O-R_1-COOH, NH-R_1-COOH, $NH(Aa)_nCOOH$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2OH$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, NR_1R_1', NHOH, $NHOR_1$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2COOH$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2COOH$, NH-Ar-COOH, NH-Ar-$NH_2$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH$-SO_3H, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH$-$SO_3H$, R_1-$NHSO_3H$, NH-R_1-$NHSO_3H$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2$-$CH_2NHPO_3H_2$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2$-$CH_2NHPO_3H_2$, OR_1, R_1-$NHPO_3H_2$, R_1-OPO_3H_2, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2OPO_3H_2$, OR_1-$NHPO_3H_2$, NH-R_1-$NHPO_3H_2$, $NH(CH_2CH_2NH)_pCH_2$-CH_2NH_2, $NH(CH_2CH_2S)_pCH_2CH_2NH_2$, $NH(CH_2CH_2NH)_pCH_2CH_2OH$, $NH(CH_2CH_2S)_pCH_2$-CH_2OH, NH-R_1-NH_2 или $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$.

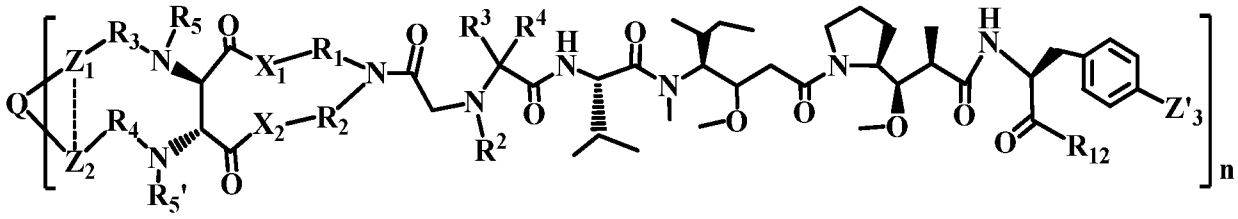
28. Соединение конъюгата по п. 1, отличающееся тем, что Лекарственное средство$_1$ или Лекарственное средство$_2$ представляет собой аналог ауристатина или доластатина, выбранный из структур Au01, Au02, Au03, Au04, Au05, Au06, Au07, Au08, Au09, Au10, Au11, Au12, Au13, Au14, Au15, Au16, Au17, Au18, Au19, Au20, Au21, Au22, Au23, Au24, Au25, Au26 и Au27, указанных ниже:



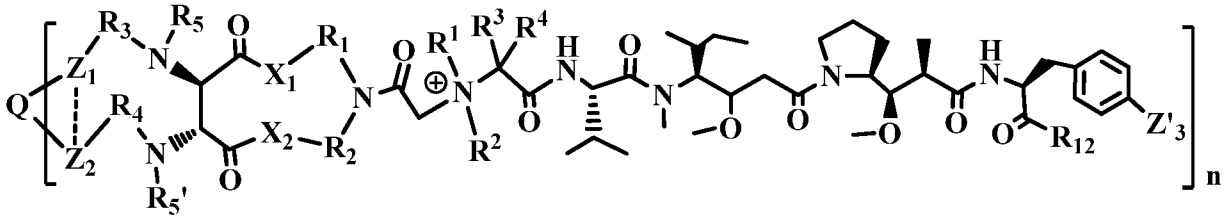
Au01,



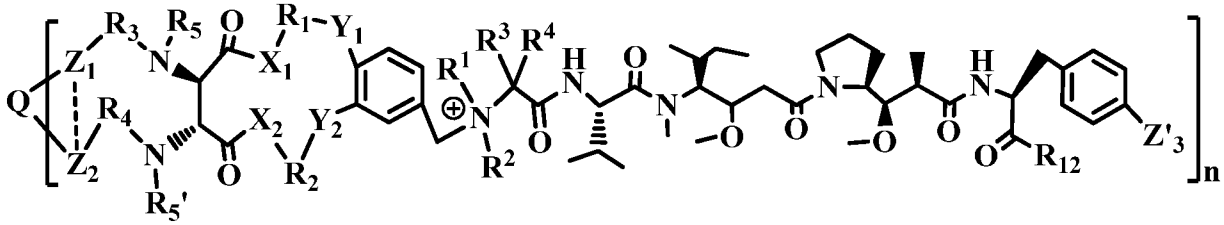
Au02,



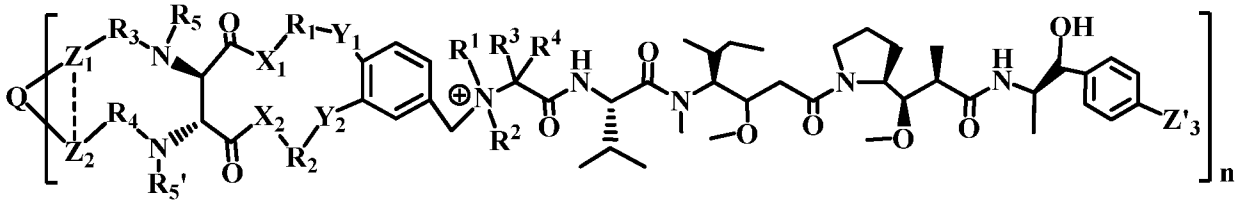
Au03,



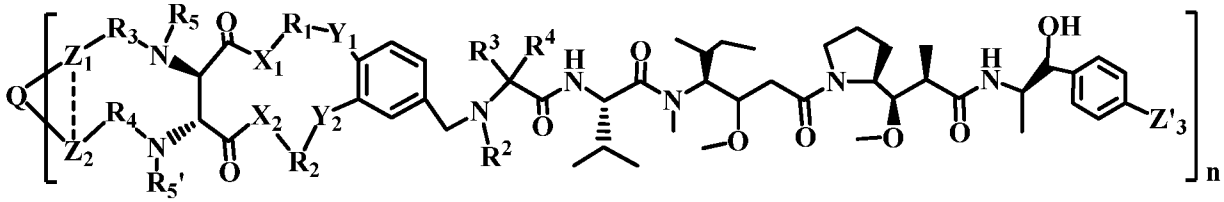
Au04,



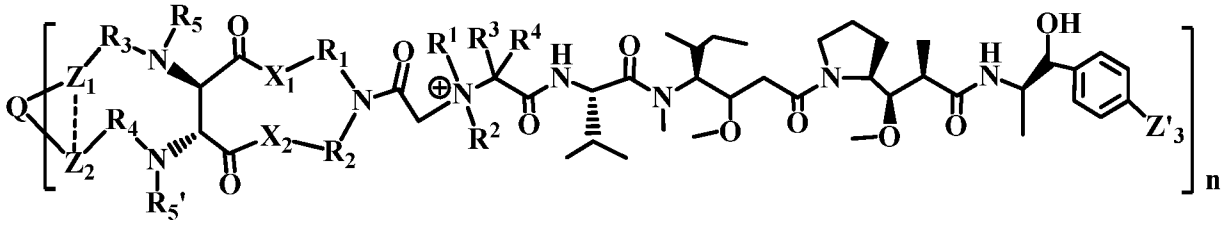
Au05，



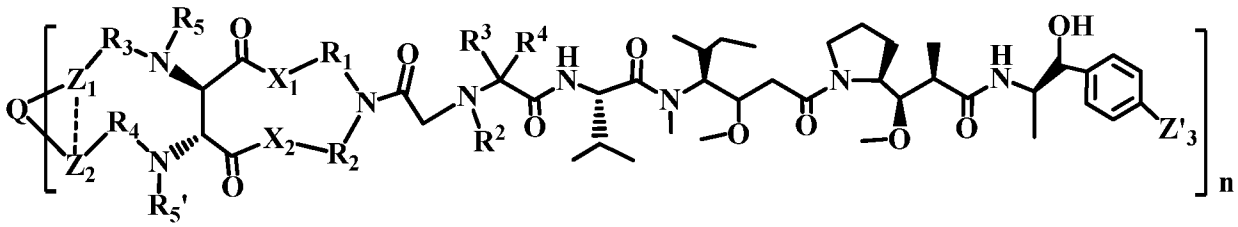
Au06,



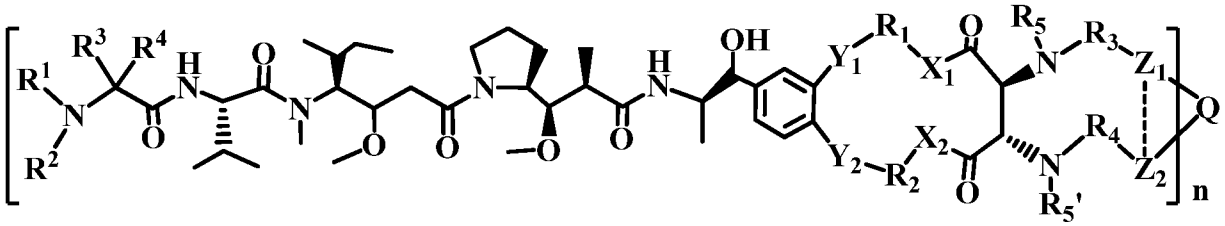
Au07，



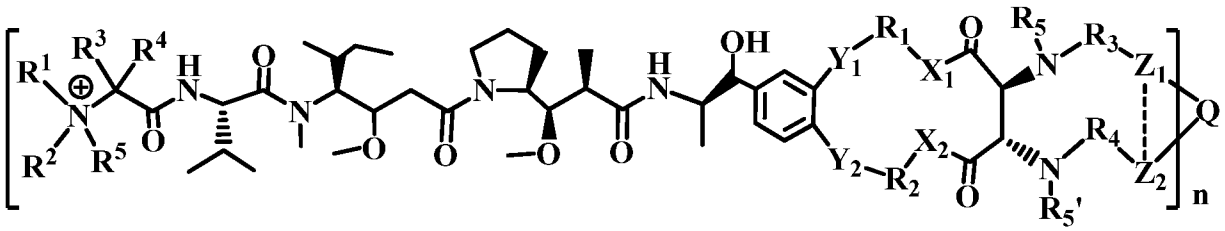
Au08,



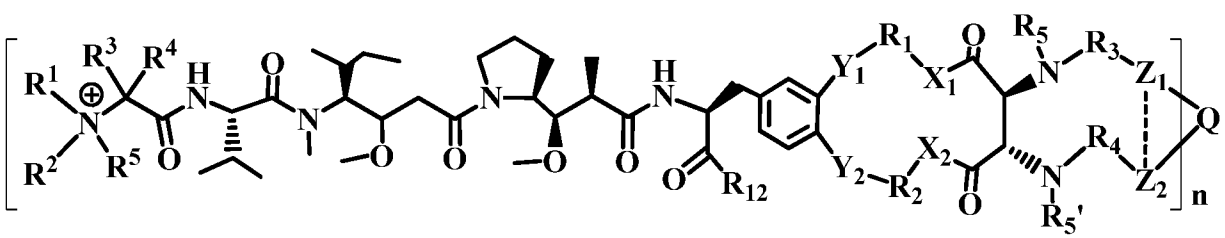
Au09,



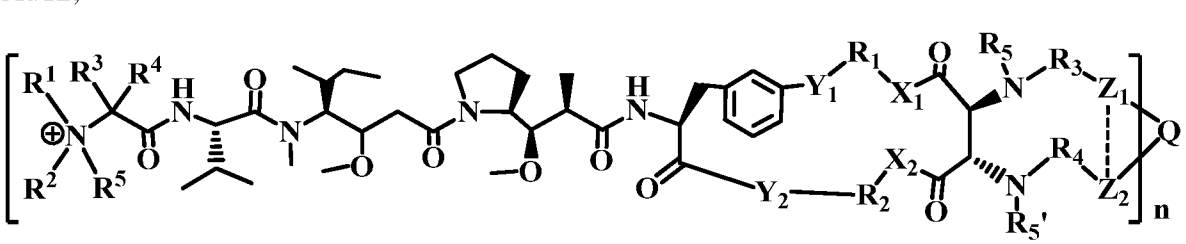
Au10,



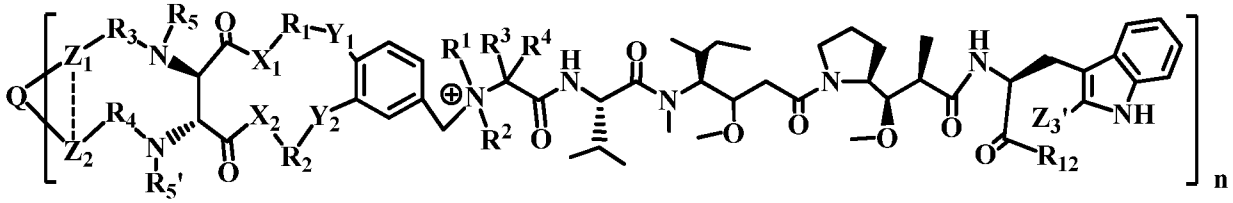
Au11,



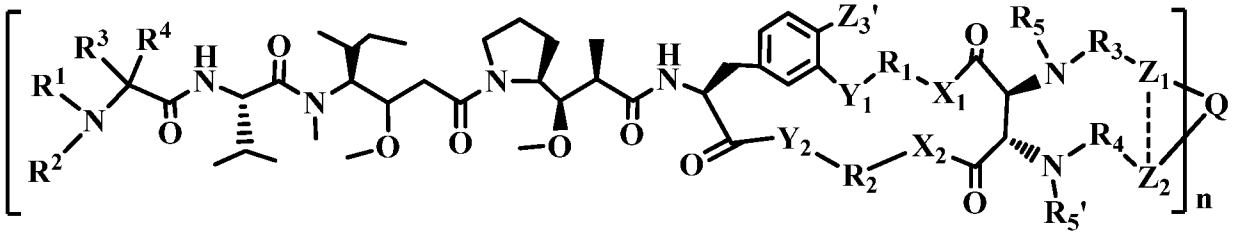
Au12,



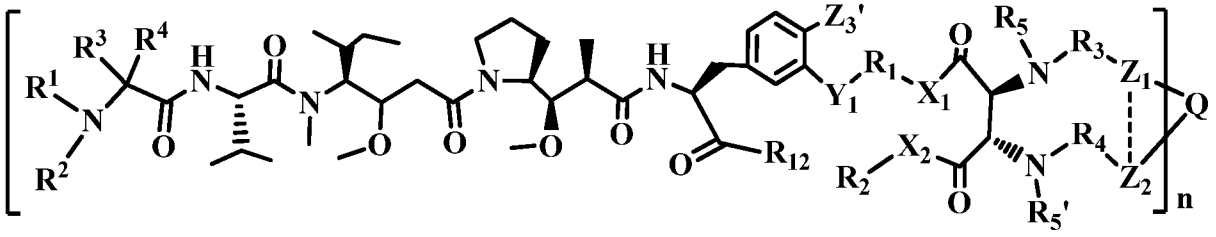
Au13,



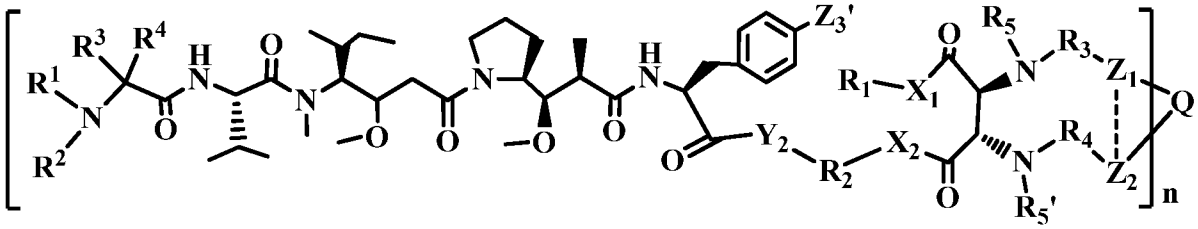
Au14,



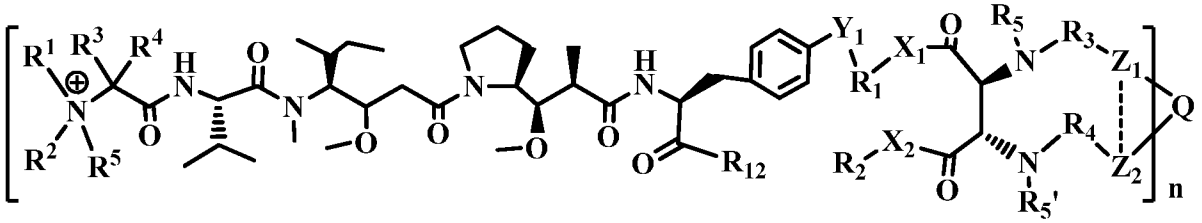
Au15,



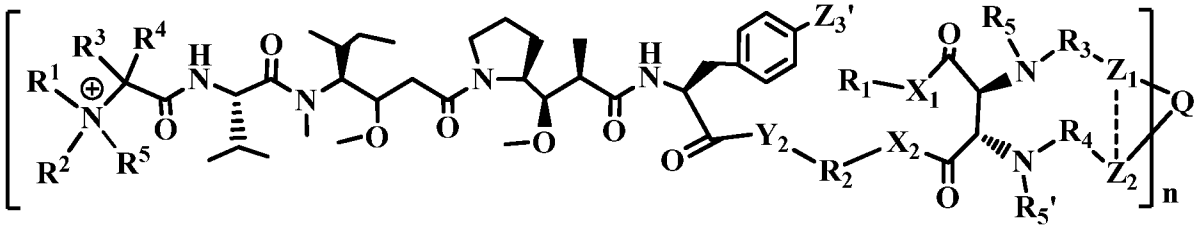
Au16,



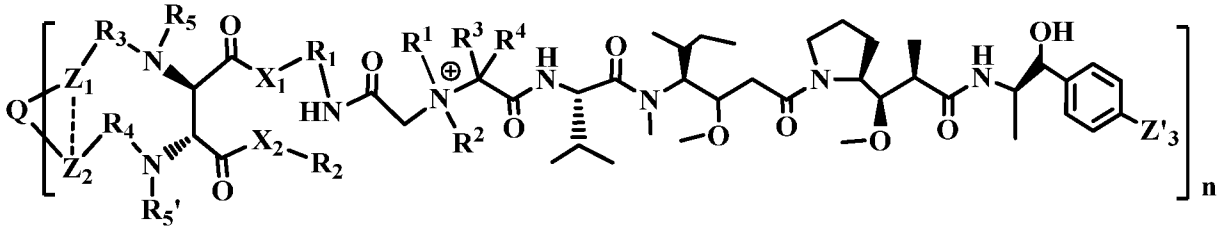
Au17,



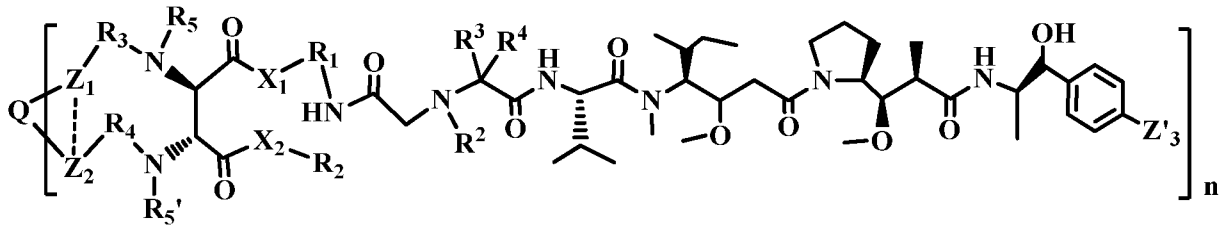
Au18,



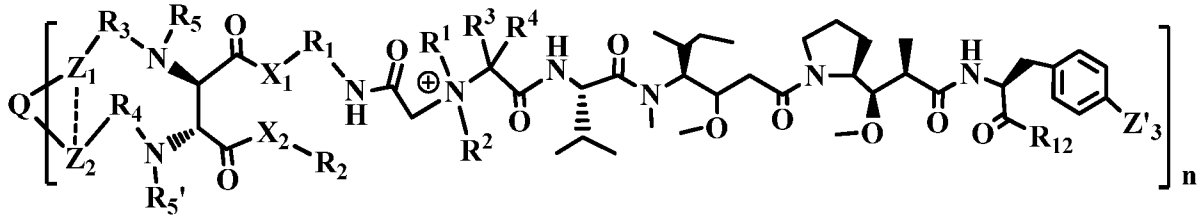
Au19,



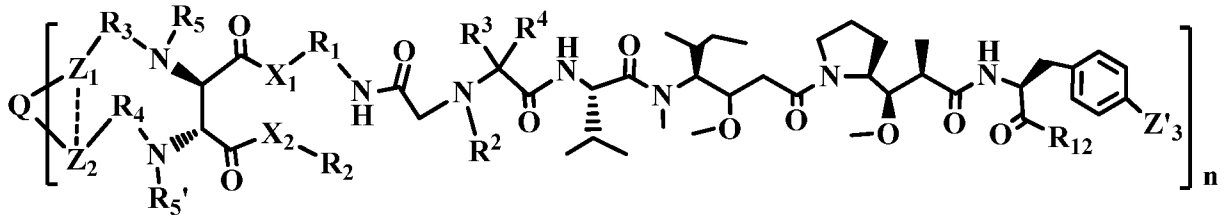
Au20,



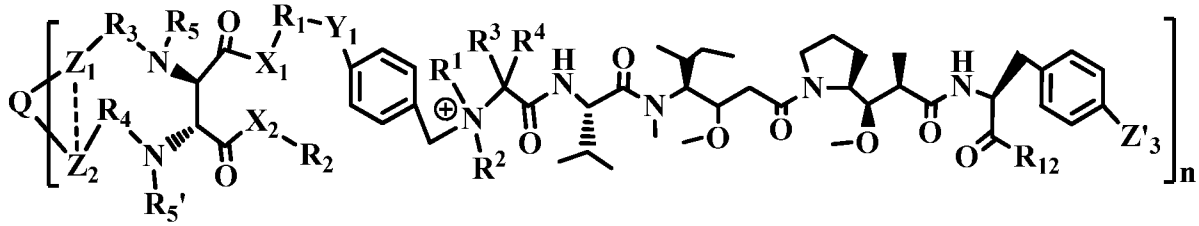
Au21,



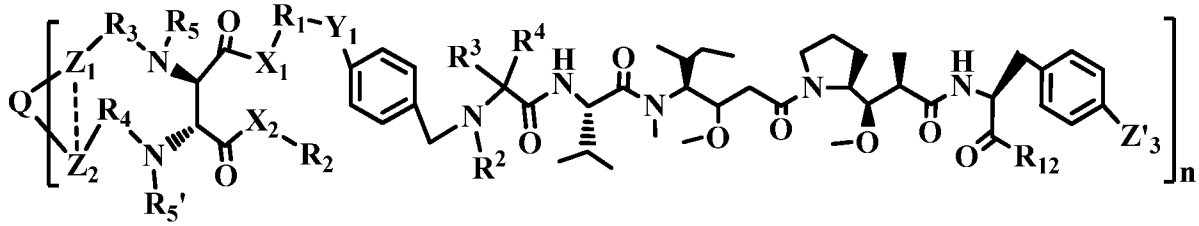
Au22,



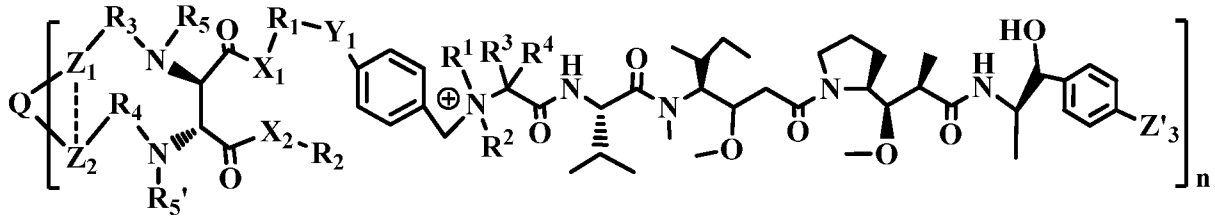
Au23,



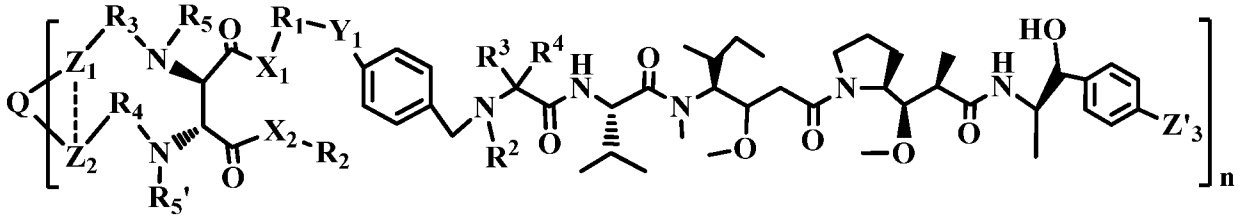
Au24,



Au25,



Au26,

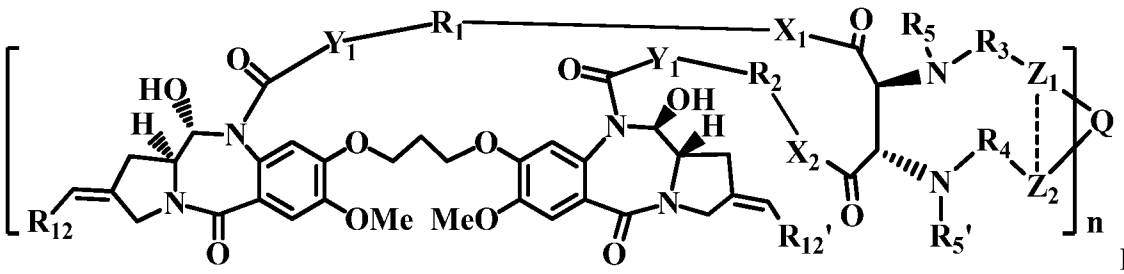


Au27,

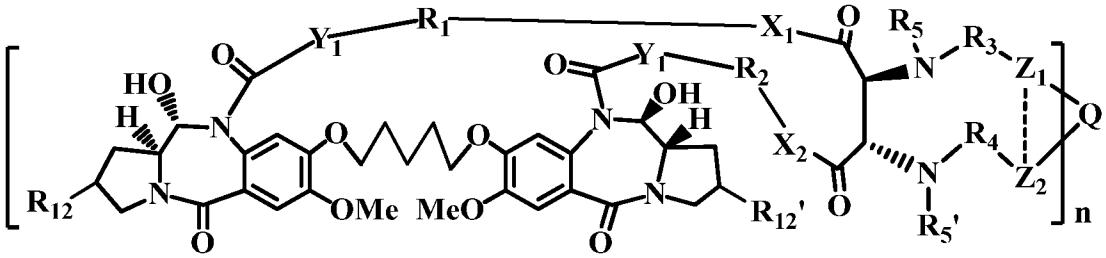
где "-----", Q, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, Aa, $(Aa)_n$, p и n определены так же, как описано выше; предпочтительно X_1 X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, S, C(O)O, C(O)NH, OC(O)NH, OC(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)S, $OC(O)N(R_1)$, $N(R_1)C(O)N(R_1)$, CH, C(O)NHNHC(O) и $C(O)NR_1$; R_{12} представляет собой OH, NH_2, NHR_1, $NHNH_2$, NHNHCOOH, O-R_1-COOH, NH-R_1-COOH, NH-$(Aa)_n$COOH, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2OH$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, NR_1R_1', NHOH, $NHOR_1$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2COOH$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2COOH$, NH-Ar-COOH, NH-Ar-$NH_2$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH$-SO_3H, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHSO_3H$, R_1-$NHSO_3H$, NH-R_1-$NHSO_3H$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2$-$CH_2NHPO_3H_2$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, OR_1, R_1-$NHPO_3H_2$, R_1-OPO_3H_2, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2OPO_3H_2$, OR_1-$NHPO_3H_2$, NH-R_1-$NHPO_3H_2$, $NH(CH_2CH_2NH)_pCH_2$-CH_2NH_2, $NH(CH_2CH_2S)_pCH_2CH_2NH_2$, $NH(CH_2CH_2NH)_pCH_2CH_2OH$, $NH(CH_2CH_2S)_pCH_2$-CH_2OH, NH-R_1-NH_2, or $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$; R^1, R^2, R^3, R^4 и R^5 независимо представляют собой H; C_1-C_8 линейный или разветвленный алкил, арил, гетероарил, гетероалкил, алкилциклоалкил, сложный эфир, простой эфир, амид, амины, гетероциклоалкил или ацилоксиламины; или пептиды, содержащие 1-8 аминокислот, или полиэтиленоксигруппу, имеющую формулу $(OCH_2CH_2)_p$ или $(OCH_2CH(CH_3))_p$, где p равно целому числу от 1 до около 5000. Два R: R^1R^2, R^2R^3, R^1R^3 или R^3R^4 могут образовывать 3-8 членное циклическое кольцо алкильной, арильной, гетероарильной, гетероалкильной или алкилциклоалкильной группы; X_3 представляет собой H, CH_3, или X_1'R_1', где X_1' представляет собой NH, $N(CH_3)$, NHNH, O или S, и R_1' представляет собой H или C_1-C_8 линейный или разветвленный алкил, арил, гетероарил, гетероалкил, алкилциклоалкил, ацилоксиламины; R_3' представляет собой H или C_1-C_6 линейный или разветвленный алкил; Z_3 представляет собой H, $COOR_1$, NH_2, NHR_1, OR_1, $CONHR_1$,$NHCOR_1$, $OCOR_1$, $OP(O)(OM_1)(OM_2)$, $OCH_2OP(O)(OM_1)(OM_2)$, OSO_3M_1, R_1 или O-гликозид (глюкозид, галактозид, маннозид, глюкуронозид/глюкуронид, аллозид, фруктозид и т. п.), NH-гликозид, S-гликозид или CH_2-гликозид; M_1 и M_2 независимо представляют собой H, Na, K, Ca, Mg, NH_4, $NR_1R_2R_3$.

29. Соединение конъюгата по п. 1, отличающееся тем, что Лекарственное средство$_1$ или Лекарственное средство$_2$ представляет собой димер аналогов бензодиазепина, выбранный

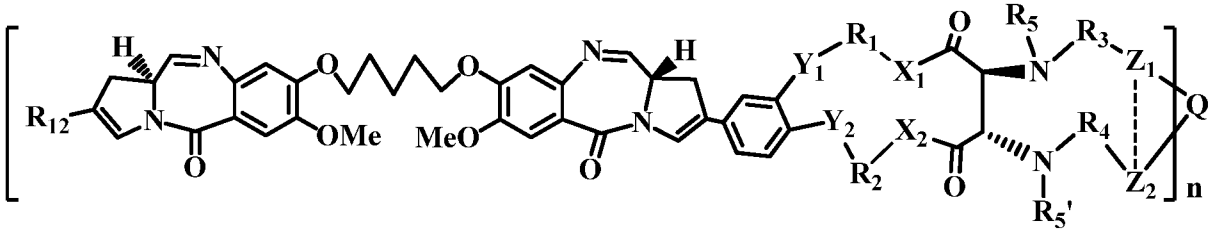
из структур PB01, PB02, PB03, PB04, PB05, PB06, PB07, PB08, PB09, PB10, PB11, PB12, PB13, PB14, PB15, PB16, PB17, PB18, PB19, PB20, PB21, PB22, PB23, PB24, PB25, PB26, PB27, PB28, PB29, PB30, PB31 и PB32:



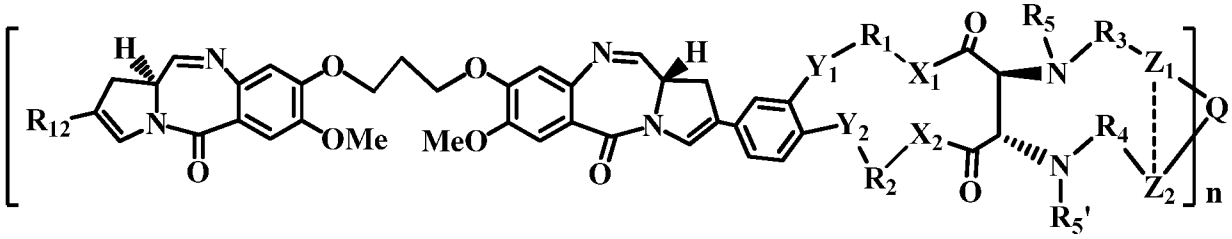
PB01,



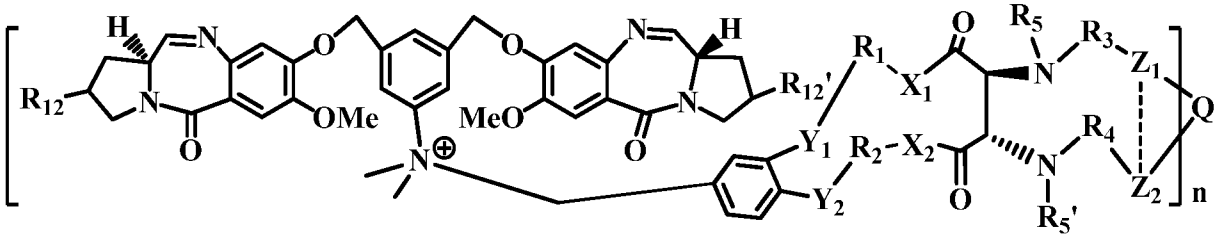
PB02,



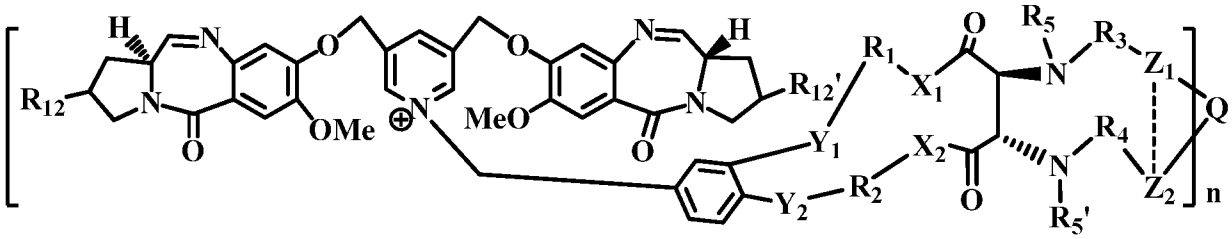
PB03,



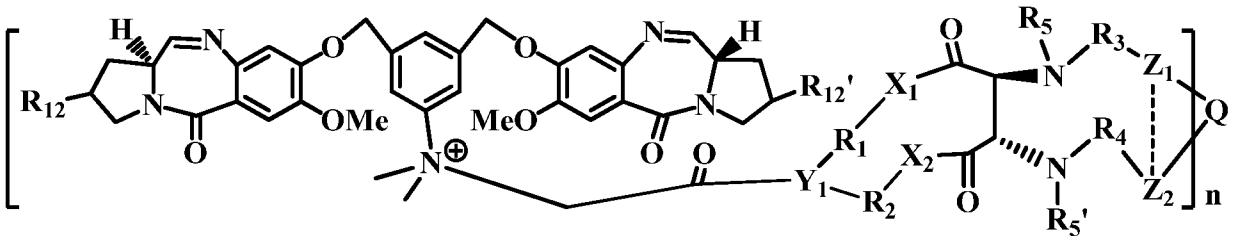
PB04,



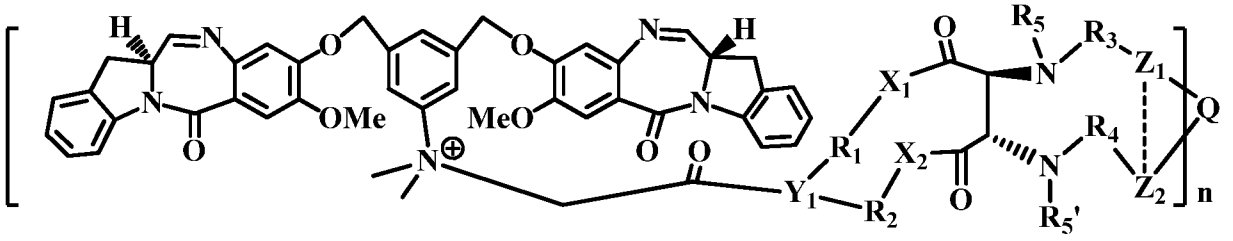
PB05,



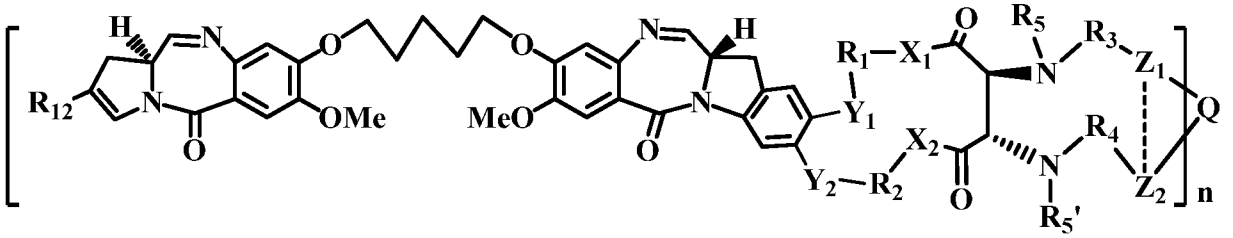
PB06,



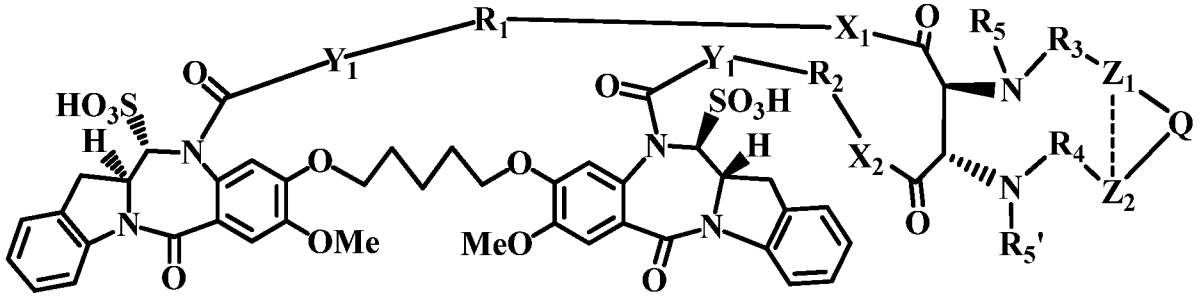
PB07,



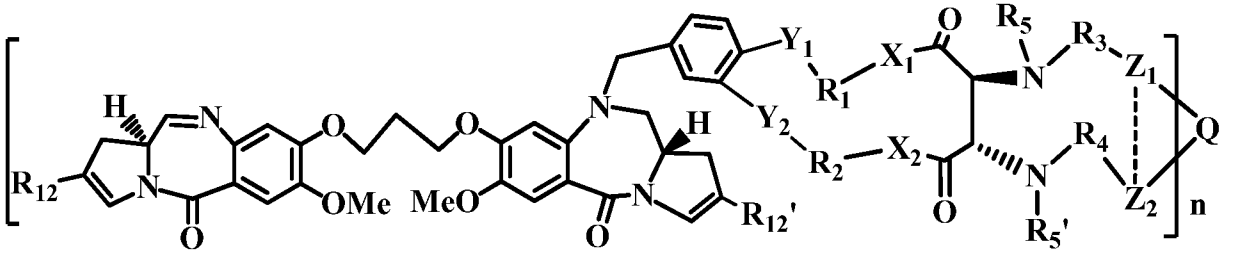
PB08,



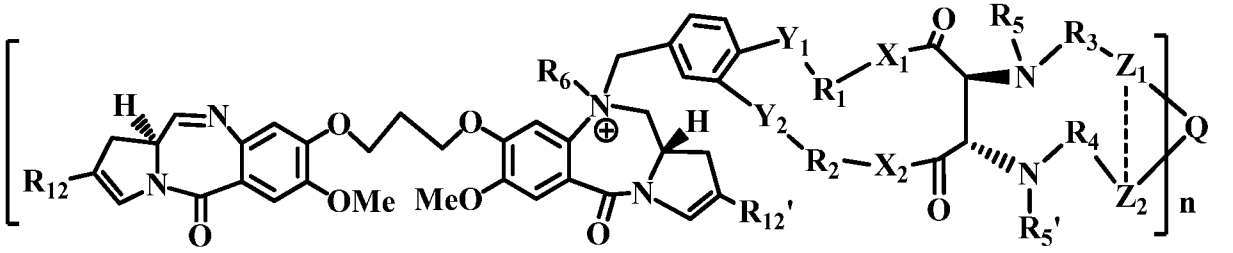
PB09,



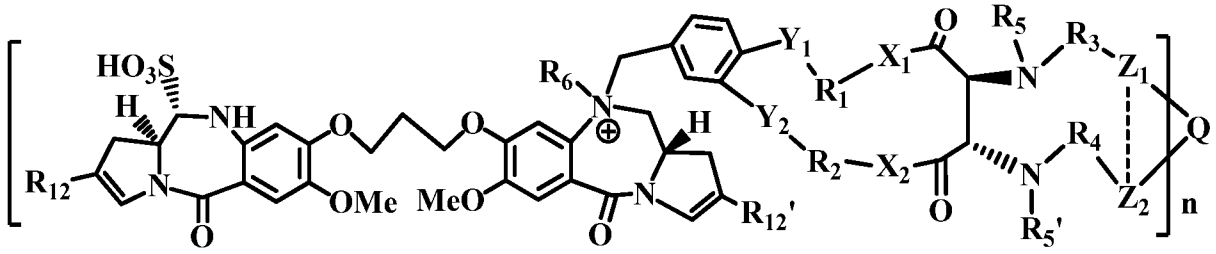
PB10,



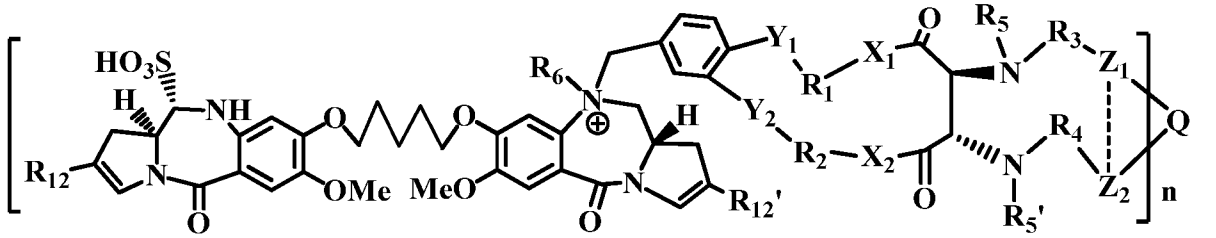
PB11,



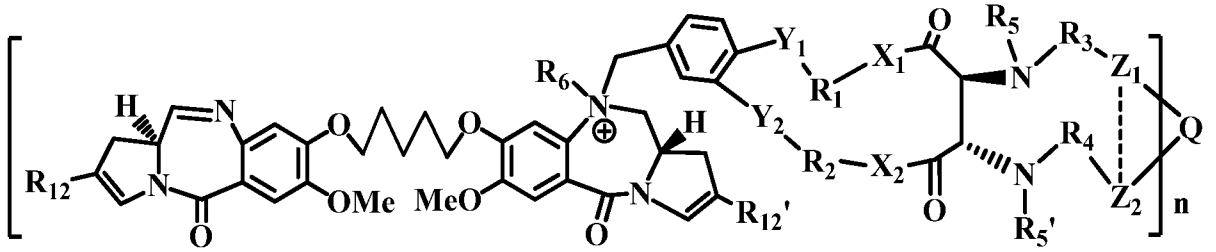
PB12,



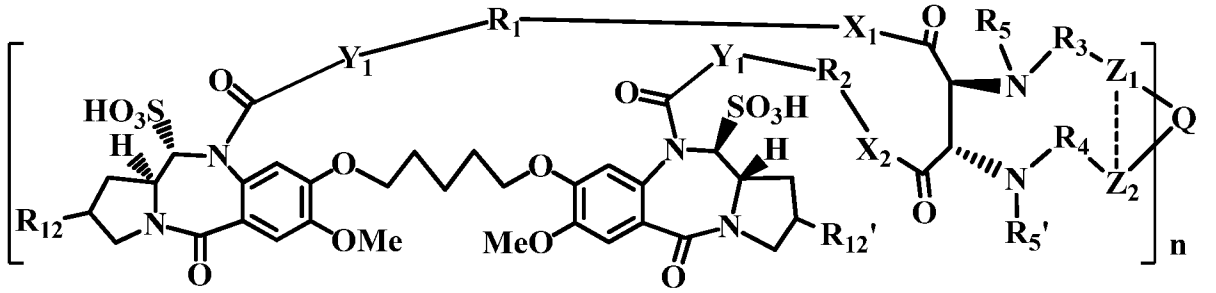
PB13,



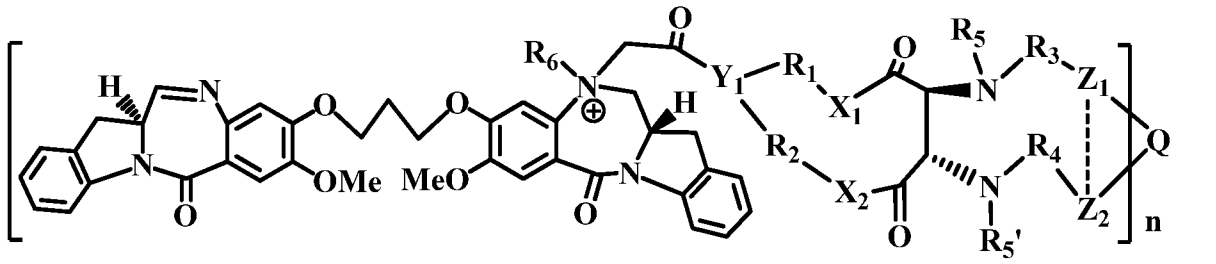
PB14,



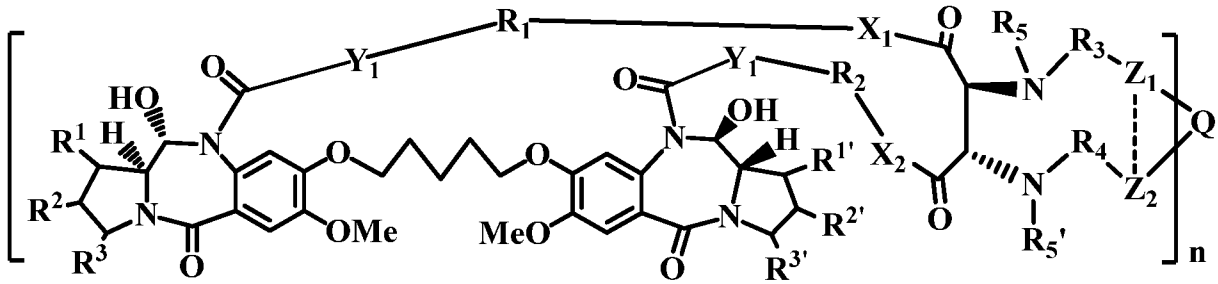
PB15,



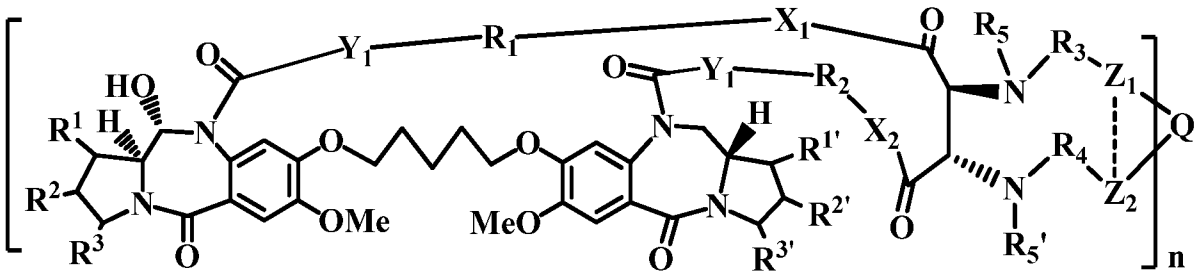
PB16,



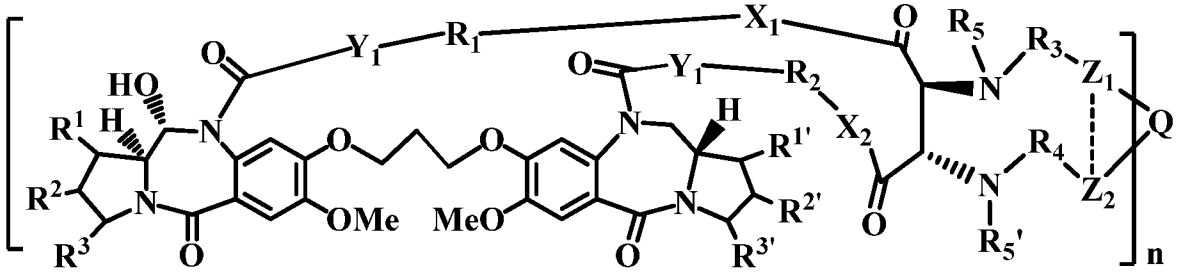
PB17,



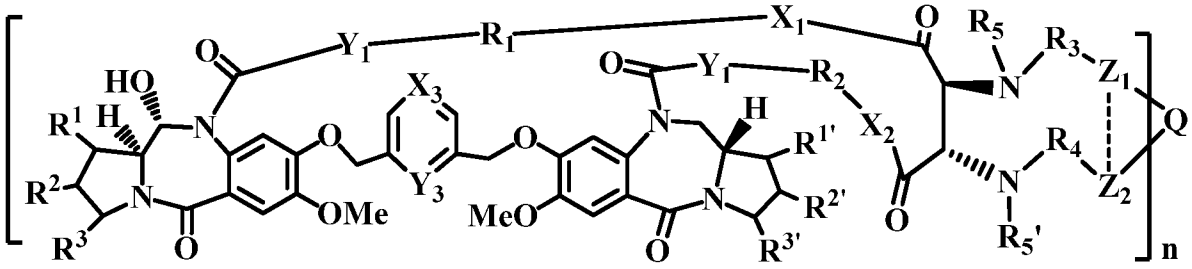
PB18,



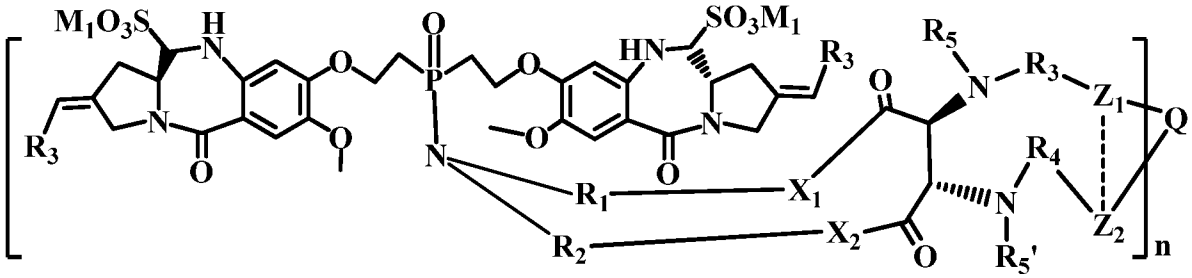
PB19,



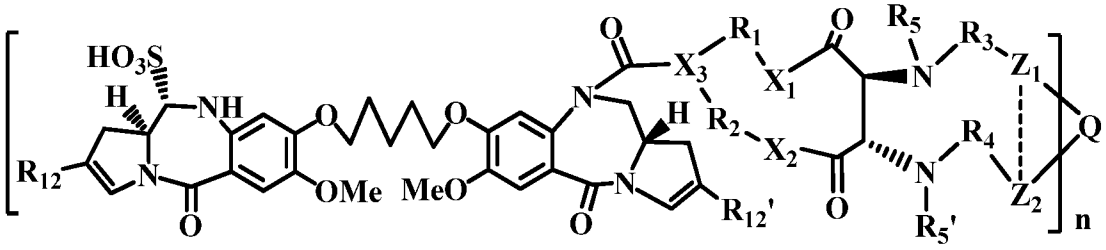
PB20,



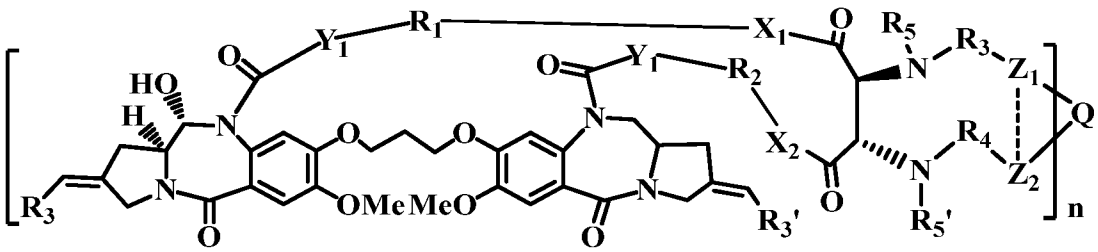
PB21,



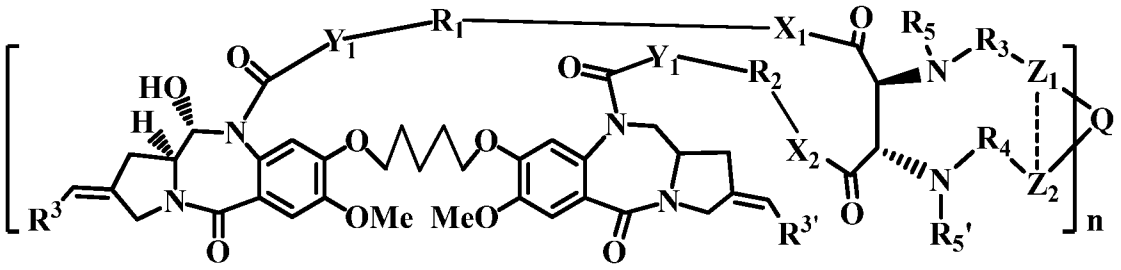
PB22,



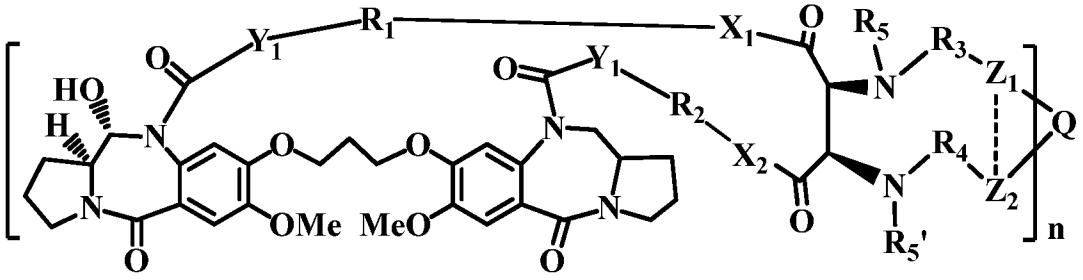
PB23,



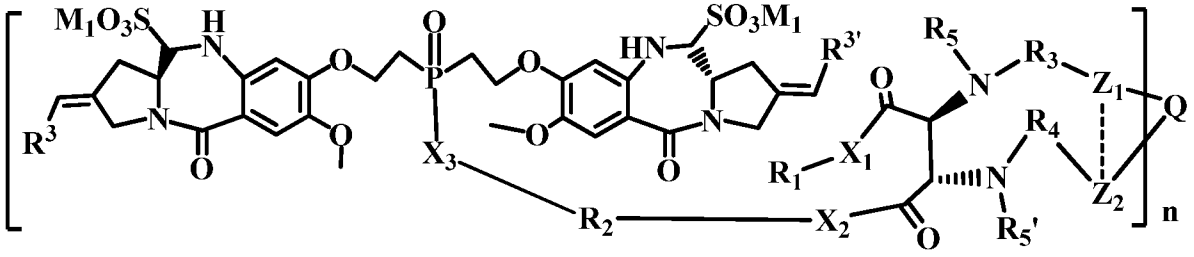
PB24,



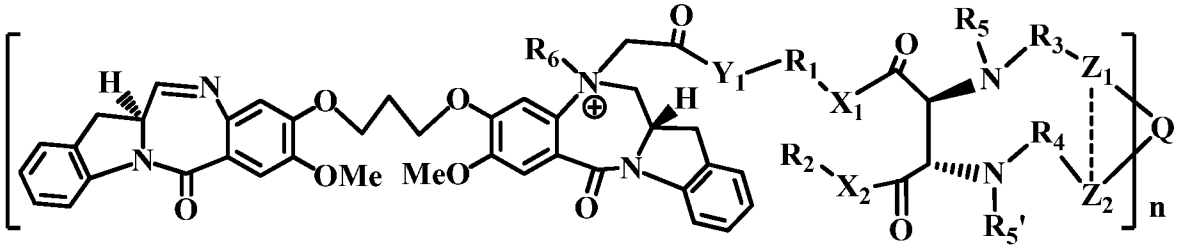
PB25,



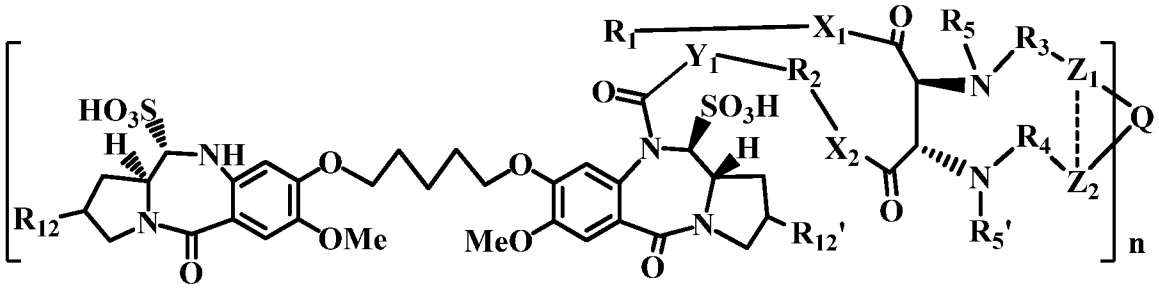
PB26,



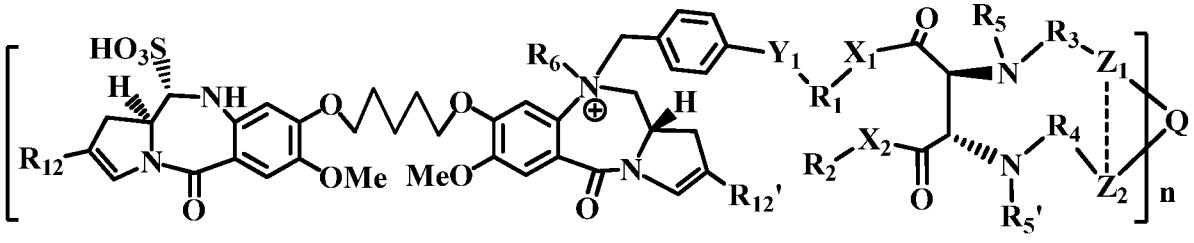
PB27,



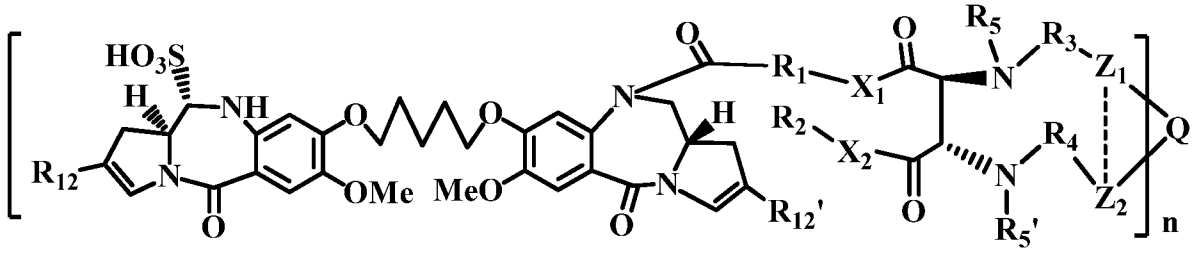
PB28,



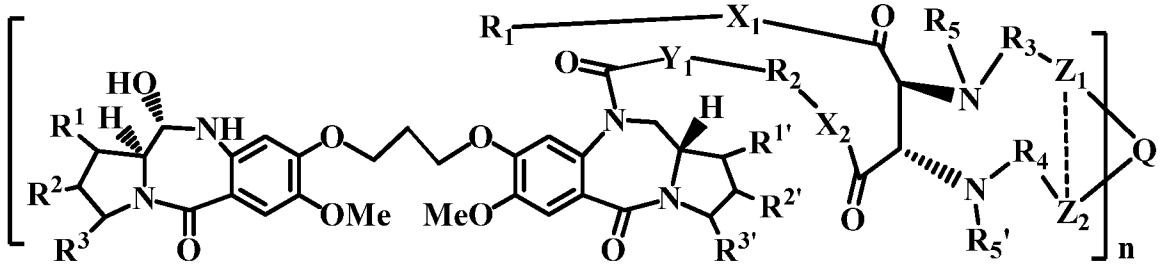
PB29,



PB30,



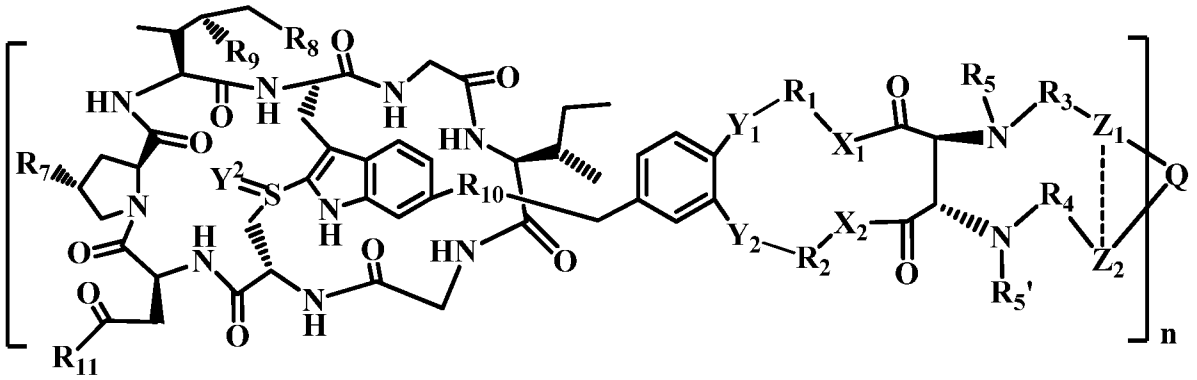
PB31,



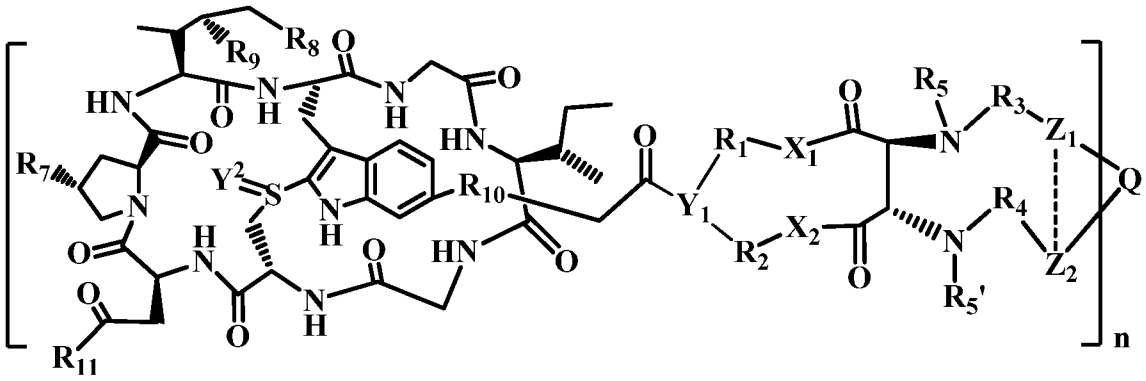
PB32,

где «-----», Q, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2 и n определены так же, как и выше; предпочтительно X_1, X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, N, NH, NHNH, NR_5, 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, C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1; R^1, R^2, R^3, $R^{1'}$, $R^{2'}$, и $R^{3'}$ независимо представляют собой H; F; Cl; =O; =S; OH; SH; C_1-C_8 линейный или разветвленный алкил, арил, алкенил, гетероарил, гетероалкил, алкилциклоалкил, сложный эфир ($COOR_5$ или –OC(O)R_5), простой эфир (OR_5), амид ($CONR_5$), карбамат ($OCONR_5$), амины (NHR_5, NR_5R_5'), гетероциклоалкил или ацилоксиламины (-C(O)NHOH, -ONHC(O)R_5); или пептиды, содержащие 1-20 природных или неприродных аминокислот, или полиэтиленокси-звено формулы $(OCH_2CH_2)_p$ или $(OCH_2CH(CH_3))_p$, где p равно целому числу от 1 до около 5000. Два R: R^1R^2, R^2R^3, R^1R^3, $R^{1'}R^{2'}$, $R^{2'}R^{3'}$, или $R^{1'}R^{3'}$ могут независимо образовывать 3-8-членное циклическое кольцо из алкильной, арильной, гетероарильной, гетероалкильной или алкилциклоалкильной группы; X_3 и Y_3 независимо представляют собой N, NH, CH_2 или CR_5, где R_5, R_6, R_{12} и R_{12}' независимо представляют собой H, OH, NH_2, $NH(CH_3)$, $NHNH_2$, COOH, SH, OZ_3, SZ_3, F, Cl, или C_1-C_8 линейный или разветвленный алкил, арил, гетероарил, гетероалкил, алкилциклоалкил, ацилоксиламины; Z_3 представляет собой H, $OP(O)(OM_1)(OM_2)$, $OCH_2OP(O)(OM_1)(OM_2)$, OSO_3M_1, или O-гликозид (глюкозид, галактозид, маннозид, глюкуронозид/глюкуронид, аллозид, фруктозид и др.), NH-гликозид, S-гликозид или CH_2-гликозид; M_1 и M_2 независимо представляют собой H, Na, K, Ca, Mg, NH_4, $NR_1R_2R_3$.

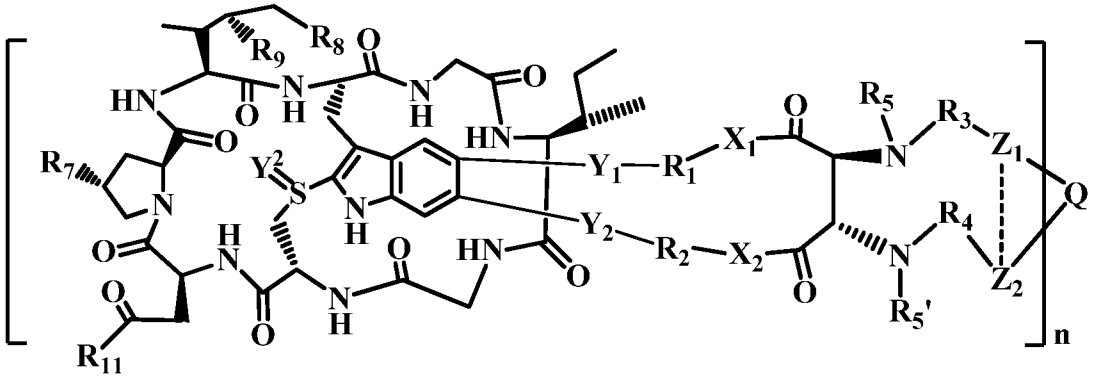
30. Соединение конъюгата по п. 1, отличающееся тем, что Лекарственное средство$_1$ или Лекарственное средство$_2$ представляет собой аналог аманитина, выбранный из структур Am01, Am02, Am03, Am04, Am05, Am06, Am07, Am08 и Am09 ниже:



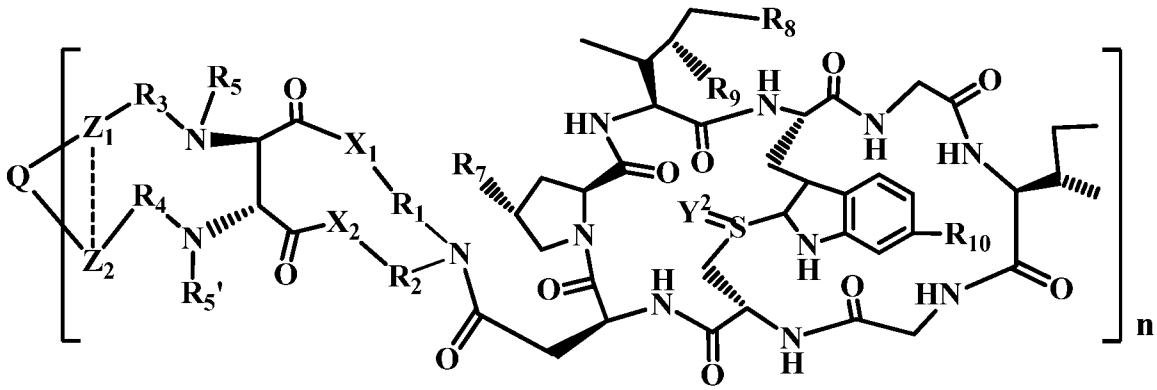
Am01,



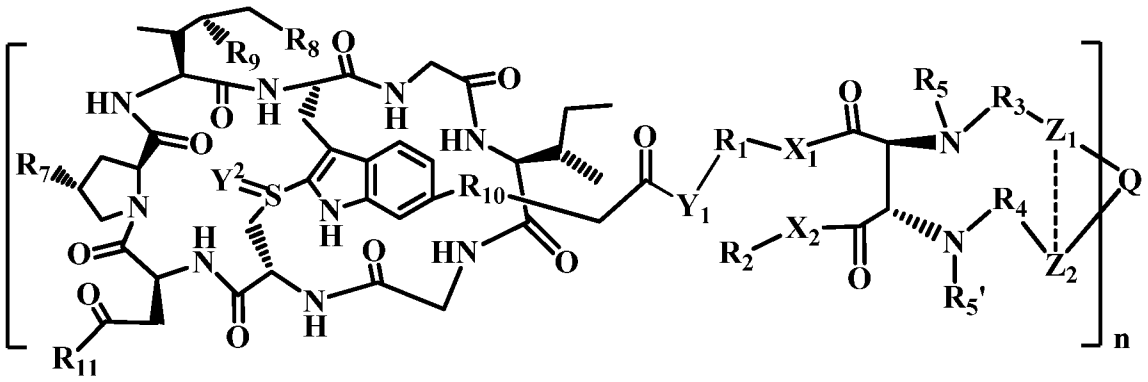
Am02,



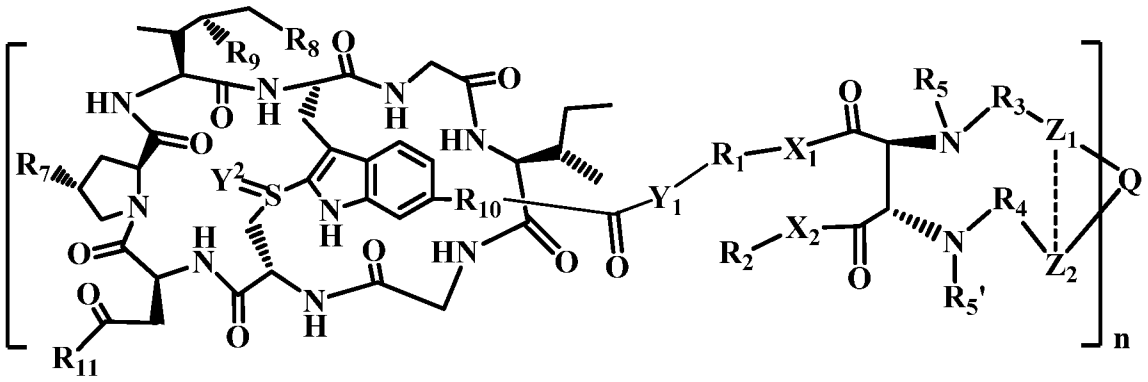
Am03



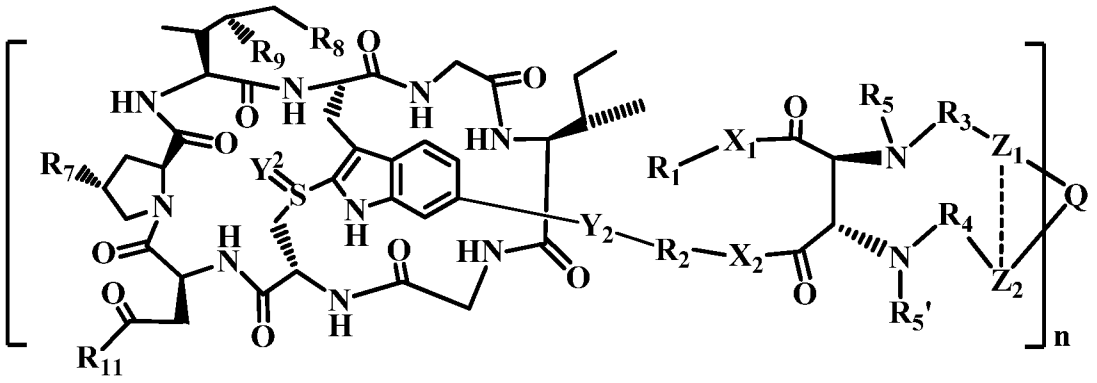
Am04,



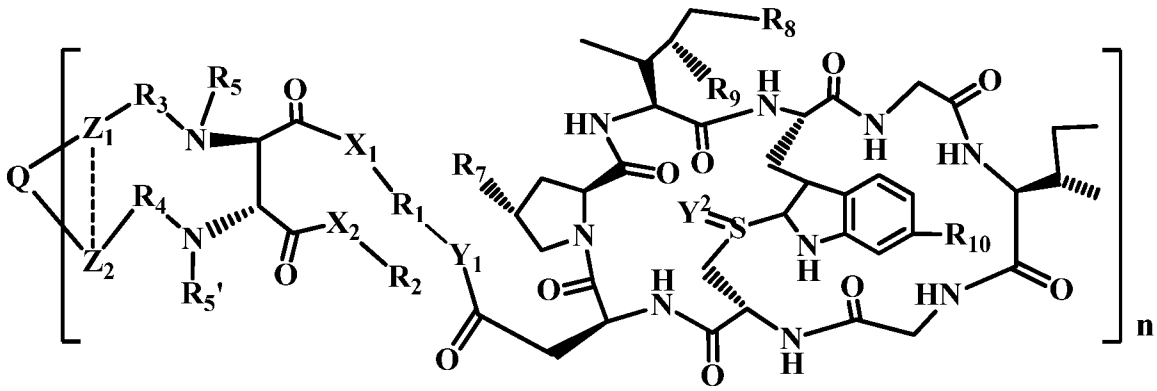
Am05,



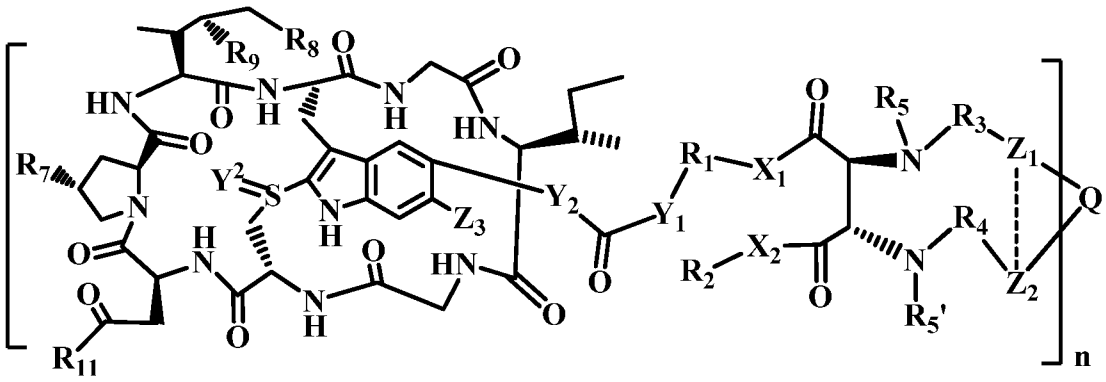
Am06,



Am07,



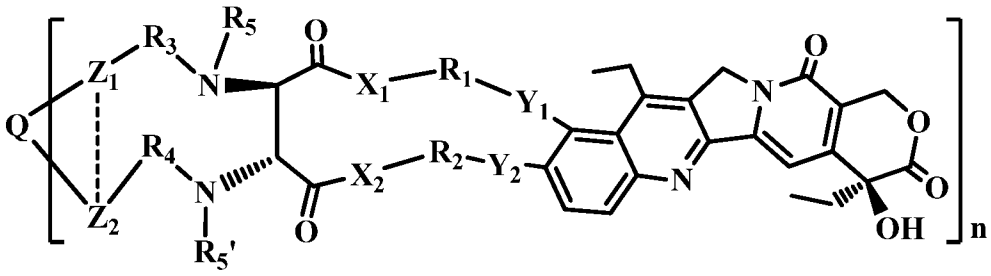
Am08,



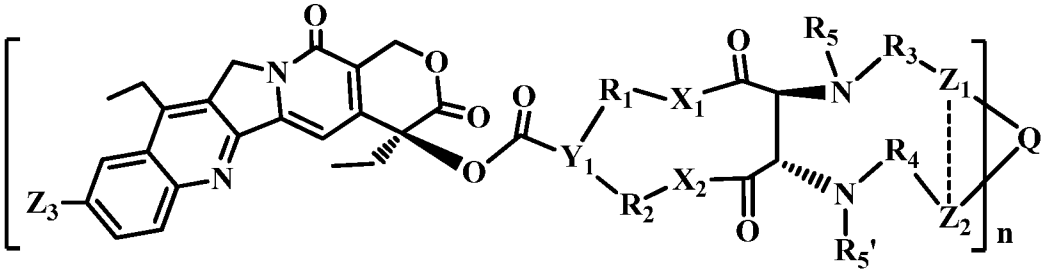
Am09,

где "-----", X_1, X_2, Q, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, и n определены так же, как описано выше; предпочтительно X_1, X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, N, NH, NHNH, NR_5, 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, C(O)NH-NHC(O), C(O)NR_1 или отсутствуют; R_7, R_8 и R_9 независимо представляют собой H, OH, OR_1, NH_2, NHR_1, C_1-C_6 алкил или отсутствуют; Y^2 представляет собой O, O_2, NR_1, NH или отсутствует; R_{10} представляет собой CH_2, O, NH, NR_1, NHC(O), NHC(O)-NH, NHC(O)O, OC(O)O, C(O), OC(O), OC(O)(NR_1), (NR_1)C(O)(NR_1), C(O)R_1 или отсутствует; R_{11} представляет собой OH, NH_2, NHR_1, $NHNH_2$, NHNHCOOH, O-R_1-COOH, NH-R_1-COOH, NH-$(Aa)_n$COOH, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2OH$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, NR_1R_1', $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2COOH$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2COOH$, NH-Ar-COOH, NH-Ar-$NH_2$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHSO_3H$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHSO_3H$, R_1-$NHSO_3H$, NH-R_1-$NHSO_3H$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, OR_1, R_1-$NHPO_3H_2$, R_1-OPO_3H_2, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2OPO_3H_2$, OR_1-$NHPO_3H_2$, NH-R_1-$NHPO_3H_2$ или $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, где Aa представляет собой 1-8 аминокислот; n и m_1 независимо равны от 1 до 30; p равен от 1 до 5000; Z_3 представляет собой H, OH, $COOR_1$, NH_2, NHR_1, OR_1, $CONHR_1$,$NHCOR_1$, $OCOR_1$, OP(O)(OM_1)(OM_2), $OCH_2OP(O)(OM_1)(OM_2)$, OSO_3M_1, R_1 или O-гликозид (глюкозид, галактозид, маннозид, глюкуронозид/глюкуронид, аллозид, фруктозид и т. п.), NH-гликозид, S-гликозид или CH_2-гликозид; M_1 и M_2 независимо представляют собой H, Na, K, Ca, Mg, NH_4, $NR_1R_2R_3$.

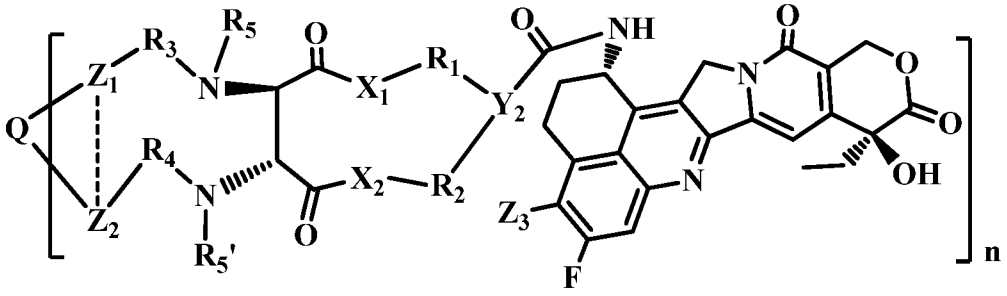
31. Соединение конъюгата по п. 1, отличающееся тем, что Лекарственное средство$_1$ или Лекарственное средство$_2$ представляет собой камптотецин и его производное, выбранное из структур CP01, CP02, CP03, CP04, CP05 и CP06 ниже:



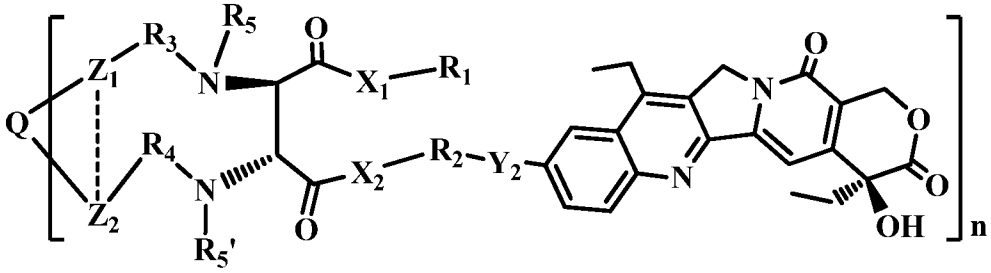
CP01,



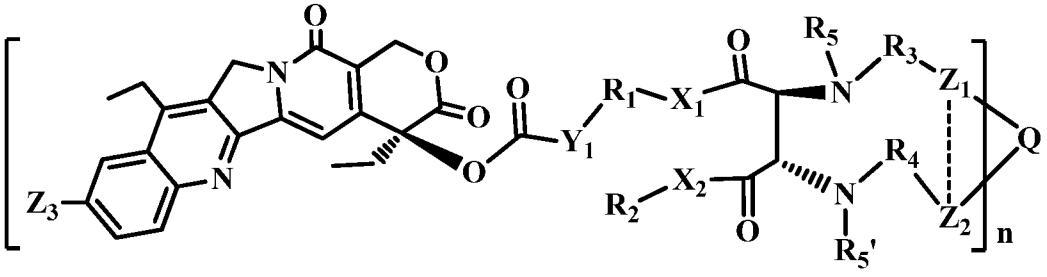
CP02,



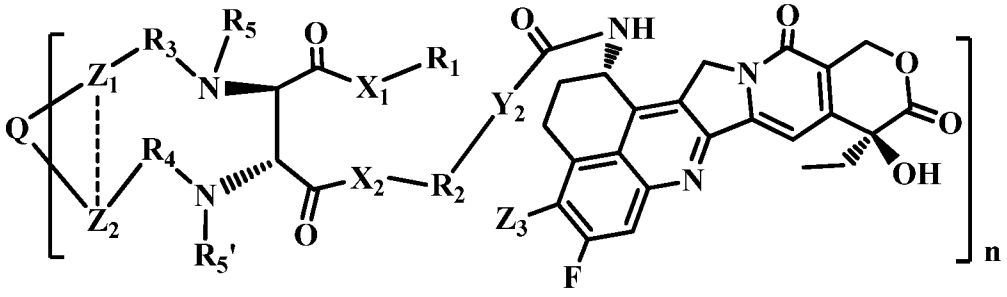
CP03,



CP04,



CP05,

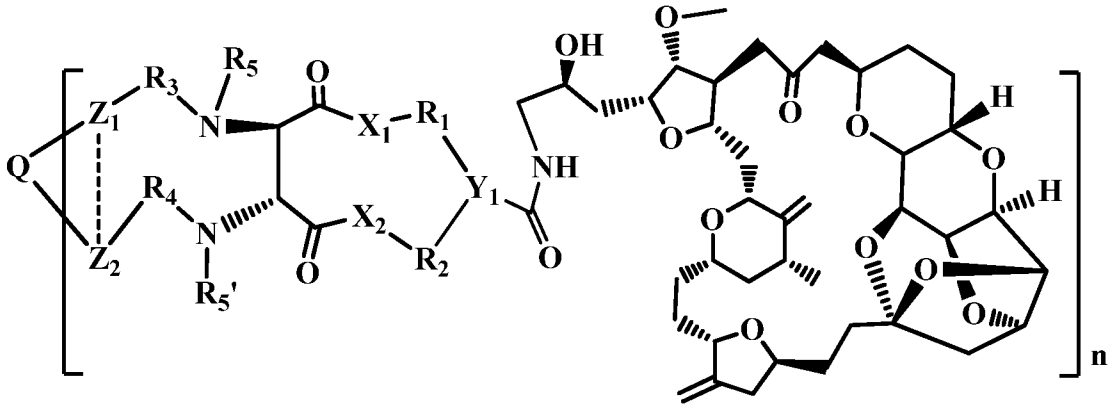


CP06,

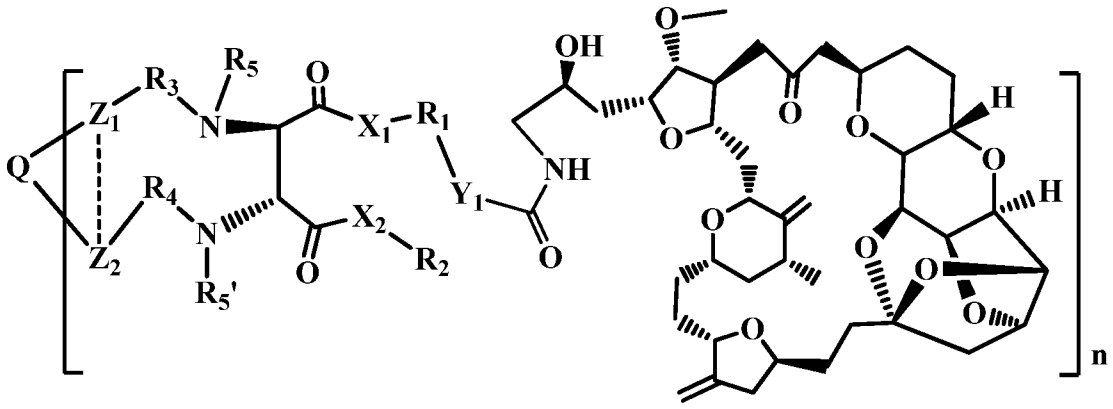
где-----", Q, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2 и n определены так же, как описано выше; предпочтительно X_1, X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, N, NH, NHNH,

NR_5, 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, CH_2, C(O)NHNHC(O), $C(O)NR_1$ или отсутствуют; Z_3 представляет собой H, OH, $COOR_1$, NH_2, NHR_1, OR_1, CH_3, $CONHR_1$,$NHCOR_1$, $OCOR_1$, $OP(O)(OM_1)(OM_2)$, $OCH_2OP(O)(OM_1)(OM_2)$, OSO_3M_1, R_1 или O-гликозид (глюкозид, галактозид, маннозид, глюкуронозид/глюкуронид, аллозид, фруктозид и т. п.), NH-гликозид, S-гликозид или CH_2-гликозид; M_1 и M_2 независимо представляют собой H, Na, K, Ca, Mg, NH_4, $NR_1R_2R_3$.

32. Соединение конъюгата по п. 1, отличающееся тем, что Лекарственное средство$_1$ или Лекарственное средство$_2$ представляет собой эрибулин и его производное, выбранное из структур Eb01 и Eb02 ниже:



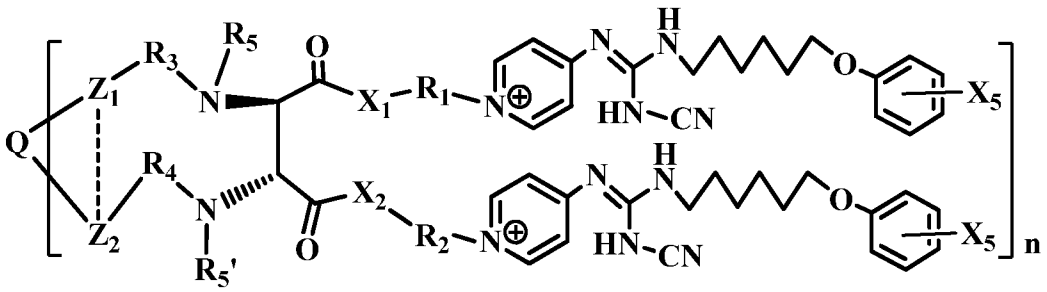
Eb01,



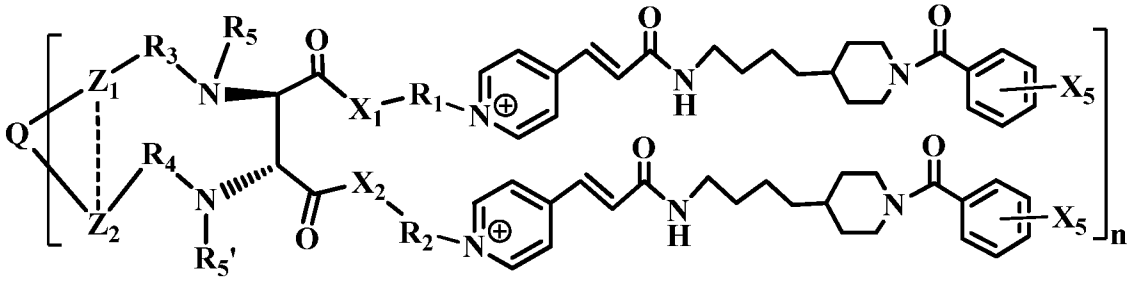
Eb02,

где "-----", Q, X_1, X_2, Y_1, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2 и n определены так же, как описано выше; предпочтительно X_1, X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, N, NH, NHNH, NR_5, 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, CH_2, C(O)NHNHC(O), $C(O)NR_1$ или отсутствуют.

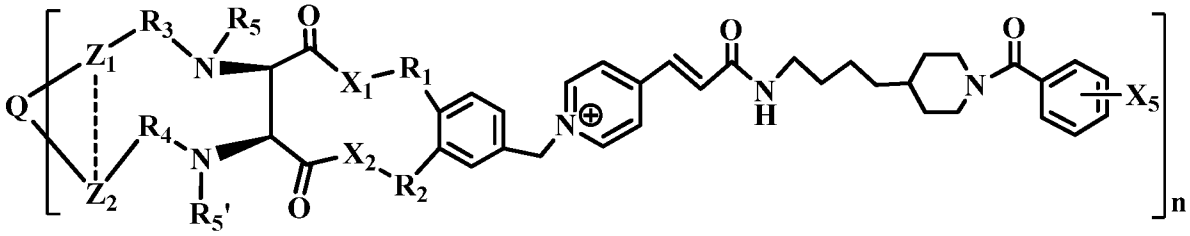
33. Соединение конъюгата по п. 1, отличающееся тем, что Лекарственное средство$_1$ или Лекарственное средство$_2$ представляет собой ингибитор никотинамидфосфорибозилтрансфераз, выбранный из структур NP01, NP02, NP03, NP04, NP05, NP06, NP07, NP08 и NP09 ниже:



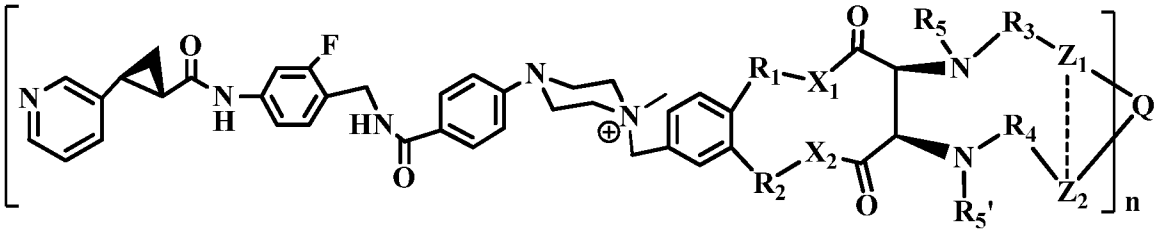
NP01,



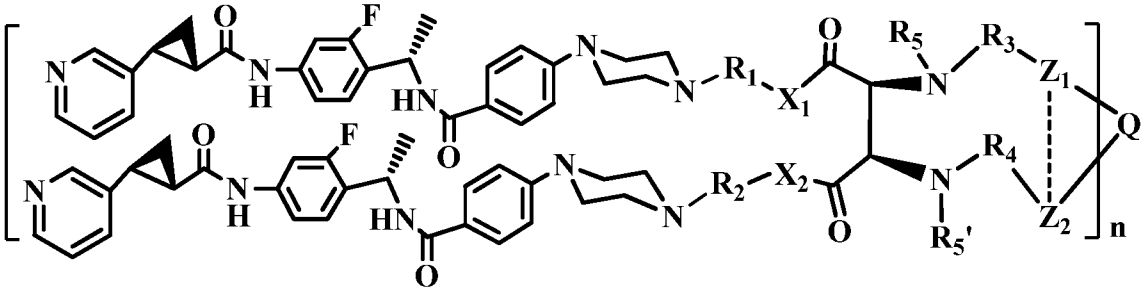
NP02,



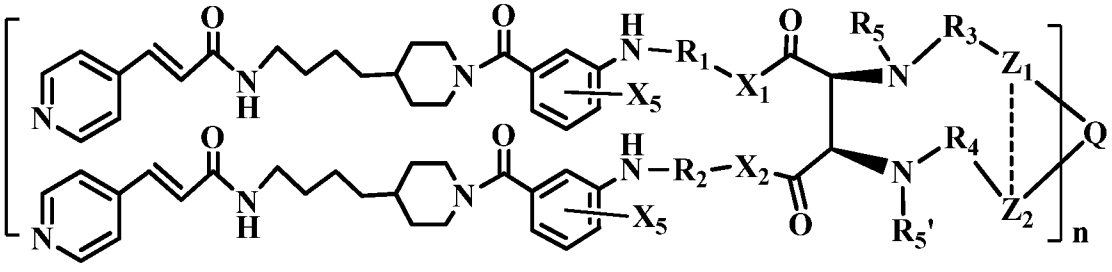
NP03,



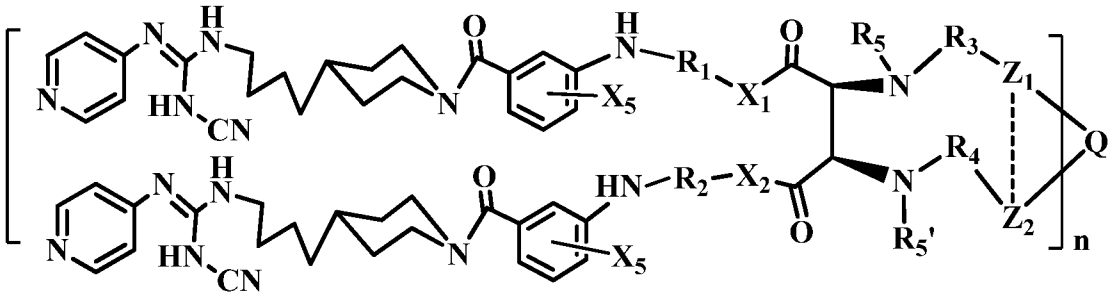
NP04,



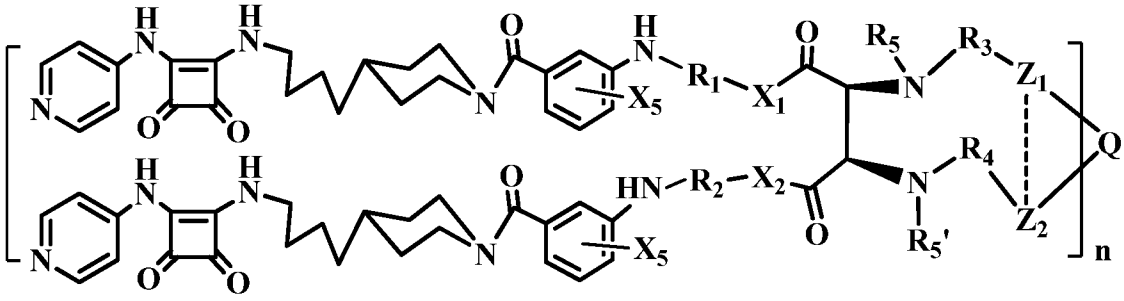
NP05,



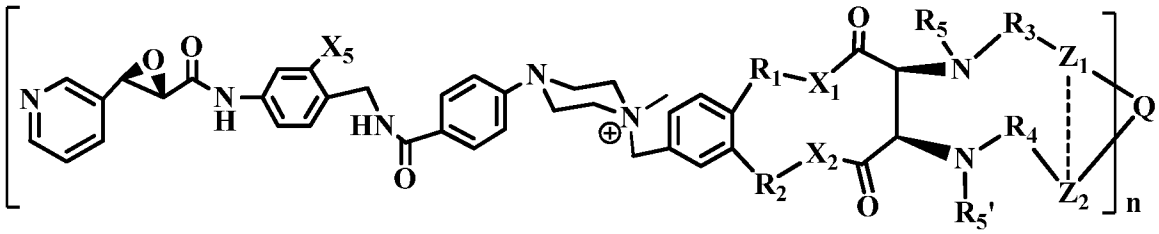
NP06,



NP07,



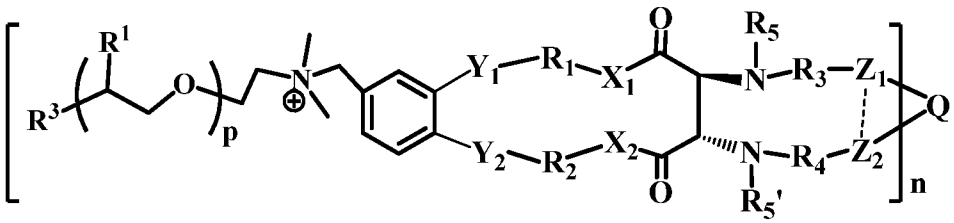
NP08,



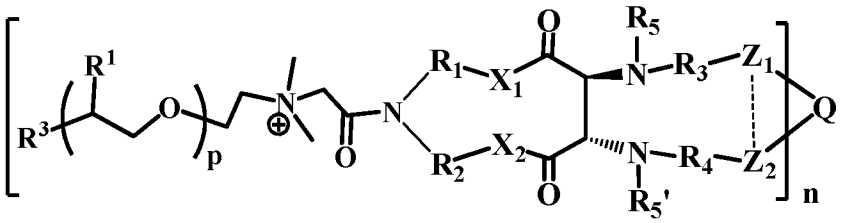
NP09,

где "-----", Q, X_1, X_2, Y_1, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, и n определены так же, как описано выше; X_5 представляет F, Cl, Br, I, OH, OR_1, R_1, OPO_3H_2, OSO_3H, NHR_1, $OCOR_1$, $NHCOR_1$; предпочтительно X_1, X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, N, NH, NHNH, NR_5, 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, CH_2, C(O)NHNHC(O), C(O)NR_1 или отсутствуют.

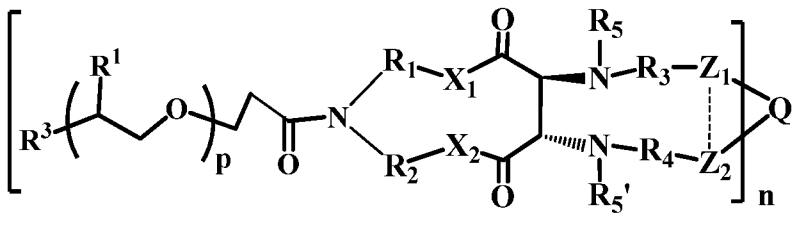
34. Соединение конъюгата по п. **1** или **14**, отличающееся тем, что Лекарственное средство$_1$ или Лекарственное средство$_2$ представляет собой аналог полиалкиленгликоля, выбранный из структур Pg01, Pg02 и Pg03.



Pg01



Pg02

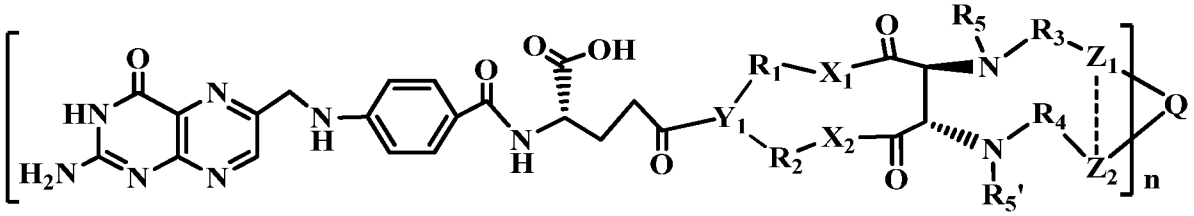


Pg03

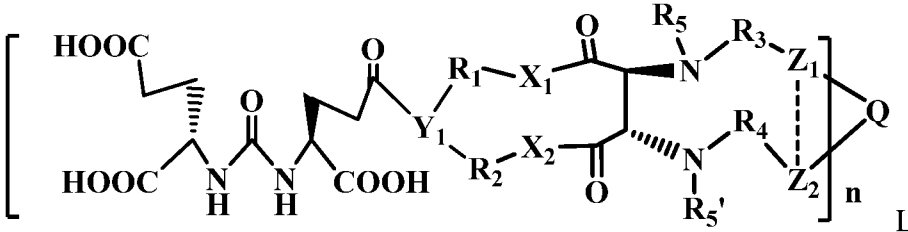
где "-----", Q, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2 и n определены так же, как описано выше; предпочтительно Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, S, C(O)O, C(O)NH, OC(O)NH, OC(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)S, OC(O)N(R_1), N(R_1)C(O)N(R_1), CH, C(O)NH-NHC(O) и C(O)NR_1; p равен от 1 до 5000; R^1 и R^3 определены так же, как и R_1 выше, и предпочтительно R^1 и R^3 независимо представляют собой H, OH, OCH_3, CH_3 или OC_2H_5.

35. Соединение конъюгата по п. 1, отличающееся тем, что Лекарственное средство$_1$ или Лекарственное средство$_2$ представляет собой клеточно-связывающий лиганд или агонист клеточного рецептора и его аналоги, выбранные из структур: LB01 (конъюгат с фолатом), LB02 (конъюгат с лигандом PMSA), LB03 (кон,ъюгат с лигандом PMSA), LB04 (конъюгат с лигандом PMSA), LB05 (конъюгат с соматостатином), LB06 (конъюгат с соматостатином), LB07 (октреотид, конъюгата аналога соматостатина), LB08 (ланреотид, конъюгата аналога соматостатина), LB09 (вапреотид(санвар), конъюгат аналога соматостатина), LB10 (конъюгат с лигандом CAIX), LB11 (конъюгат с лигандом CAIX), LB12 (рецептор высвобождающего гастрин пептида (GRPr), конъюгат MBA) LB13 (конъюгат лиганд рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) и GnRH), LB14 (конъюгат лиганд рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) и GnRH-лиганда), LB15 (антагонист GnRH, абареликс конъюгат), LB16 (кобаламин, конъюгат аналога витамина B12), LB17 (кобаламин, конъюгат аналога витамина B12), LB18 (пентапептидный циклический RGD конъюгат для рецептора интегрина $\alpha_v\beta_3$), LB19 (конъюгат гетеро-двухвалентного пептидного лиганда рецептора VEGF), LB20 (конъюгат нейромедина B), LB21 (конъюгат бомбезина для рецептора, сопряженного с G-белком), LB22 (конъюгат TLR_2 для Toll-подобного рецептора), LB23 (для рецептора андрогена), LB24 (циленгитид/цикло(-RGDfV-) конъюгат для рецептора интергрина α_v), LB23 (конъюгат с флудрокортизоном), LB25 (конъюгат с аналогом рифабутина), LB26 (конъюгат с аналогом рифабутина), LB27 (конъюгат с аналогом рифабутина), LB28 (конъюгат с флудрокортизоном), LB29 (конъюгат с дексаметазоном), LB30 (конъюгат с флутиказоном пропионатом), LB31 (конъюгат с беклометазоном дипропионатом), LB32 (конъюгат с триамцинолоном ацетонидом), LB33 (конъюгат с преднизоном), LB34 (конъюгат с преднизолоном), LB35 (конъюгат с метилпреднизолоном), LB36 (конъюгат с бетаметазоном), LB37 (конъюгат с аналогом иринотекана), LB38 (конъюгат с аналогом

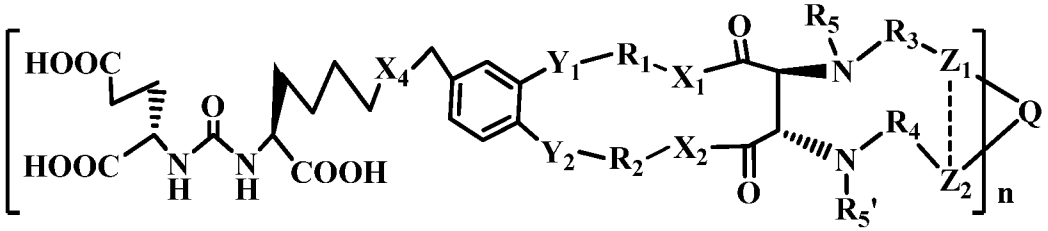
кризотиниба), LB39 (конъюгат с аналогом бортезомиба), LB40 (конъюгат с аналогом карфилзомиба), LB41 (конъюгат с аналогом карфилзомиба), LB42 (конъюгат с аналогом лейпролида), LB43 (конъюгат с аналогом трипторелина), LB44 (конъюгат с клиндамицина), LB45 (конъюгат с аналогом лираглутида), LB46 (конъюгат с аналогом семаглутида), LB47 (конъюгат с аналогом ретапамулина), LB48 (конъюгат с аналогом инбулина), LB49 (конъюгат с аналогом винбластина), LB50 (конъюгат с аналогом ликсисенатида), LB51 (конъюгат с аналогом осимертиниба), LB52 (конъюгат с аналогом неуклеозида), LB53 (конъюгат с аналогом эрлотиниба) и LB54 (конъюгат с аналогом лапатиниба), которые представлены следующими структурами:



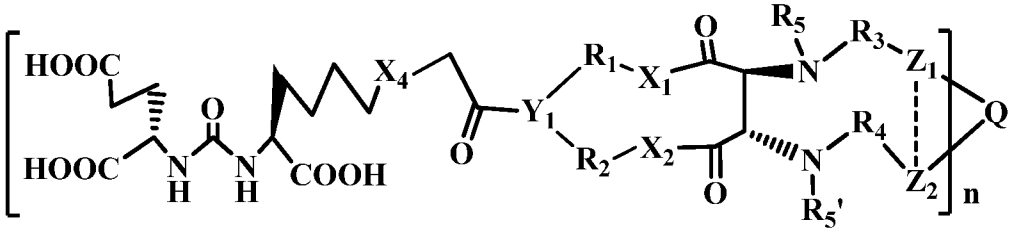
LB01,



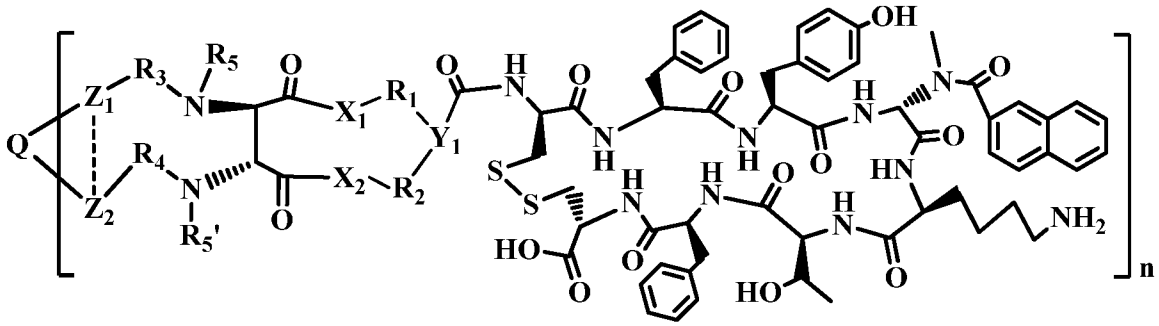
LB02,



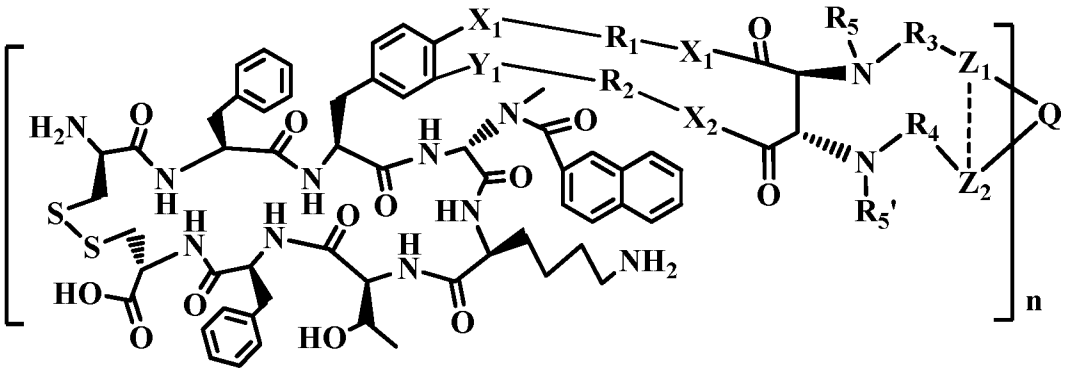
LB03,



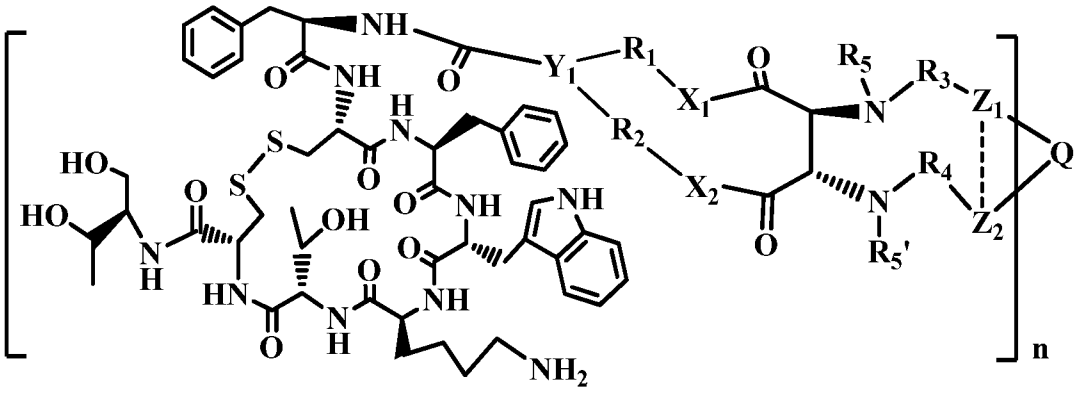
LB04,



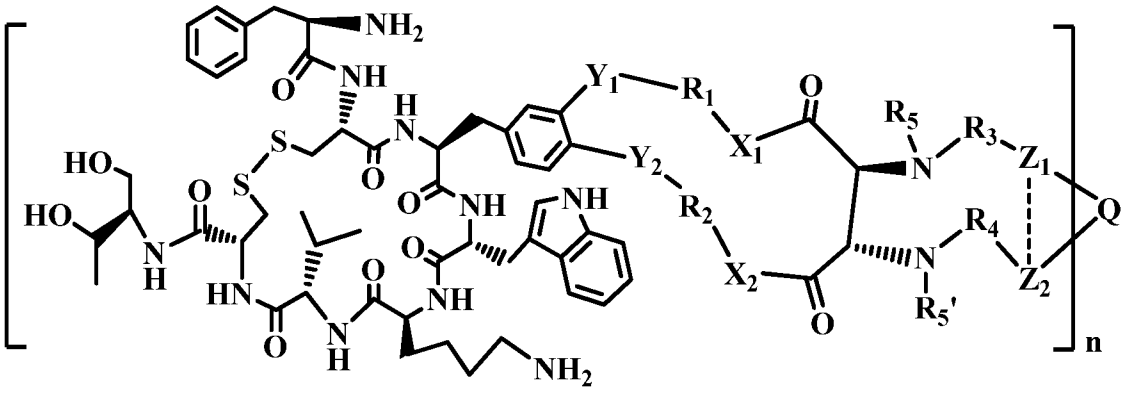
LB05,



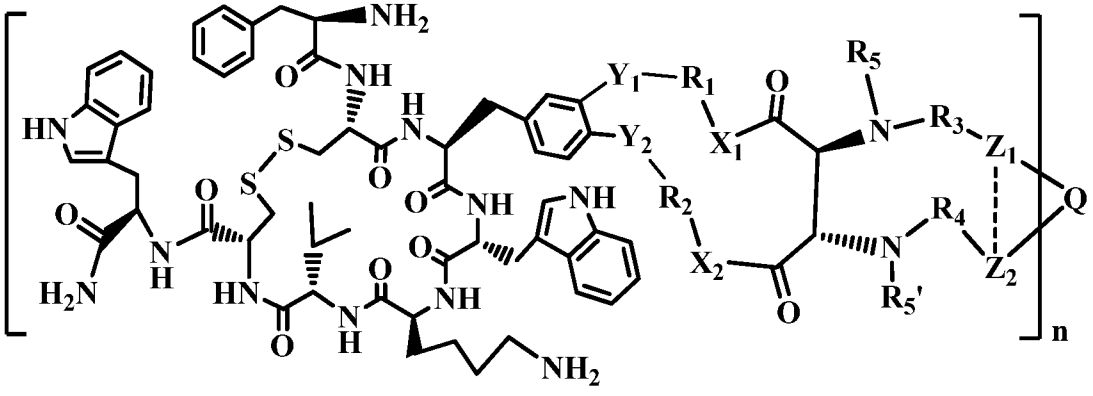
LB06,



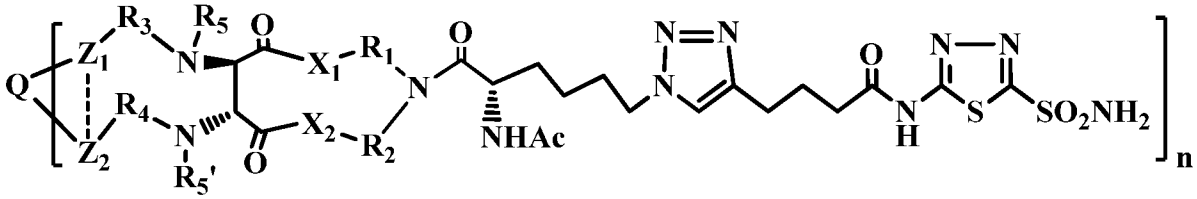
LB07,



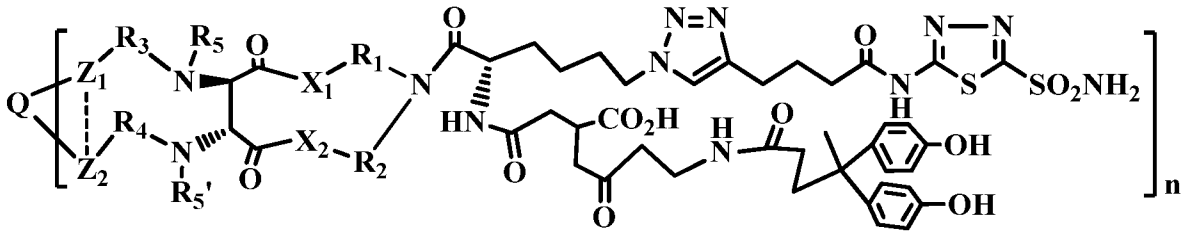
LB08,



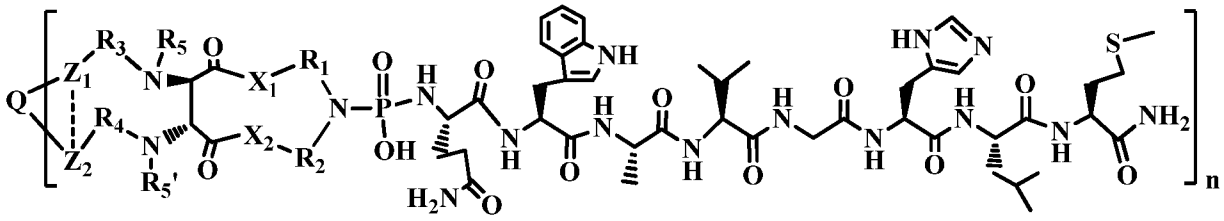
LB09,



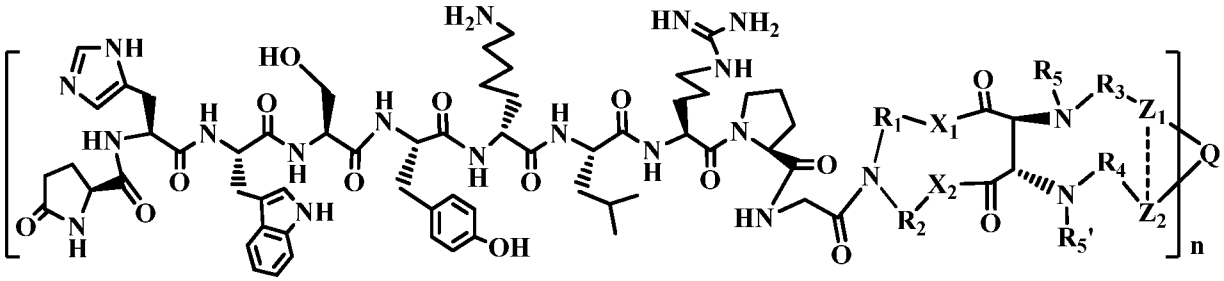
LB10,



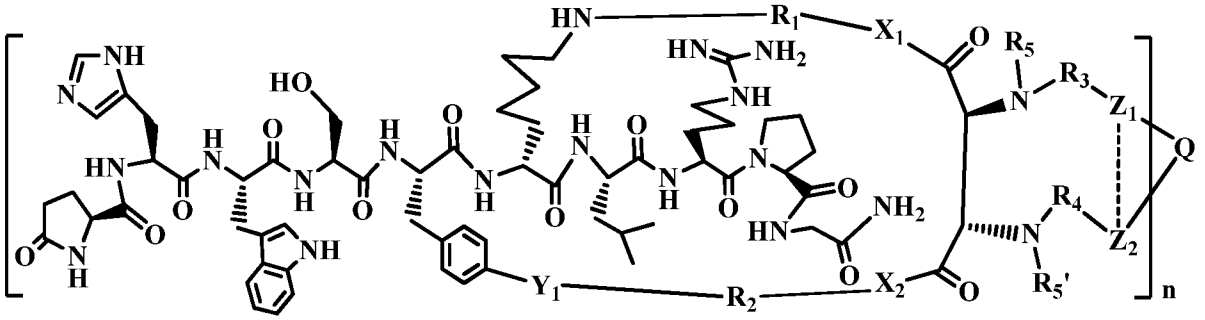
LB11,



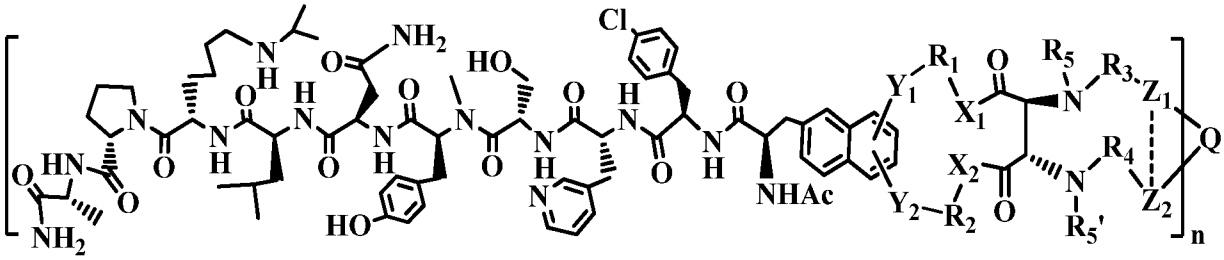
LB12,



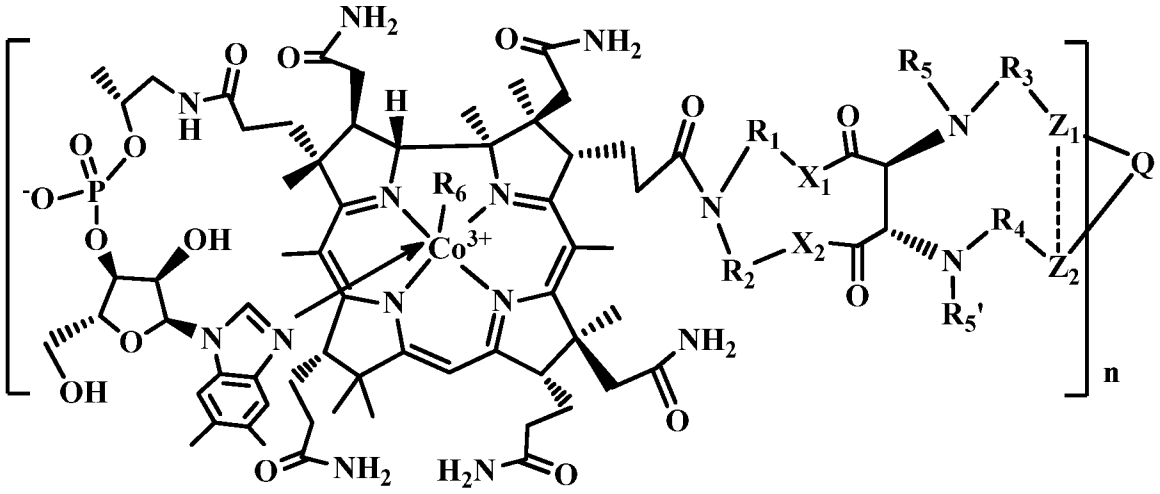
LB13,



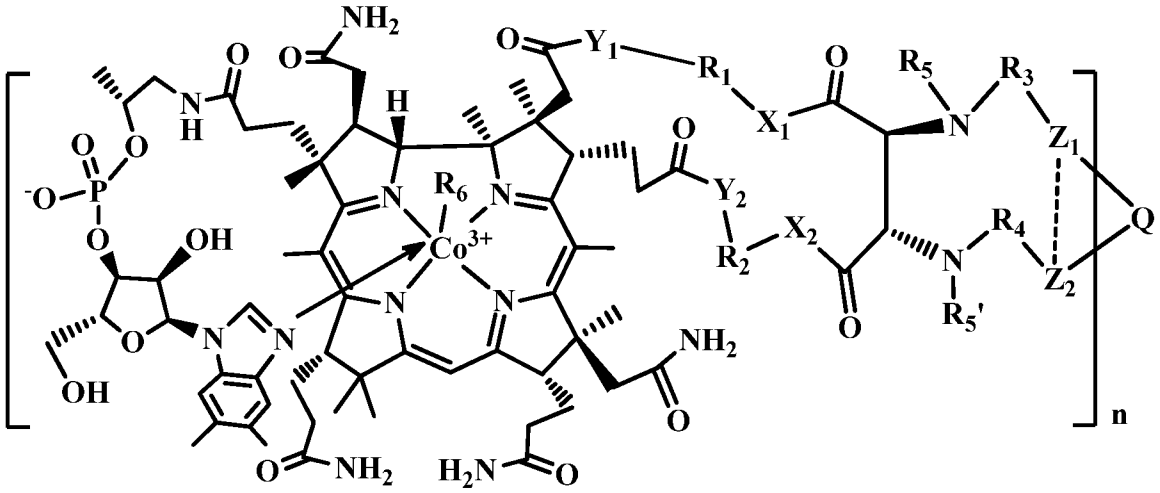
LB14,



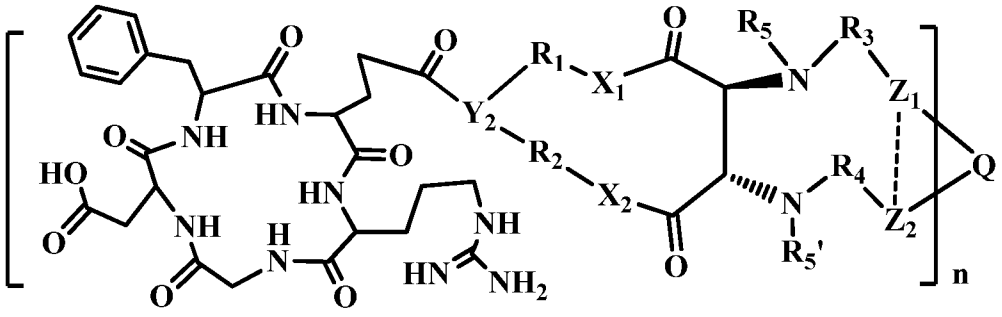
LB15,



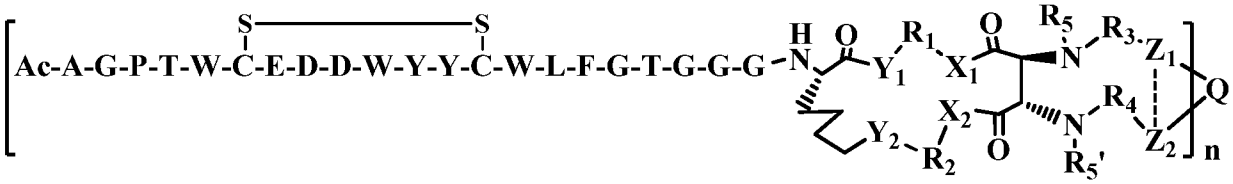
LB16,



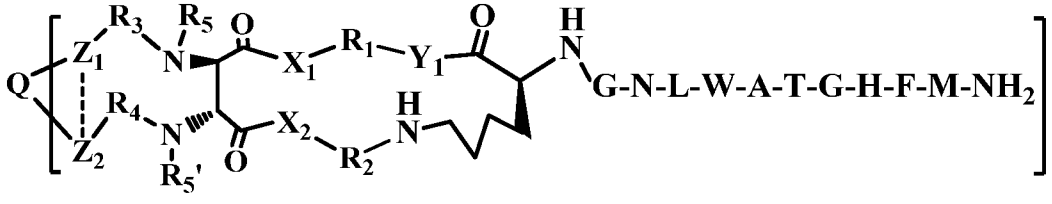
LB17,



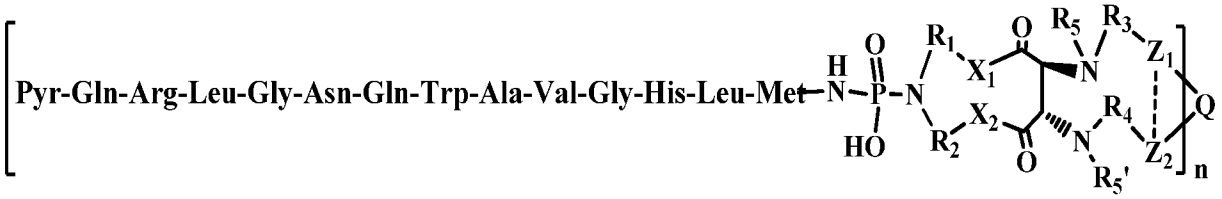
LB18,



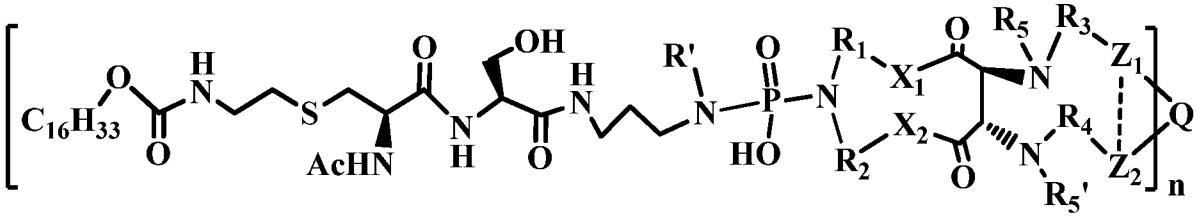
LB19,



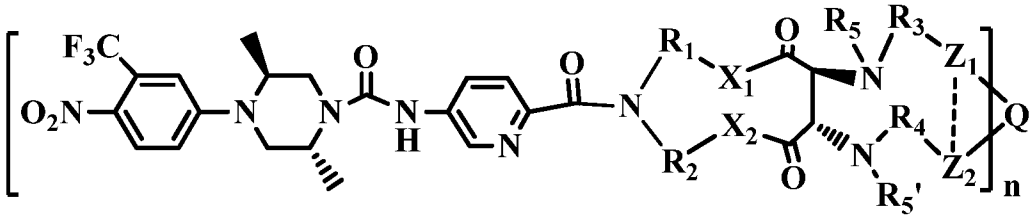
LB20,



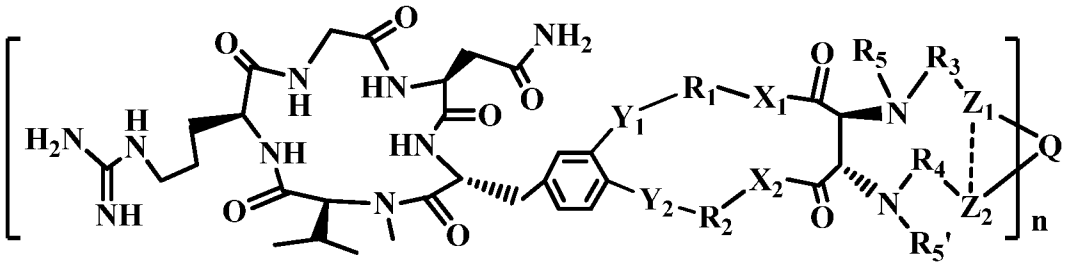
LB21,



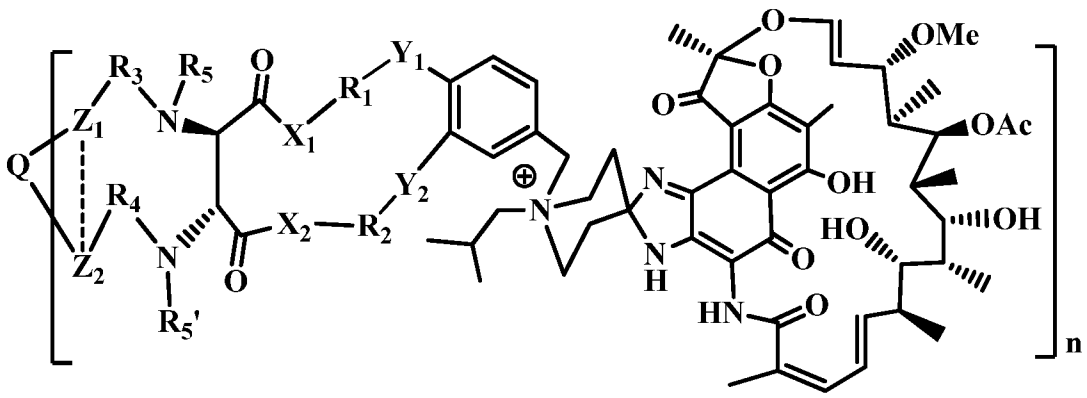
LB22,



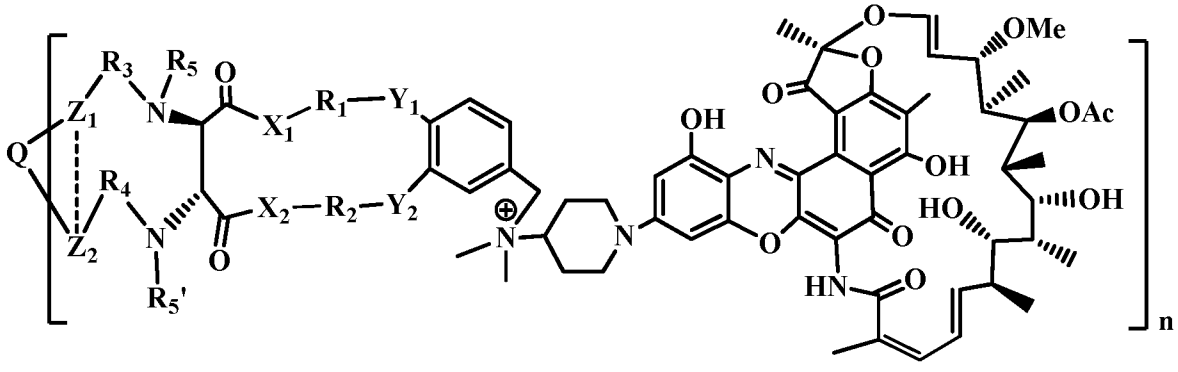
LB23,



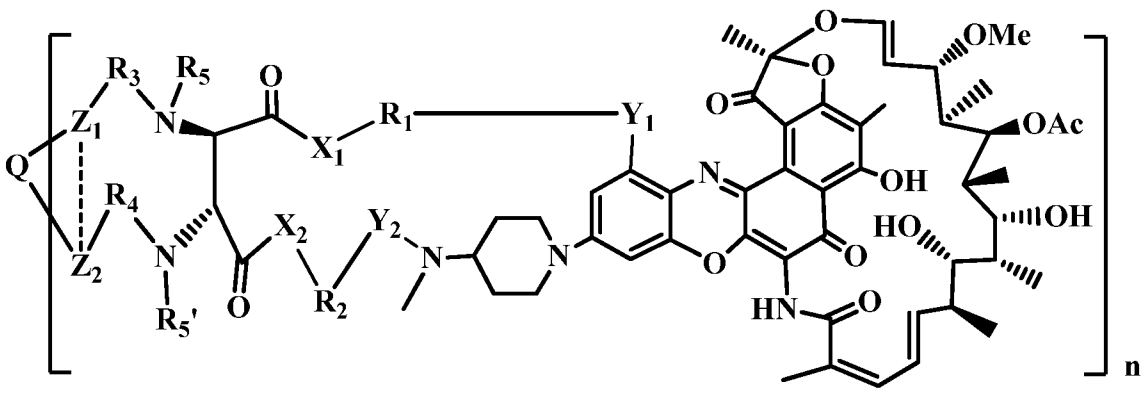
LB24,



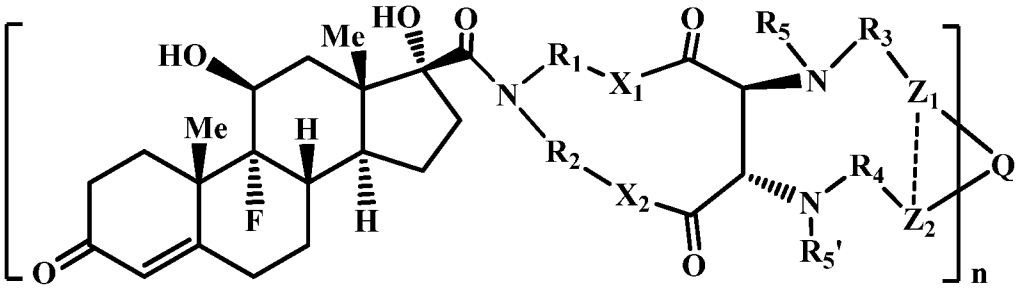
LB25,



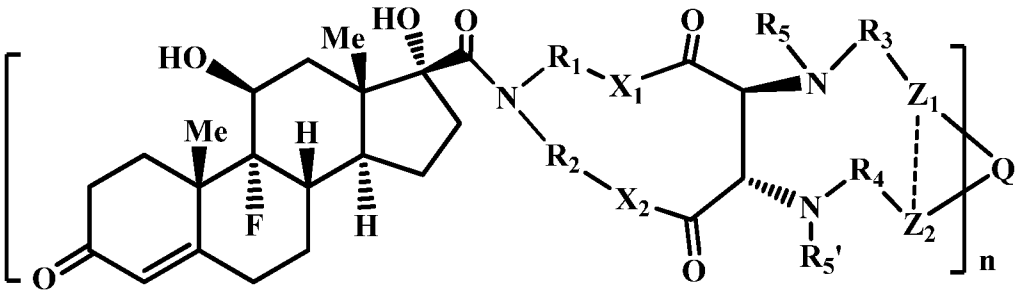
LB26,



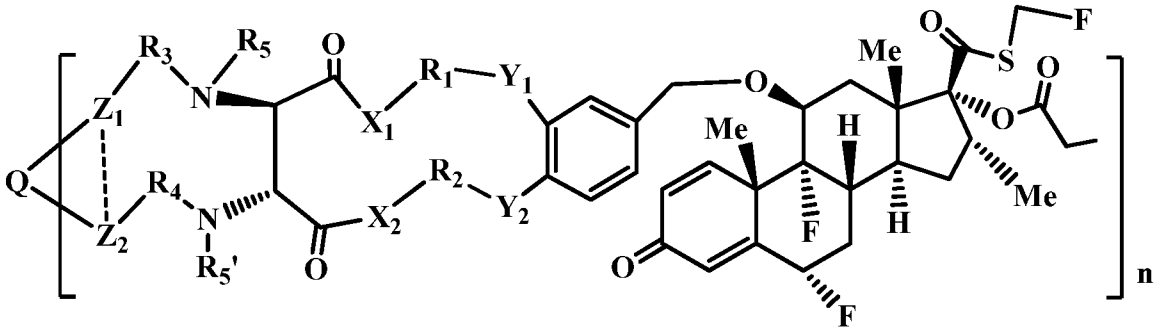
LB27,



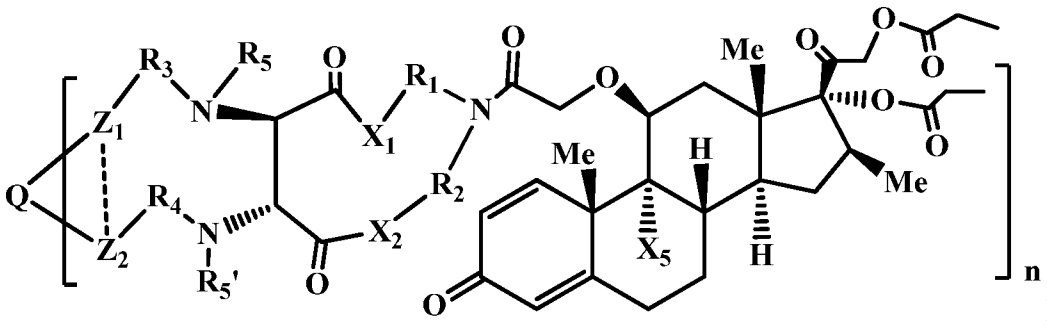
LB28,



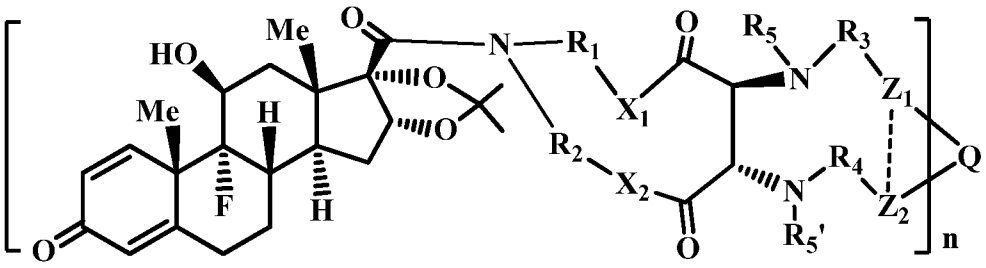
LB29,

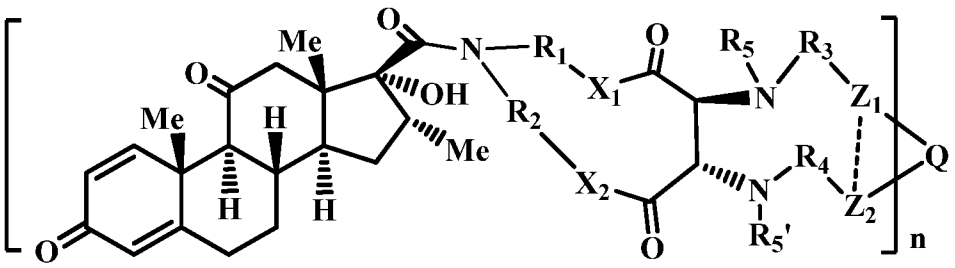


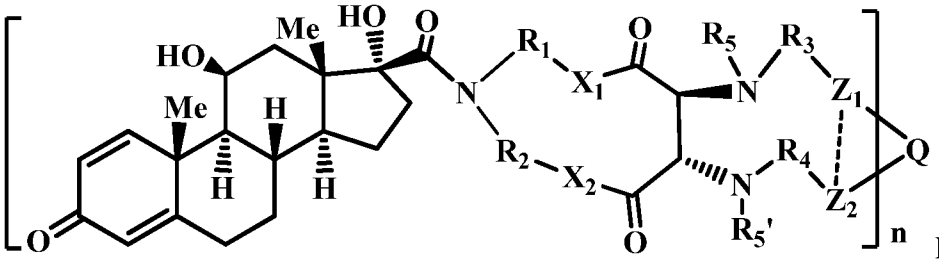
LB30,

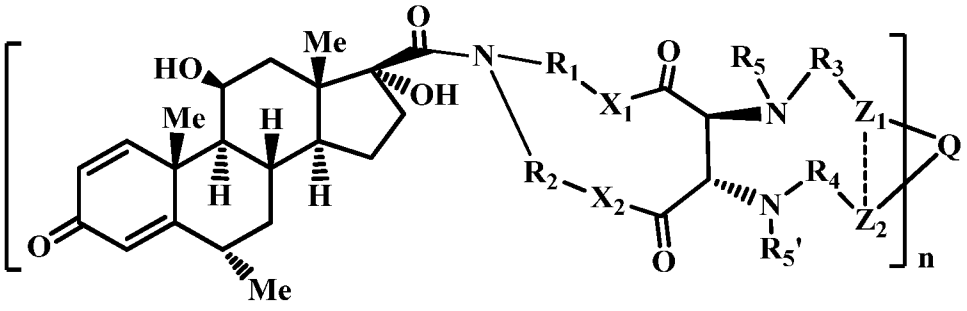


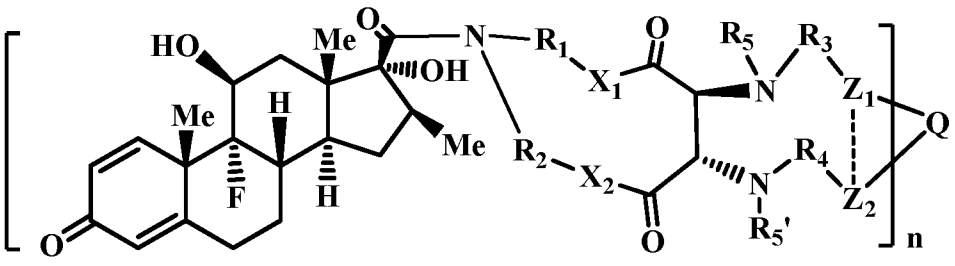
LB31,

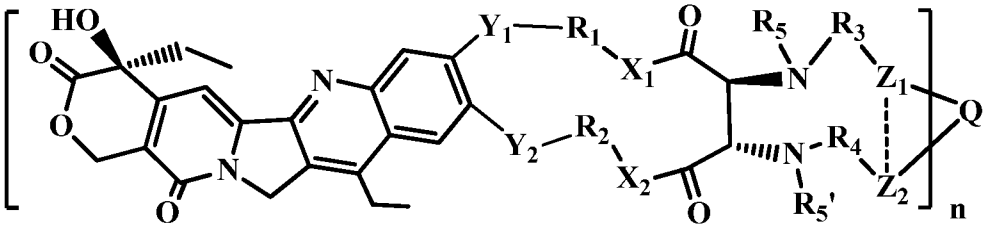

LB32,

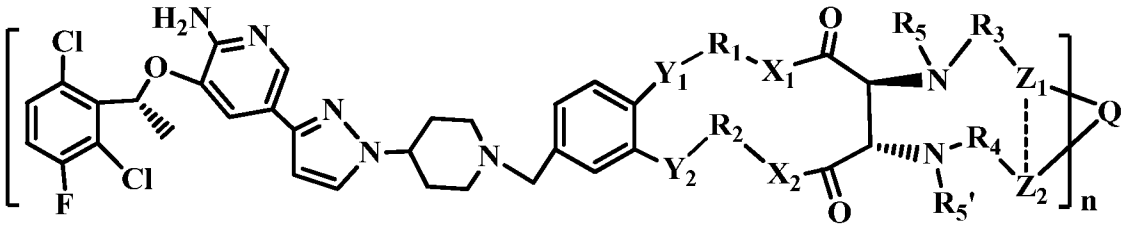

LB33,


LB34,

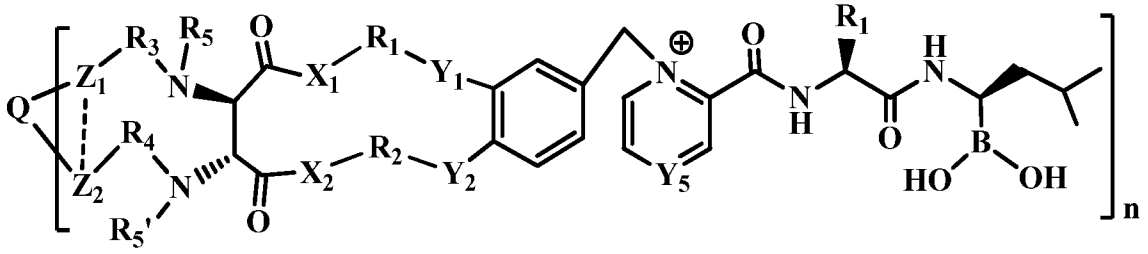

LB35,


LB36,

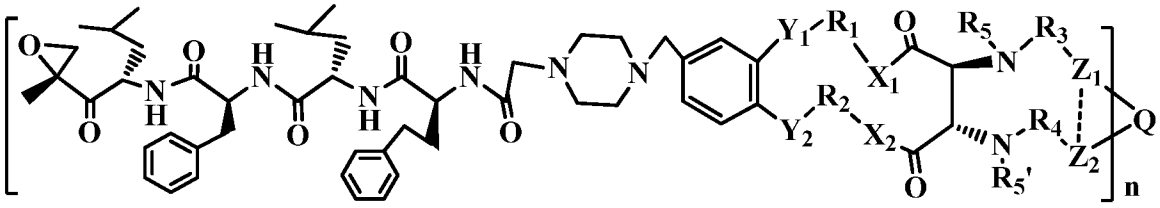

LB37,



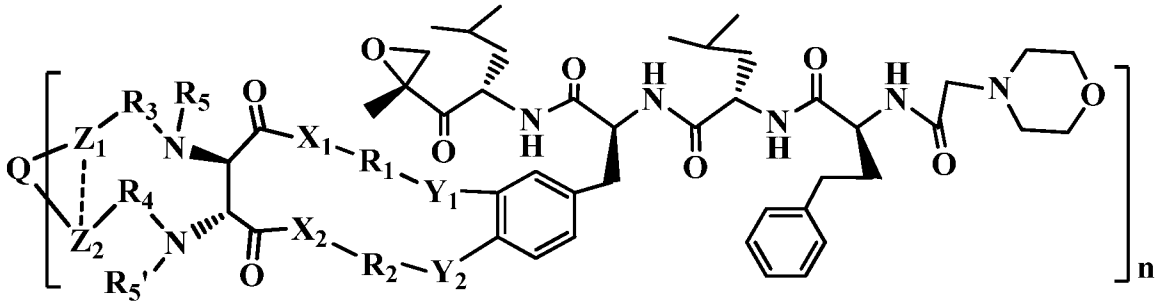
LB38,



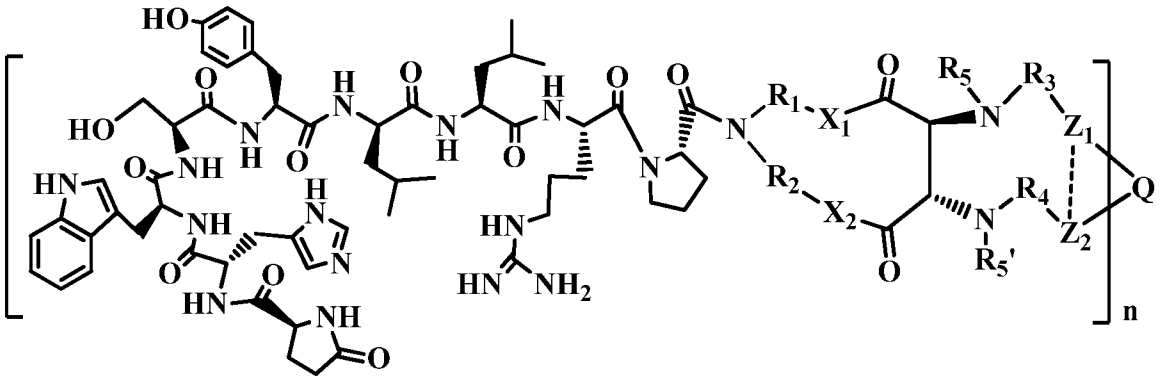
LB39, где Y_5 представляет собой N, CH, C(Cl), C(CH_3) или C($COOR_1$); R_1 представляет собой H, C_1-C_6 алкил, C_3-C_8 Ar;



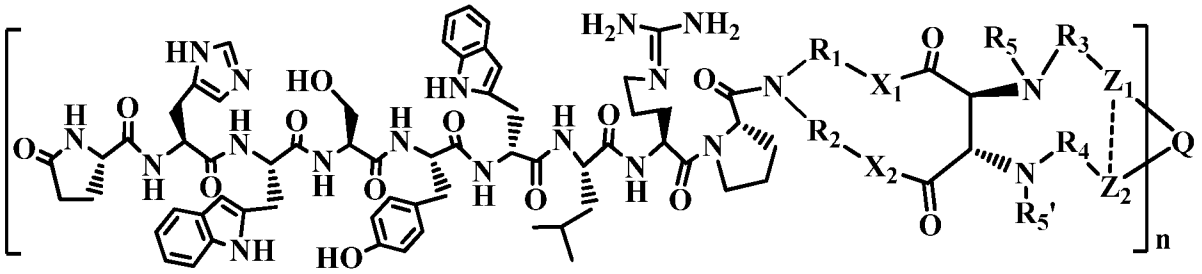
LB40,



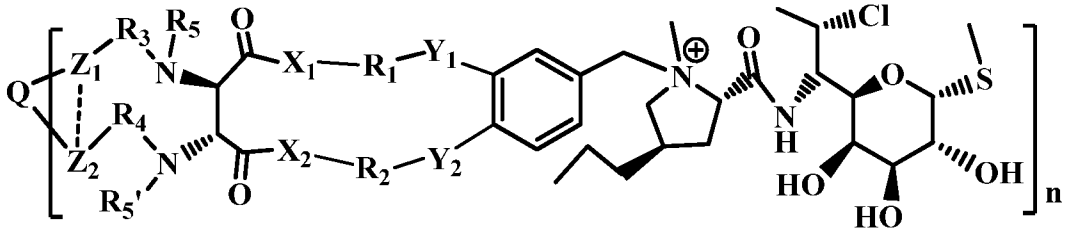
LB41,



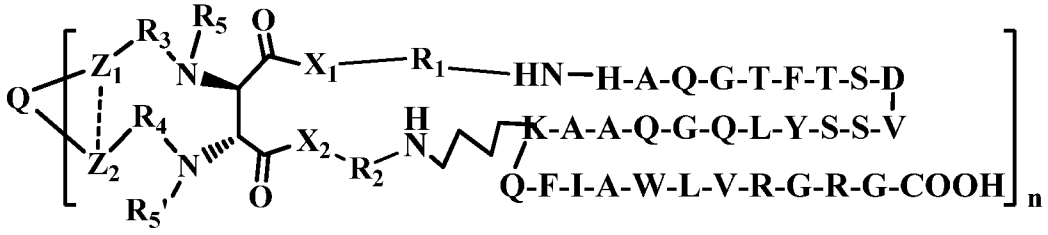
LB42,



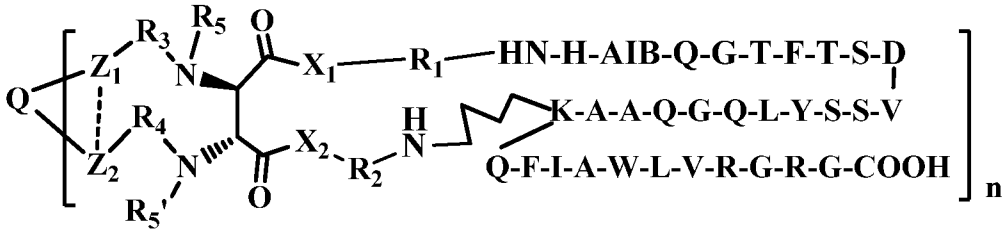
LB43,



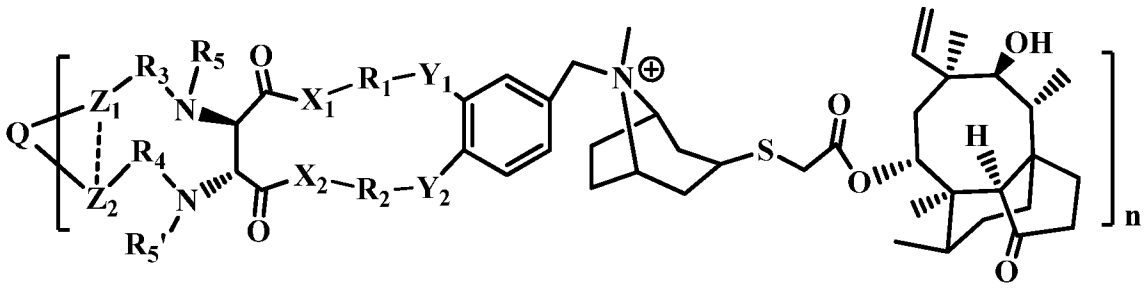
LB44,



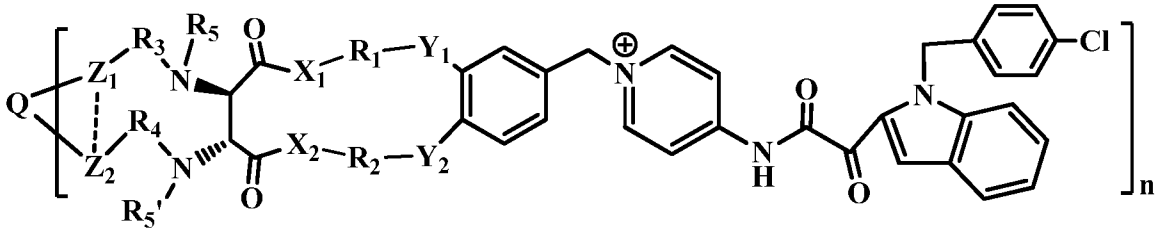
LB45,



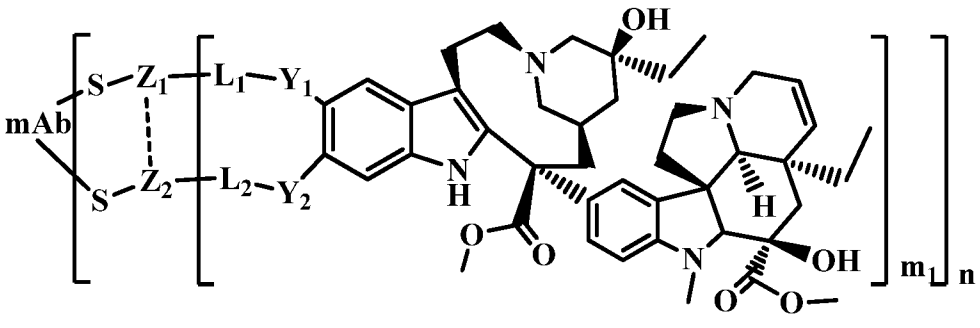
LB46,



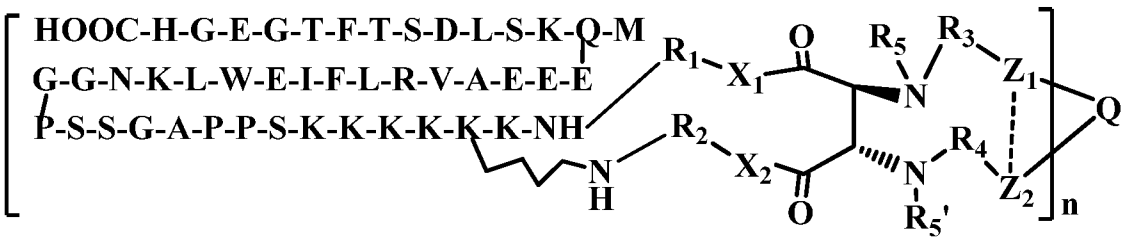
LB47,



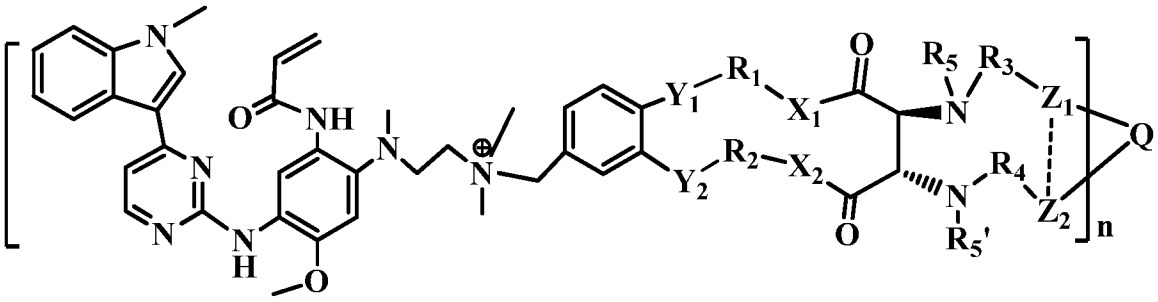
LB48,



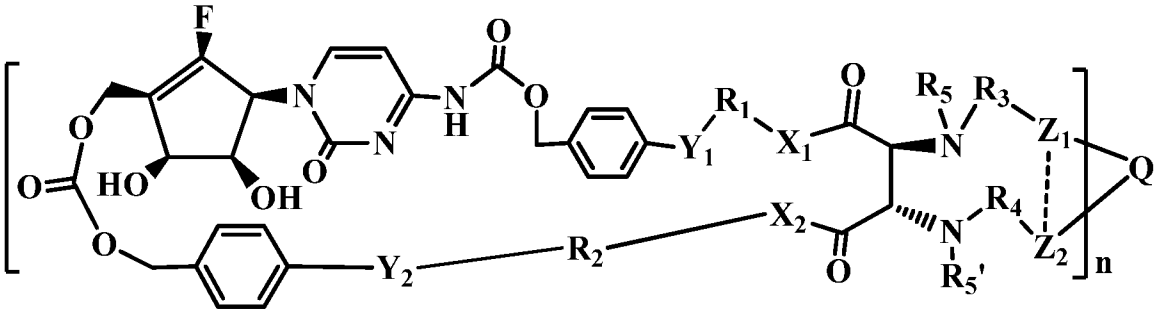
LB49,



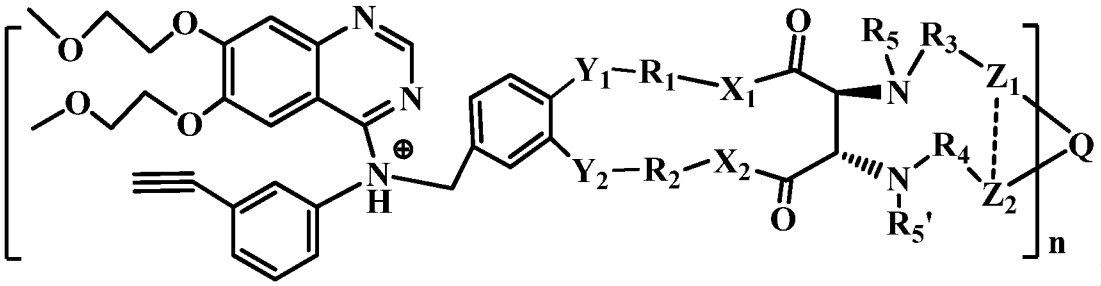
LB50,



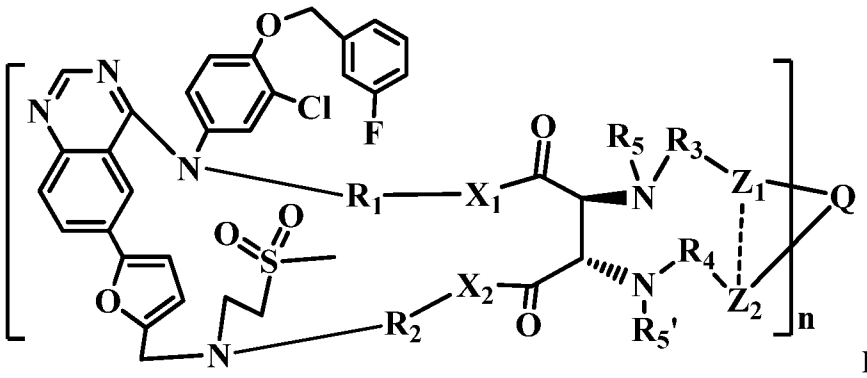
LB51,



LB52,



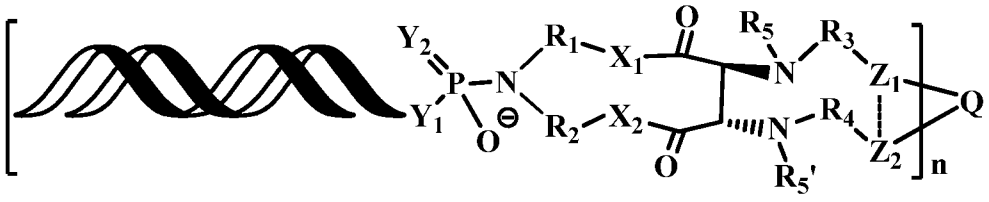
LB53,



LB54,

где "-----", -----X_1, X_2, Q, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2 и n определены так же, как описано выше; предпочтительно X_1 X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, 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, C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1; X_3 представляет собой CH_2, O, NH, NHC(O), NHC(O)NH, C(O), OC(O), OC(O)(NR_3), R_1, NHR_1, NR_1, C(O)R_1 или отсутствует X_4 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, $NR_1R_2R_3$; R_6 представляет собой 5'-деоксиаденозил, Me, OH или CN;

36. Конъюгат по п. 1, в котором цитотоксическая молекула представляет собой ДНК, РНК, мРНК, малую интерферирующую РНК (миРНК), микроРНК (микроРНК), или PIWI взаимодействующие РНК (пиРНК); конъюгат выбран из структуры SI-1.

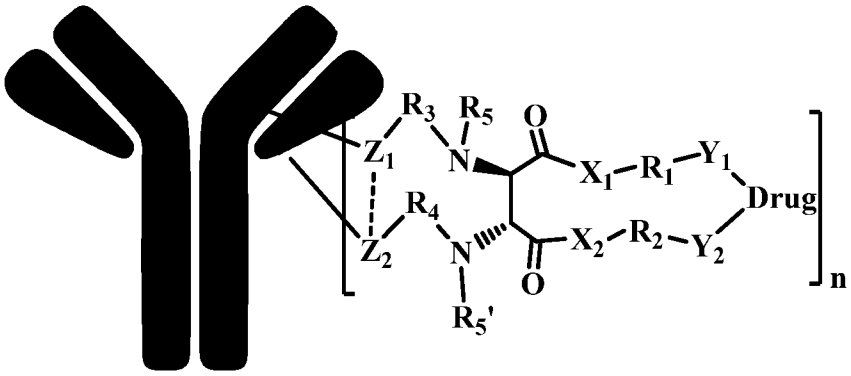


SI-1,

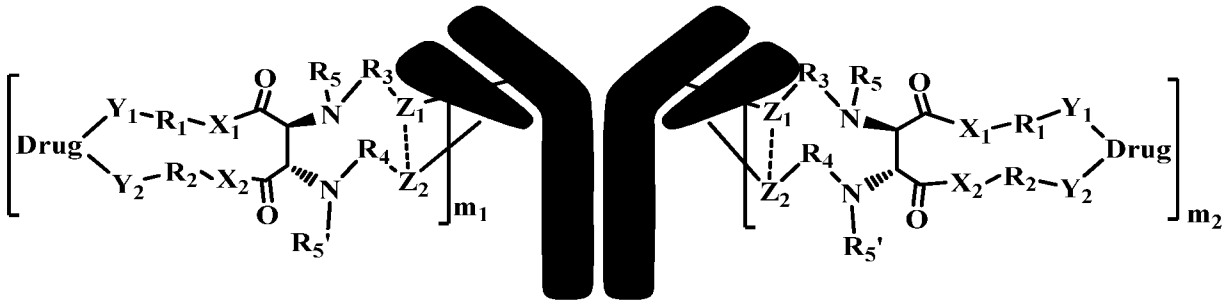
где "-----", Q, X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2 и n определены так же, как описано выше; предпочтительно X_1 X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, S, C(O)O, C(O)NH, OC(O)NH, OC(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)S, OC(O)N(R_1), N(R_1)C(O)N(R_1), CH, CH_2, C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1; представляет собой одинарные или двойные цепи DNA, миРНК, микроРНК или пиРНК.

37. Конъюгат по любому из пп. 1, 5, 6, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 или 36, где связывающая клетку молекула/агент выбрана из антитела IgG, моноклонального антитела или антителоподобного белка IgG, имеющего следующую структуру ST1, ST2, ST3, ST4, ST5 или ST6 ниже, причем конъюгат специфически конъюгирован с парой тиолов, образующихся за счет восстановления дисульфидных связей связывающей клетки молекулы/агента между легкой цепью и

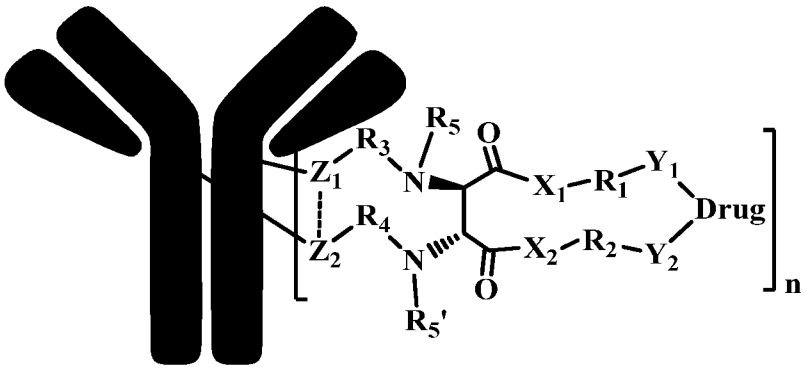
тяжелой цепью, верхних дисульфидных связей между двумя тяжелыми цепями и низших дисульфидных связей между двумя тяжелыми цепями:



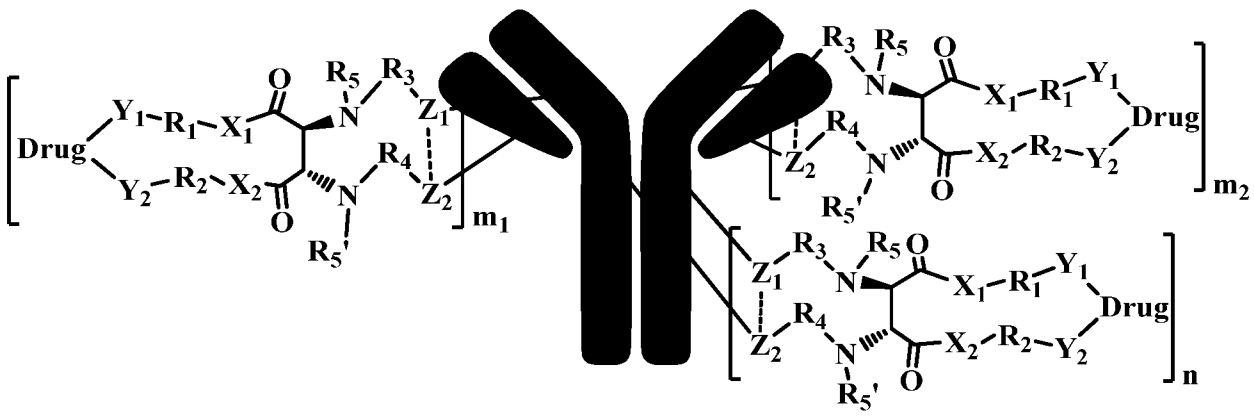
ST1,



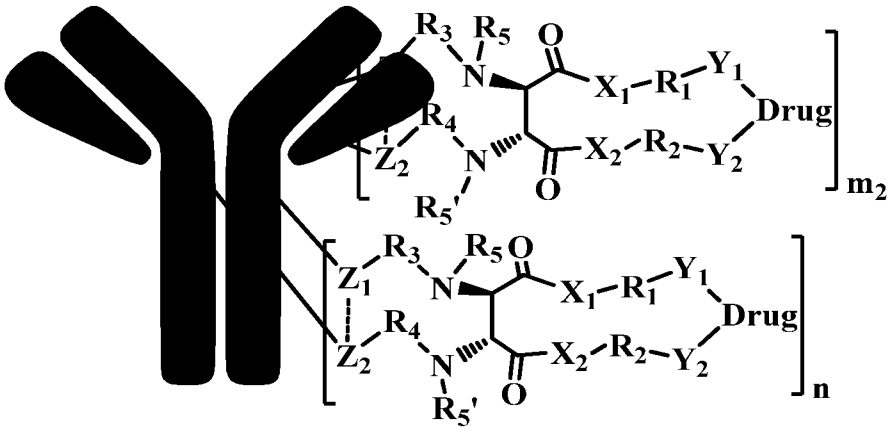
ST2,



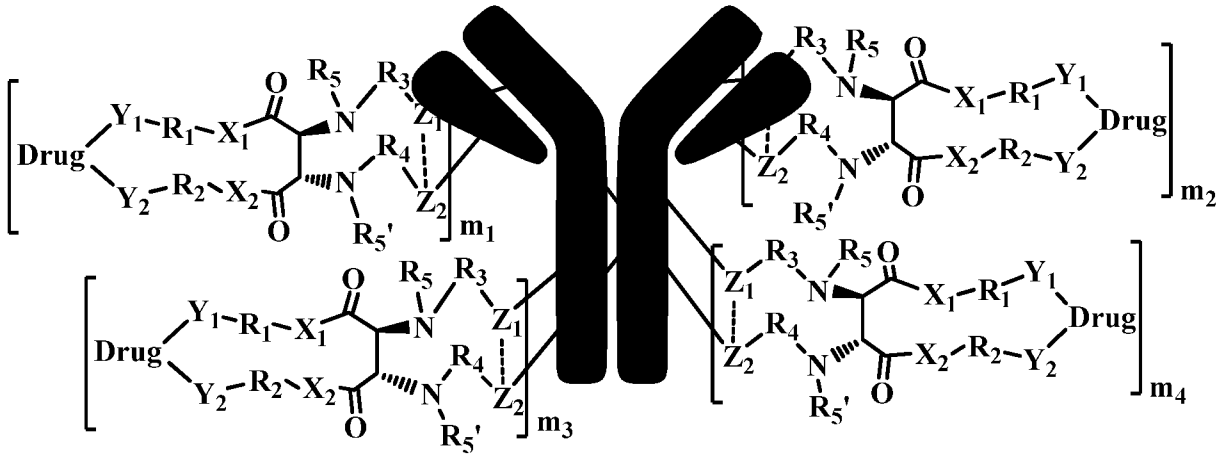
ST3,



ST4,



ST5,



ST6,

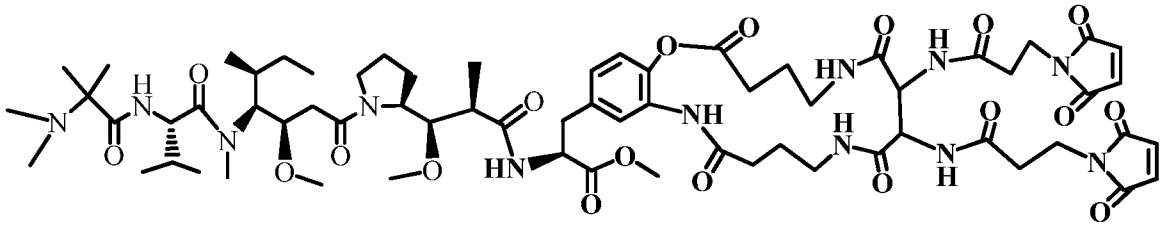
где "-----", Y_1, Y_2, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, и n определены так же ,как описано выше; предпочтительно X_1 X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, S, C(O)O, C(O)NH, OC(O)NH, OC(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)S, OC(O)N(R_1), N(R_1)C(O)N(R_1), CH, CH_2, C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1; m_1, m_2, m_3 и m_4 независимо равны от 1 до 30.

38. Конъюгат по п. 37, отличающийся тем, что Лекарственное средство (или цитотоксическая молекула) и m_1 в разных сайтах конъюгации клеточно-связывающей молекулы могут быть разными, когда цитотоксические молекулы, содержащие одинаковые или разные бис-линкеры по настоящему изобретению, конъюгированы с клеточно-связывающей молекулой последовательно или ступенчато.

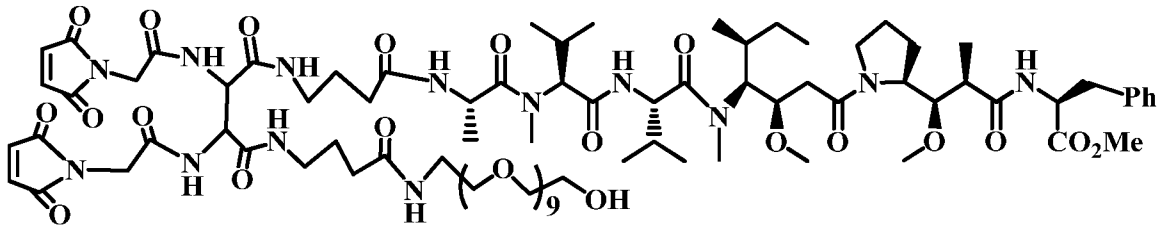
39. Конъюгат по любому из пп. 37 или 38, отличающийся тем, что Лекарственное средство выбрано из тубулизинов, майтанзиноидов, таксаноидов (таксанов), аналогов CC-1065, соединений даунорубицина и доксорубицина, индолкарбоксамида, димеров бензодиазепина, димеров пирролобензодиазепина (PBD), димеров томаймицина, димеров антрамицина, димеров индолинобензодиазепинов, димеры имидазобензотиадиазепинов, димеров оксазолидинобензодиазепинов, калихеамицинов и энедииновых антибиотиков, актиномицина, аманитинов, аматоксинов, азасеринов, блеомицинов, эпирубицина, эрибулина, тамоксифена, идарубицина, доластатинов, ауристатинов (включая

монометилауристатин E, MMAE, MMAF, ауристатин PYE, ауристатин TP, ауристатины 2-AQ, 6-AQ, EB (AEEF), EFP (AEEF) и их аналоги), дуокармицинов, гелданамицинов, HSP90 ингибиторов, ингибитора никотинамидфосфорибозилтрансфераз, центанамицина, метотрексатов, тиотепа, виндезинов, винкристинов, гемиастерлинов, назумамидов, микрогининов, радиозуминов, стрептонигтина, SN38 или других аналогов или метаболитов камптотецина, альтеробактинов, микросклеродерминов, теонелламидов, эсперамицинов, PNU-159682 и их аналогов или производных, фармацевтически приемлемых солей, кислот, производных, гидрата или гидратированной соли, кристаллической структуры, оптического изомера, рацемата, диастереомера или энантиомера любого из указанных выше лекарственных средств; или цитотоксической молекулы/соединения, описанных в п. **12.**

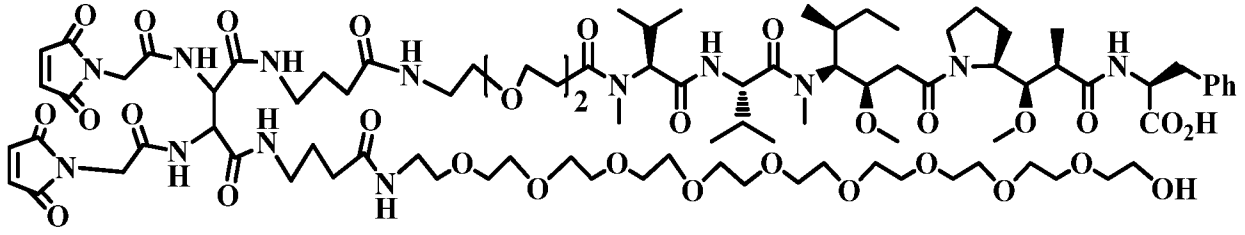
40. Соединение по п. **2**, имеющее формулу A-01, A-02, A-03, A-04, B-01, B-02, B-03, B-04, B-05, B-06, B-07, B-08, B-09, B-10, B-11, B-12, B-13, B-14, B-15, B-16, C-01, C-02, C-03, C-04, C-05, C-06, C-07, C-08, C-09, C-10, C-11, C-12, D-01, D-02, D-03, D-04, D-05, D-06, Pg-04, 97, 98, 116, 125, 129, 133, 135, 157a, 157b, 157c, 157d, 157e, 157f, 162, 163, 235a, 235b, 235c, 236a, 236b, 236c, 238a, 238b, 238c, 255, 256, 258a, 258b, 258c, 260, 262, 267, 271, 272, 274, 276, 278, 282, 284, 286, 287, 306, 309, 314, 318 и 325, проиллюстрированную следующими структурами:



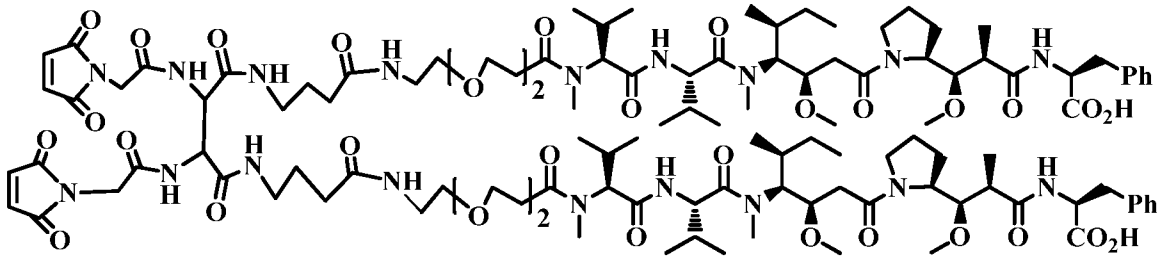
A-01,



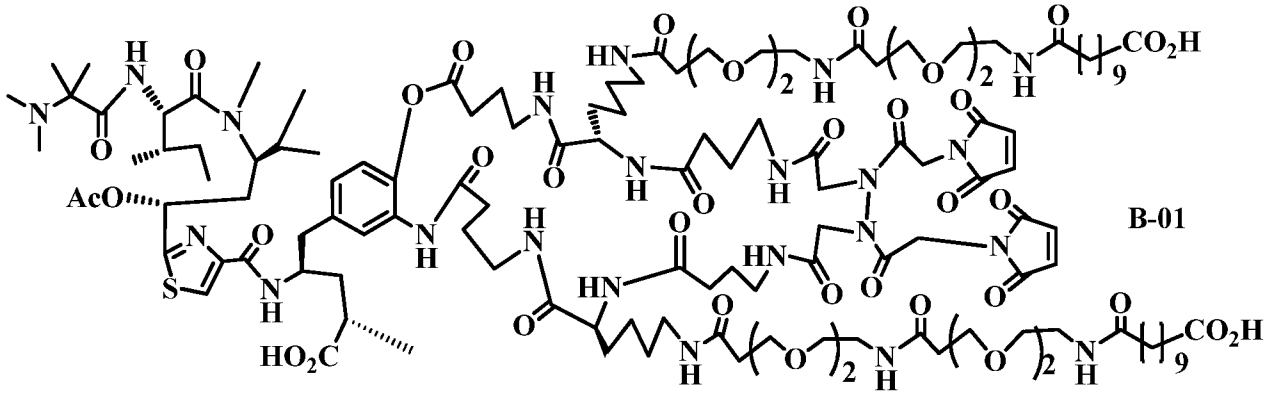
A-02,



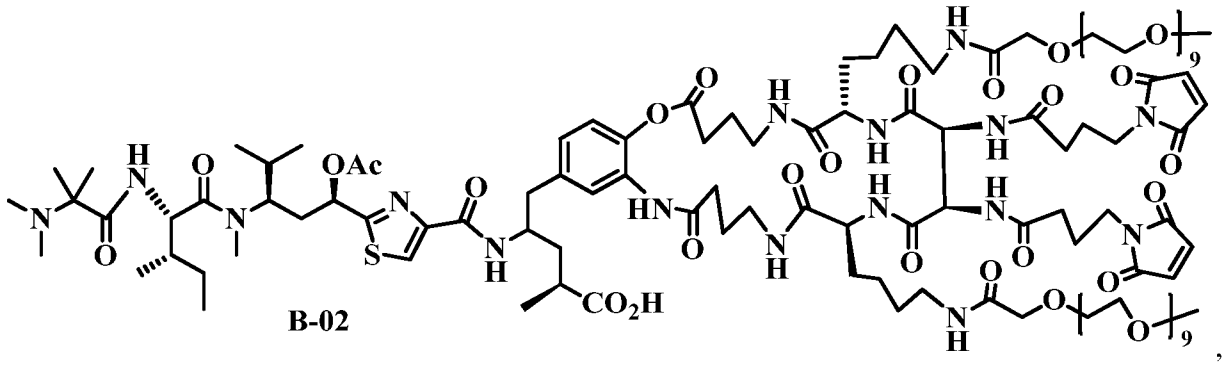
A-03,



A-04,

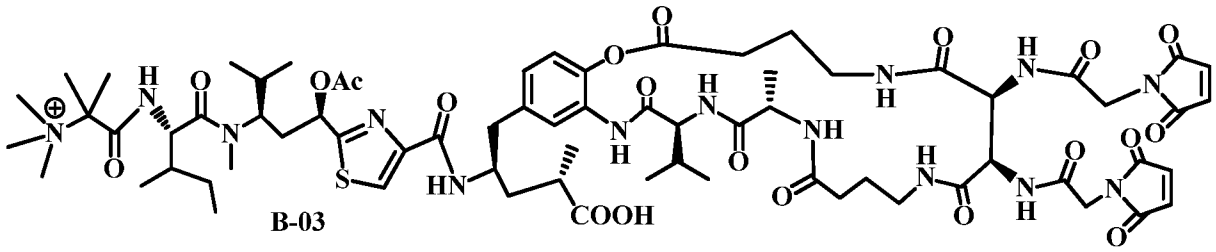


B-01

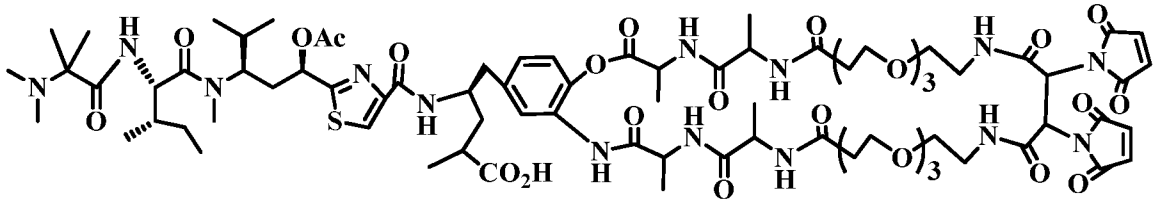


B-02

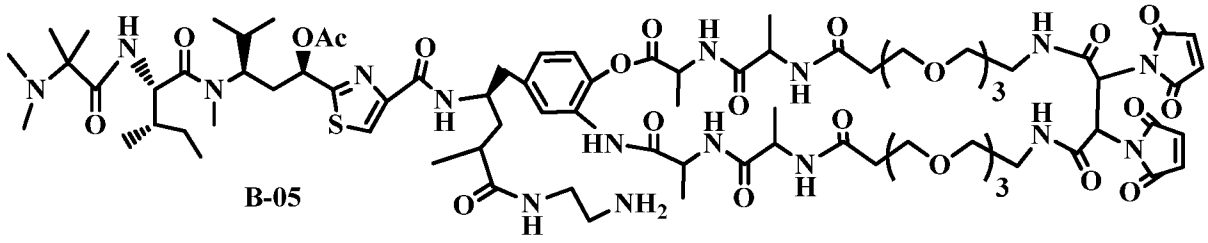
,



B-03

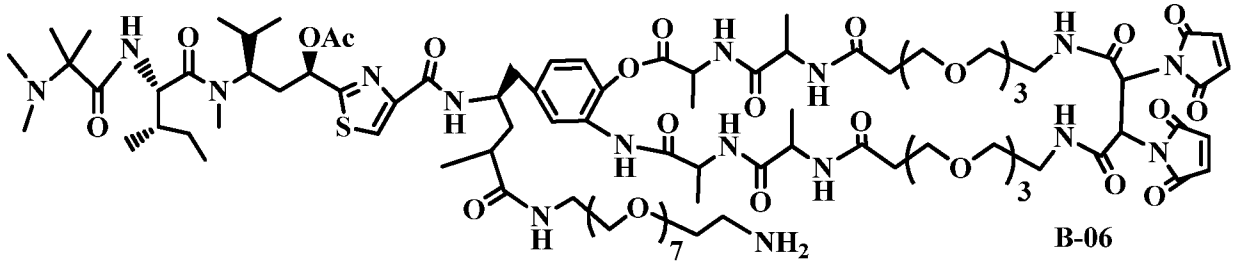


B-04,



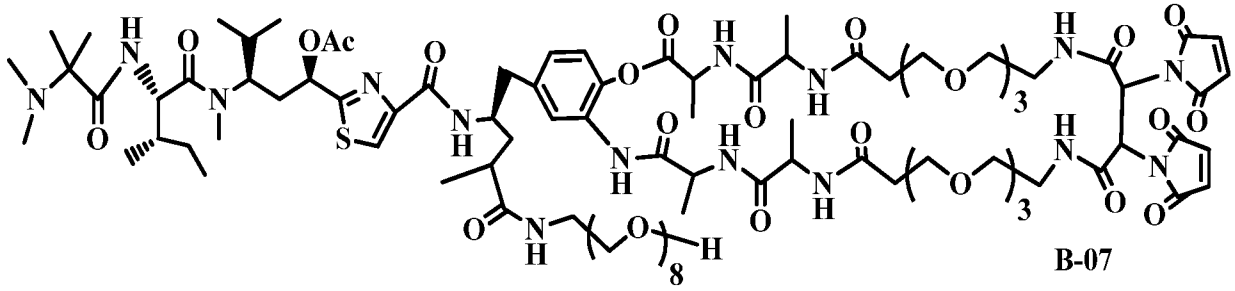
B-05

,



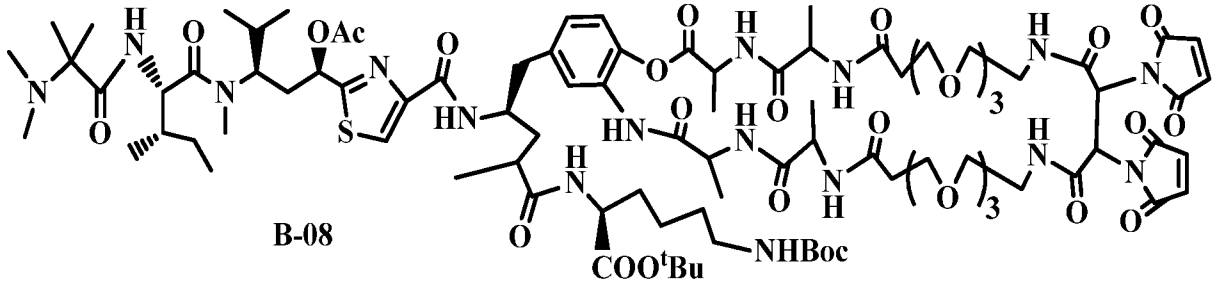
B-06

,



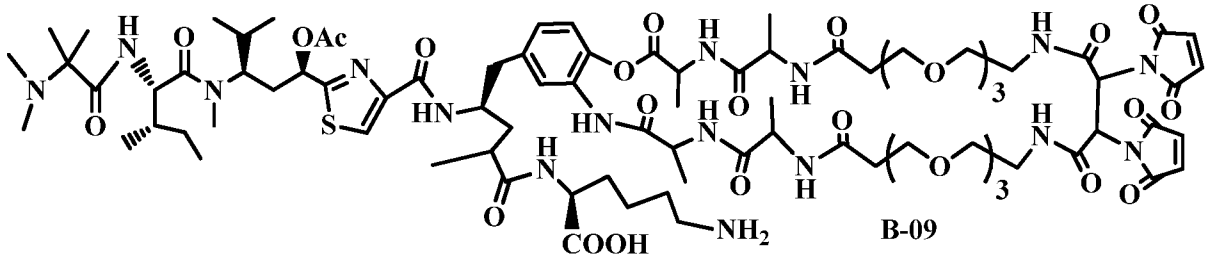
B-07

,



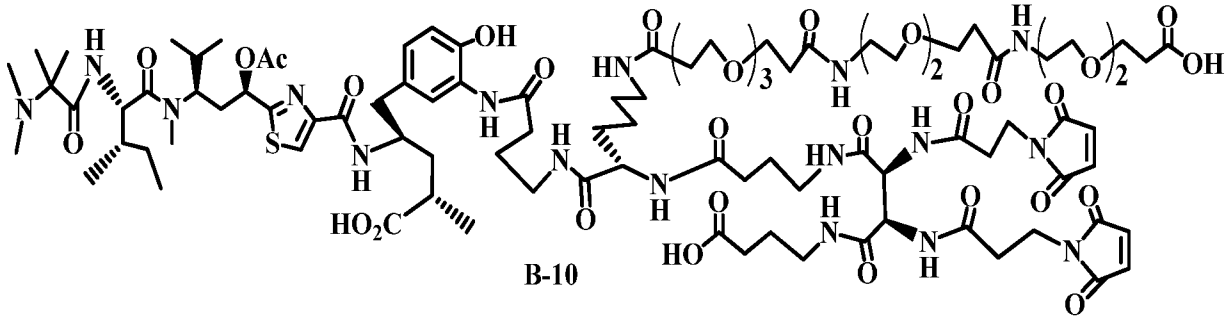
B-08

,



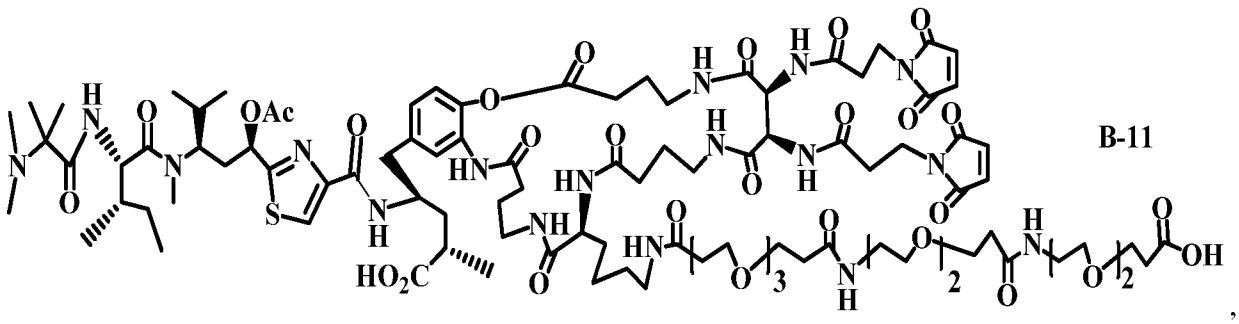
B-09

,



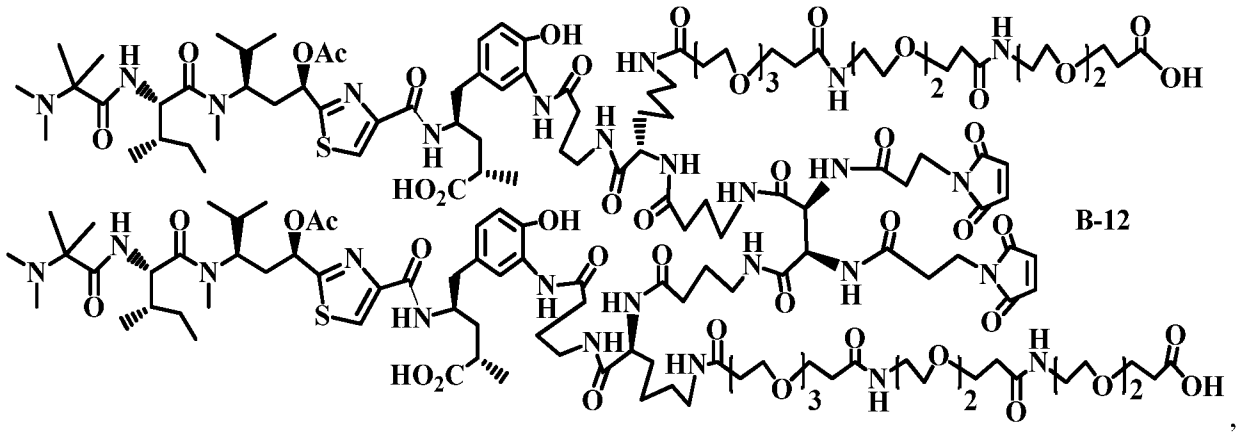
B-10

,

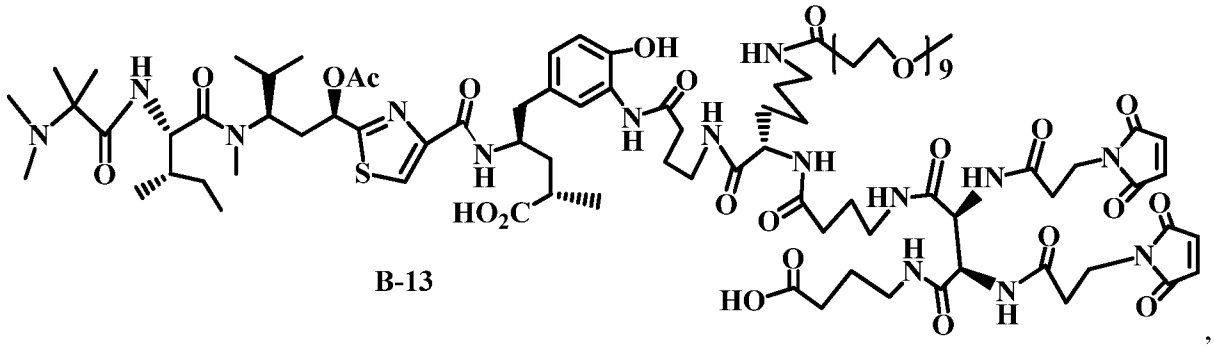


B-11

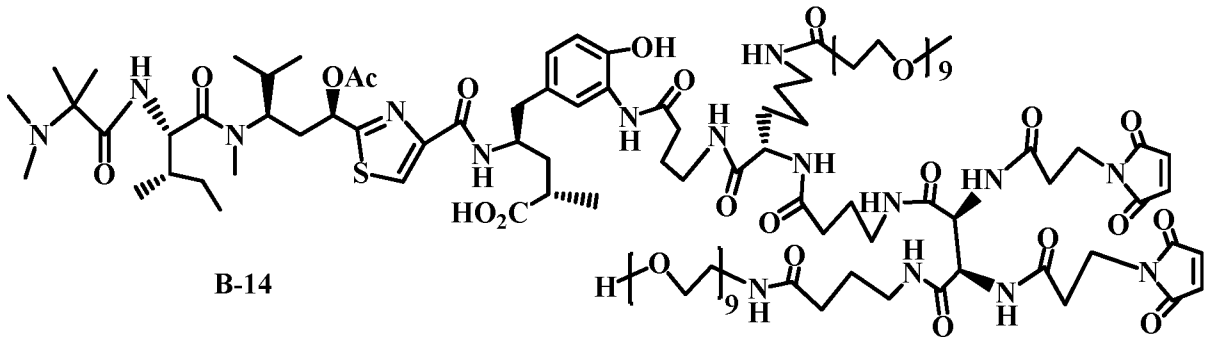
,



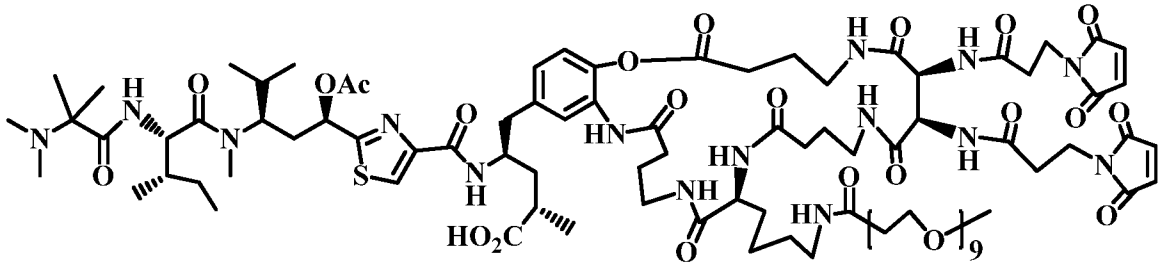
B-12,



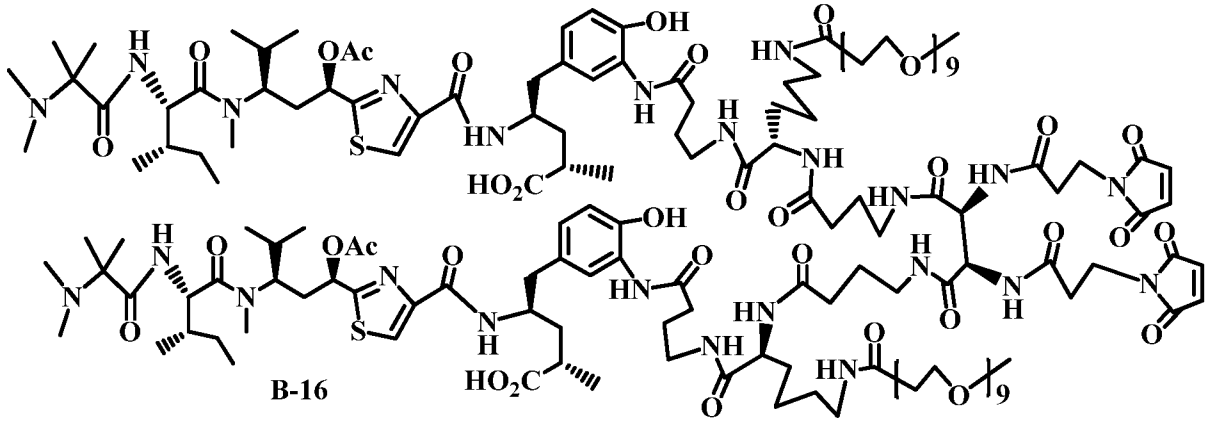
B-13,



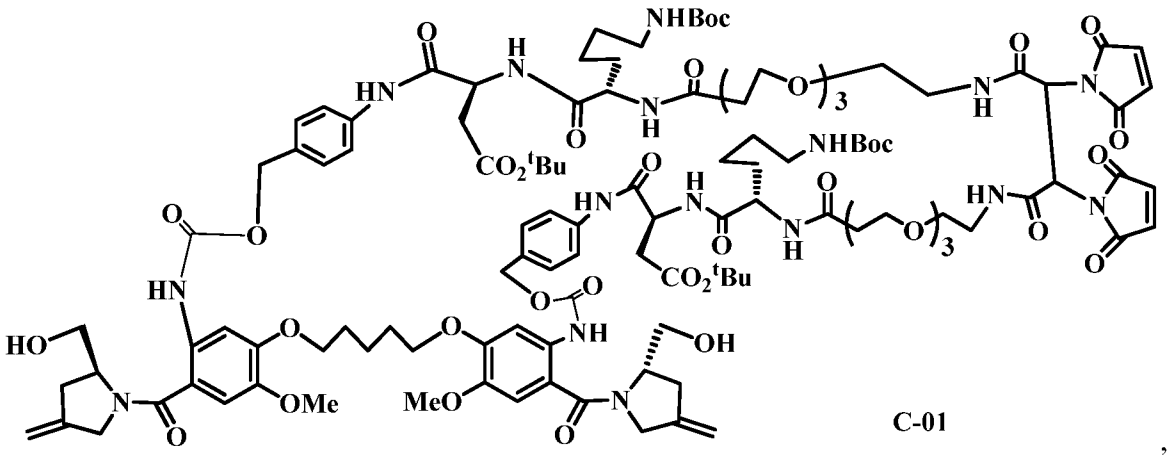
B-14,



B-15,

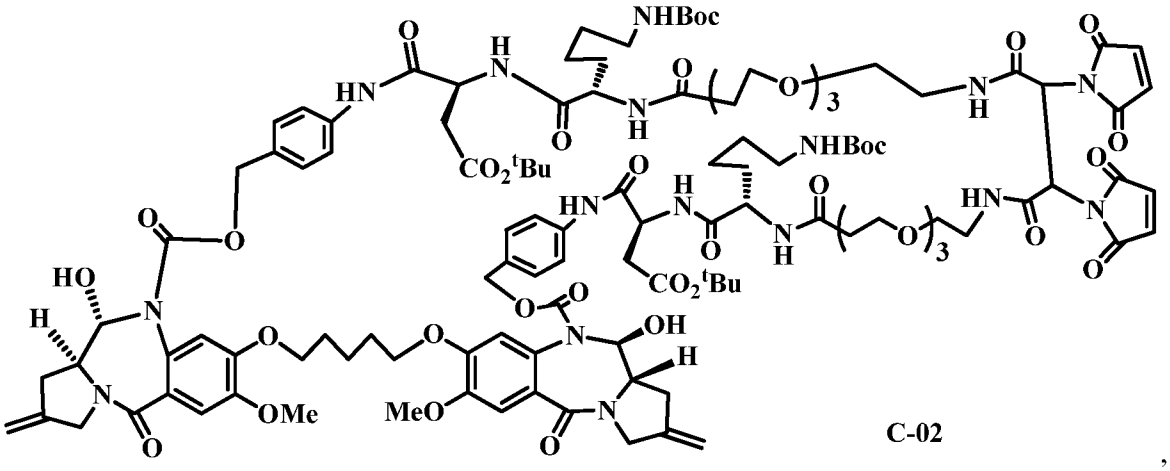


B-16,,



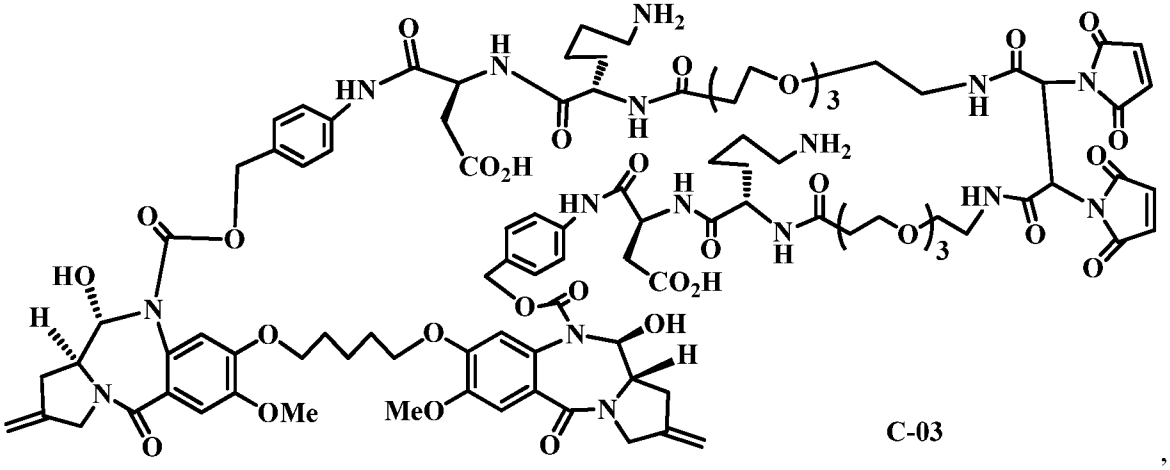
C-01

,



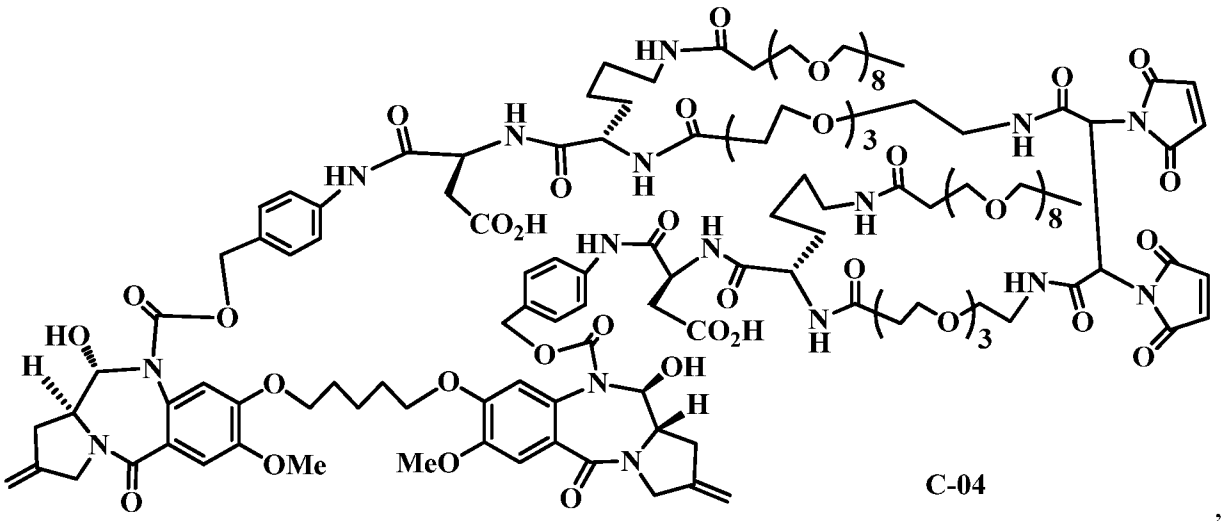
C-02

,



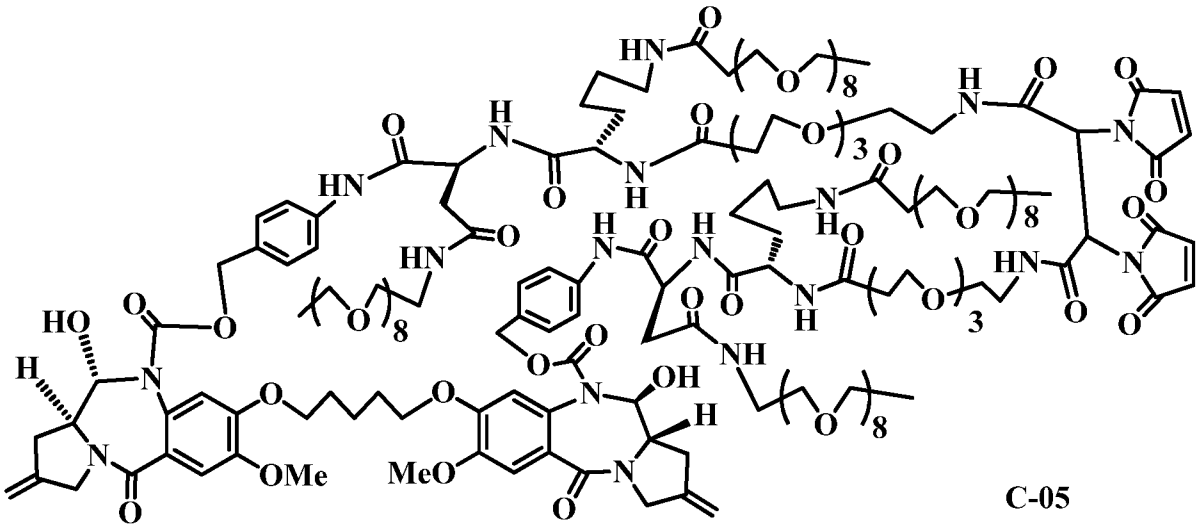
C-03

,



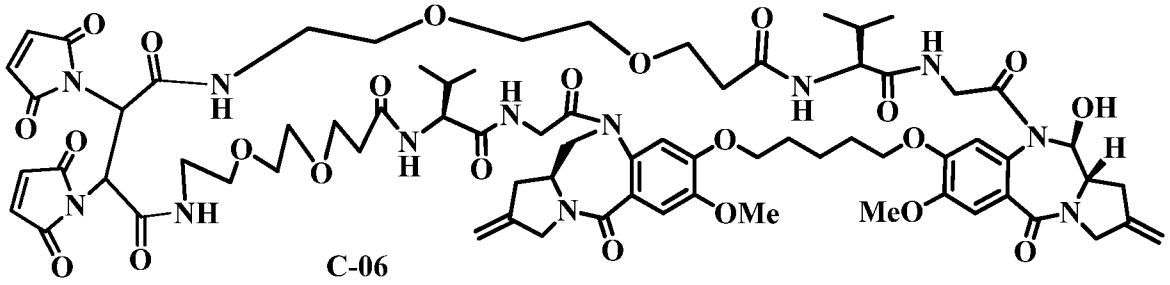
C-04

,



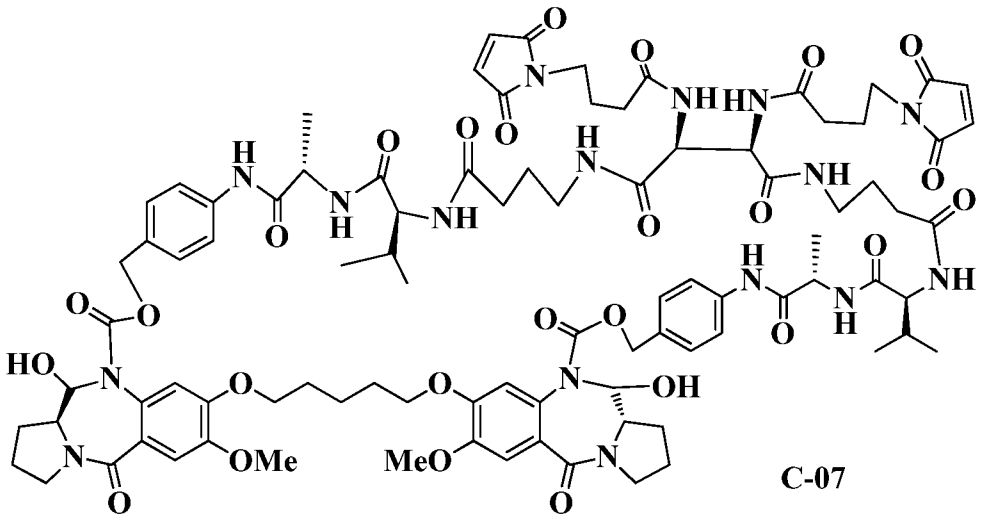
C-05

,



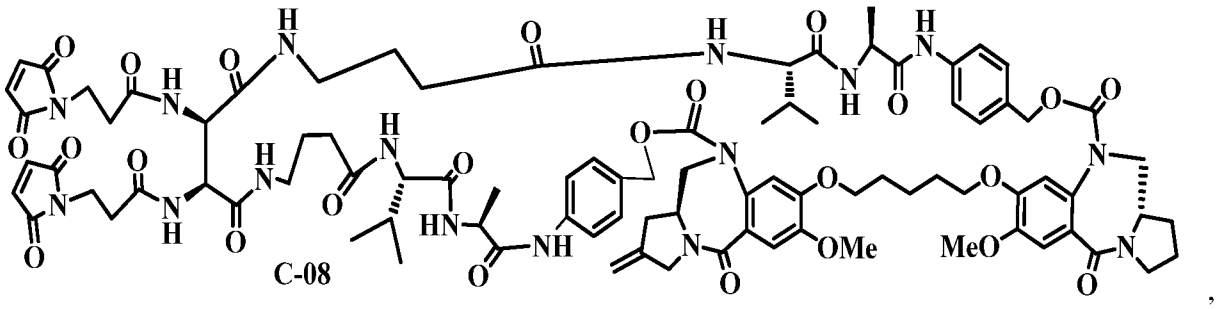
C-06

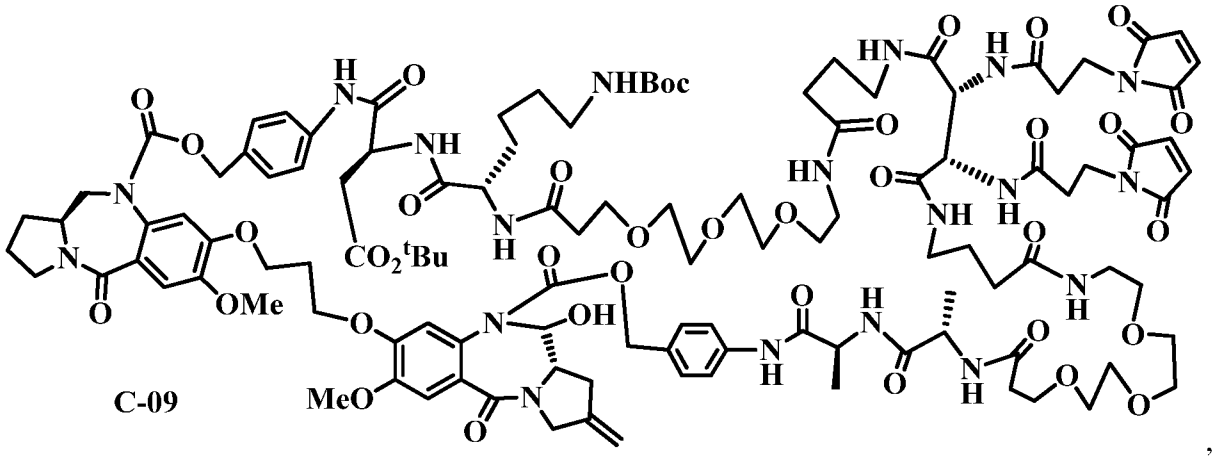
,

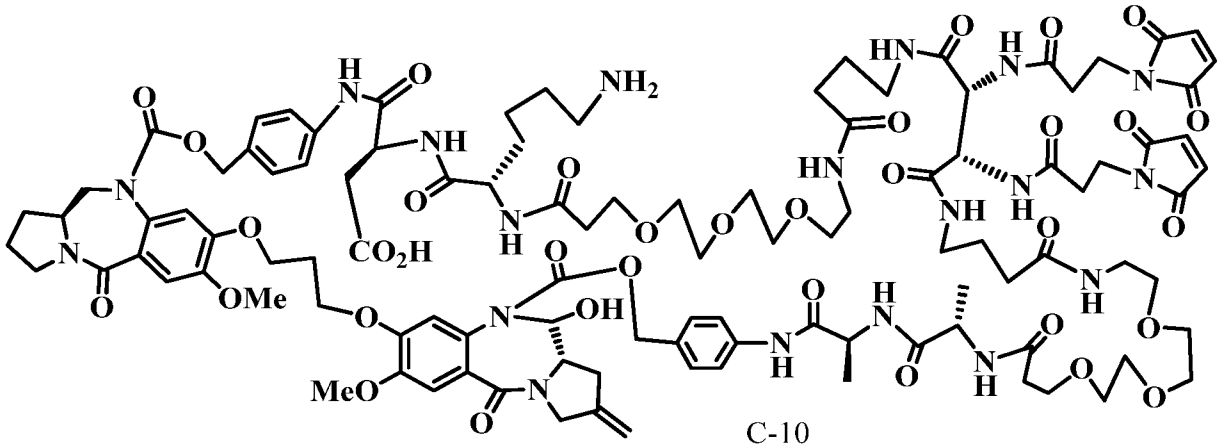


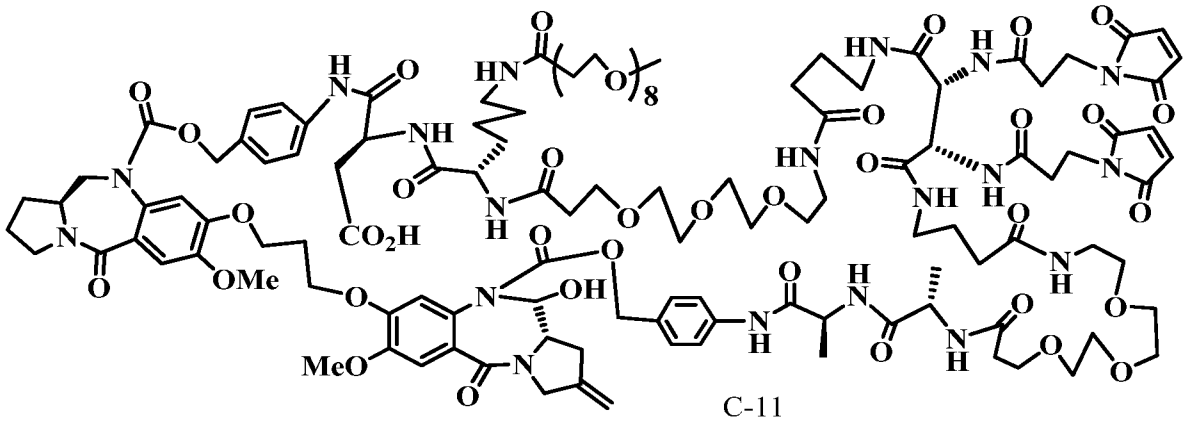
C-07

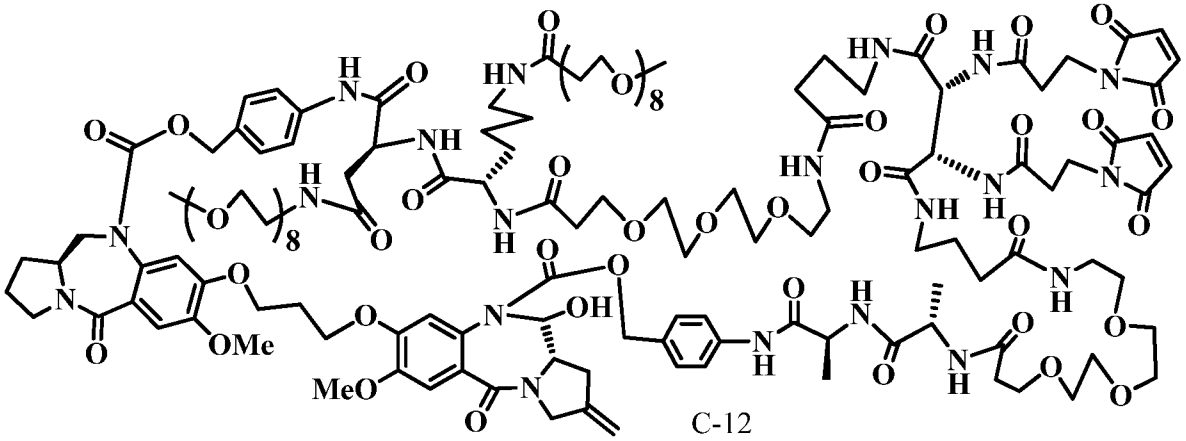
,


C-08


C-09

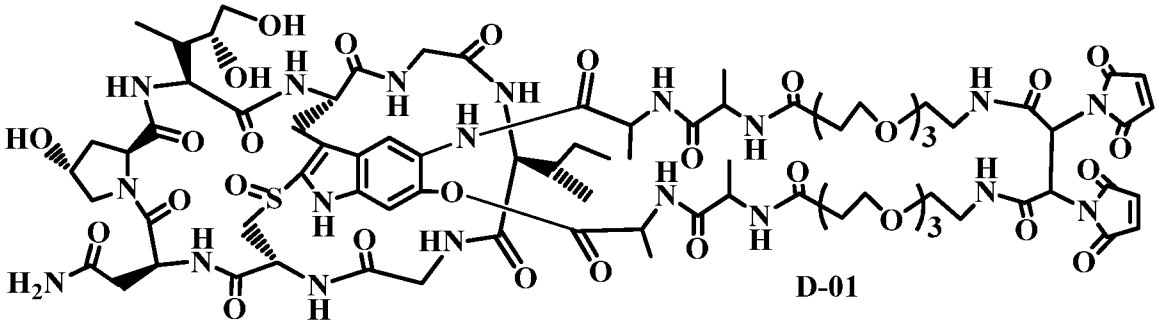

C-10


C-11



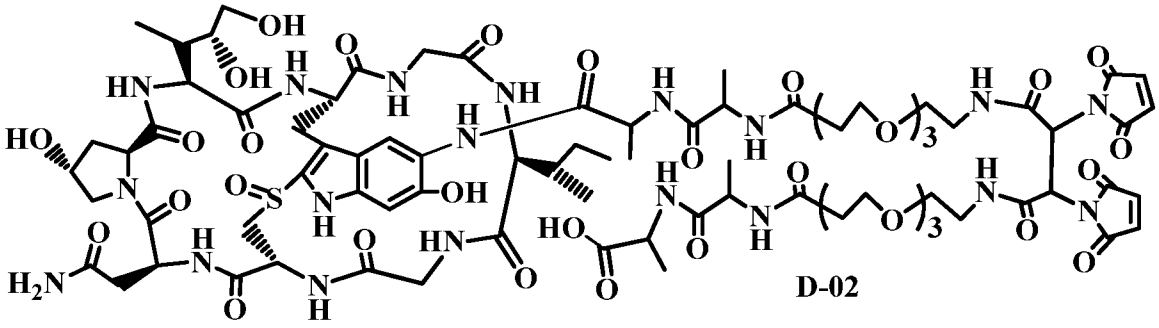
C-12

,



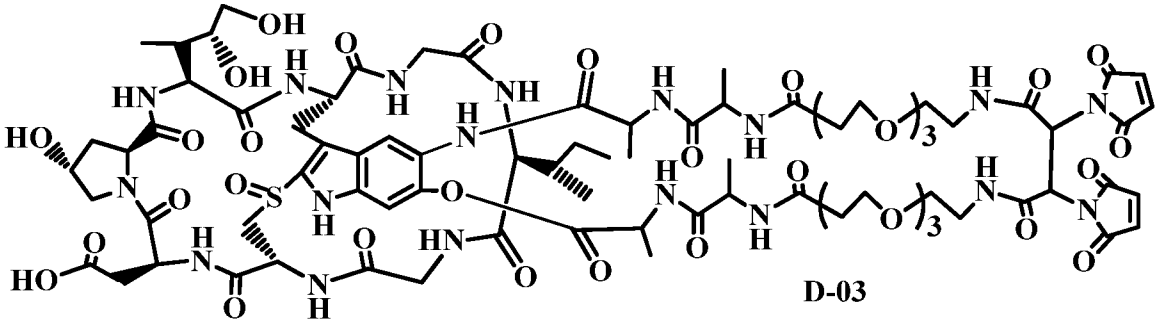
D-01

,



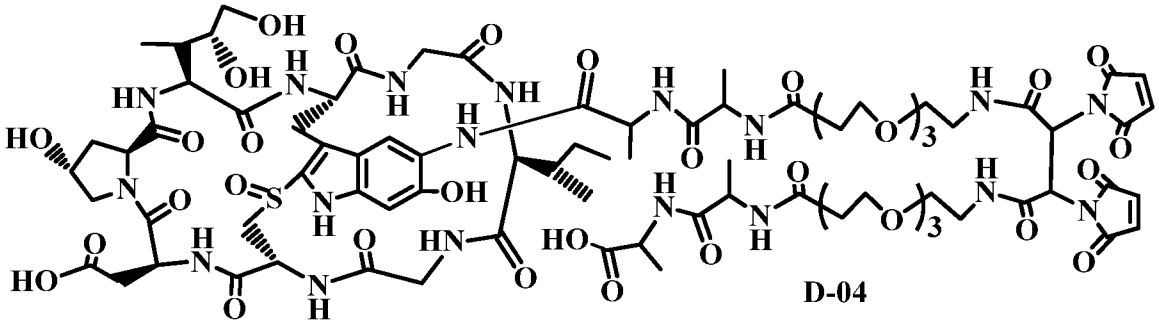
D-02

,



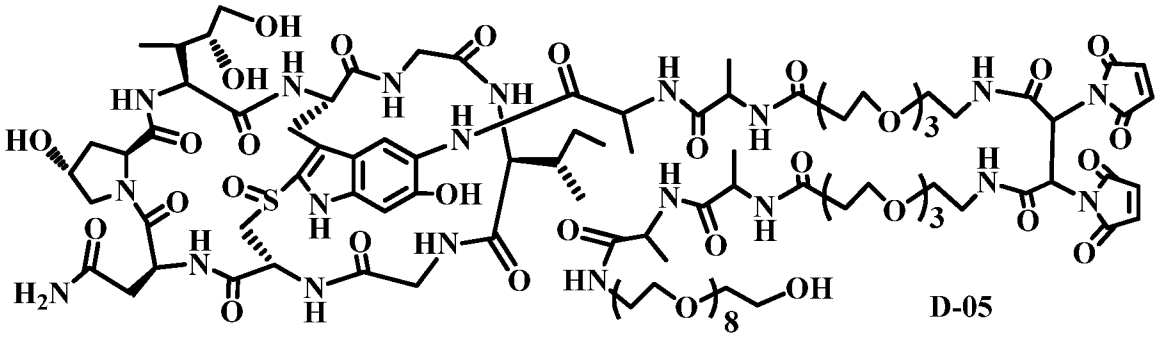
D-03

,

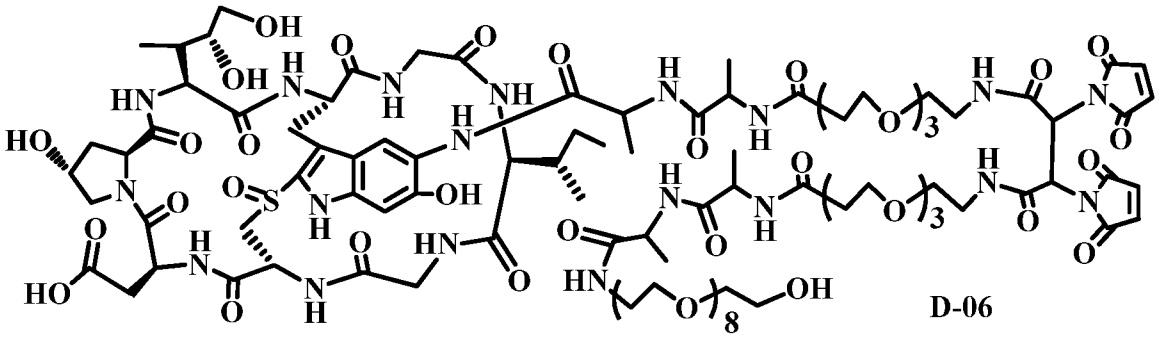


D-04

,

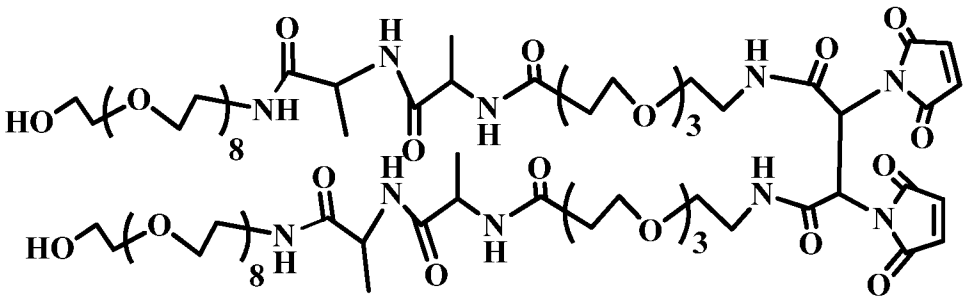


D-05

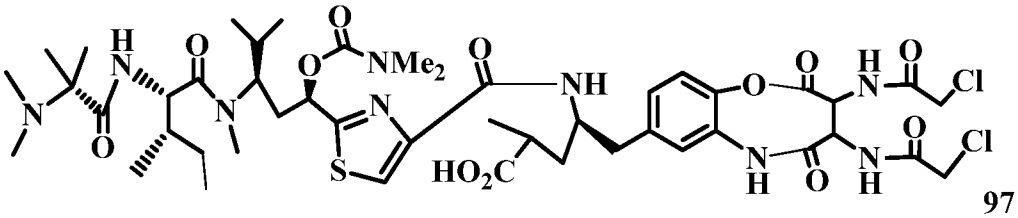


D-06

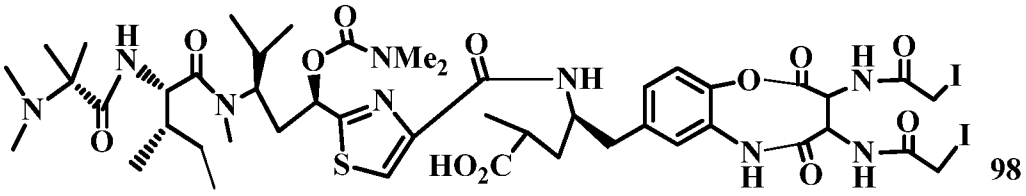
,



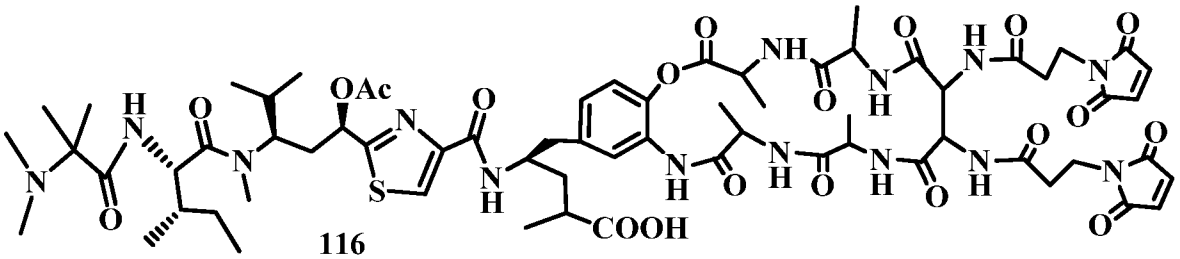
Pg-04,



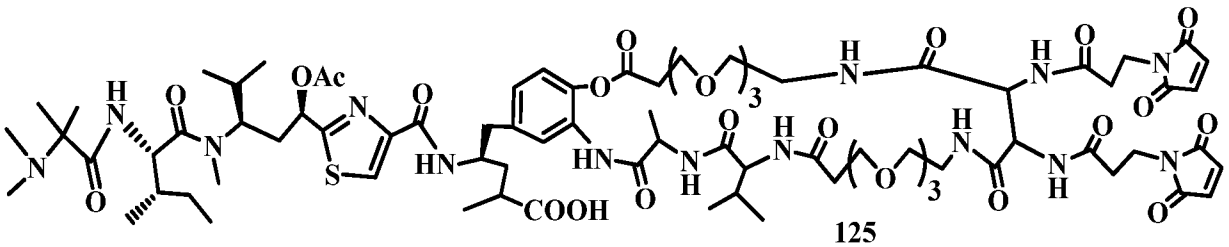
97



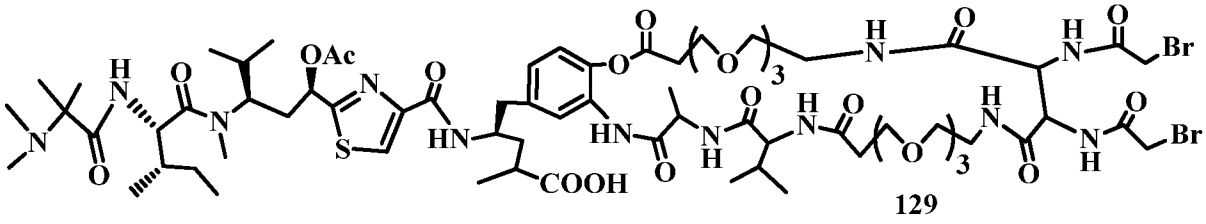
98



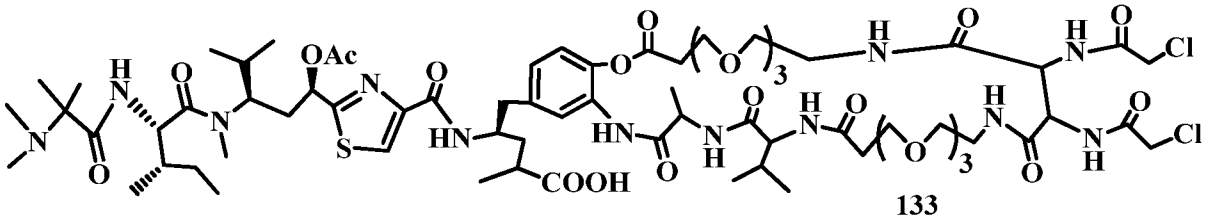
116



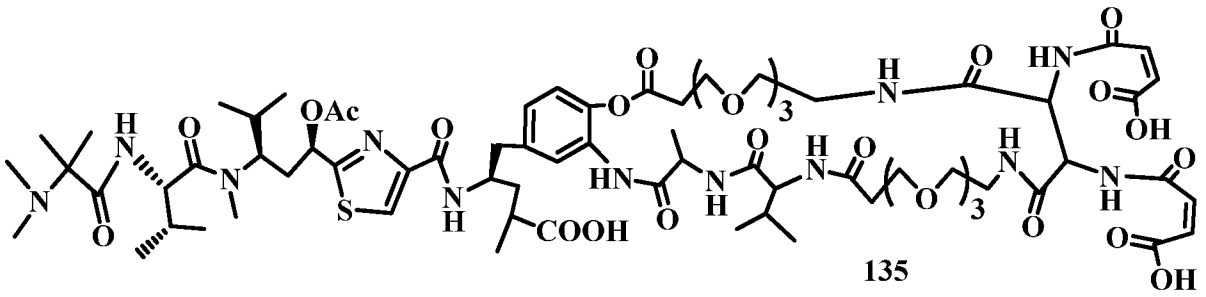
125



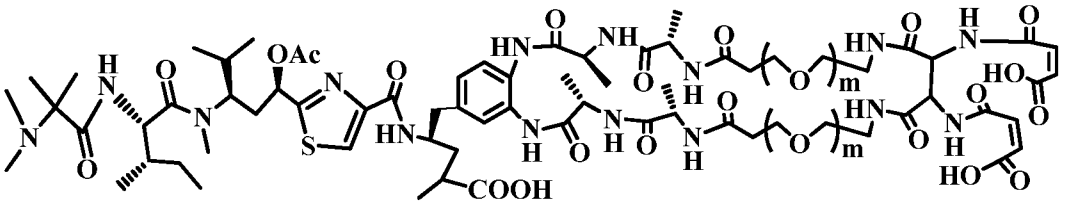
129



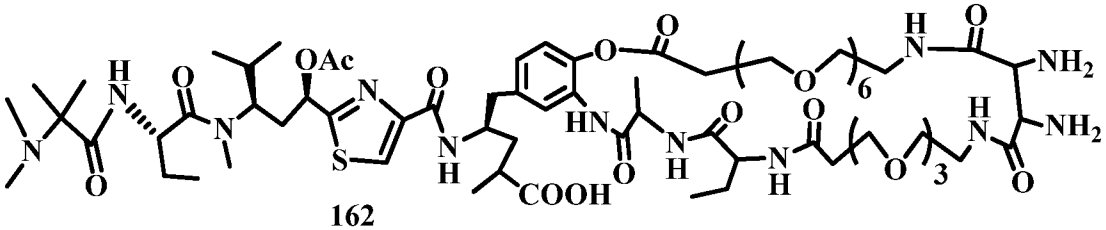
133



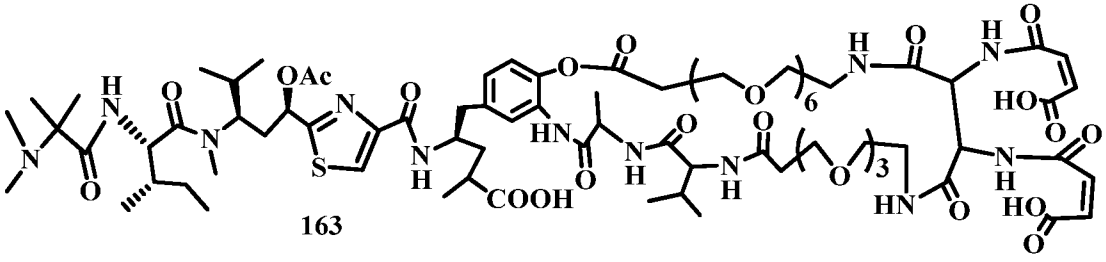
135



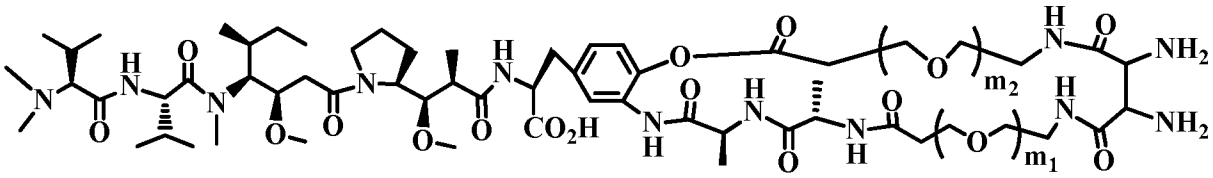
157a, m=0
157b, m=3
157c, m=4
157d, m=6
157e, m=8
157f, m=12



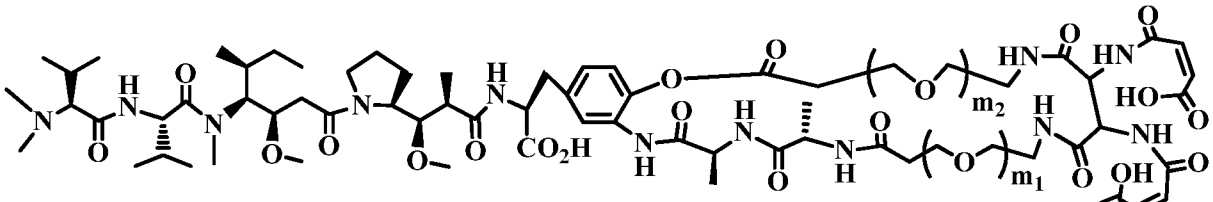
162



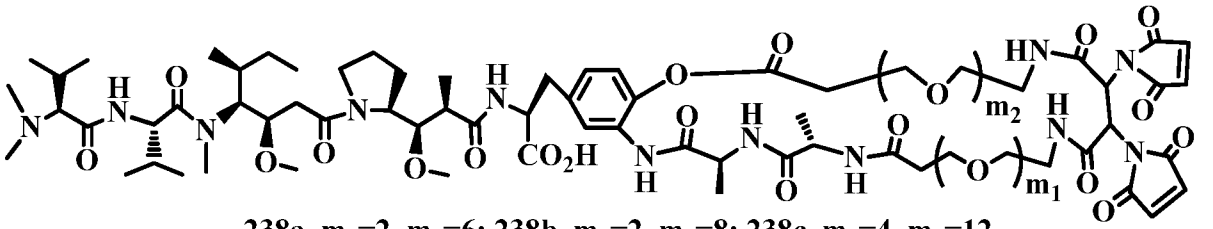
163



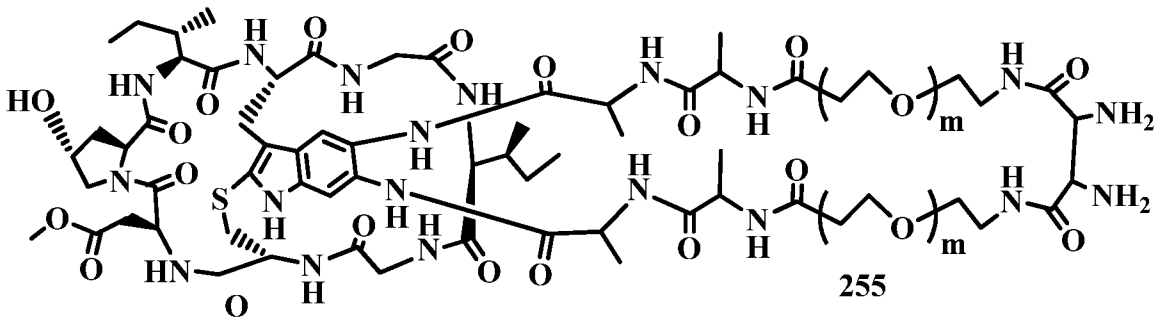
235a, m_1=2, m_2=6; 235b, m_1=2, m_2=8; 235c, m_1=4, m_2=12.



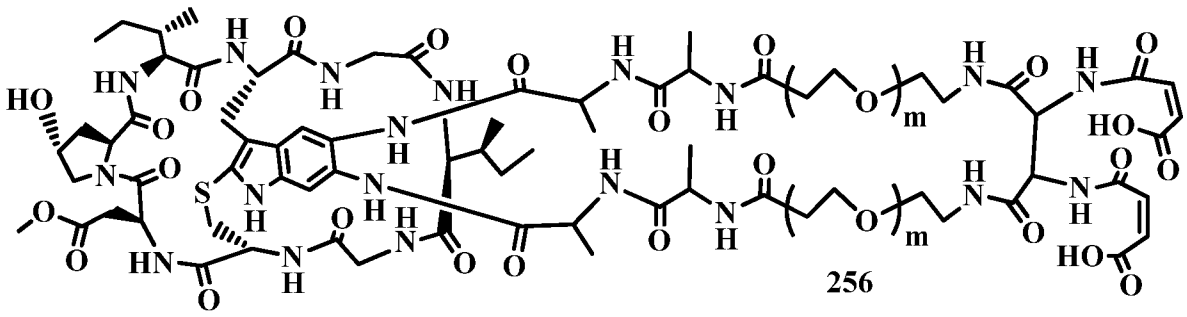
236a, m_1=2, m_2=6; 236b, m_1=2, m_2=8; 236c, m_1=4, m_2=12.



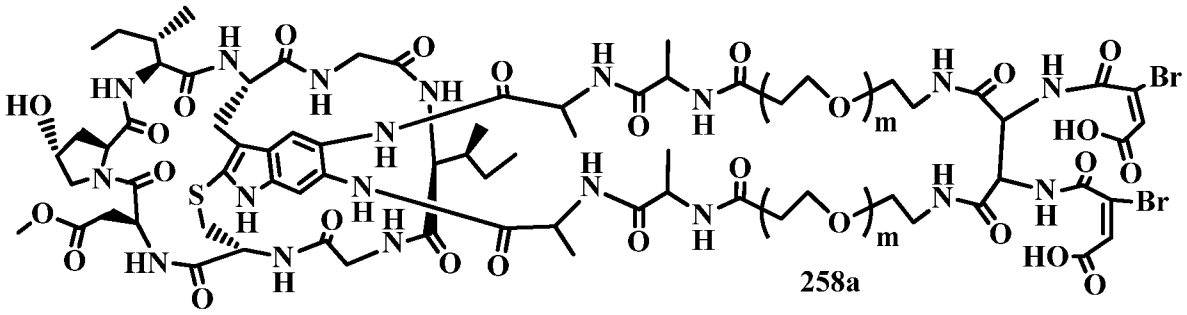
238a, m_1=2, m_2=6; 238b, m_1=2, m_2=8; 238c, m_1=4, m_2=12.



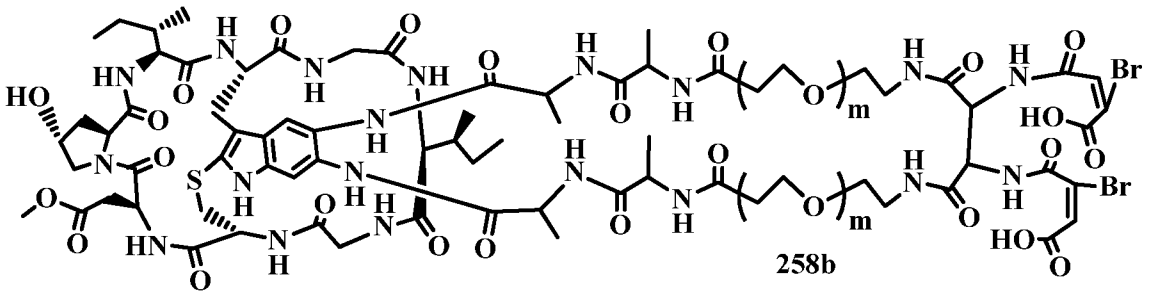
255



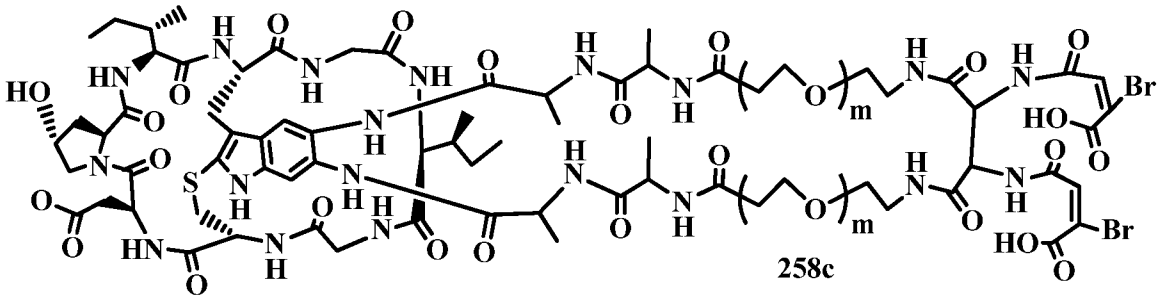
256



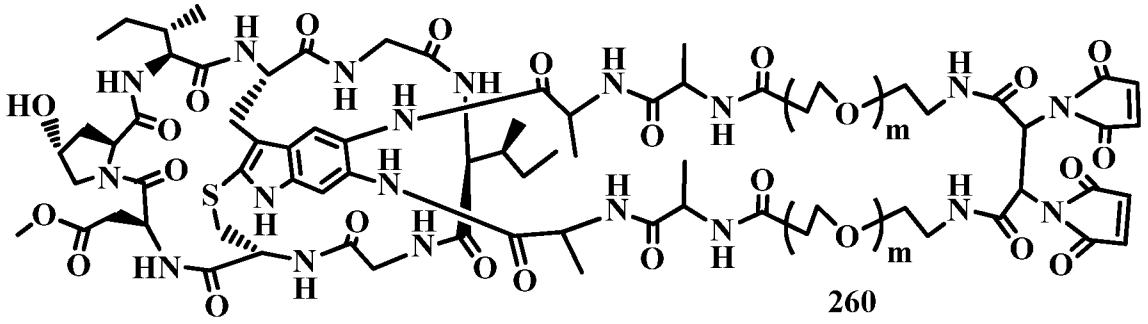
258a



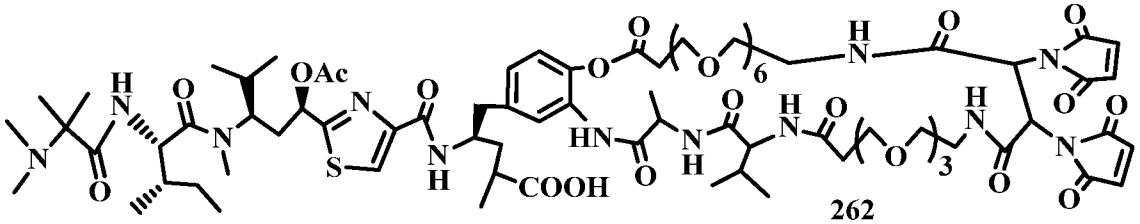
258b



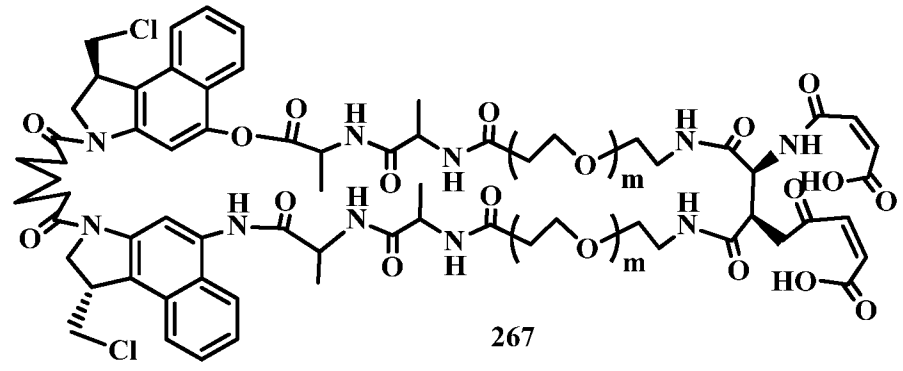
258c



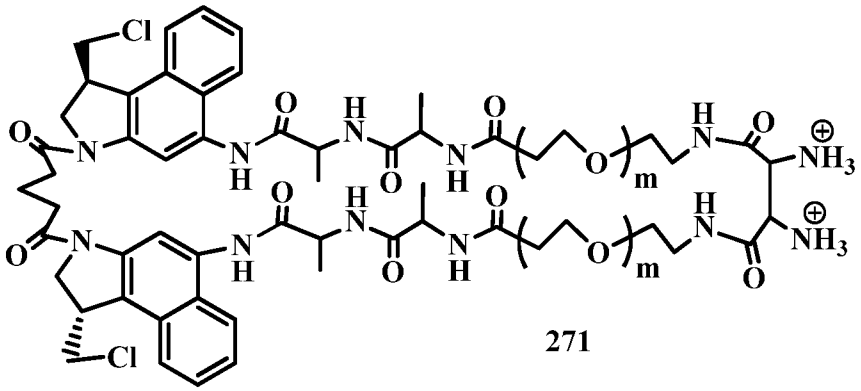
260



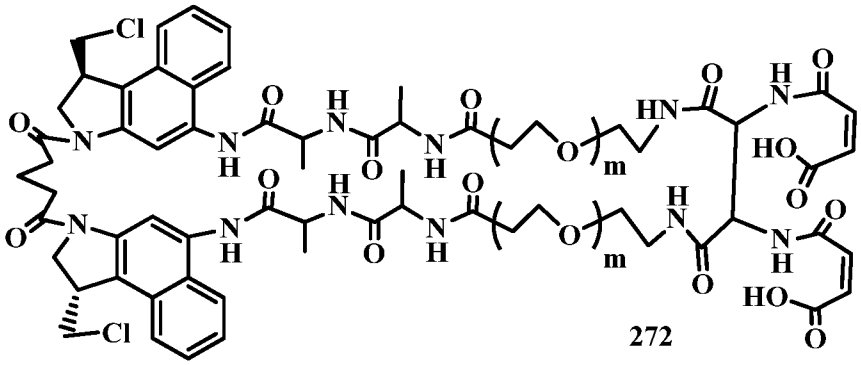
262



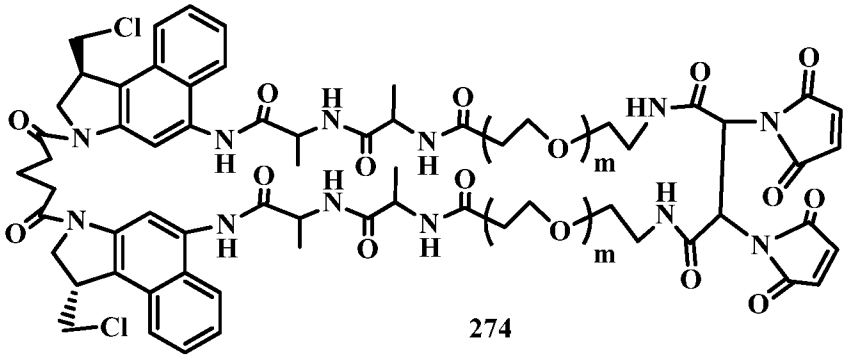
267



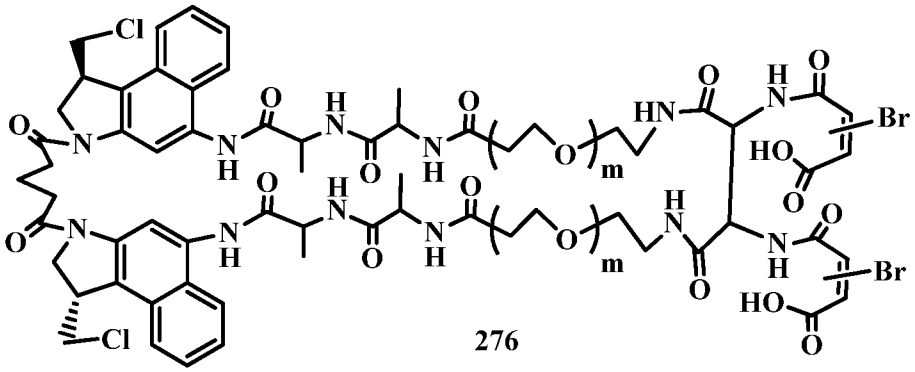
271



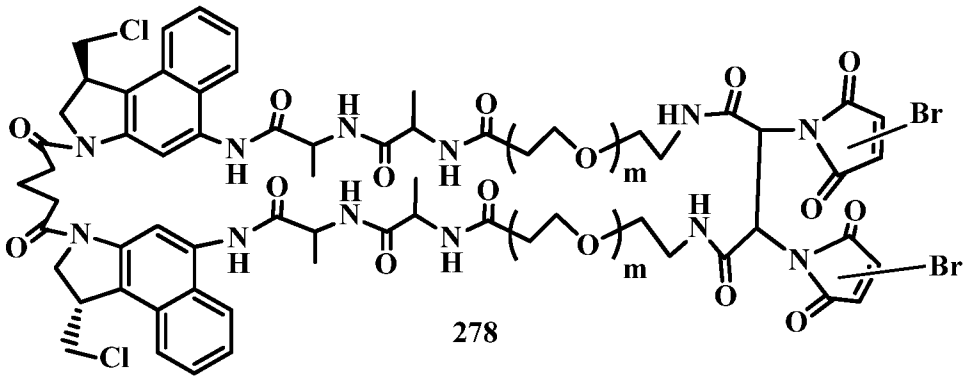
272



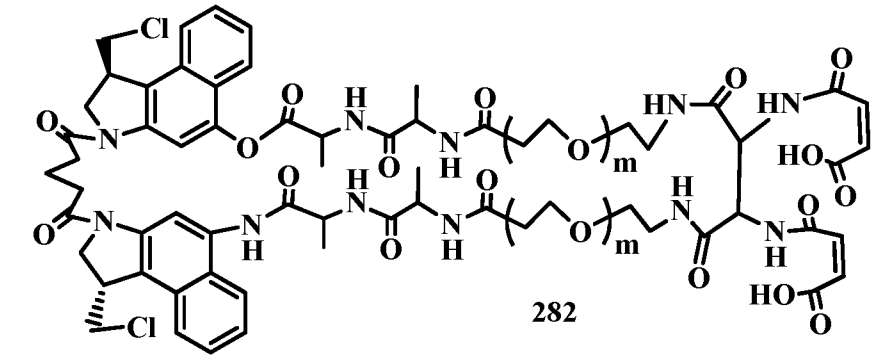
274



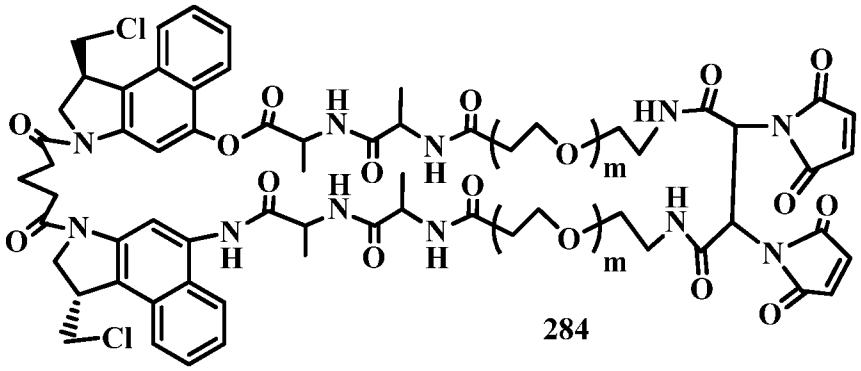
276



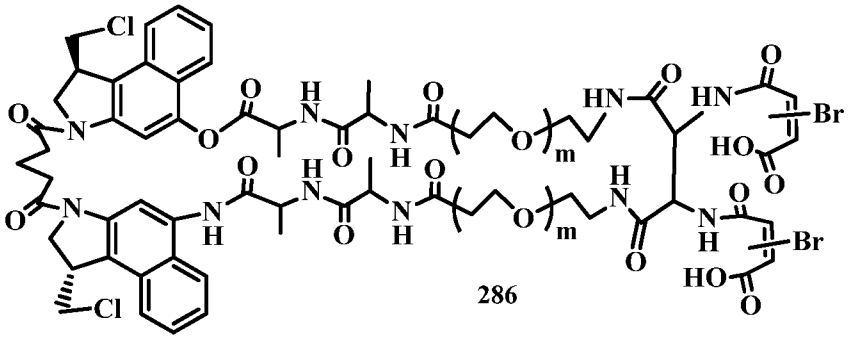
278



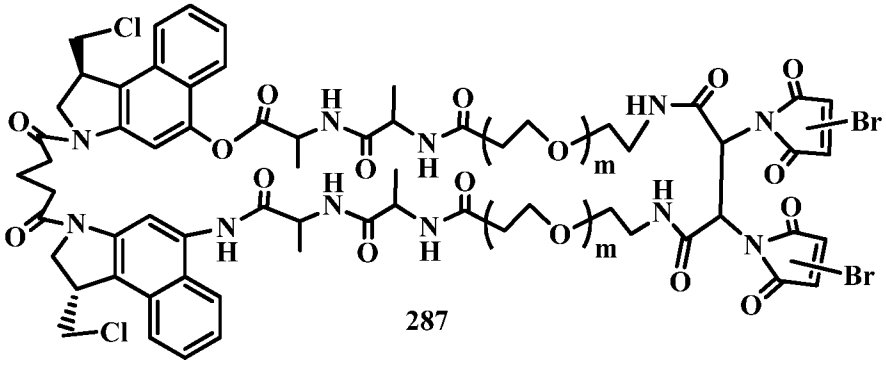
282



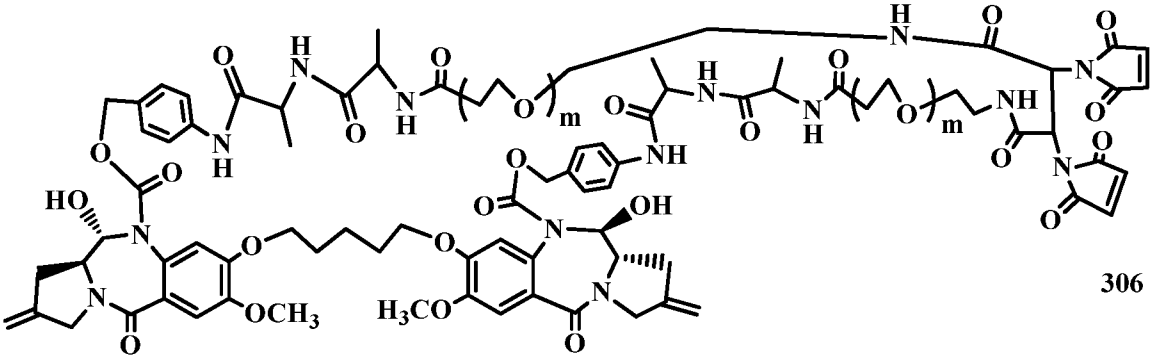
284



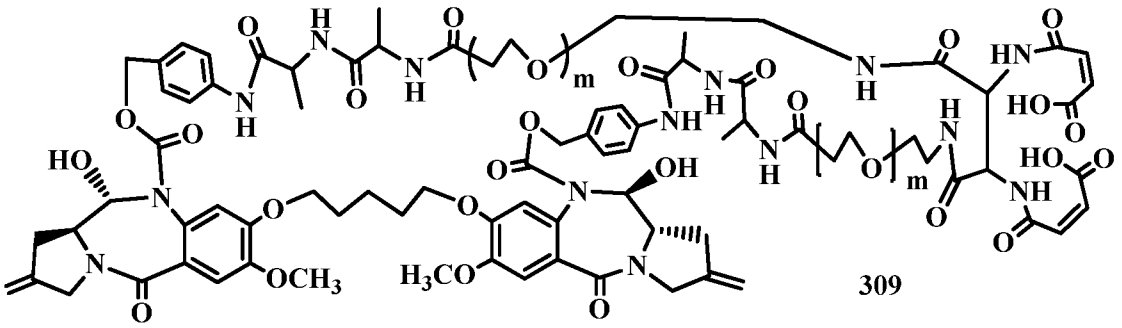
286



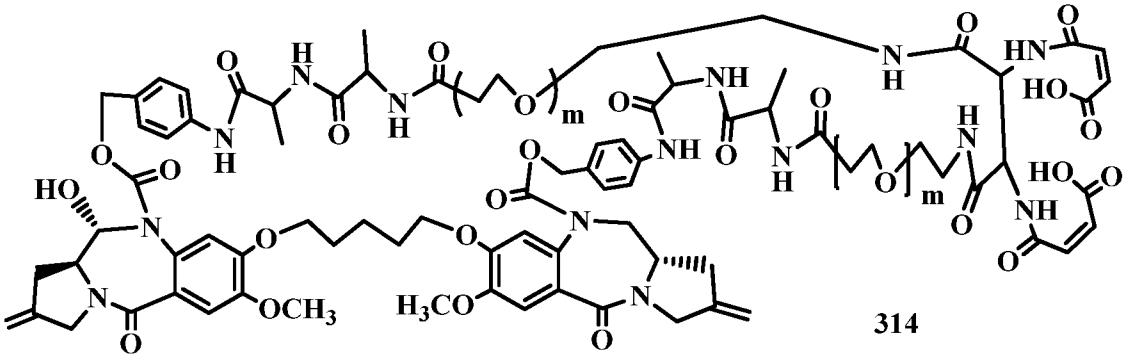
287



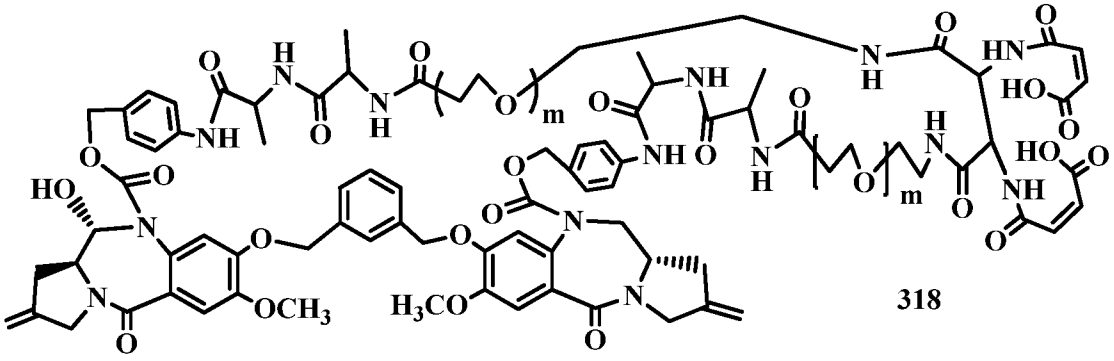
306



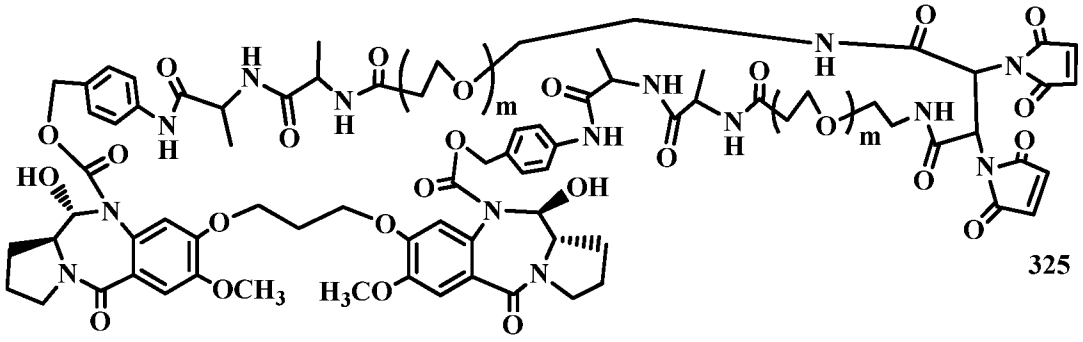
309



314

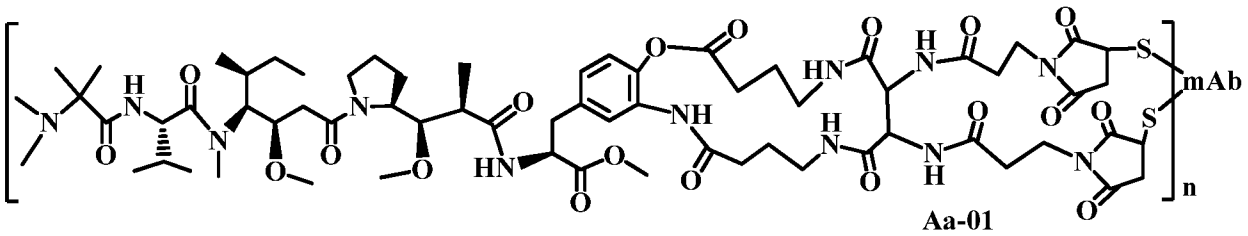


318

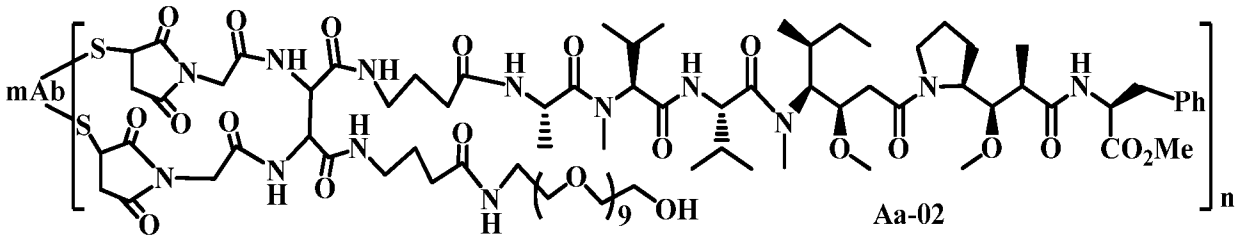


325

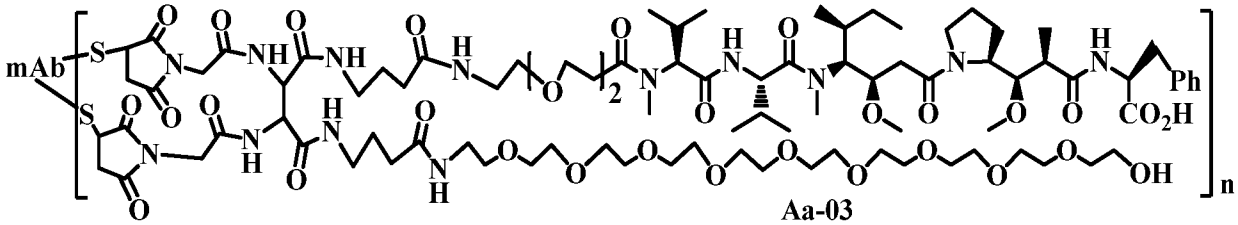
41. Конъюгат по п. **1**, имеющий формулу Aa-01, Aa-02, Aa-03, Aa-04, Ba-01, Ba-02, Ba-03, Ba-04, Ba-05, Ba-06, Ba-07, Ba-08, Ba-09, Ba-10, Ba-11, Ba-12, Ba-13, Ba-14, Ba-15, Ba-16, Ca-02, Ca-03, Ca-04, Ca-05, Ca-06, Ca-07, Ca-08, Ca-09, Ca-10, Ca-11, Ca-12, Da-01, Da-02, Da-03, Da-04, Da-05 or Da-06, 99, 117, 126, 130, 136, 158a, 158b, 158c, 158d, 158e, 158f, 164, 237a, 237b, 237c, 239a, 239b, 239c, 257, 259, 261, 263, 268, 273, 275, 277, 279, 283, 285, 288, 307, 310, 315, 319 и 326, проиллюстрированную следующими структурами:



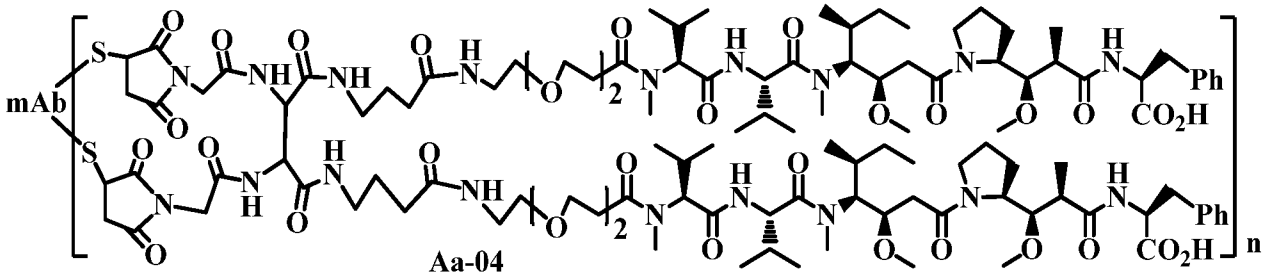
Aa-01



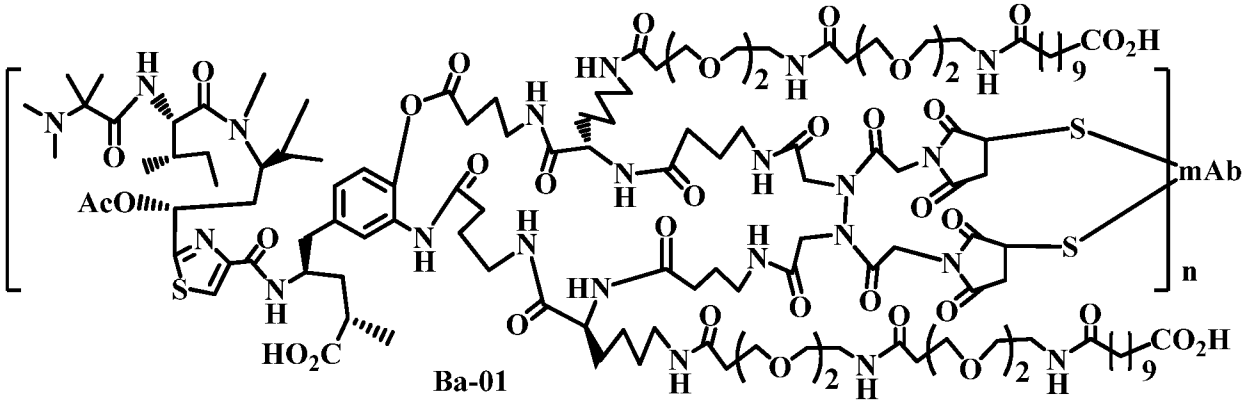
Aa-02



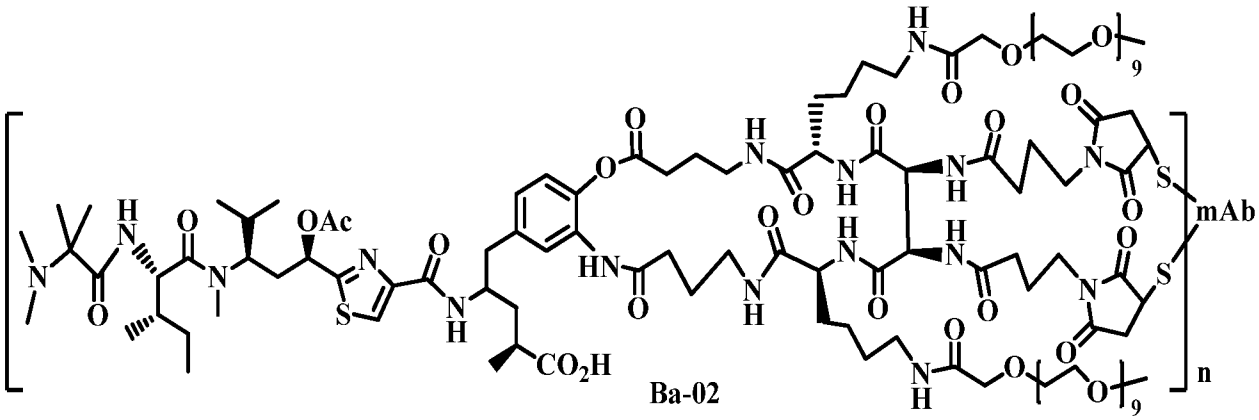
Aa-03



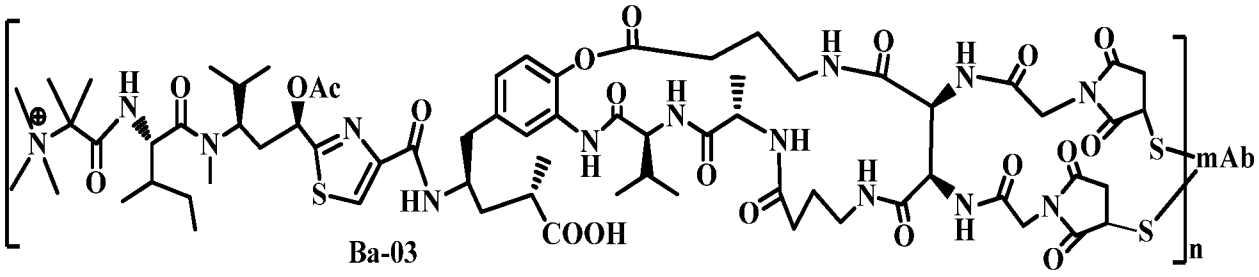
Aa-04



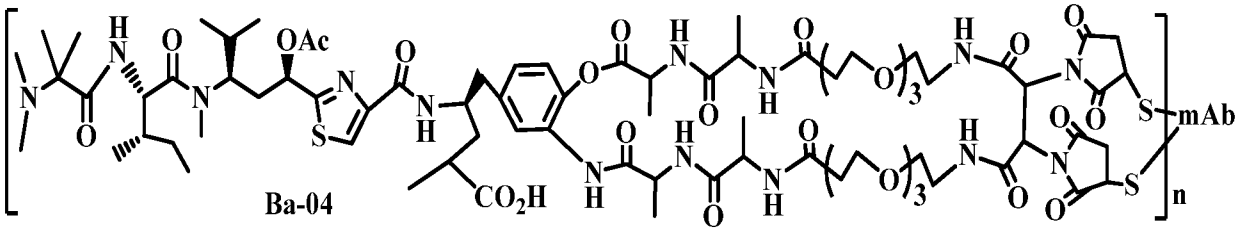
Ba-01



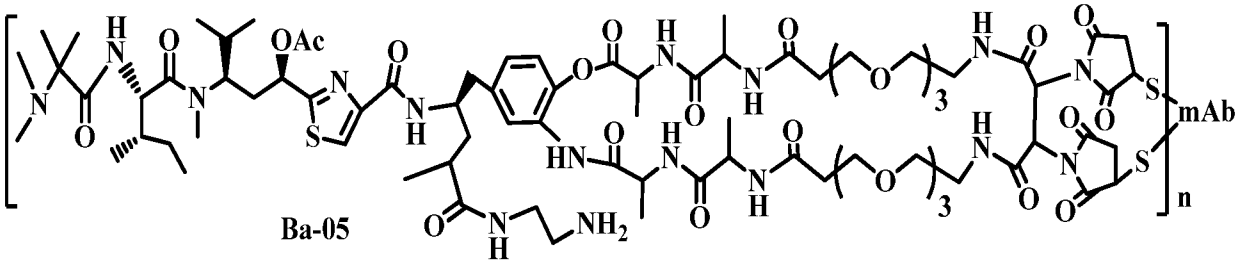
Ba-02



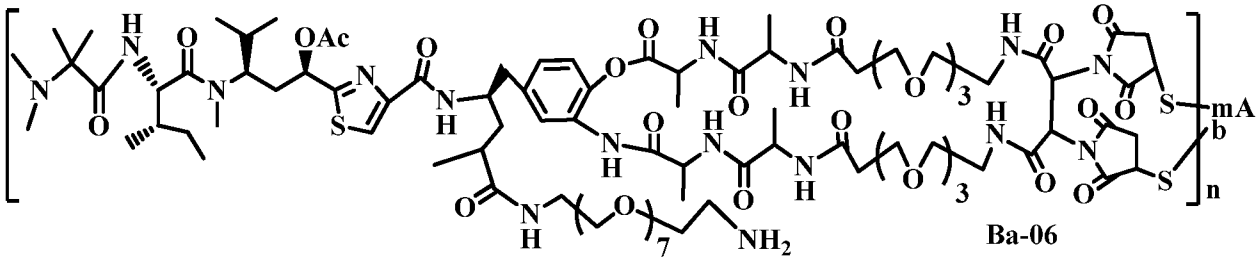
Ba-03



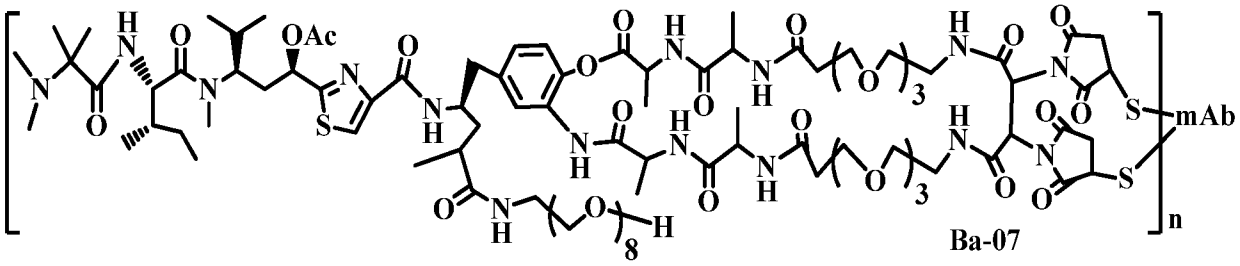
Ba-04



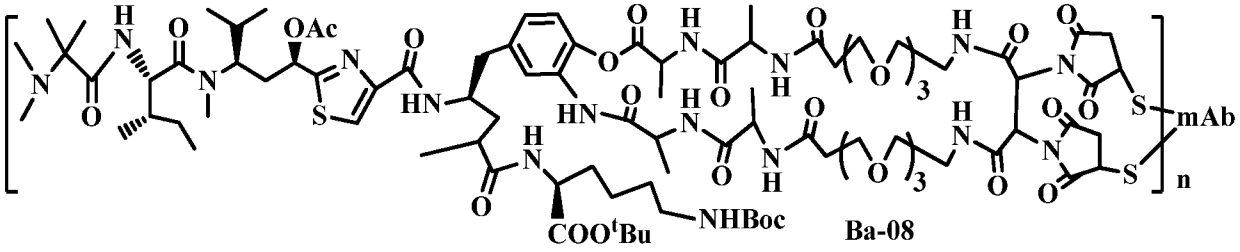
Ba-05



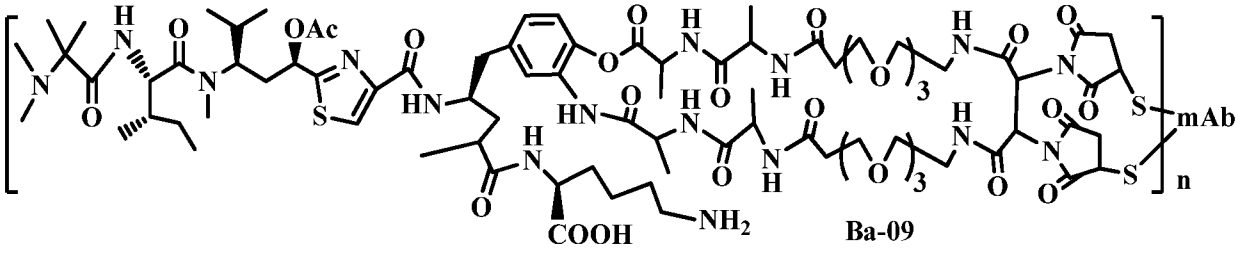
Ba-06



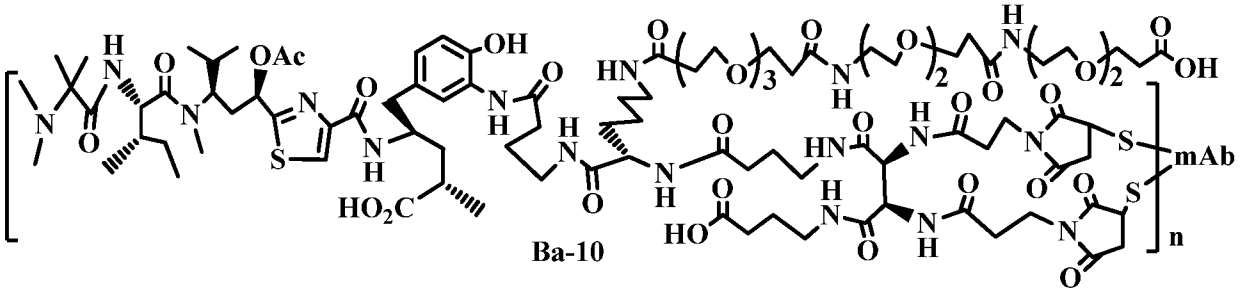
Ba-07



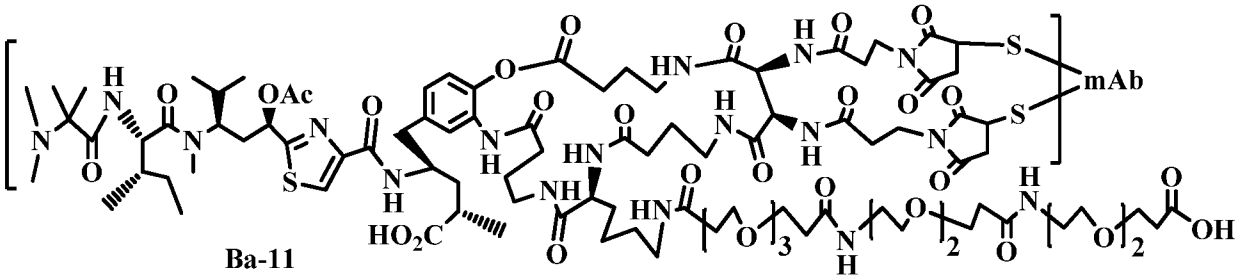
Ba-08



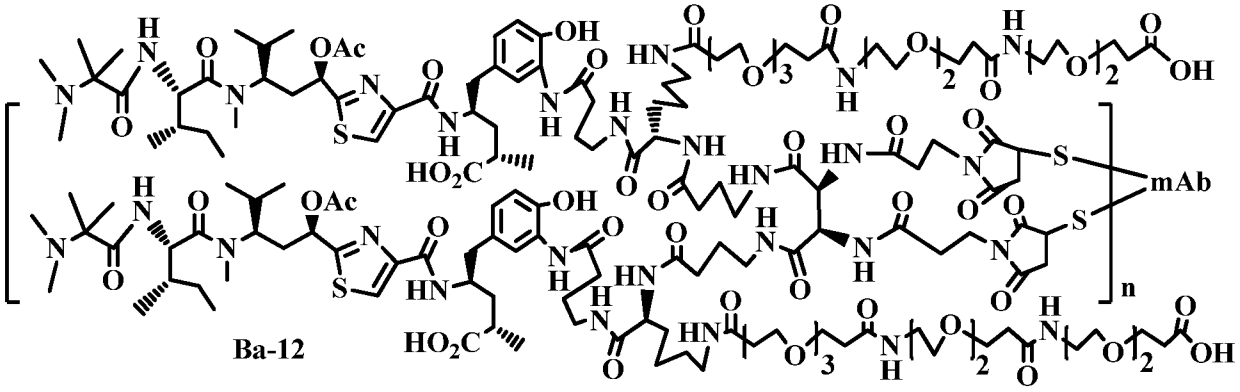
Ba-09



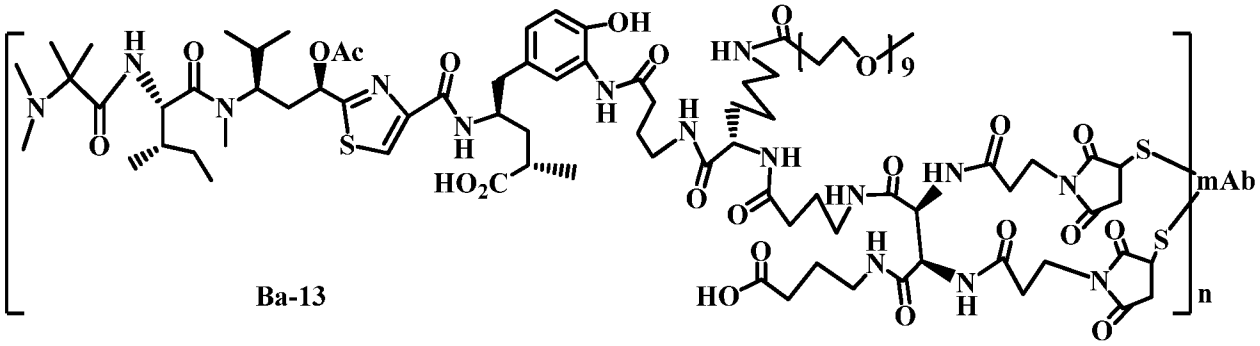
Ba-10



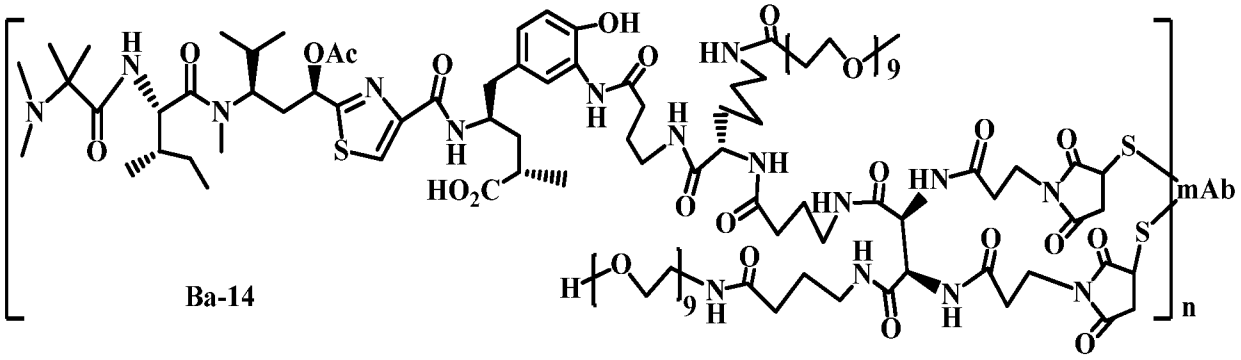
Ba-11



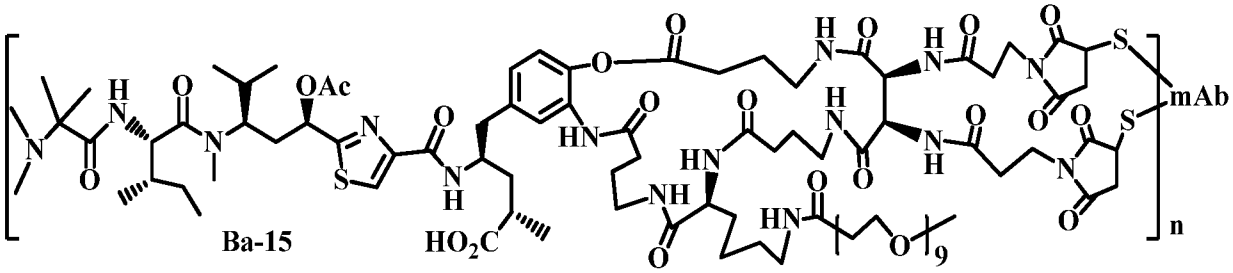
Ba-12



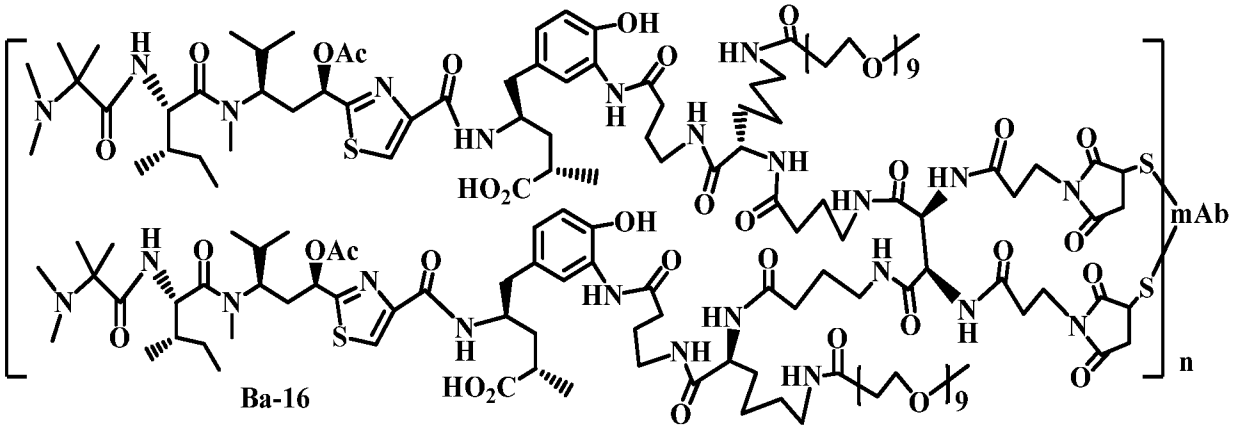
Ba-13



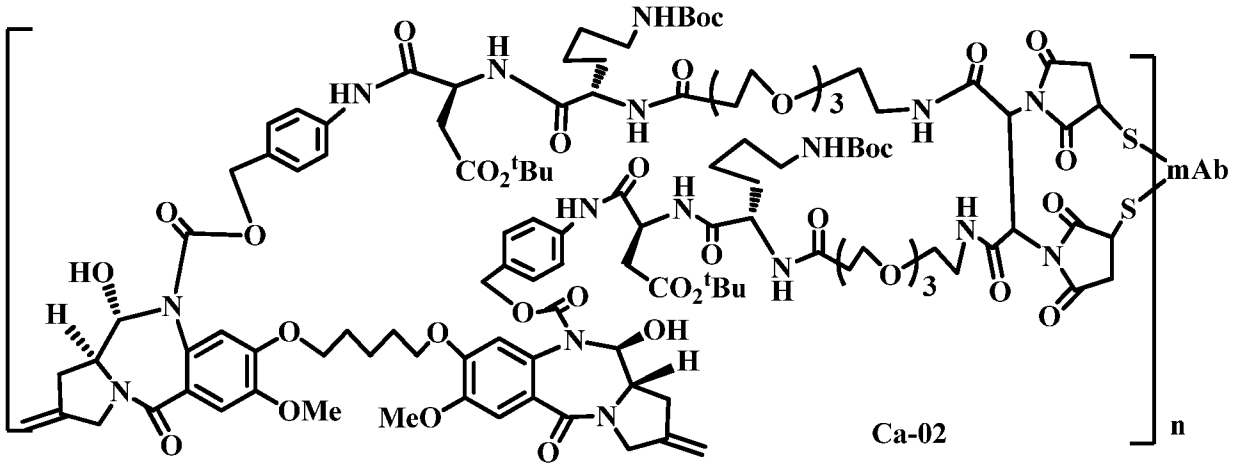
Ba-14



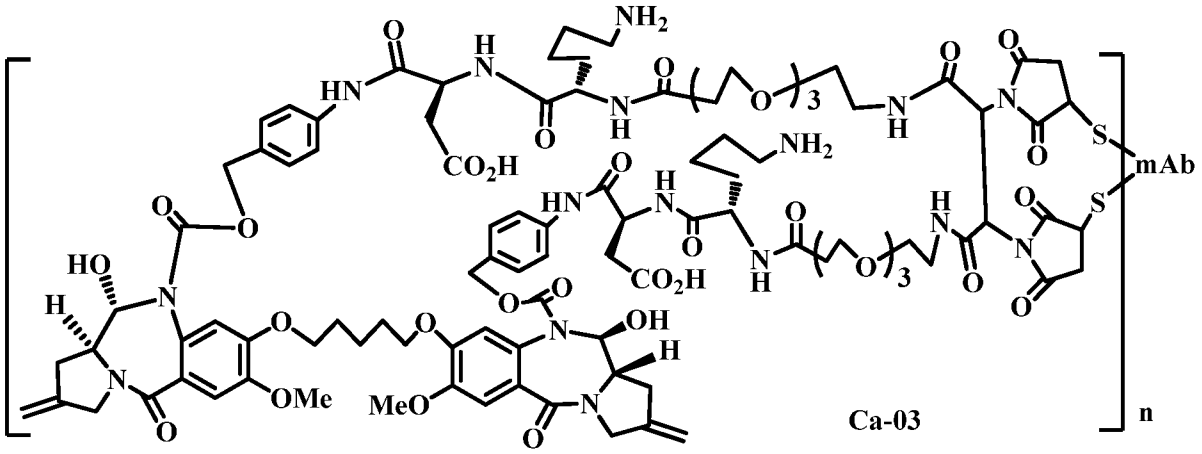
Ba-15



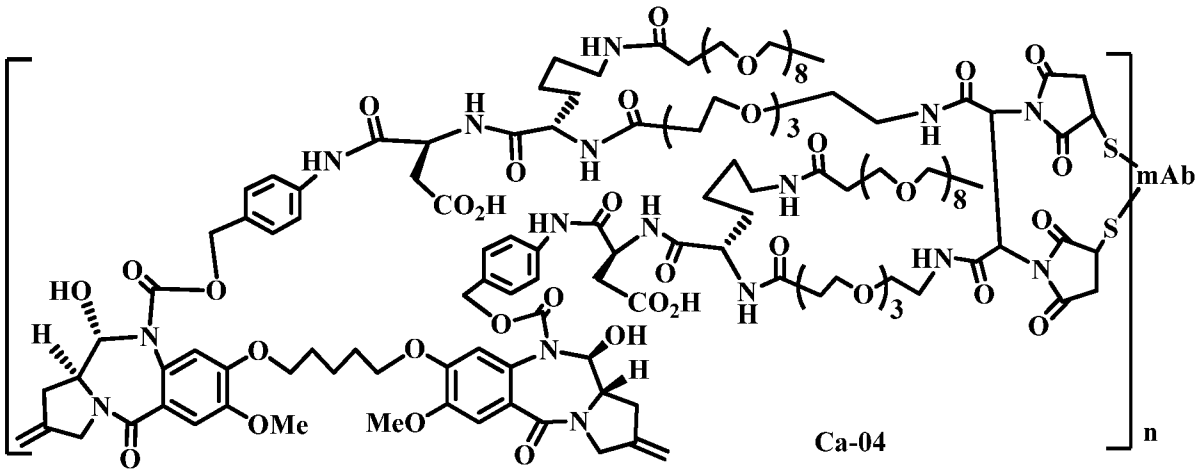
Ba-16



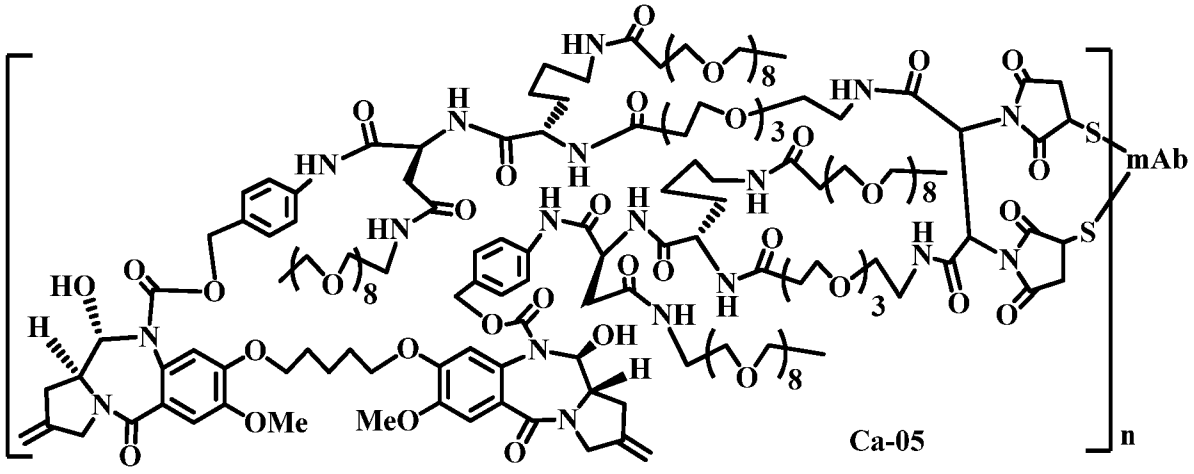
Ca-02



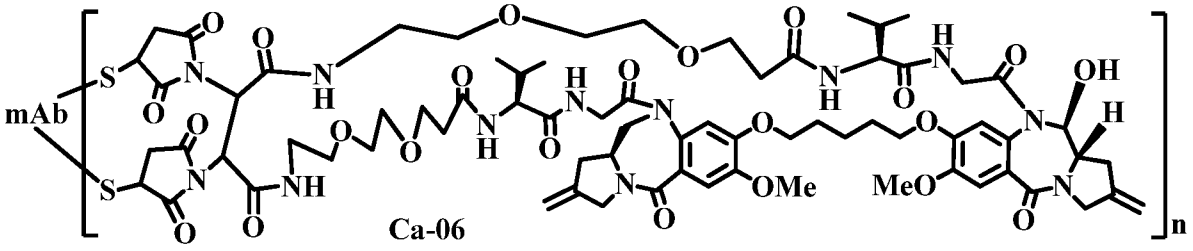
Ca-03



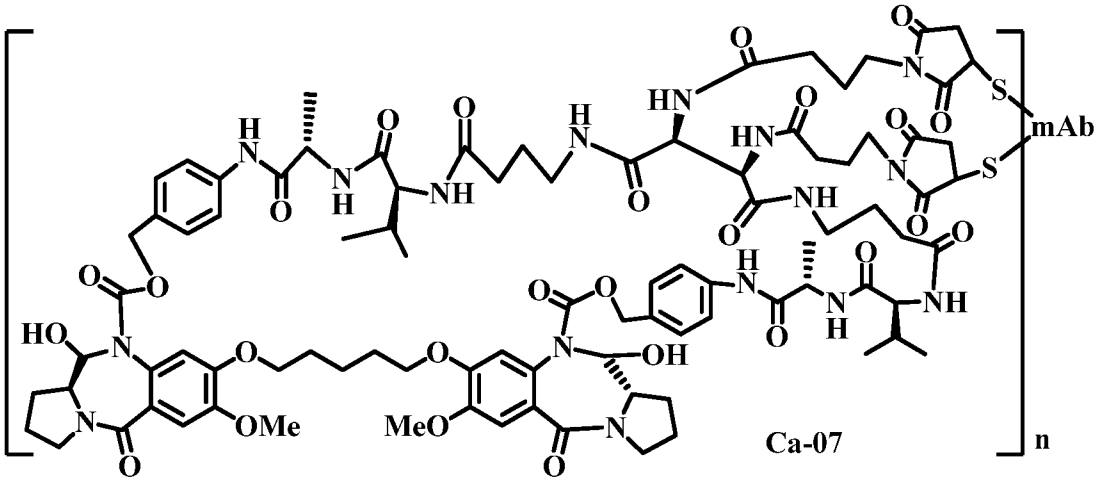
Ca-04



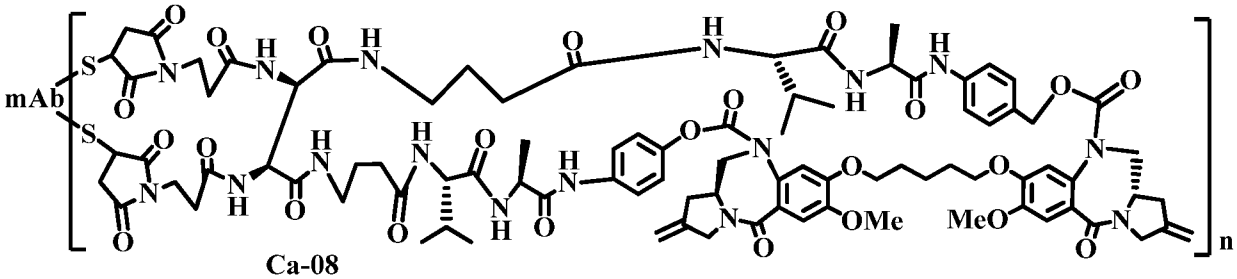
Ca-05



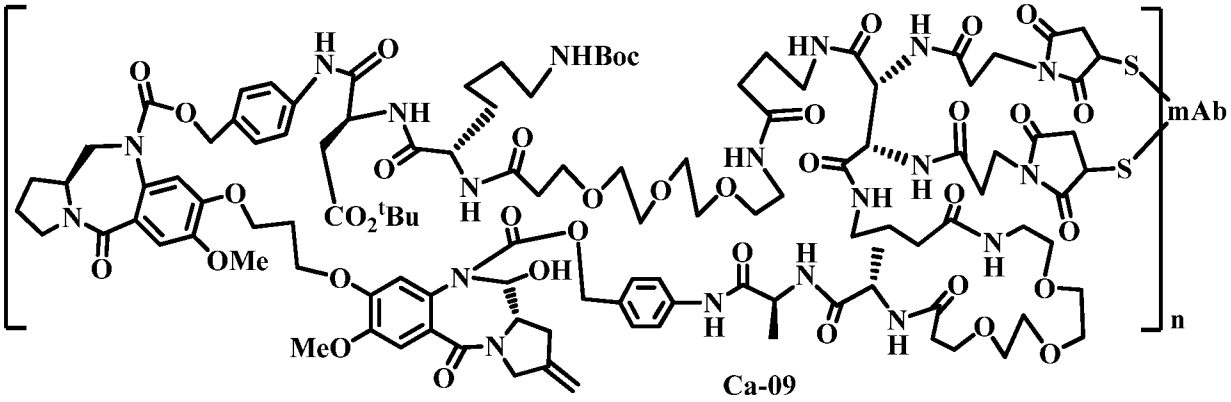
Ca-06



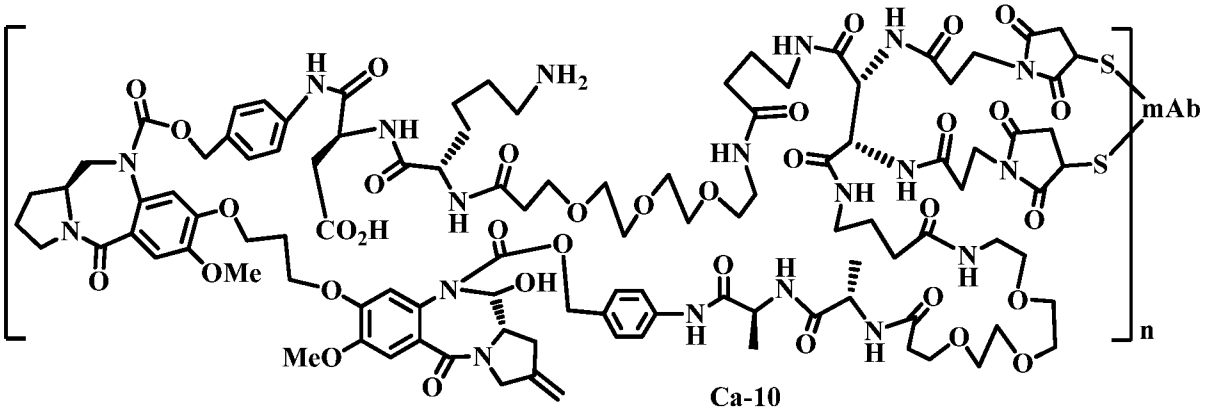
Ca-07



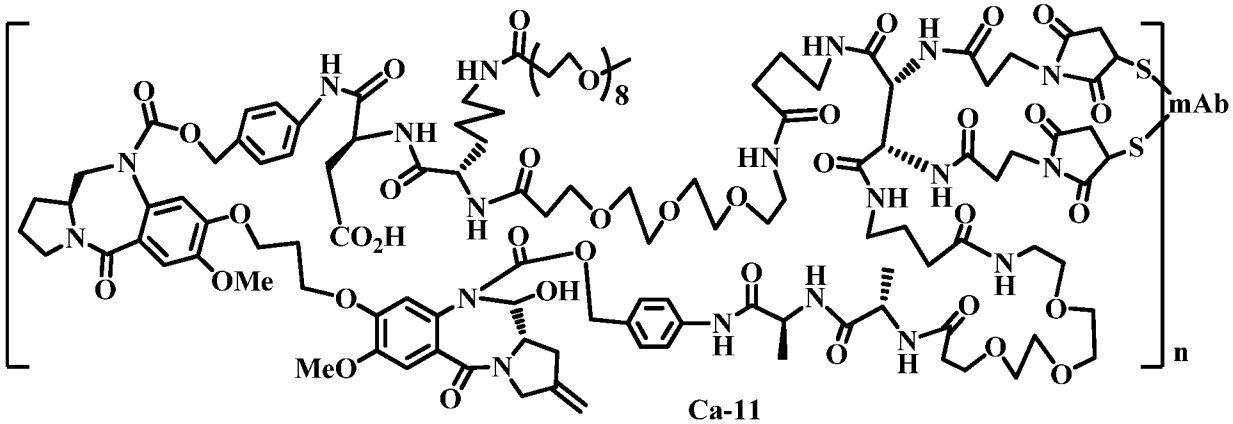
Ca-08



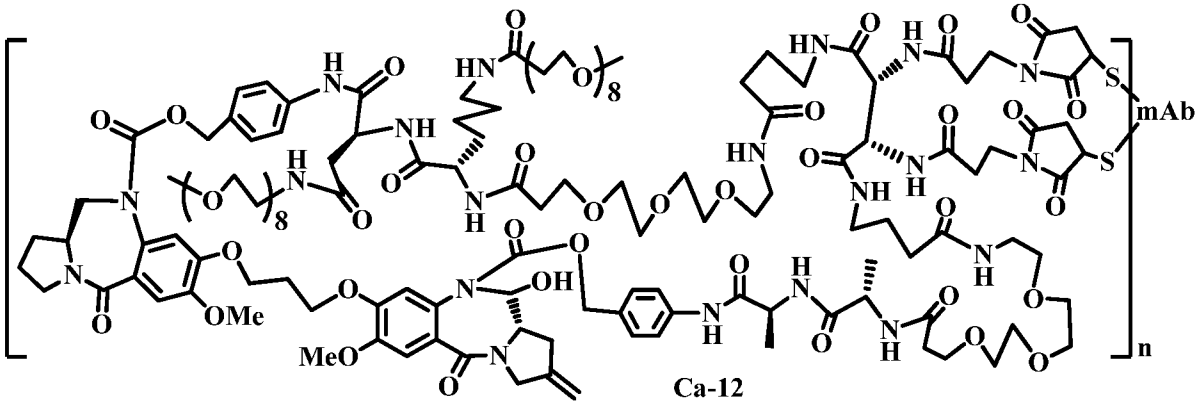
Ca-09



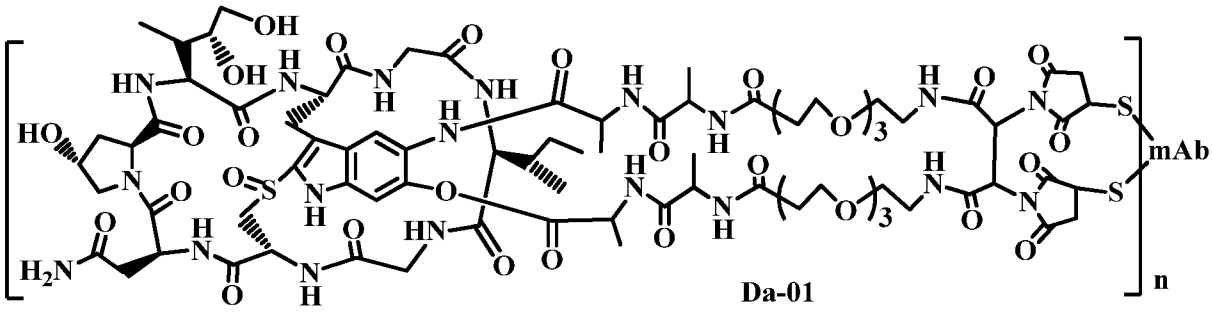
Ca-10



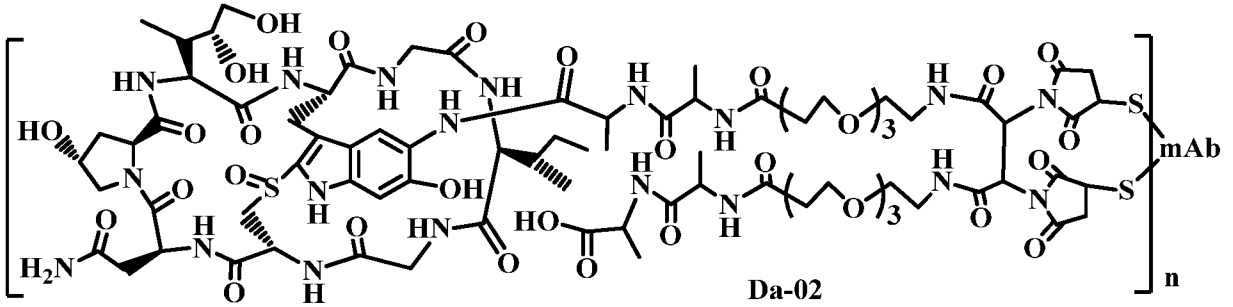
Ca-11



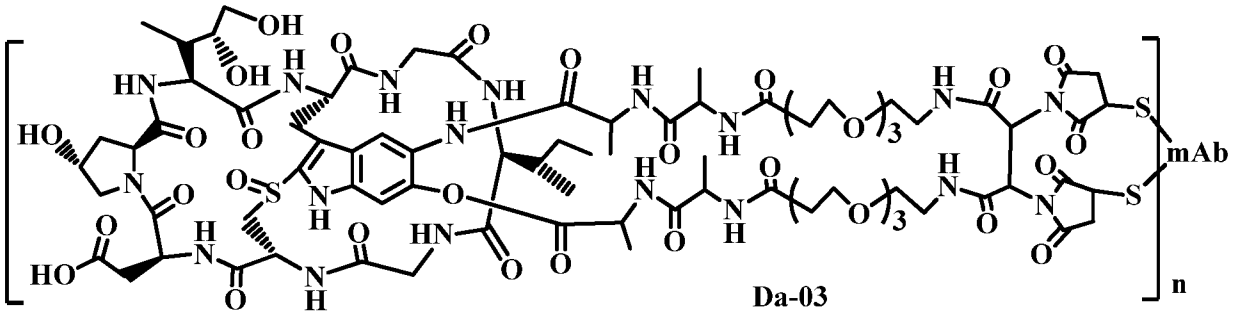
Ca-12



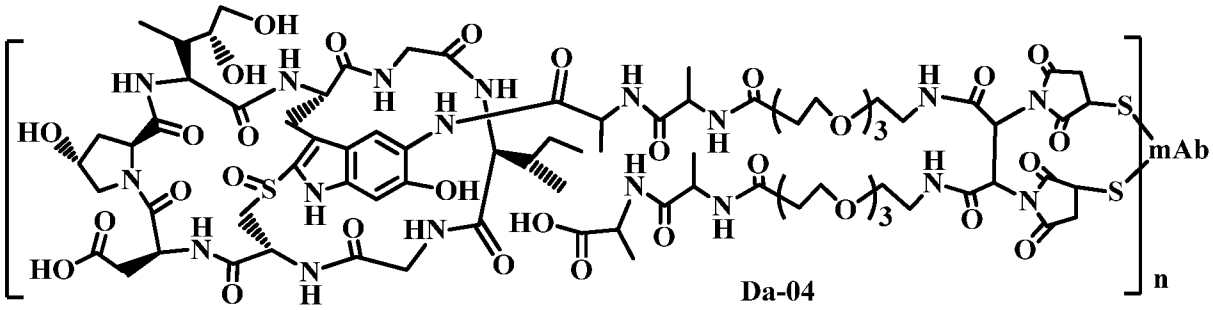
Da-01



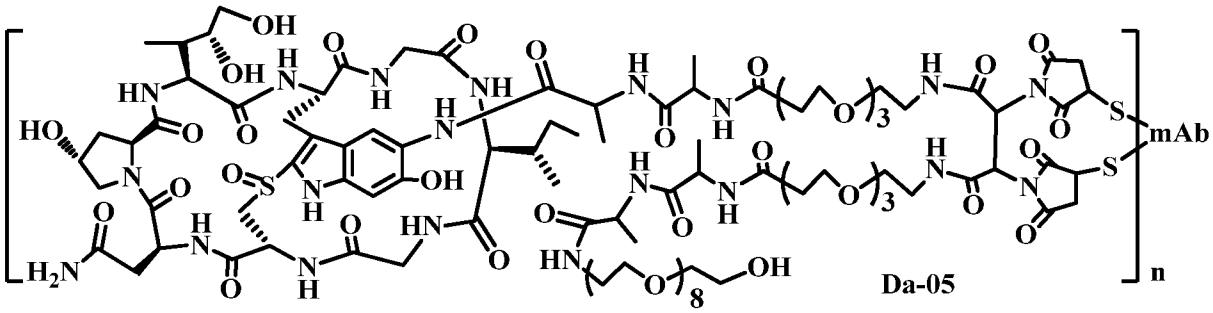
Da-02



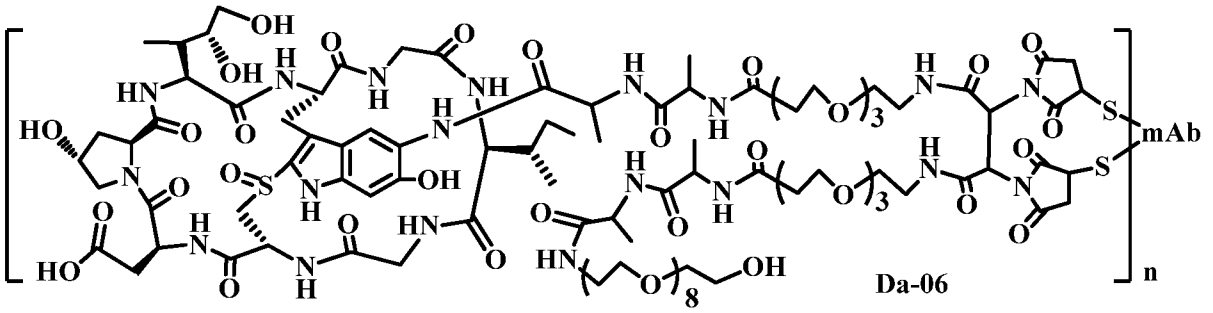
Da-03



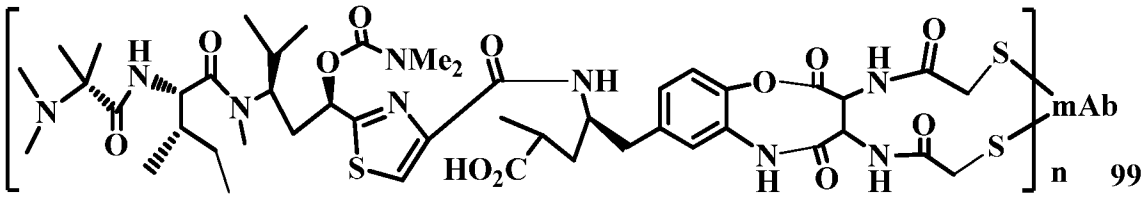
Da-04



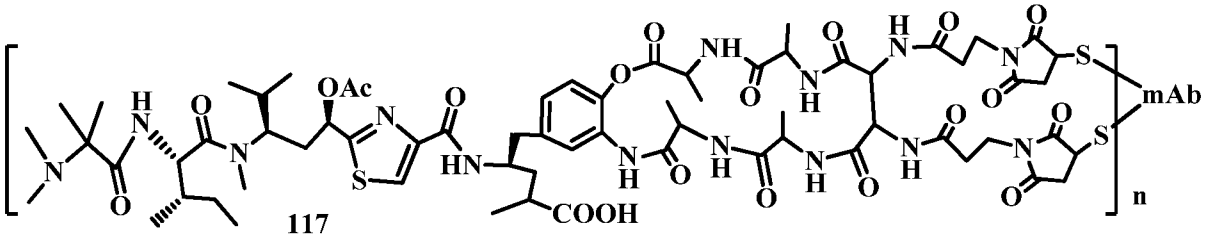
Da-05



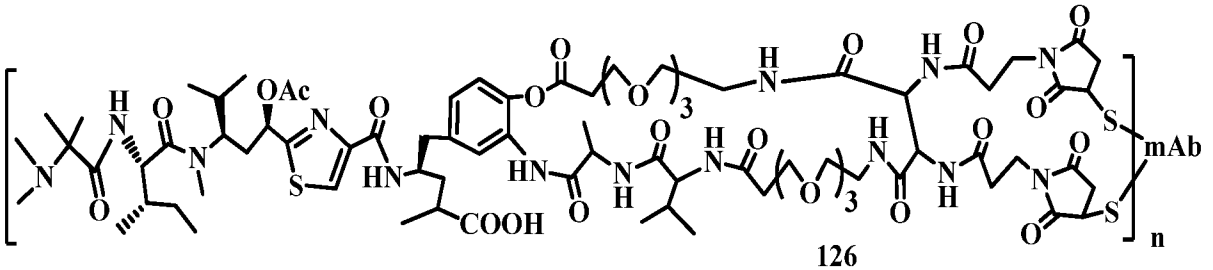
Da-06



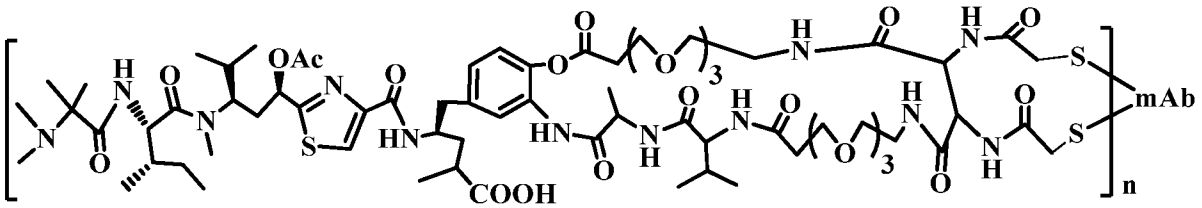
99



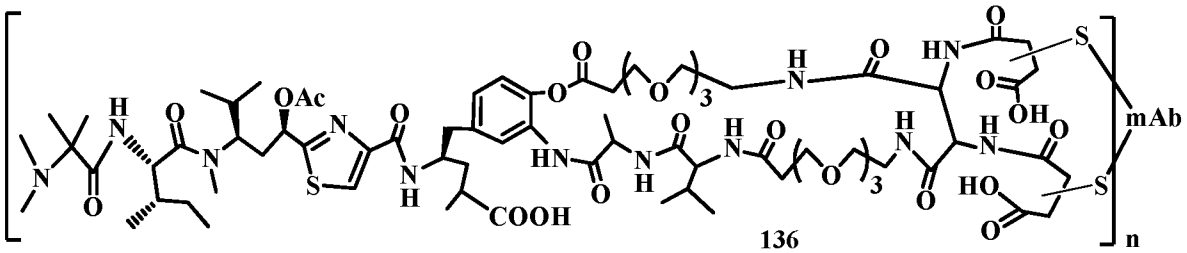
117



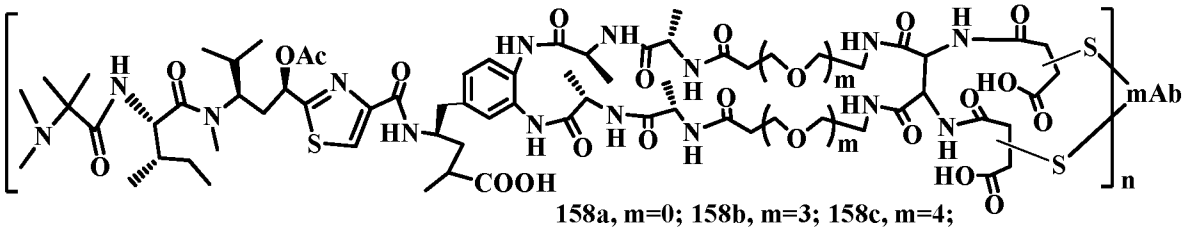
126



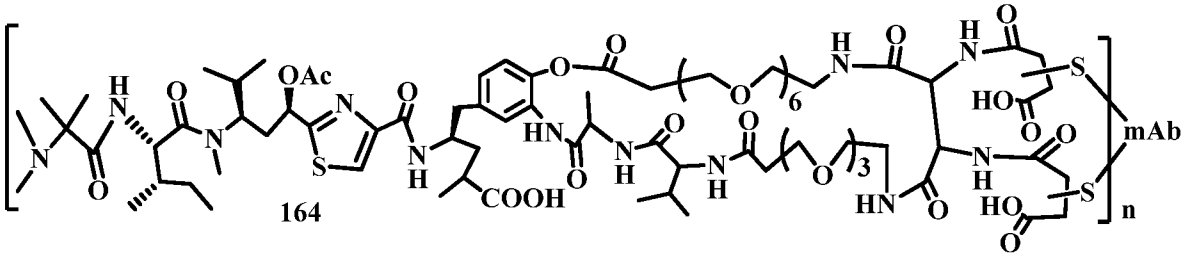
130



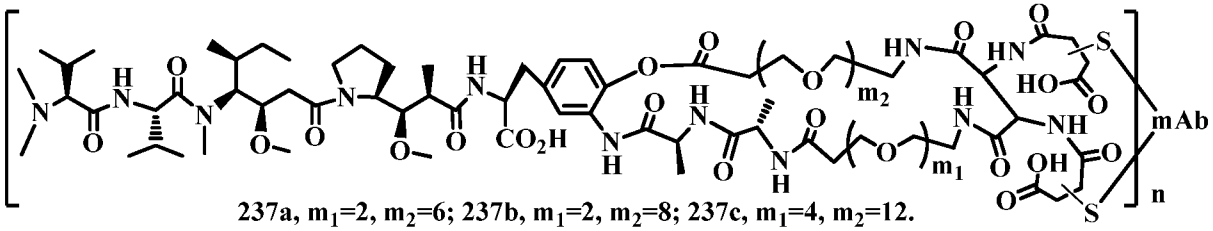
136



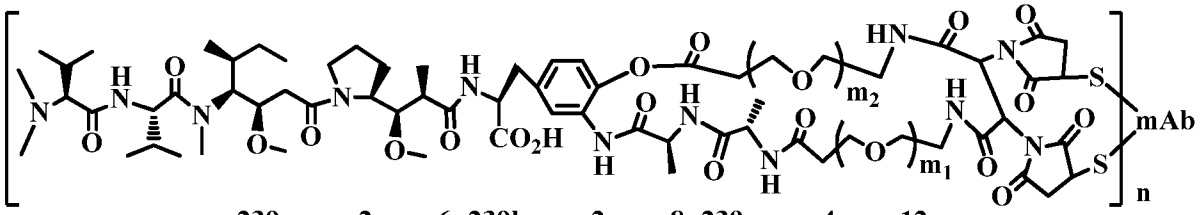
158a, m=0; 158b, m=3; 158c, m=4;
158d, m=6; 158e, m=8; 158f, m=12.



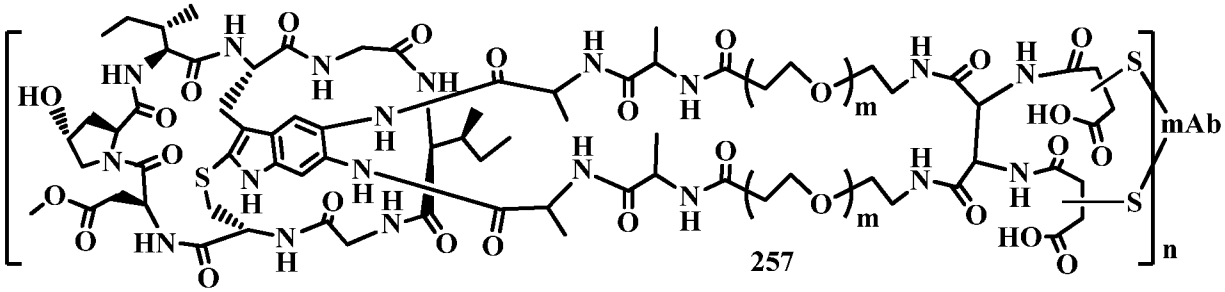
164



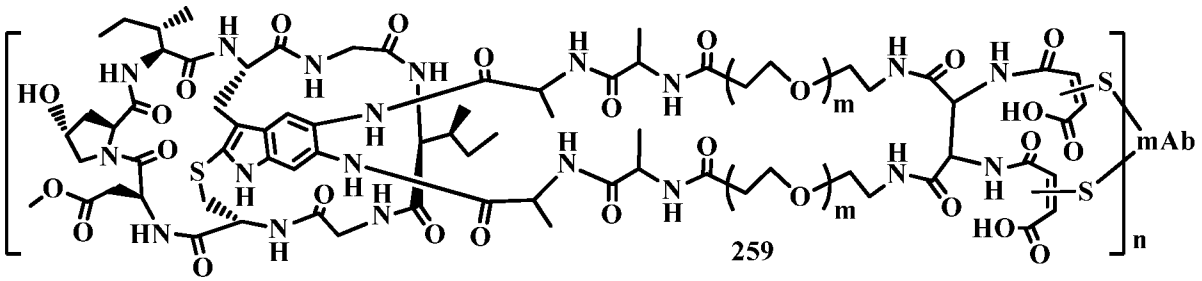
237a, m_1=2, m_2=6; 237b, m_1=2, m_2=8; 237c, m_1=4, m_2=12.



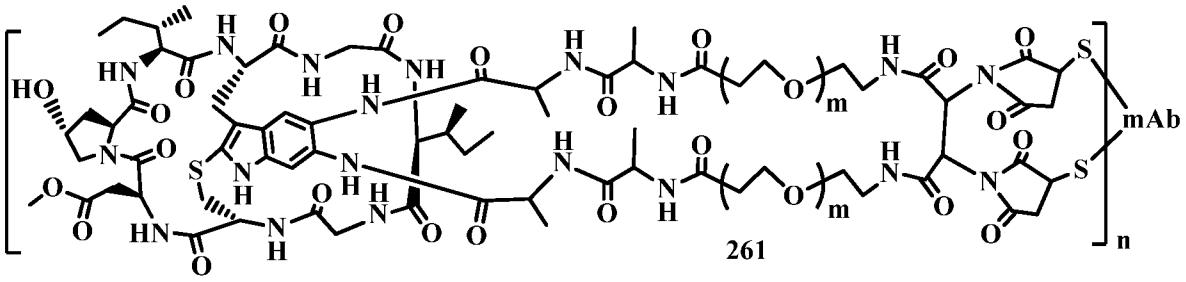
239a, m_1=2, m_2=6; 239b, m_1=2, m_2=8; 239c, m_1=4, m_2=12.



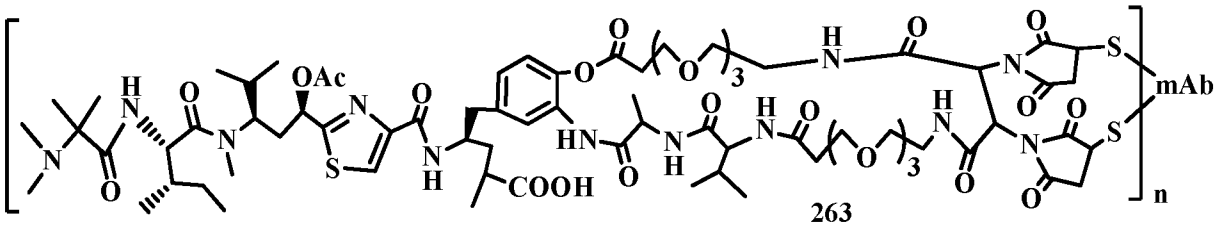
257



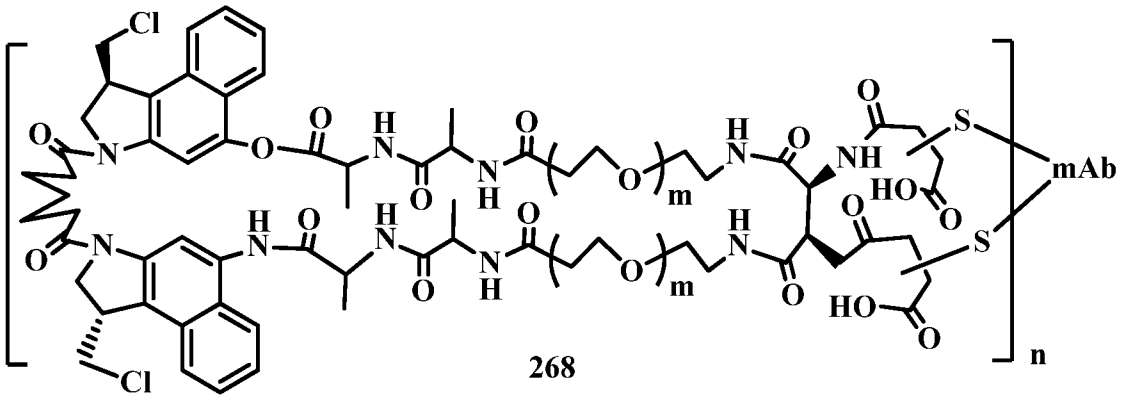
259



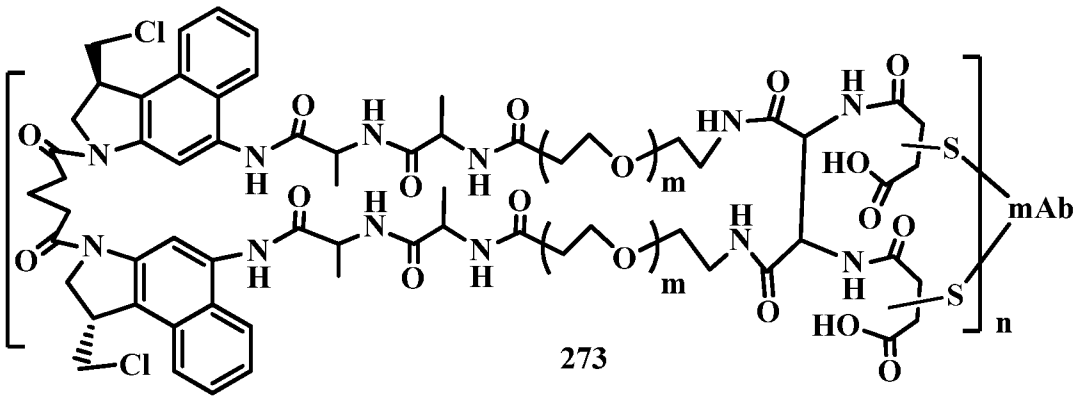
261



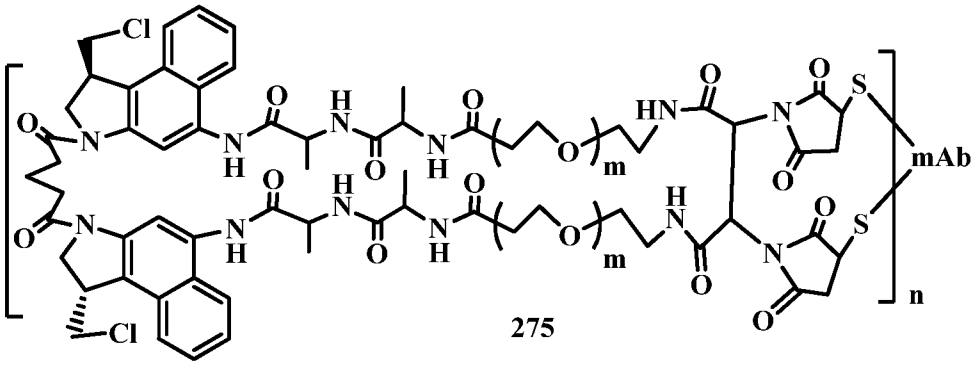
263



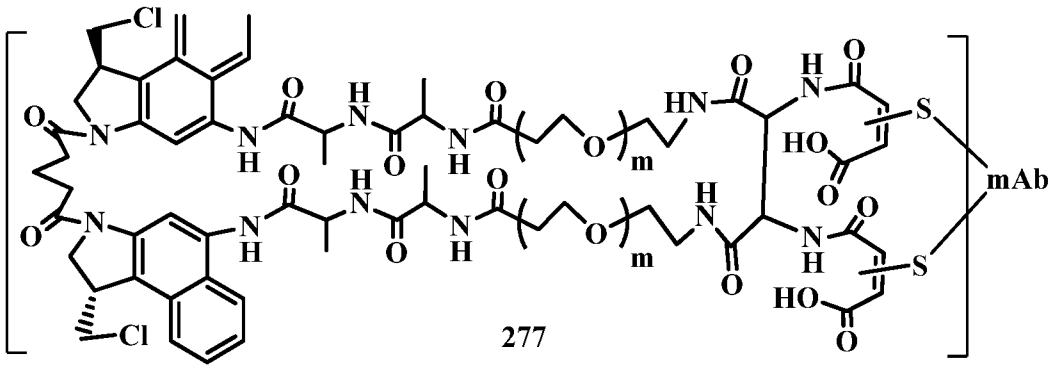
268



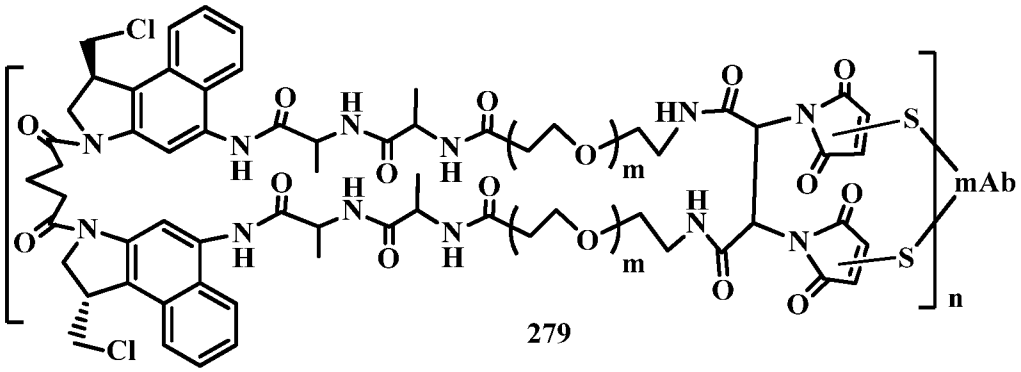
273



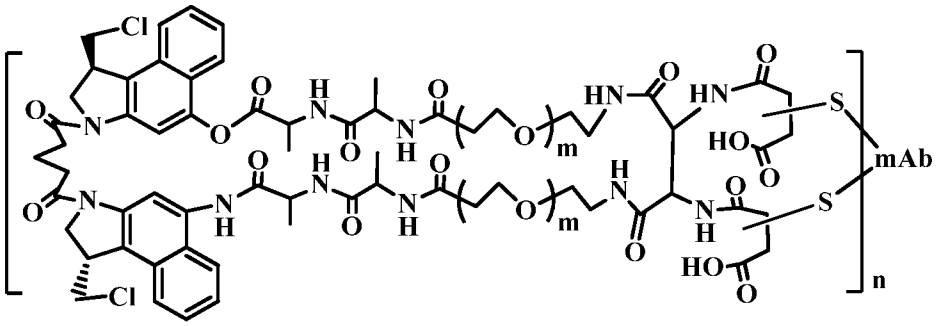
275



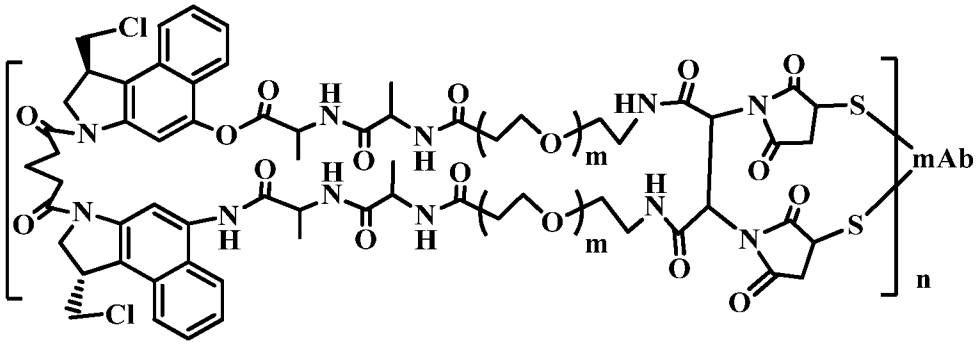
277



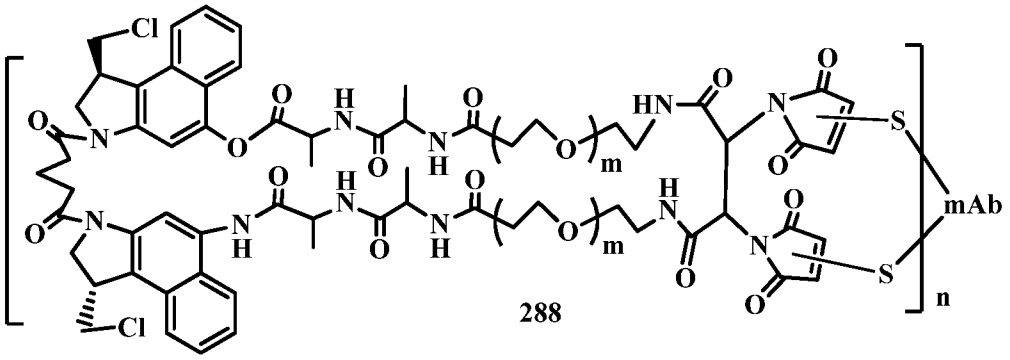
279



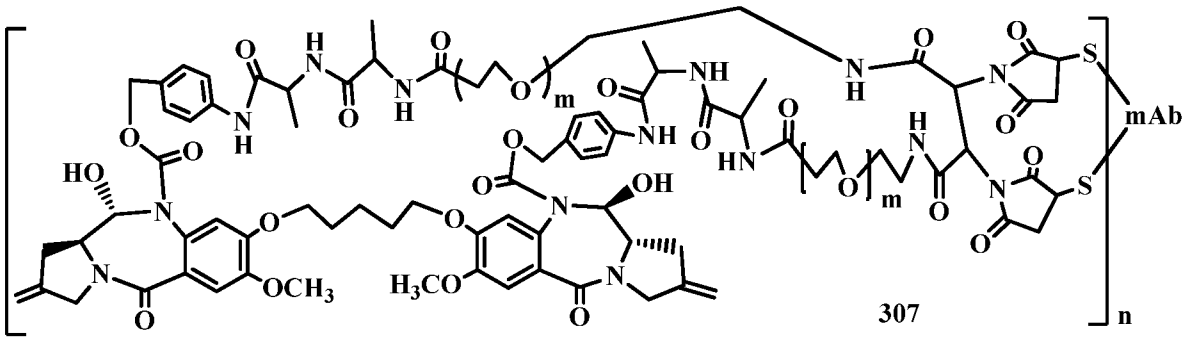
283



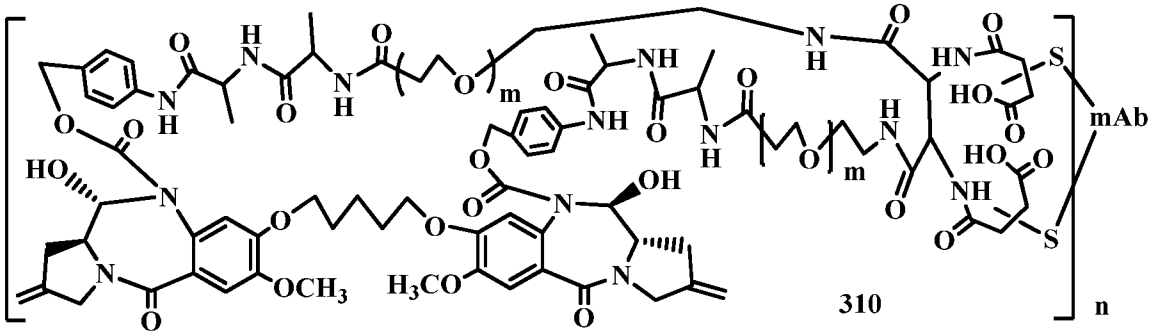
285



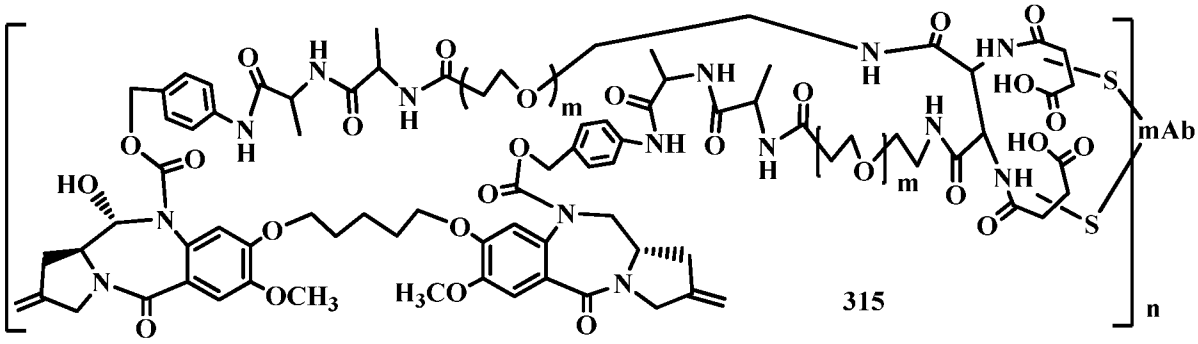
288



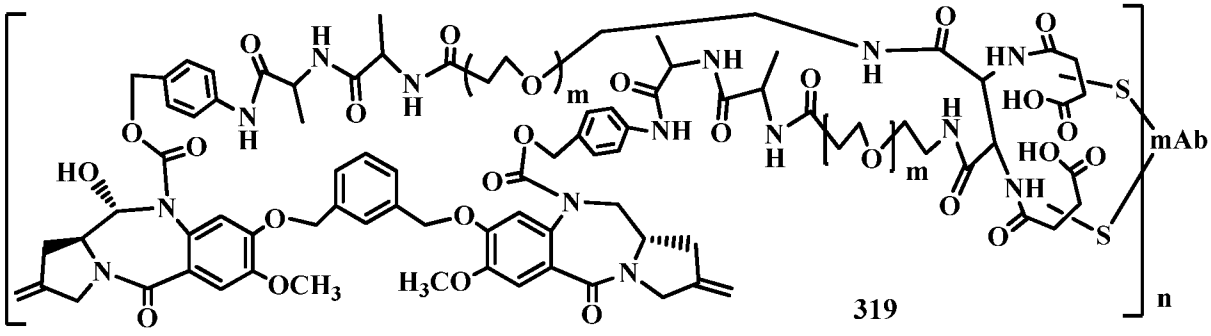
307



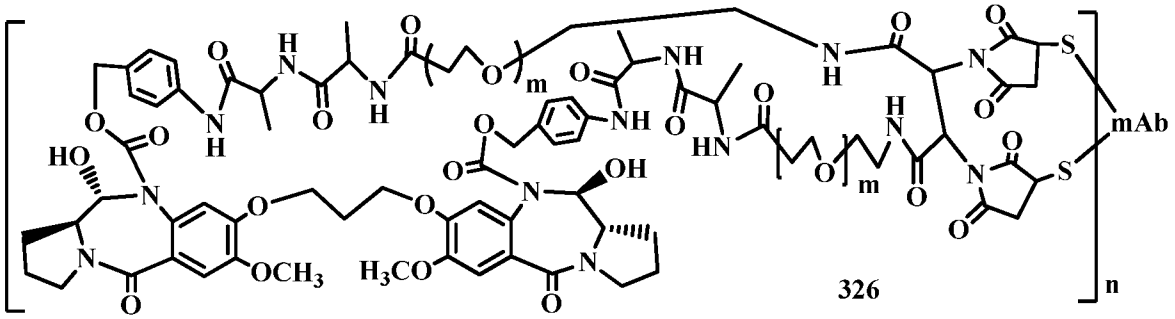
310



315



319



где m_1 и n определены так же, как в п. 1; mAb представляет собой антитело; поперечная связь означает, что она может соединять один из двух атомов.

42. Фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество конъюгата по любому из пп. 1, 5, 6, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40 или 41, и его фармацевтически приемлемой соли, носитель, разбавитель или вспомогательное вещество, или комбинацию конъюгатов для лечения или профилактики рака, или аутоиммунного заболевания, или инфекционного заболевания.

43. Фармацевтическая композиция по п. 42 либо в жидкой формуле, либо в составе лиофилизированного твердого вещества, содержащая по массе: 0,01%–99% одного или более конъюгатов по любому из пп. 1, 5, 6, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40 или 41; 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, полоксамера, 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, додецилдиметиламиноксида, кокамидопропилбетаина и кокоамфо глицината; или изостеарилэтилимидония этосульфата; полиэтилгликолья, 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 EGTA;

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, трометамина 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.

44. Фармацевтическая композиция по п. 42 или 43, содержащаяся во флаконе, бутылке, предварительно заполненном шприце или предварительно заполненном шприце с автоинжектором, в виде раствора или лиофилизированного твердого вещества.

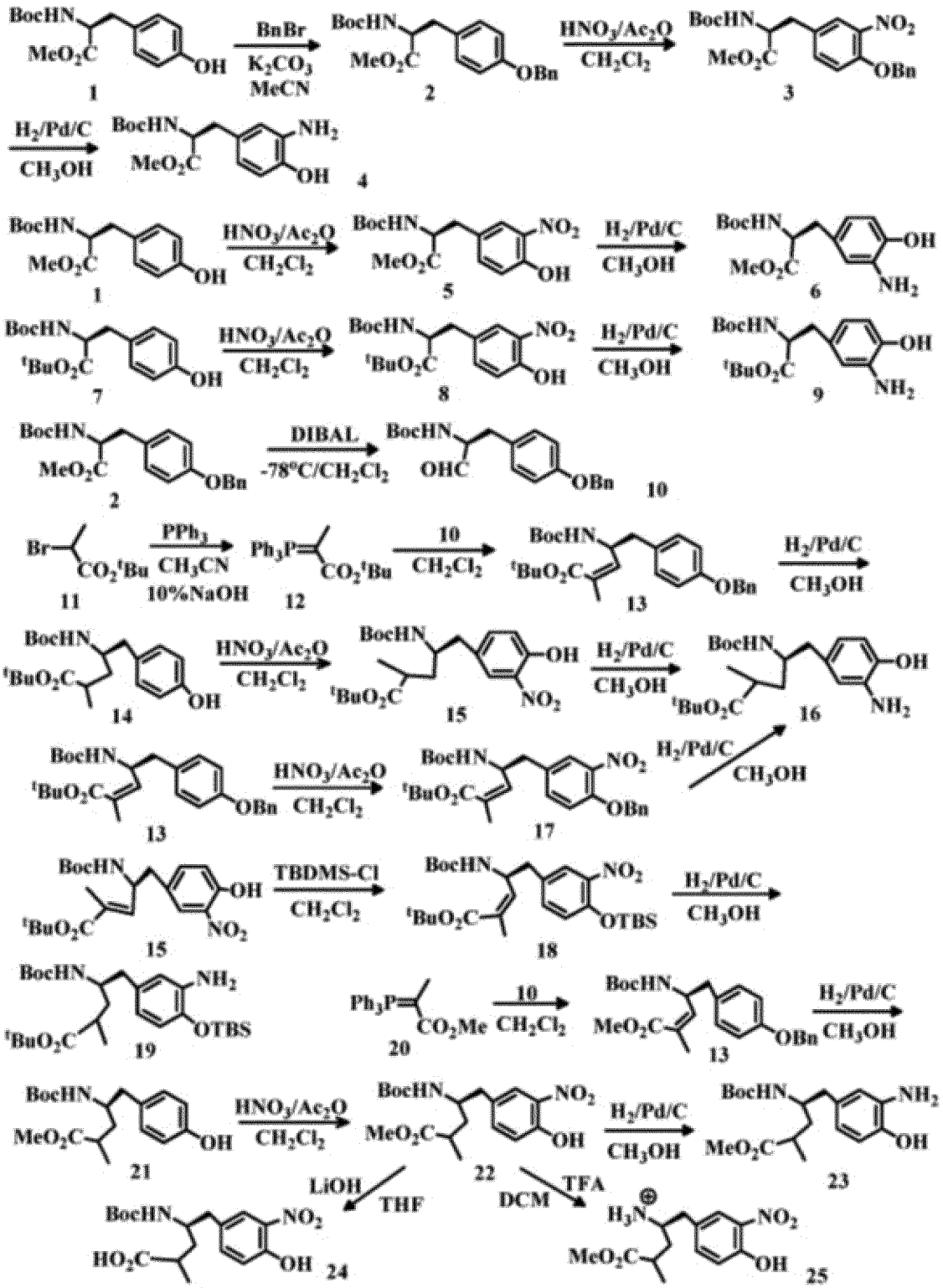
45. Конъюгат по п. 1, 5, 6, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40 или 41, или в виде фармацевтической композиции по п. 42 или 43, обладающий активностью уничтожения клетки in vitro, in vivo или ex vivo.

46. Фармацевтическая композиция по п. 42 или 43, введенная одновременно с химиотерапевтическим агентом, лучевой терапией, иммунотерапевтическим агентом, агентом аутоиммунного расстройства, антиинфекционными агентами или другими

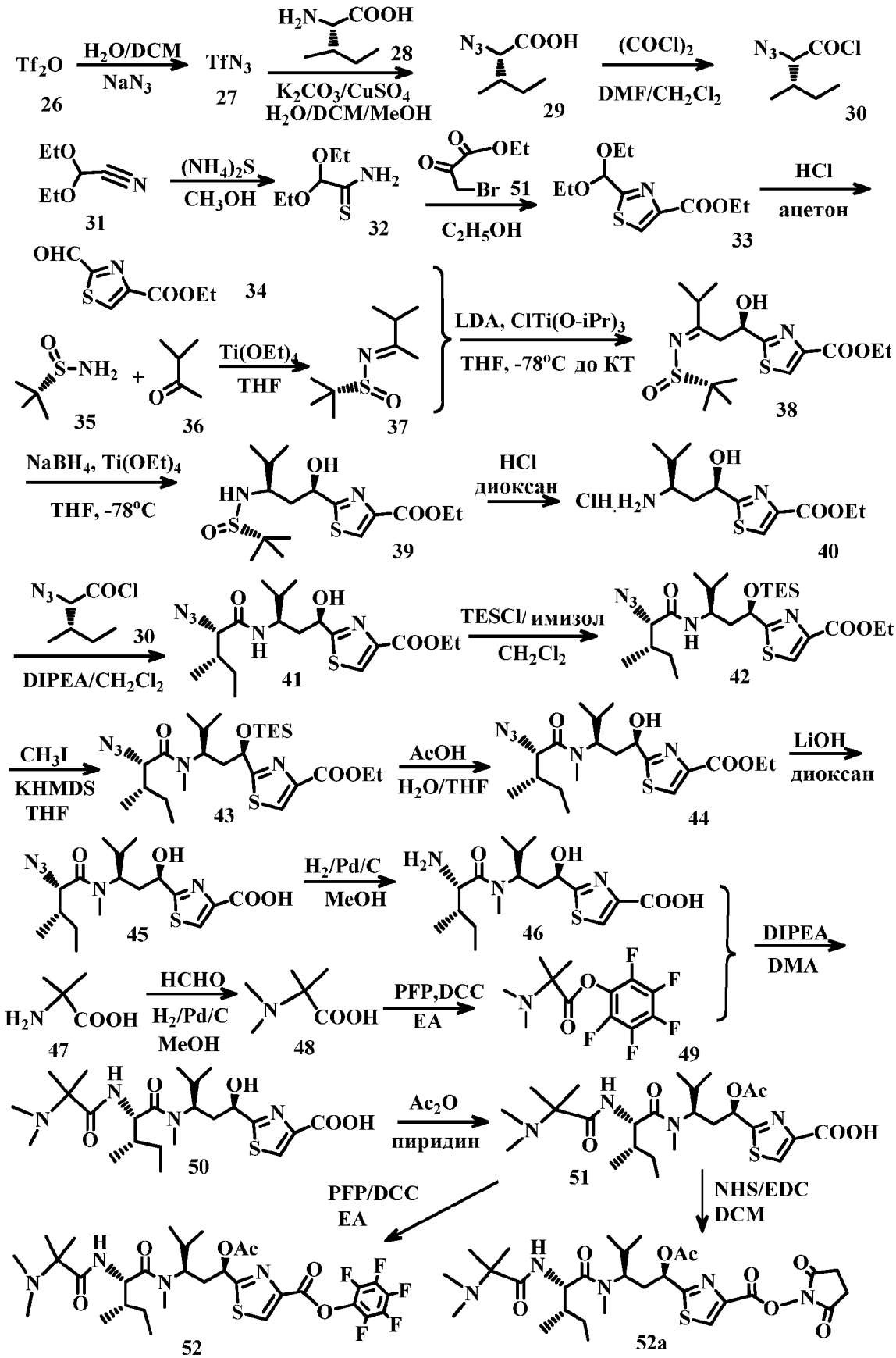
конъюгатами для синергетически эффективного лечения или профилактики рака, или аутоиммунного заболевания, или инфекционного заболевания.

47. Синергетические агенты по п. 46, выбраны из одного или более следующих лекарственных средств: абатацепт, абемациклиб, абиратерон ацетат, абраксан, адуканумаб, ацетаминофен/гидрокодон, акалабрутиниб, адуканумаб, адалимумаб, ADXS31-142, ADXS-HER2, афатиниб дималеат, альдеслейкин, алектиниб, алемтузумаб, аллитиниб, алитретиноин, адо-трастузумаб эмтанзин, амфетамин/декстроамфетамин, анастрозол, апатиниб, арипипразол, антрациклины, арипипразол, атазанавир, атезолизумаб, аторвастатин, авелумаб, AVXS-101, аксикабтаген цилолейцел, акситиниб, белиностат, BCG Live, бевацизумаб, бексаротен, блинатумомаб, бортезомиб, бозутиниб, брентуксимаб ведотин, бригатиниб, бролуцизумаб, будесонид, будесонид/формотерол, бупренорфин, BYL719 (alpha-specific PI3K inhibitor), кабазитаксел, кабозантиниб, капматиниб, капецитабин, карфилзомиб, химерные антигенные рецепторные сконструированные Т-клетки (CAR-T), целекоксиб, церитиниб, цетуксимаб, чиаураниб, хидамид, циклоспорин, цинакальцет, кризотиниб,тисагенлеклеуцел, дабигатран, дабрафениб, дакарбазин, даклизумаб, дакомотиниб, даптомицин, даратумумаб, дарбэпоэтин альфа, дарунавир, дасатиниб, денилейкин дифтитокс, деносумаб, депакот, декслансопразол, дексметилфенидат, дексаметазон, система охлаждения DigniCap, L-3,4-дигидроксифенилаланин, динутуксимаб, дорназа альфа, доксициклин, дулоксетин, дювелисиб, дурвалумаб, элотузумаб, эмицизумаб, эмтрицибин/рилпивирин/тенофовир, дизопроксил фумарат, эмтрицитбин/тенофовир/эфавиренз, эноксапарин, энсартиниб, энзалутамид, эпитениб,эпоэтин альфа, эрлотиниб, эзомепразол, эзопиклон, этанерцепт, эверолимус, экземестан, эверолимус, экзенатид ER, эзетимиб, эзетимиб/симвастатин, фамитиниб, фенофибрат, филготиниб, филграстим, финголимод, флуматиниб, флутиказона пропионат, флутиказон/сальметерол, фруквинтиниб, фулвестрант, газыва, гефитиниб, глатирамер, гозерелина ацетат, GSK2857916 (BCMA-ADC), генатиниб, икотиниб, иматиниб, ибритумомаб тиуксетан, ибрутиниб, икотиниб, 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, ланаделумаб, ланреотида ацетат, леналидомид, леналиомид, ленватиниба мезилат, летрозол, левотироксин, левотироксин, лидокаин, линезолид, лираглутид, лисдексамфетамин, LN-144 (лимфоциты, инфильтрирующие опухоль), лорлатиниб, люцитаниб/делитиниб, мемантин,

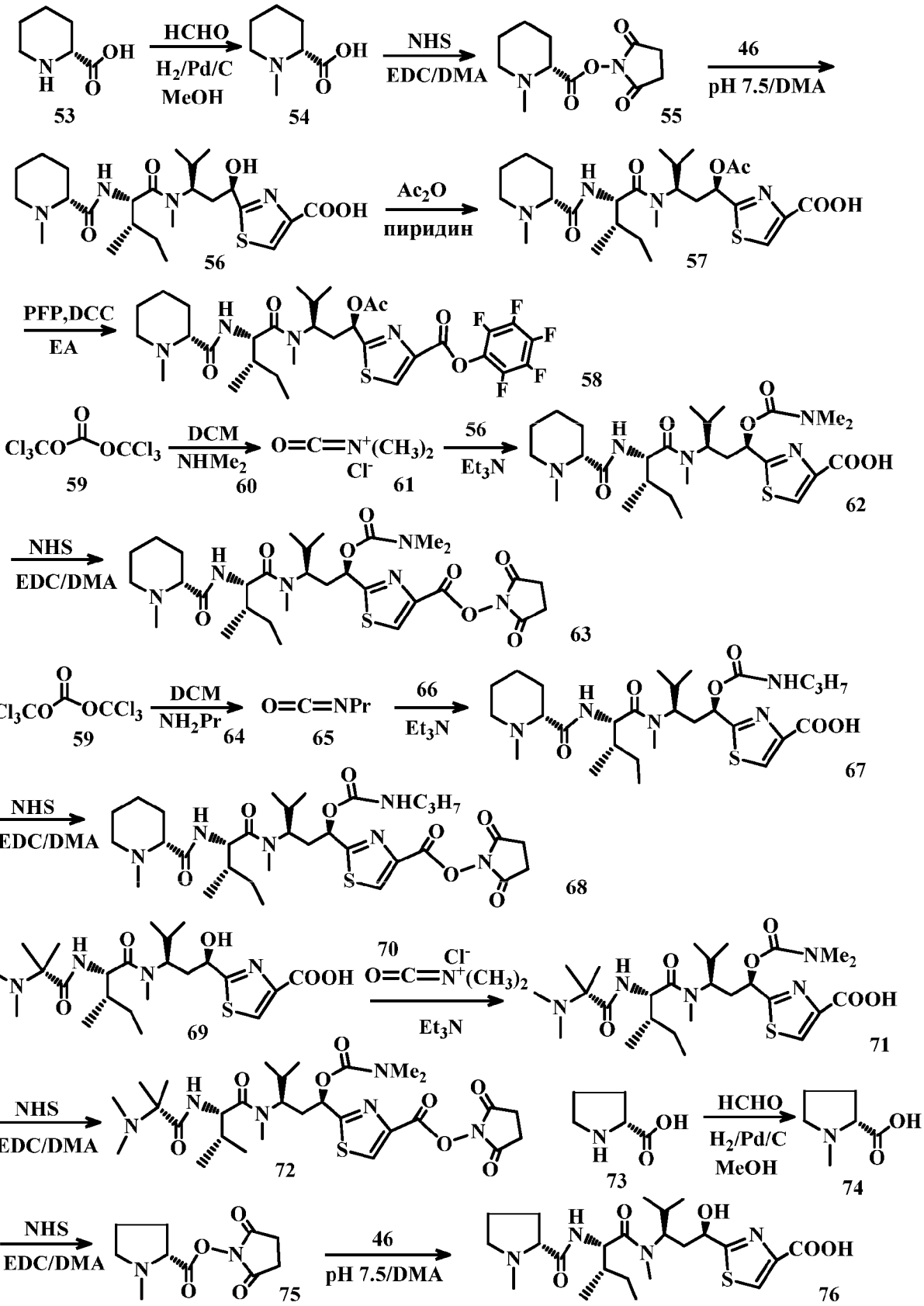
метоксиполиэтиленгликоль-эпоэтин бета, метилфенидат, метопролол, мекинист, мерицитабин/рилпивирин/тенофовир, модафинил, мометазон, мицидак-С, микофеноловая кислота, нецитумумаб, нератиниб, нилотиниб, нирапариб, ниволумаб, офатумумаб, обинутузумаб, окрелизумаб, олапариб, олмесартан, олмесартан/гидрохлоротиазид, омализумаб, сложные этиловые эфиры омега-3 жирных кислот, онкорин, осельтамивир, осимертиниб, оксикодон, озанимод, палбоциклиб, паливизумаб, панитумумаб, панобиностат, пазопаниб, пембролизумаб, антитело к PD-1, антитело к PD-L1, пеметрексед, пертузумаб, пирфенидон,пневмококковая конъюгатная вакцина, помалидомид, прегабалин, ProscaVax, пропранолол, пукитиниб, пиротиниб, кветиапин, рабепразол, хлорид радия 223, ралоксифен, ралтегравир, рамуцирумаб, ранибизумаб, регорафениб, рибоциклиб, рисанкизумаб,ритуксимаб, ривароксабан, ромидепсин, розувастатин, руксолитиниба фосфат, сальбутамол, саволитиниб, семаглутид, севеламер, силденафил, силтуксимаб, сипатиниб/ципатиниб, сипонимод,сипулейцел-Т, ситаглиптин, ситаглиптин/метформин, солифенацин, соланезумаб, сонидегиб, сорафениб, сулфатиниб, сунитиниб, такролимус, такримус, тадалафил, тамоксифен, тафинлар, талимоген, лагерпарепвек, талазопариб, телапревир, талазопариб, темозоломид, темсиролимус, тенектеплаза, тенофовир/эмтрицитабин, тенофовир дизопроксил фумарат, тестостерон гель, тезакафтор/ивакафтор, талидомид, телиатиниб, ТІСЕ БЦЖ, тиотропия бромид, тизагенлеклейцел, тоцилизумаб, торемифен, траметиниб, трастузумаб, трабектедин (эктеинасцидин 743), траметиниб, тремелимумаб, трифлуридин/типирацил, третиноин,упадацитиниб, Уро-БЦЖ, устекинумаб, валоктокоген роксапарвовец, валсартан, велипариб, вандетаниб, вемурафениб, венетоклакс, висмодегиб, волитиниб, вориностат, зив-афлиберцепт, зоставакс и их аналоги, производные, фармацевтически приемлемые соли, носители, разбавители или их вспомогательные вещества, или комбинация вышеуказанного.


BocHN
MeO2C
OH
1
BnBr
K2CO3
MeCN
OBn
2
HNO3/Ac2O
CH2Cl2
NO2
3
H2/Pd/C
CH3OH
NH2
4
5
6
tBuO2C
7
8
9
DIBAL
-78°C/CH2Cl2
OHC
10
Br
CO2tBu
11
PPh3
CH3CN
10%NaOH
Ph3P
12
13
14
15
16
17
TBDMS-Cl
OTBS
18
19
CO2Me
20
21
22
23
LiOH
THF
24
DCM
TFA
H3N
25

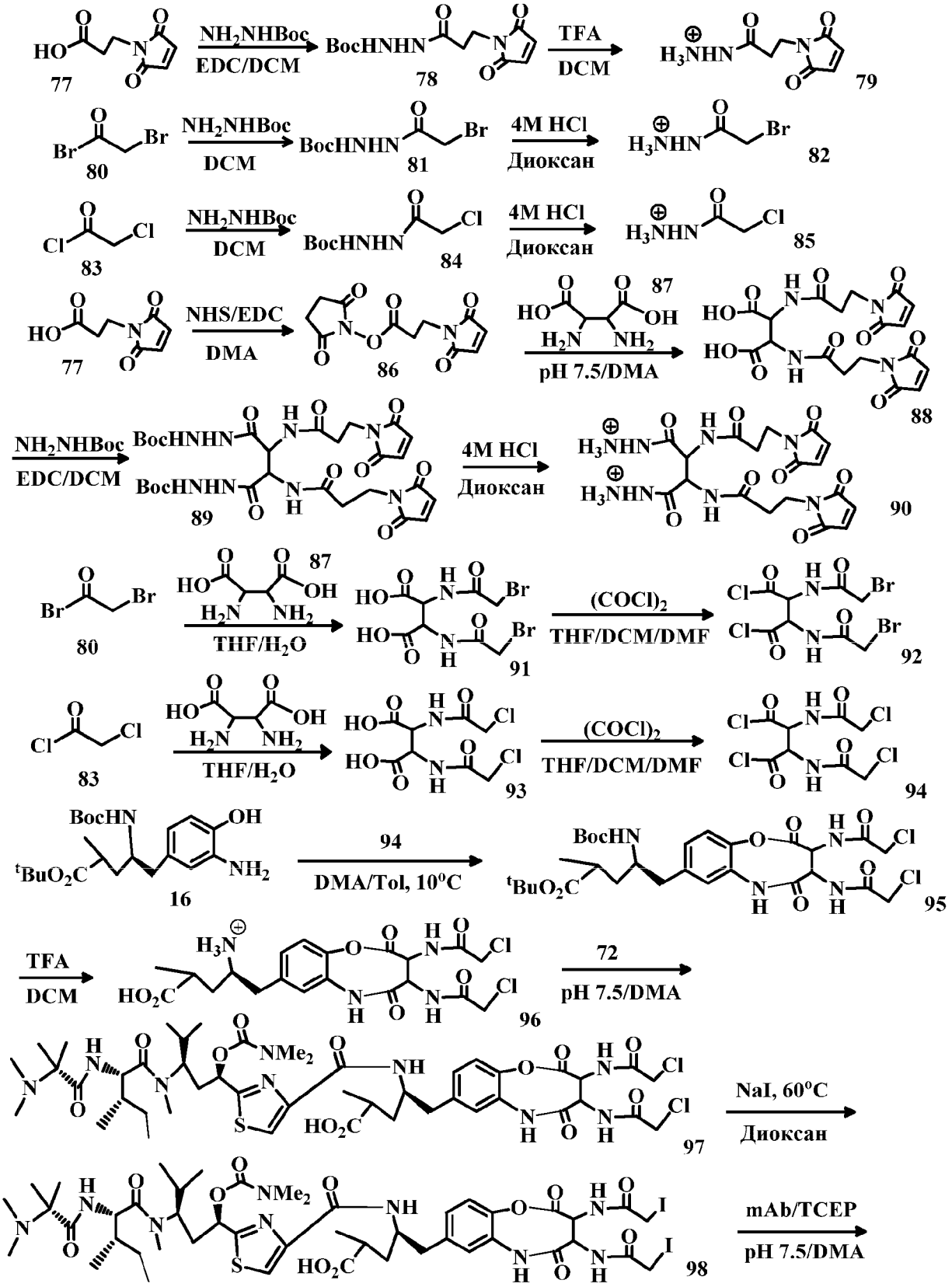
ФИГ. 1


Tf2O
26
H2O/DCM
NaN3
TfN3
27
28
K2CO3/CuSO4
H2O/DCM/MeOH
29
(COCl)2
DMF/CH2Cl2
30
31
(NH4)2S
CH3OH
32
51
C2H5OH
33
HCl
ацетон
34
35
36
Ti(OEt)4
THF
37
LDA, ClTi(O-iPr)3
THF, -78°C до КТ
38
NaBH4, Ti(OEt)4
THF, -78°C
39
HCl
диоксан
40
DIPEA/CH2Cl2
41
TESCl/ имизол
CH2Cl2
42
CH3I
KHMDS
THF
43
AcOH
H2O/THF
44
LiOH
диоксан
45
H2/Pd/C
MeOH
46
DIPEA
DMA
47
HCHO
H2/Pd/C
MeOH
48
PFP,DCC
EA
49
50
Ac2O
пиридин
51
PFP/DCC
EA
NHS/EDC
DCM
52
52a

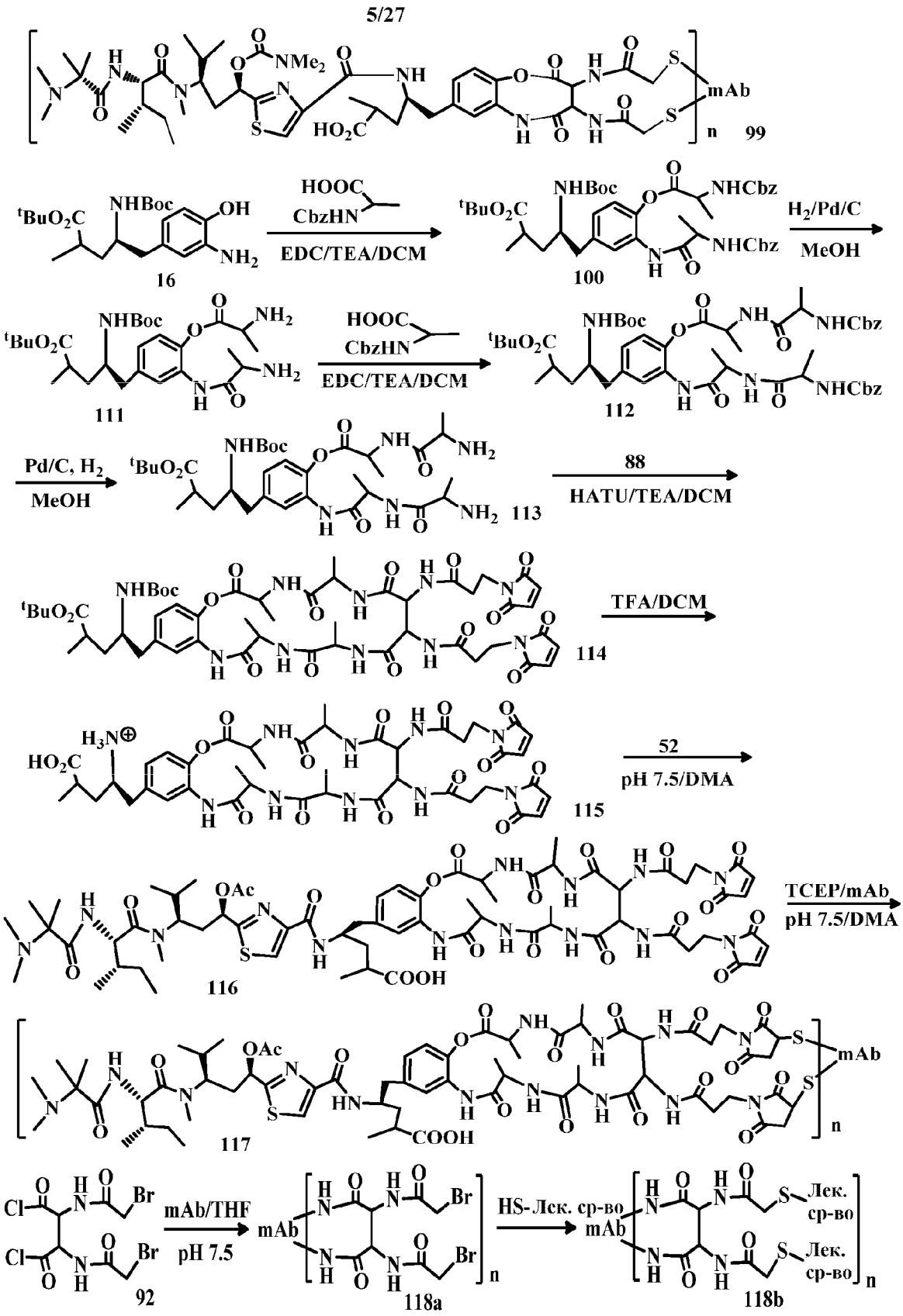
ФИГ. 2


HCHO
H2/Pd/C
MeOH
NHS
EDC/DMA
46
pH 7.5/DMA
Ac2O
пиридин
PFP,DCC
EA
DCM
NHMe2
Et3N
NHS
EDC/DMA
DCM
NH2Pr
66
Et3N
NHS
EDC/DMA
70
Et3N
NHS
EDC/DMA
HCHO
H2/Pd/C
MeOH
NHS
EDC/DMA
46
pH 7.5/DMA
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
59
64
65
67
68
69
71
72
73
74
75
76

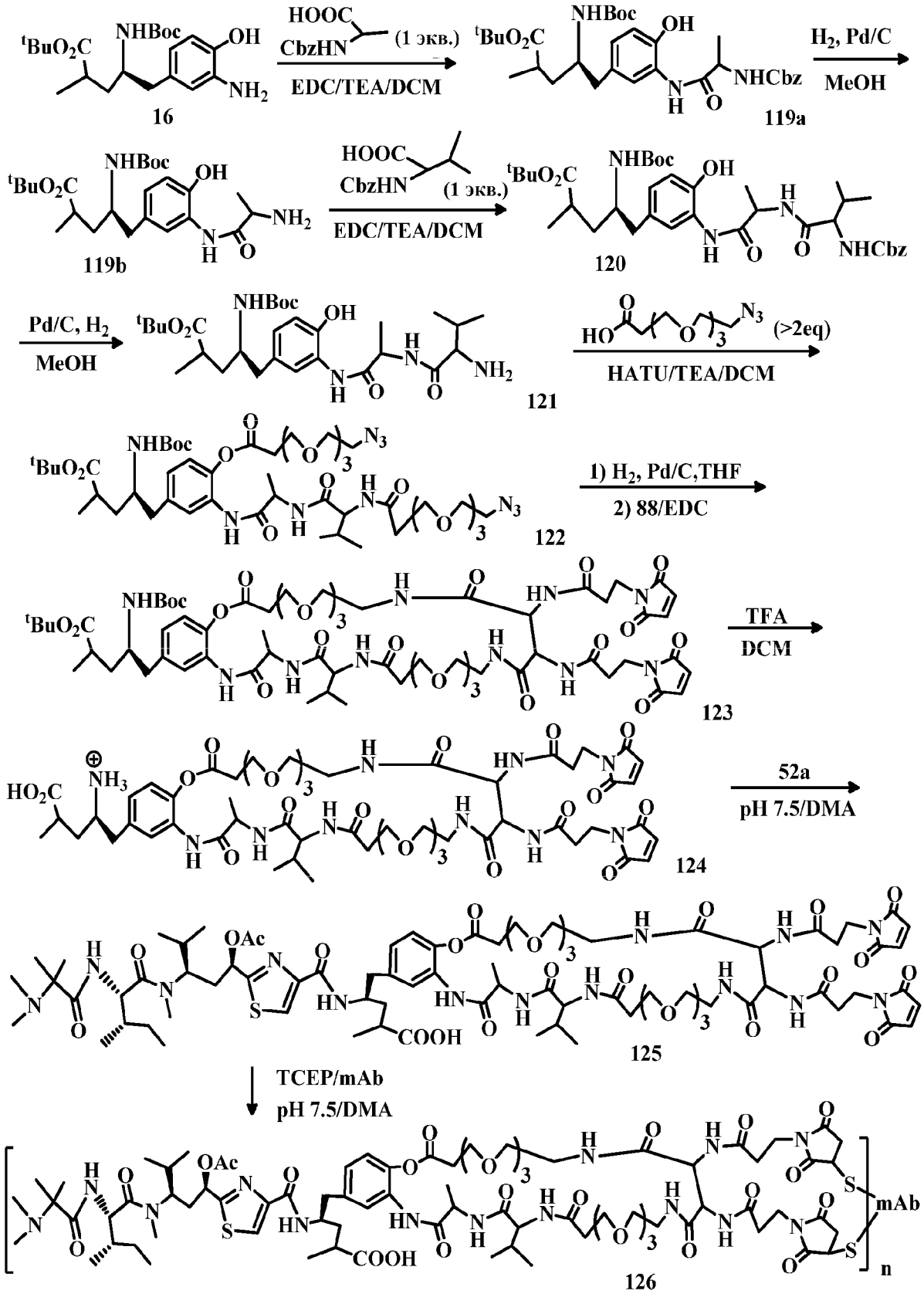
ФИГ. 3


NH2NHBoc
EDC/DCM
BocHNHN
TFA
DCM
H3NHN
77
78
79
80
81
82
4M HCl
Диоксан
83
84
85
NHS/EDC
DMA
86
87
pH 7.5/DMA
88
89
90
THF/H2O
91
(COCl)2
THF/DCM/DMF
92
93
94
16
DMA/Tol, 10°C
95
96
72
97
NaI, 60°C
98
mAb/TCEP

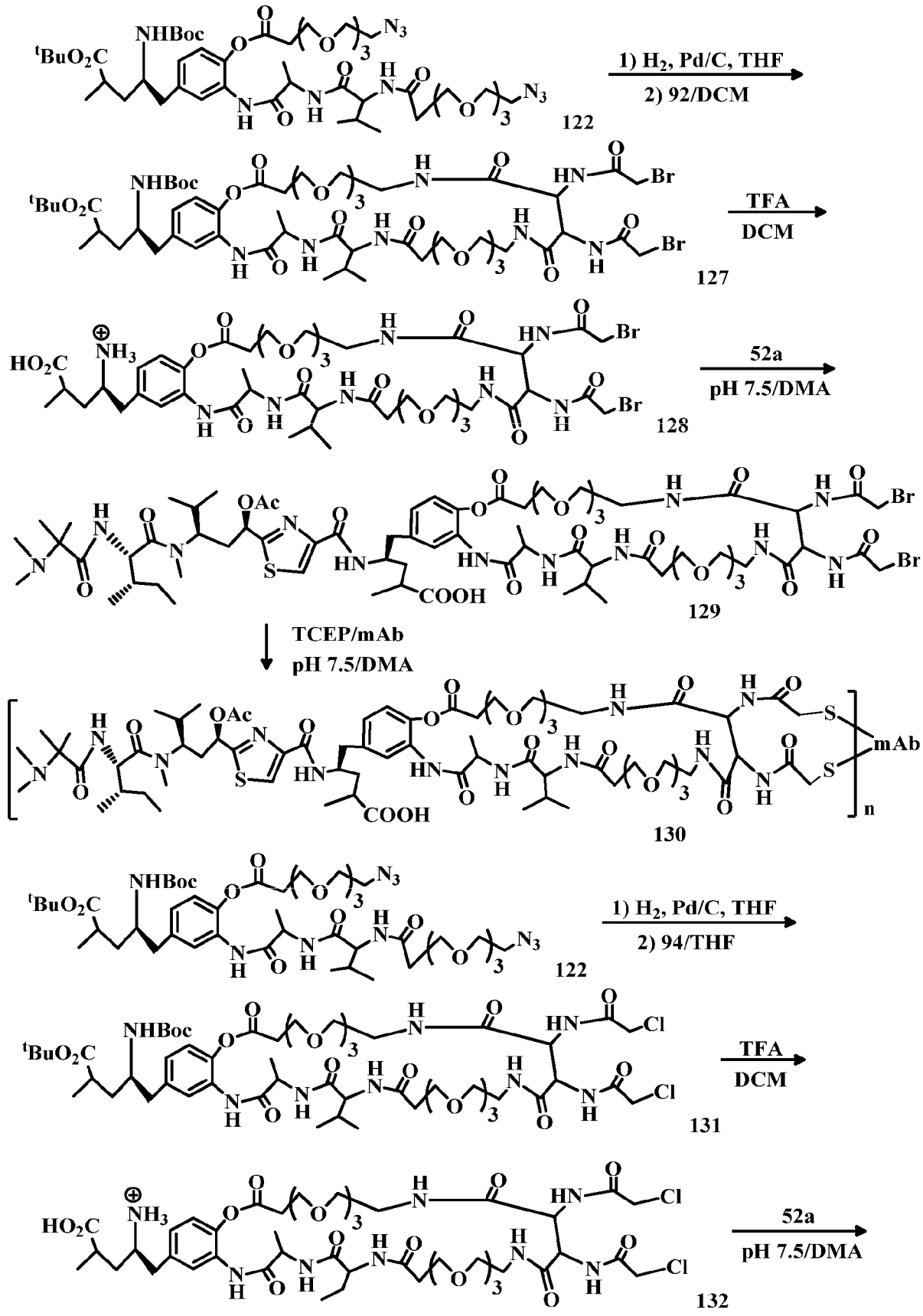
ФИГ. 4


99
16
HOOC
CbzHN
EDC/TEA/DCM
100
H2/Pd/C
MeOH
111
112
Pd/C, H2
MeOH
113
88
HATU/TEA/DCM
114
TFA/DCM
115
52
pH 7.5/DMA
116
TCEP/mAb
pH 7.5/DMA
117
92
mAb/THF
pH 7.5
118a
HS-Лек. ср-во
118b

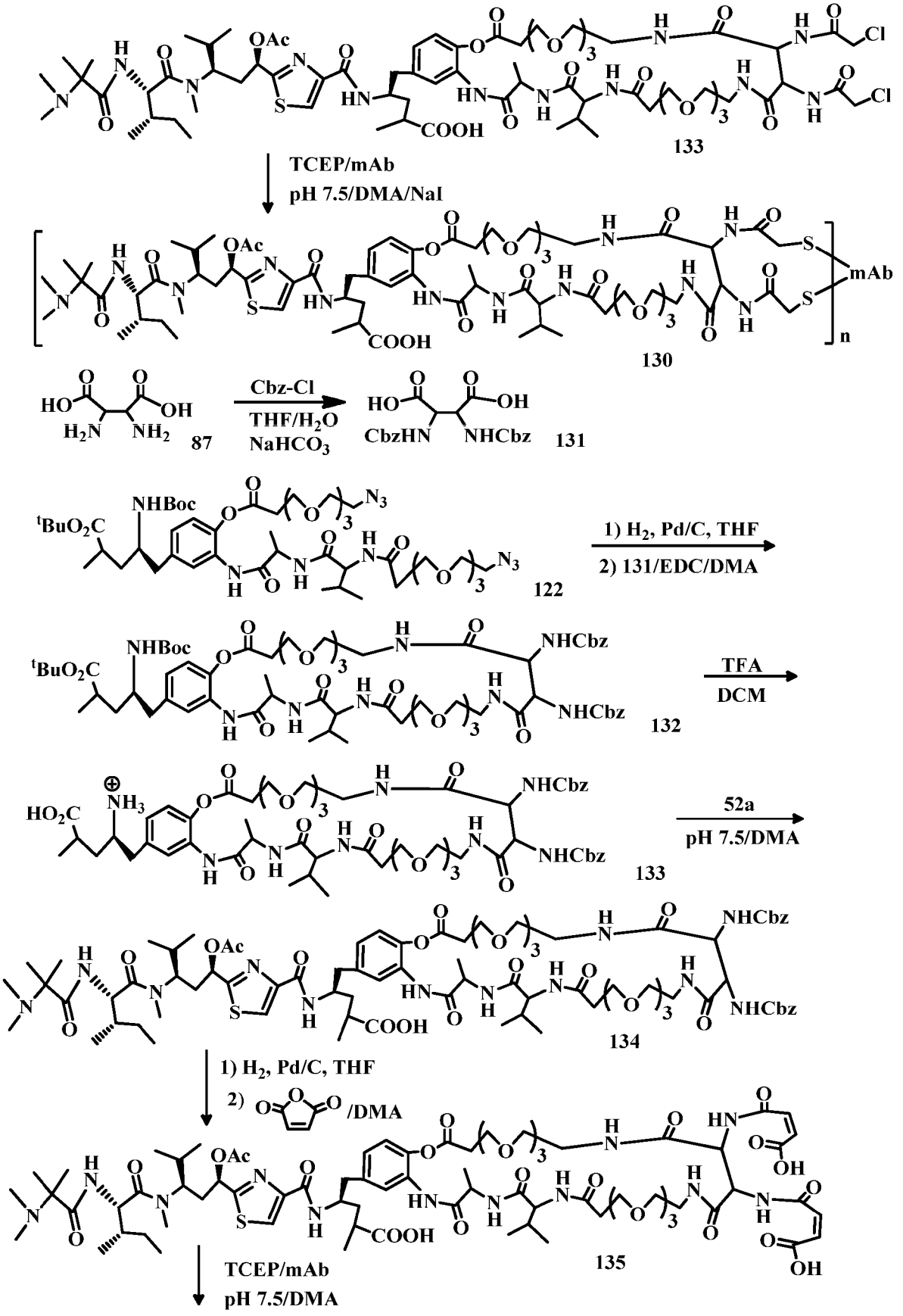
ФИГ. 5


16
HOOC
CbzHN
(1 экв.)
EDC/TEA/DCM
119a
H2, Pd/C
MeOH
119b
120
Pd/C, H2
MeOH
121
(>2eq)
HATU/TEA/DCM
122
1) H2, Pd/C,THF
2) 88/EDC
123
TFA
DCM
124
52a
pH 7.5/DMA
125
TCEP/mAb
pH 7.5/DMA
126
mAb
n

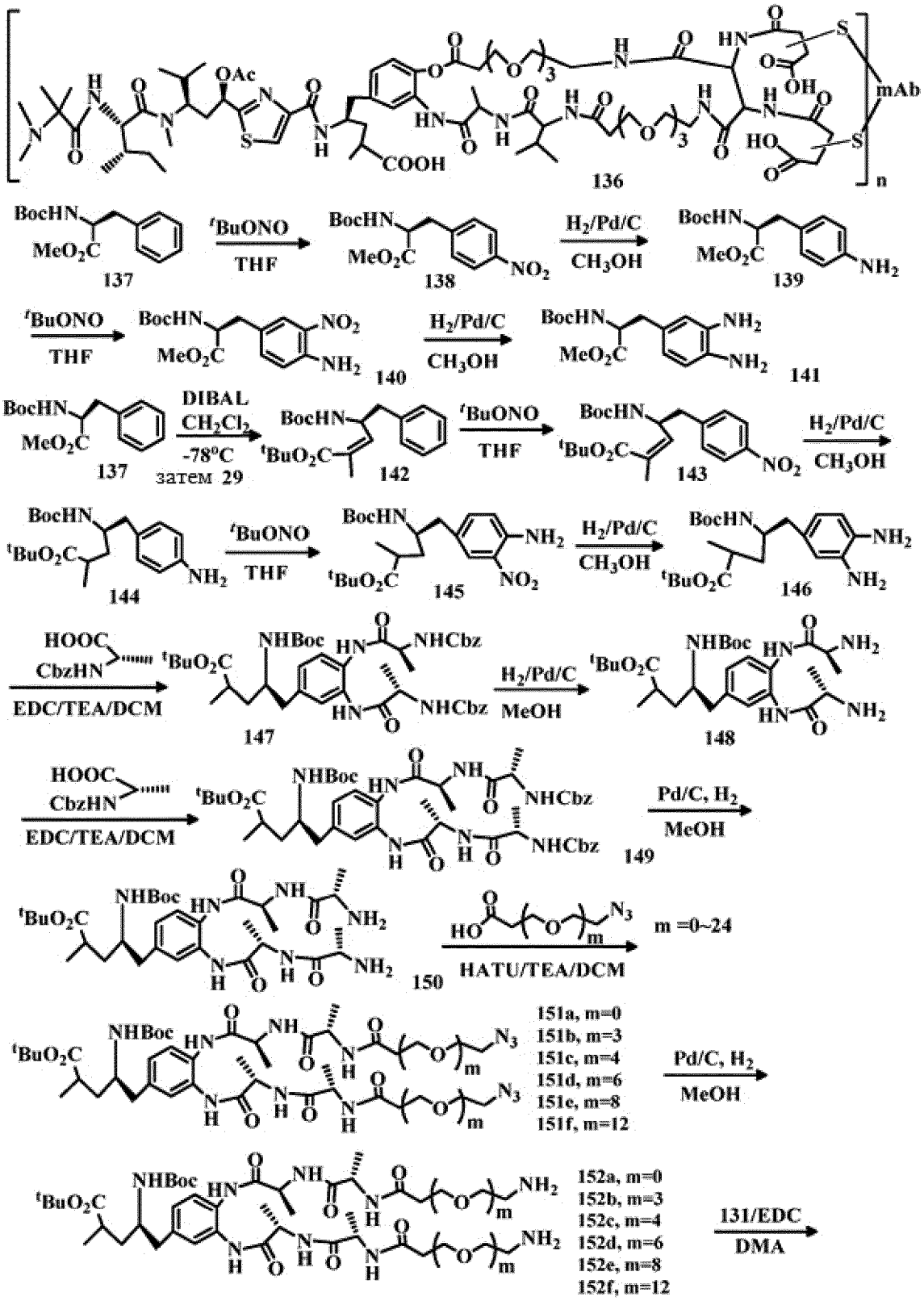
ФИГ. 6


1) H2, Pd/C, THF
2) 92/DCM
122
TFA
DCM
127
52a
pH 7.5/DMA
128
129
TCEP/mAb
pH 7.5/DMA
130
1) H2, Pd/C, THF
2) 94/THF
122
TFA
DCM
131
52a
pH 7.5/DMA
132

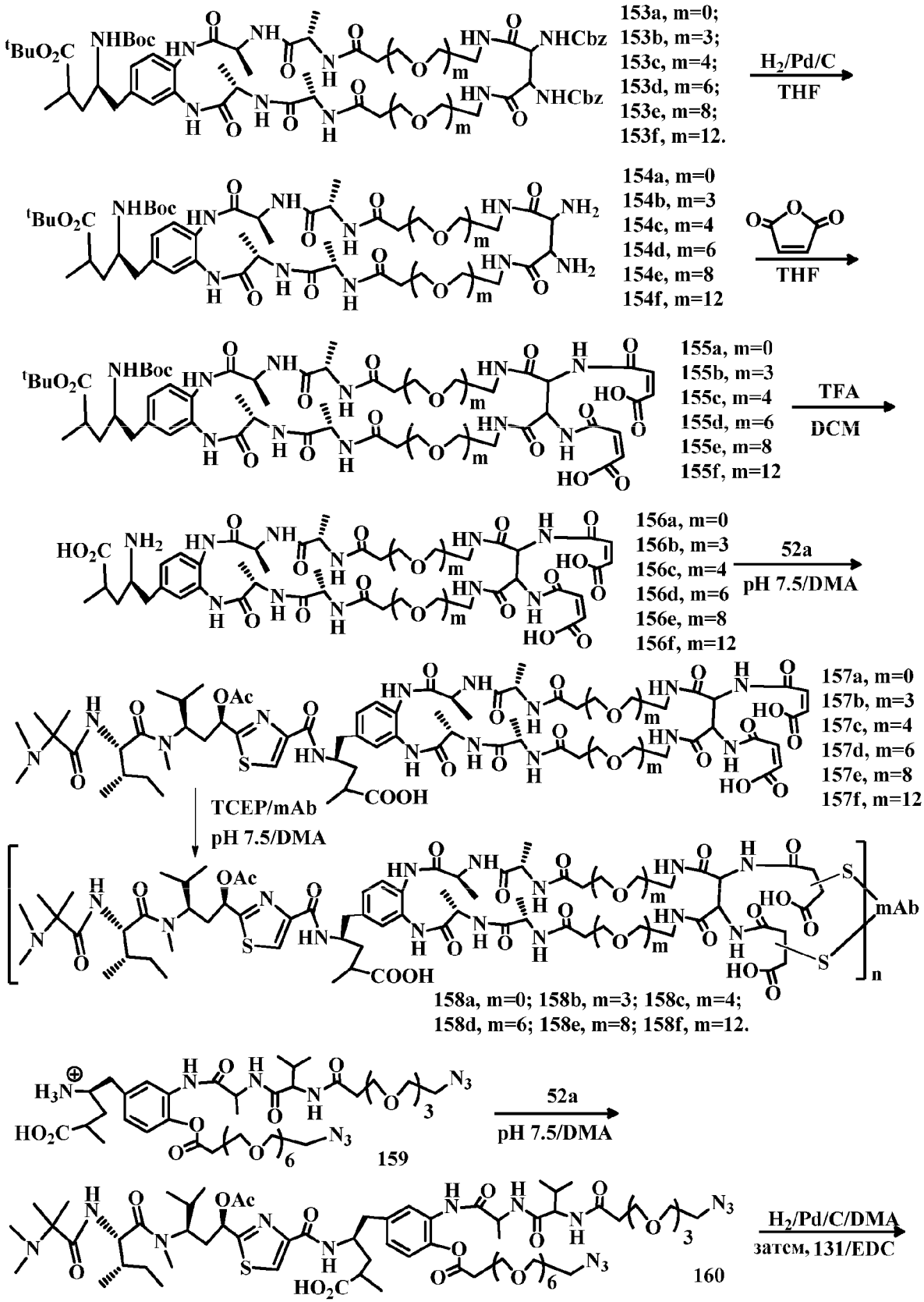
ФИГ. 7


133
TCEP/mAb
pH 7.5/DMA/NaI
130
Cbz-Cl
THF/H2O
NaHCO3
87
131
1) H2, Pd/C, THF
2) 131/EDC/DMA
122
TFA
DCM
132
52a
pH 7.5/DMA
133
134
1) H2, Pd/C, THF
2) /DMA
135
TCEP/mAb
pH 7.5/DMA

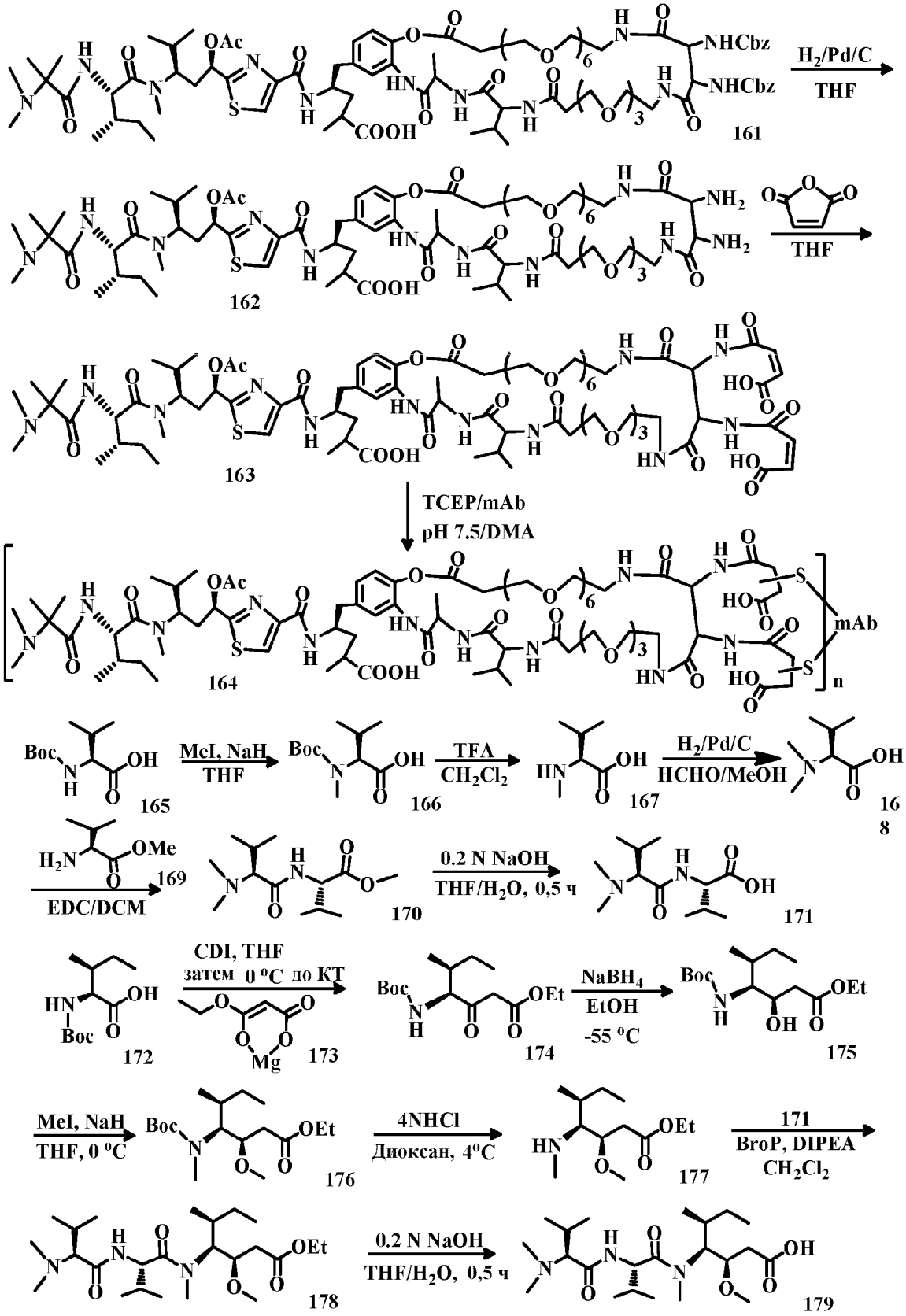
ФИГ.8


136
137
138
139
140
141
142
143
144
145
146
147
148
149
150
151a, m=0
151b, m=3
151c, m=4
151d, m=6
151e, m=8
151f, m=12
152a, m=0
152b, m=3
152c, m=4
152d, m=6
152e, m=8
152f, m=12
m =0~24
DIBAL
затем 29
EDC/TEA/DCM
HATU/TEA/DCM
MeOH
DMA

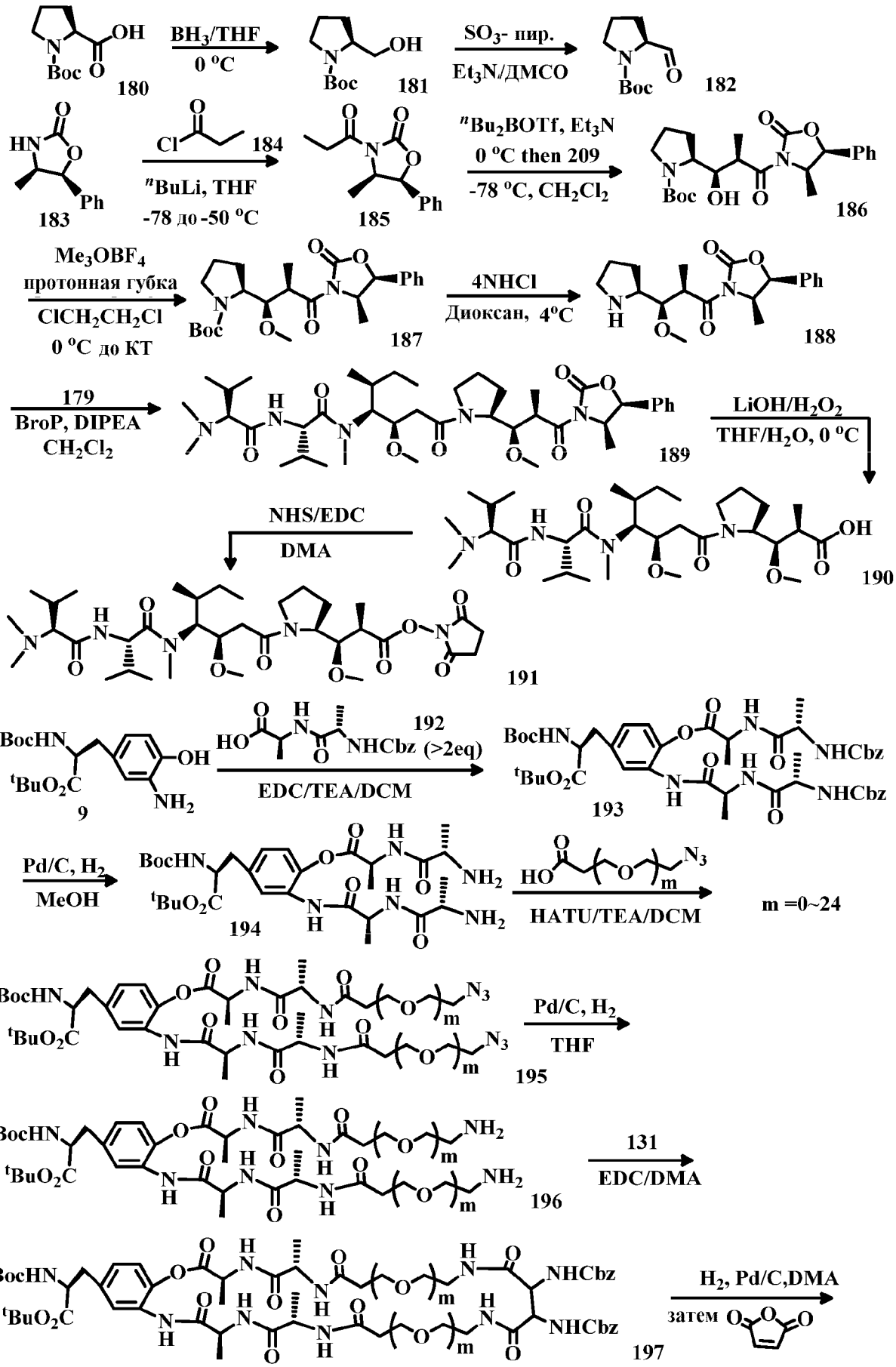
ФИГ. 9


153a, m=0;
153b, m=3;
153c, m=4;
153d, m=6;
153e, m=8;
153f, m=12.
H2/Pd/C
THF
154a, m=0
154b, m=3
154c, m=4
154d, m=6
154e, m=8
154f, m=12
THF
155a, m=0
155b, m=3
155c, m=4
155d, m=6
155e, m=8
155f, m=12
TFA
DCM
156a, m=0
156b, m=3
156c, m=4
156d, m=6
156e, m=8
156f, m=12
52a
pH 7.5/DMA
157a, m=0
157b, m=3
157c, m=4
157d, m=6
157e, m=8
157f, m=12
TCEP/mAb
pH 7.5/DMA
158a, m=0; 158b, m=3; 158c, m=4;
158d, m=6; 158e, m=8; 158f, m=12.
159
52a
pH 7.5/DMA
160
H2/Pd/C/DMA
затем, 131/EDC

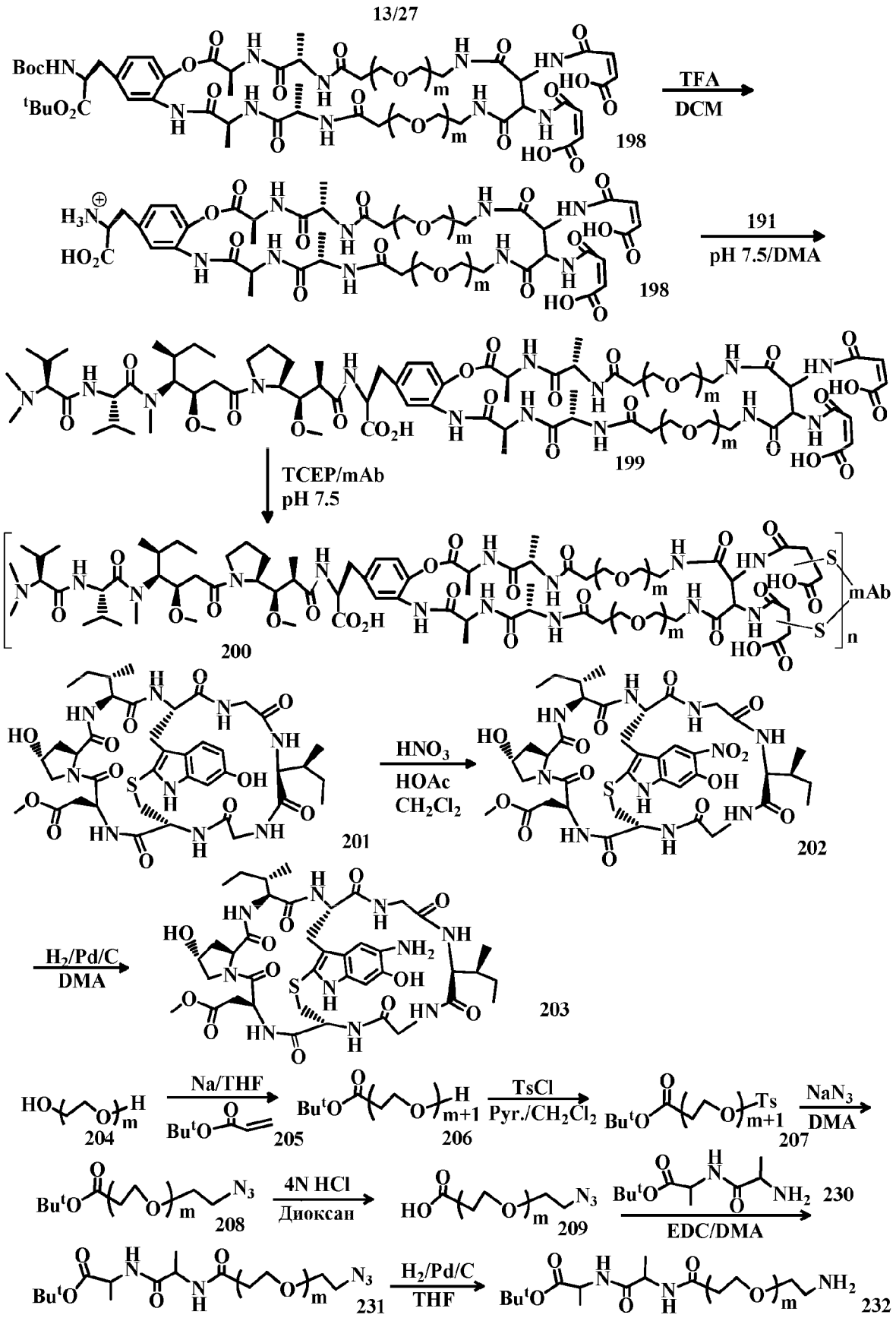
ФИГ. 10


H2/Pd/C
THF
161
162
163
TCEP/mAb
pH 7.5/DMA
164
mAb
n
MeI, NaH
THF
TFA
CH2Cl2
H2/Pd/C
HCHO/MeOH
165
166
167
168
EDC/DCM
169
170
0.2 N NaOH
THF/H2O, 0,5 ч
171
CDI, THF
затем 0 °C до КТ
172
173
NaBH4
EtOH
-55 °C
174
175
MeI, NaH
THF, 0 °C
176
4NHCl
Диоксан, 4°C
177
BroP, DIPEA
CH2Cl2
178
0.2 N NaOH
THF/H2O, 0,5 ч
179

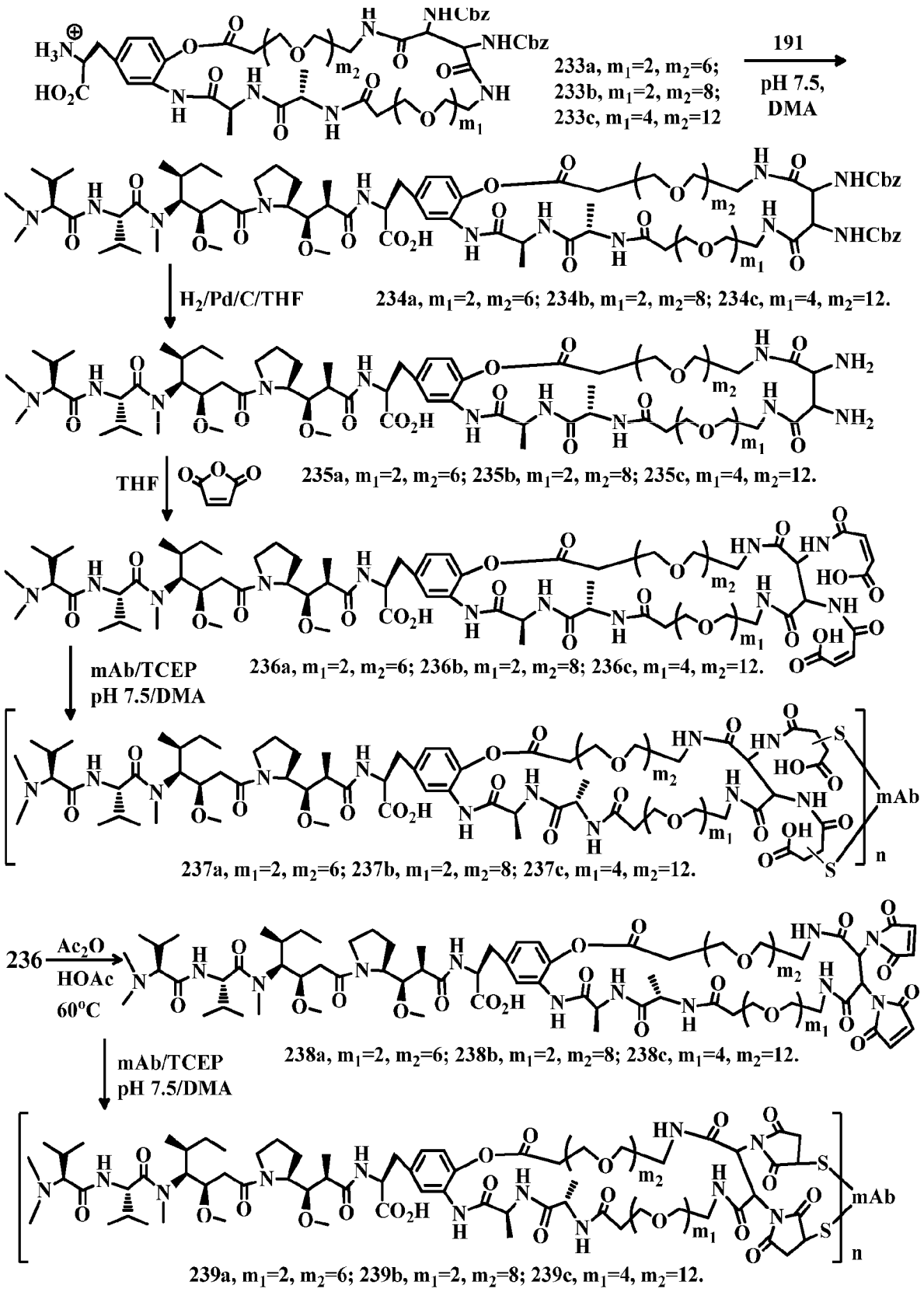
ФИГ. 11


BH3/THF
0 °C
SO3- пир.
Et3N/ДМСО
180
181
182
184
nBuLi, THF
-78 до -50 °C
183
185
nBu2BOTf, Et3N
0 °C then 209
-78 °C, CH2Cl2
186
Me3OBF4
протонная губка
ClCH2CH2Cl
0 °C до КТ
187
4NHCl
Диоксан, 4°C
188
179
BroP, DIPEA
CH2Cl2
189
LiOH/H2O2
THF/H2O, 0 °C
190
NHS/EDC
DMA
191
192
EDC/TEA/DCM
9
193
Pd/C, H2
MeOH
194
HATU/TEA/DCM
m =0~24
Pd/C, H2
THF
195
131
EDC/DMA
196
H2, Pd/C,DMA
затем
197

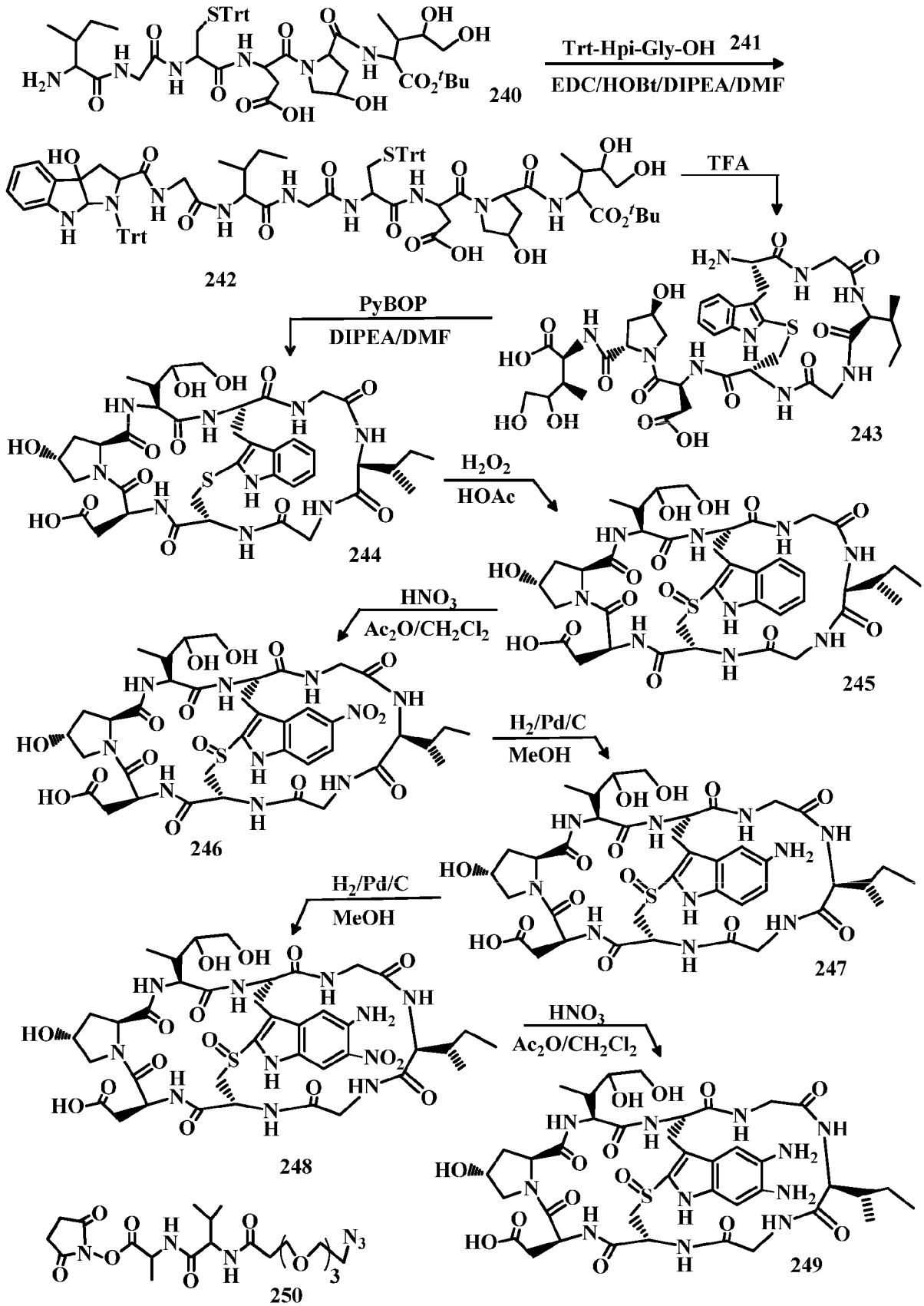
ФИГ. 12


BocHN
tBuO2C
198
TFA
DCM
H3N
HO2C
198
191
pH 7.5/DMA
CO2H
199
TCEP/mAb
pH 7.5
mAb
n
200
HNO3
HOAc
CH2Cl2
201
202
H2/Pd/C
DMA
203
Na/THF
204
205
TsCl
Pyr./CH2Cl2
206
NaN3
DMA
207
4N HCl
Диоксан
208
209
EDC/DMA
230
H2/Pd/C
THF
231
232

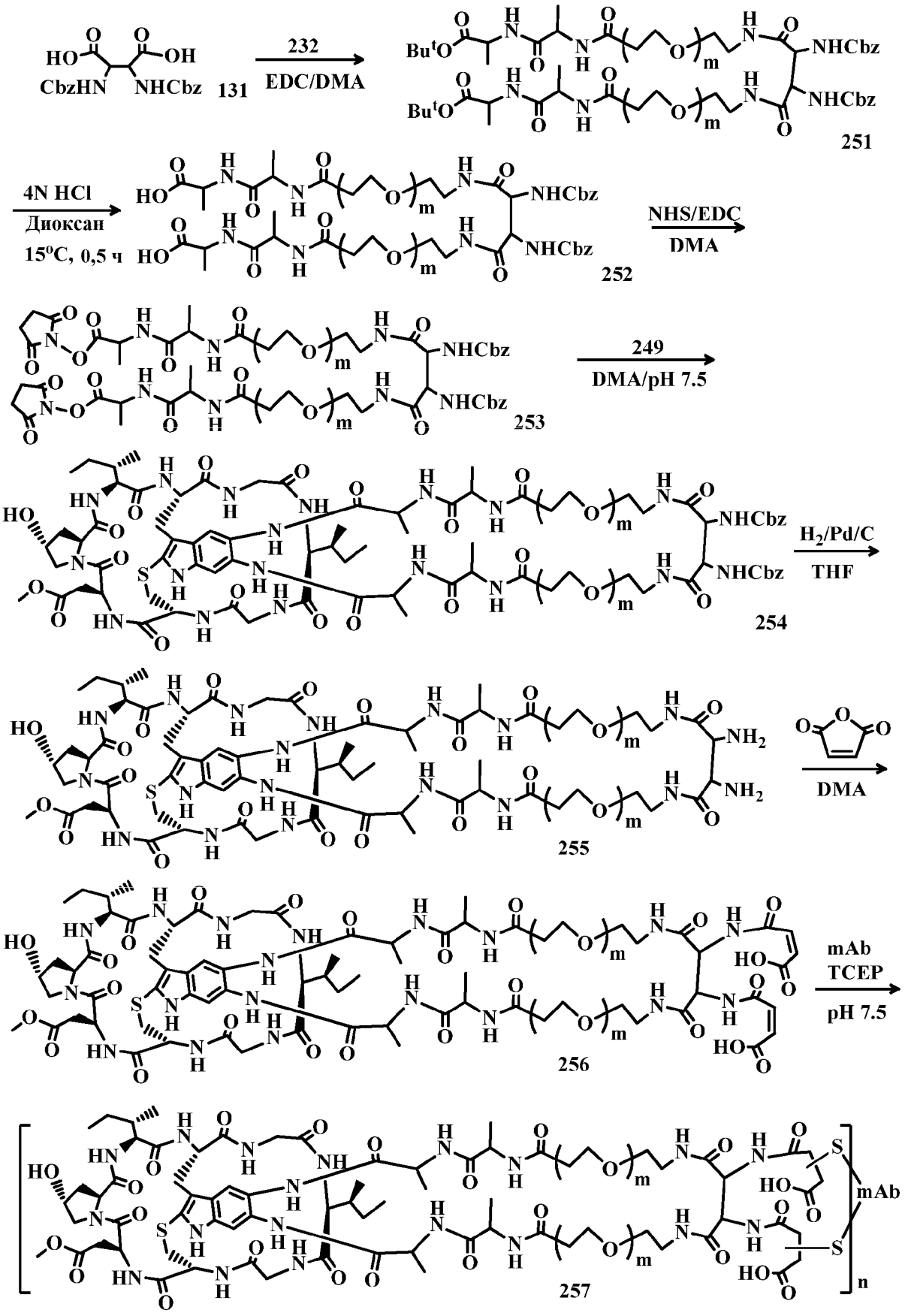
ФИГ. 13


233a, m1=2, m2=6;
233b, m1=2, m2=8;
233c, m1=4, m2=12
191
pH 7.5,
DMA
H2/Pd/C/THF
234a, m1=2, m2=6; 234b, m1=2, m2=8; 234c, m1=4, m2=12.
THF
235a, m1=2, m2=6; 235b, m1=2, m2=8; 235c, m1=4, m2=12.
236a, m1=2, m2=6; 236b, m1=2, m2=8; 236c, m1=4, m2=12.
mAb/TCEP
pH 7.5/DMA
237a, m1=2, m2=6; 237b, m1=2, m2=8; 237c, m1=4, m2=12.
236
Ac2O
HOAc
60°C
238a, m1=2, m2=6; 238b, m1=2, m2=8; 238c, m1=4, m2=12.
mAb/TCEP
pH 7.5/DMA
239a, m1=2, m2=6; 239b, m1=2, m2=8; 239c, m1=4, m2=12.

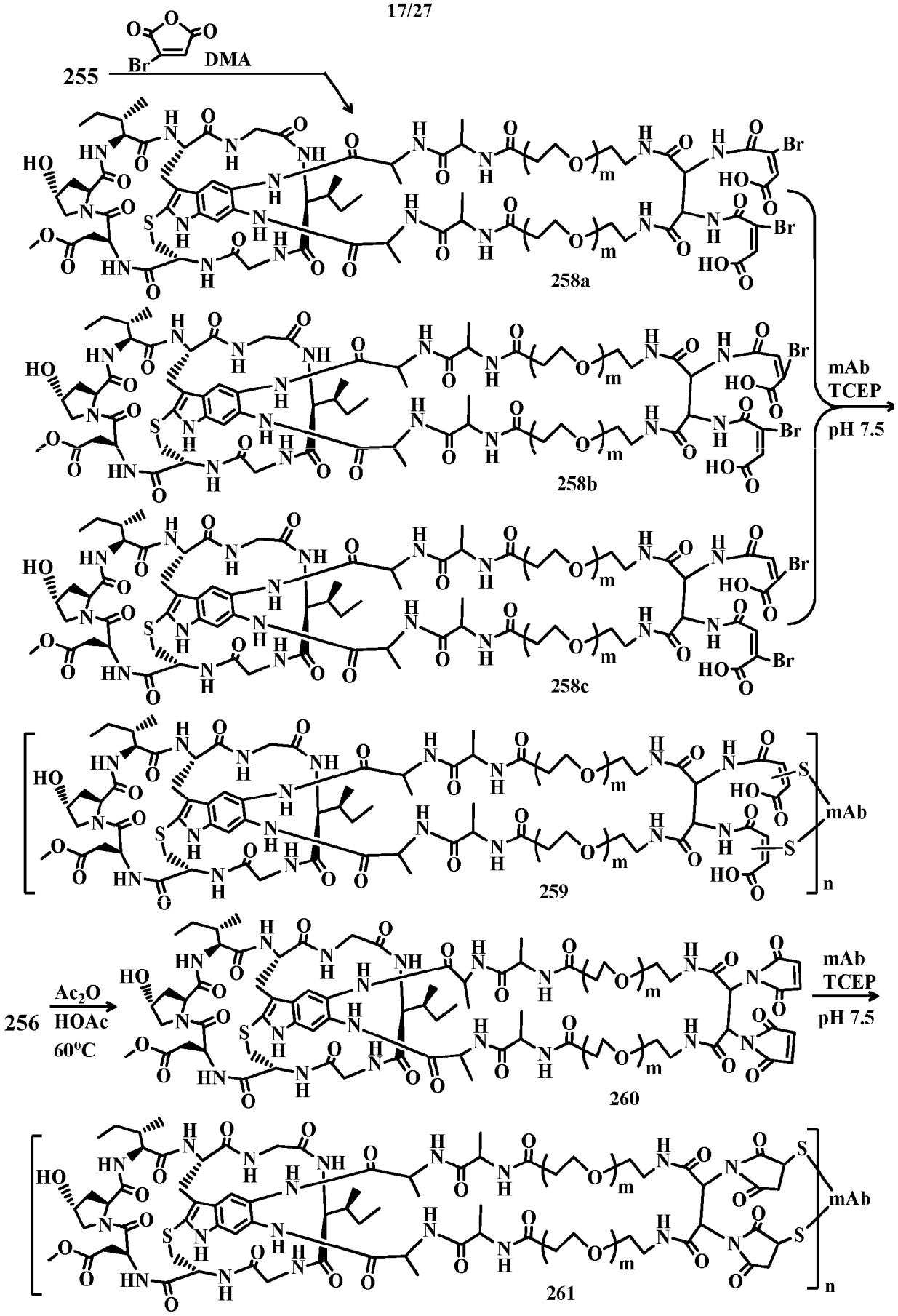
ФИГ. 14


Trt-Hpi-Gly-OH 241
EDC/HOBt/DIPEA/DMF
240
TFA
242
PyBOP
DIPEA/DMF
243
H_2O_2
HOAc
244
245
HNO_3
Ac_2O/CH_2Cl_2
246
$H_2/Pd/C$
MeOH
247
$H_2/Pd/C$
MeOH
HNO_3
Ac_2O/CH_2Cl_2
248
249
250

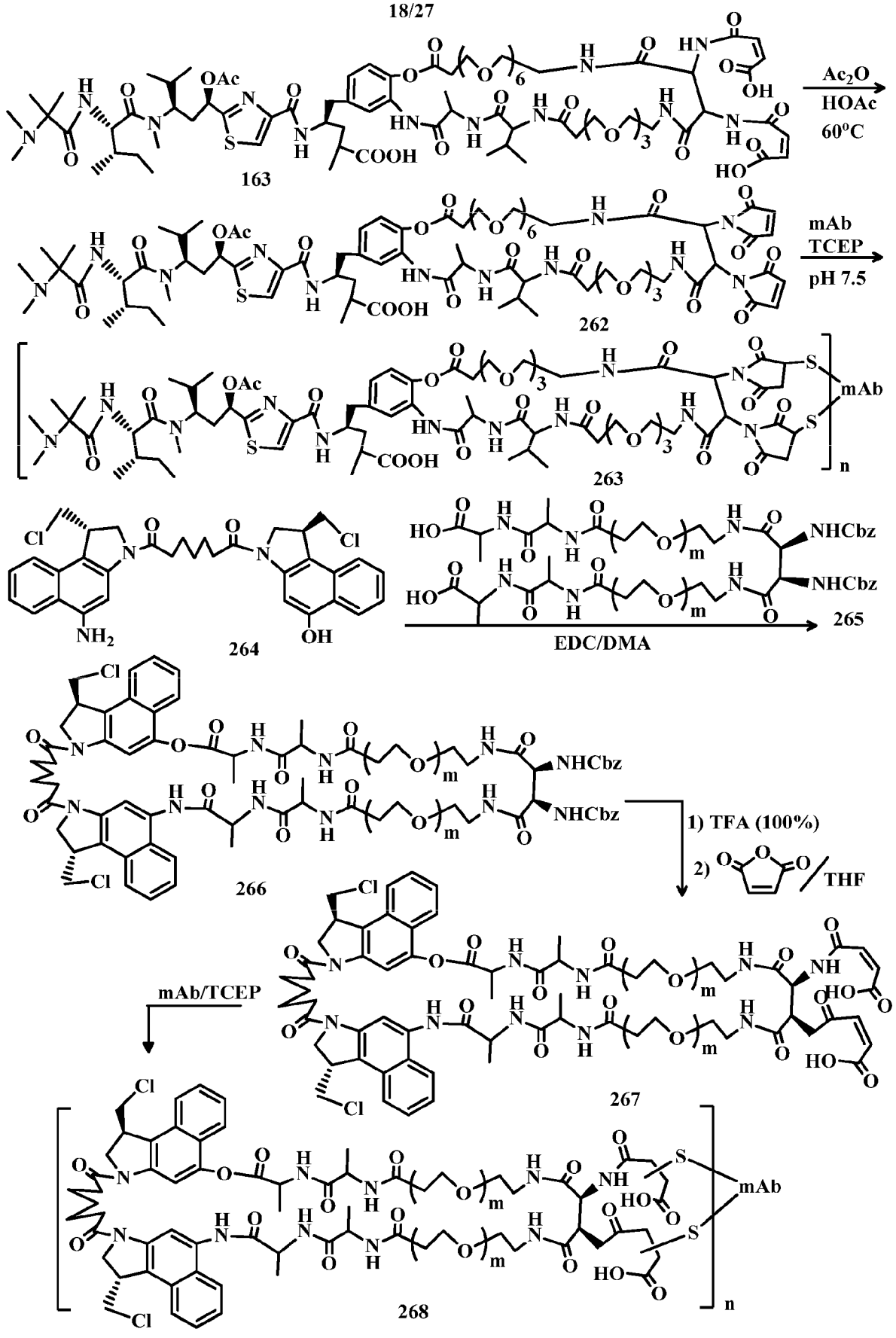
ФИГ. 15


131
232
EDC/DMA
251
4N HCl
Диоксан
15°C, 0,5 ч
252
NHS/EDC
DMA
253
249
DMA/pH 7.5
254
H2/Pd/C
THF
255
DMA
256
mAb
TCEP
pH 7.5
257

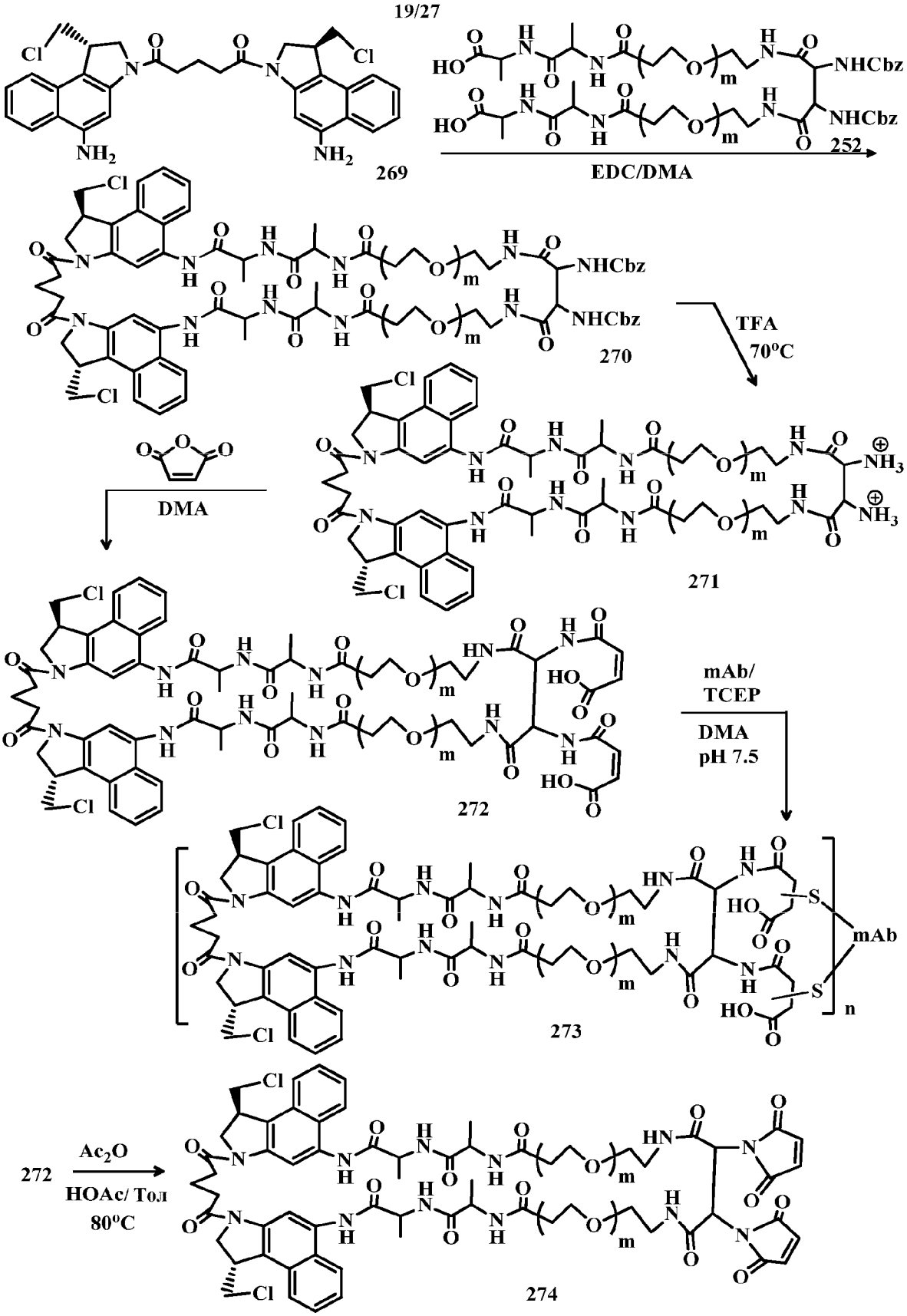
ФИГ. 16


255
DMA
Br
258a
258b
258c
mAb
TCEP
pH 7.5
259
256
Ac2O
HOAc
60°C
260
261
n

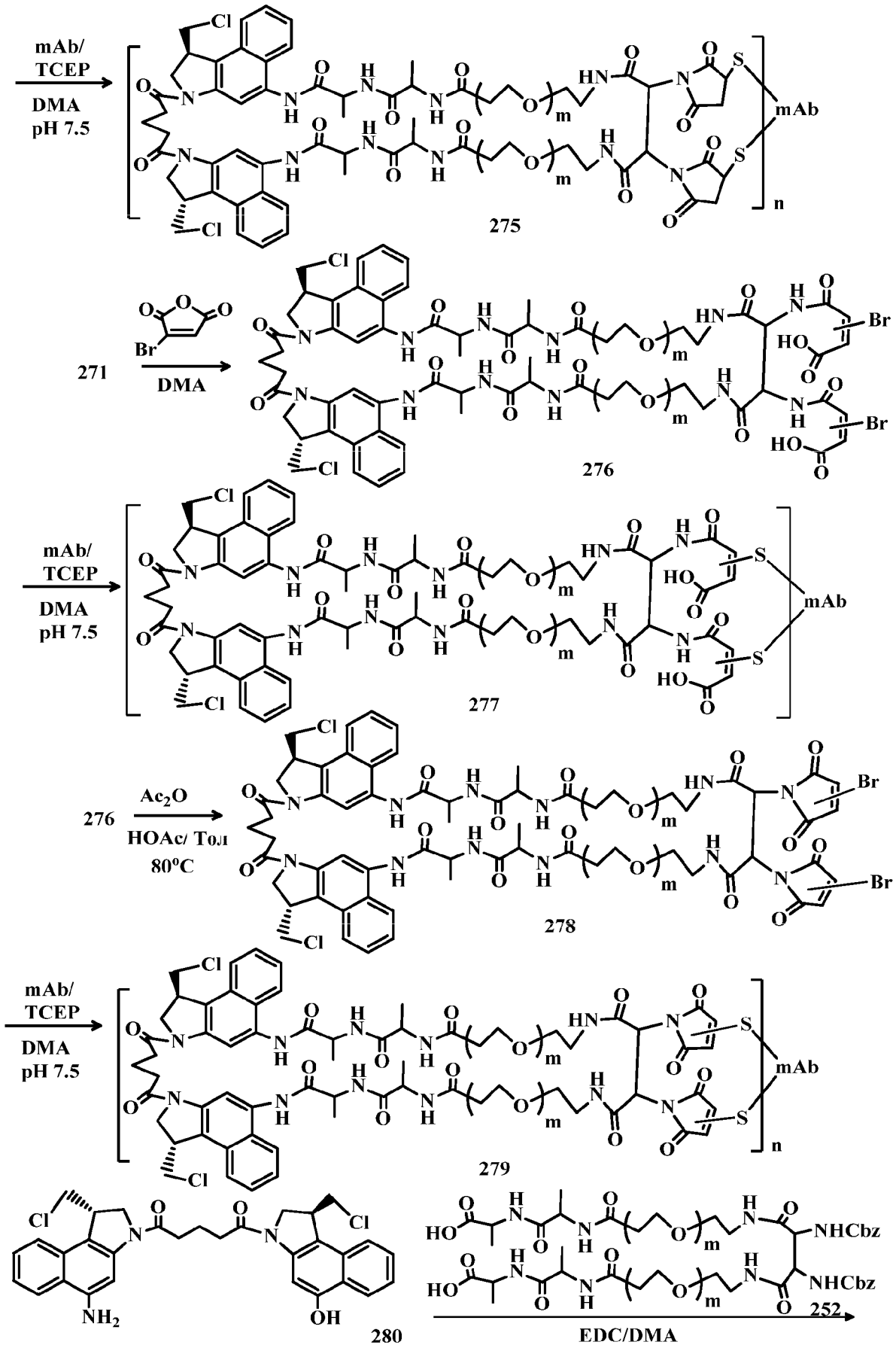
ФИГ. 17


163
Ac2O
HOAc
60°C
262
mAb
TCEP
pH 7.5
263
264
265
EDC/DMA
266
1) TFA (100%)
2)
THF
mAb/TCEP
267
268

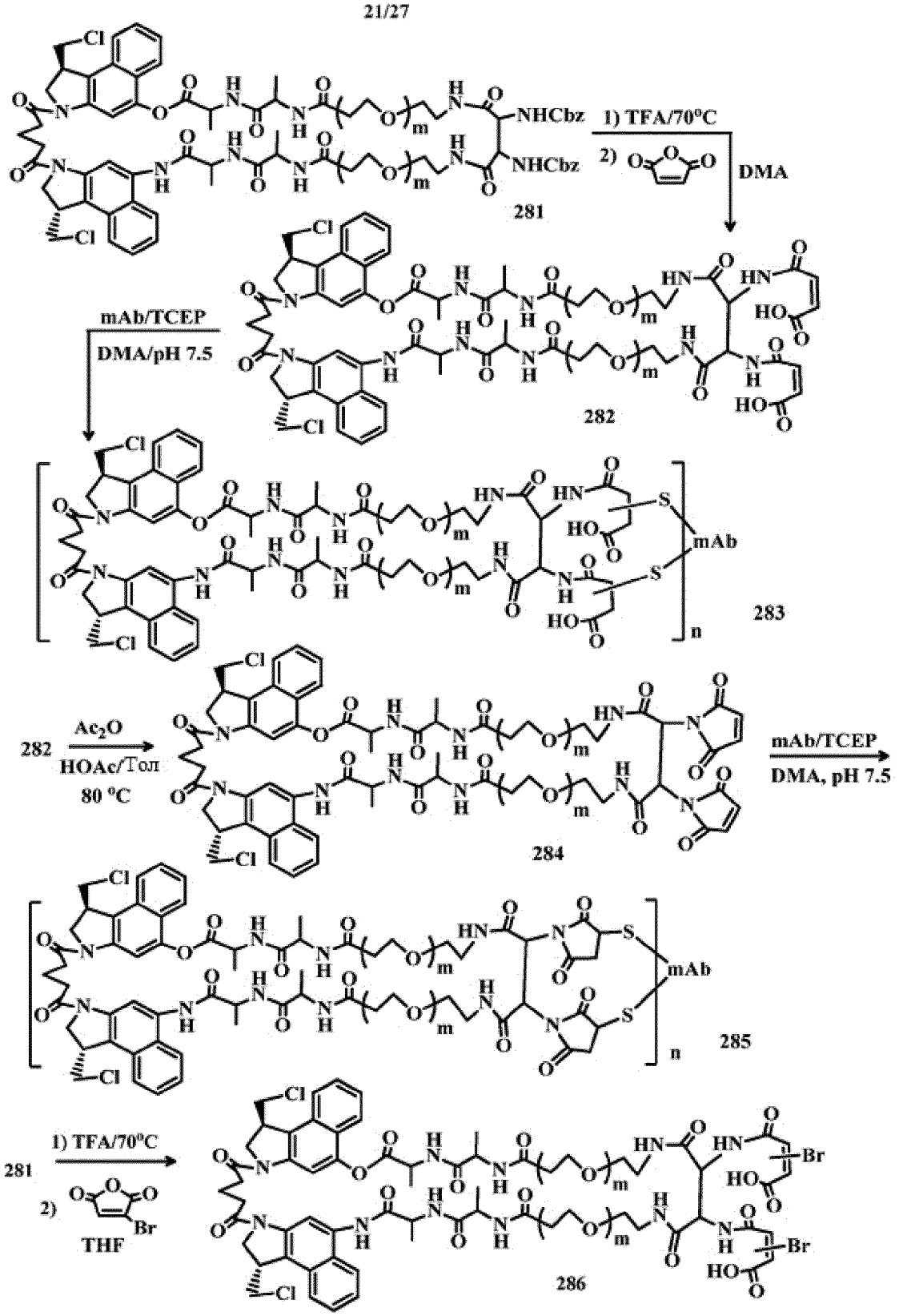
ФИГ. 18


269
252
EDC/DMA
270
TFA
70°C
DMA
271
272
mAb/
TCEP
DMA
pH 7.5
273
mAb
Ac2O
HOAc/ Тол
80°C
274

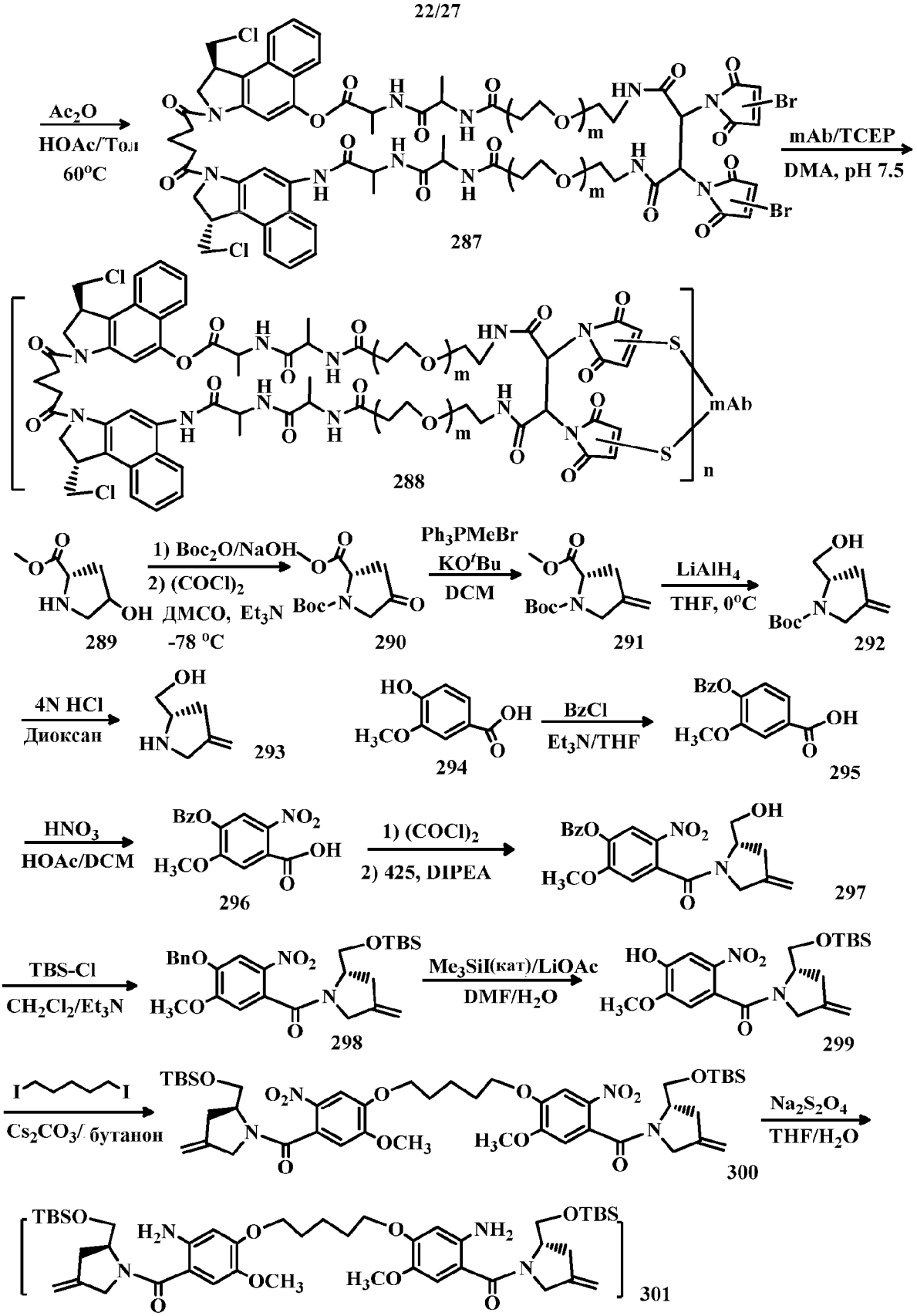
ФИГ. 19


mAb/
TCEP
DMA
pH 7.5
275
271
DMA
276
mAb/
TCEP
DMA
pH 7.5
277
276
Ac2O
HOAc/ Тол
80°C
278
mAb/
TCEP
DMA
pH 7.5
279
280
EDC/DMA
252

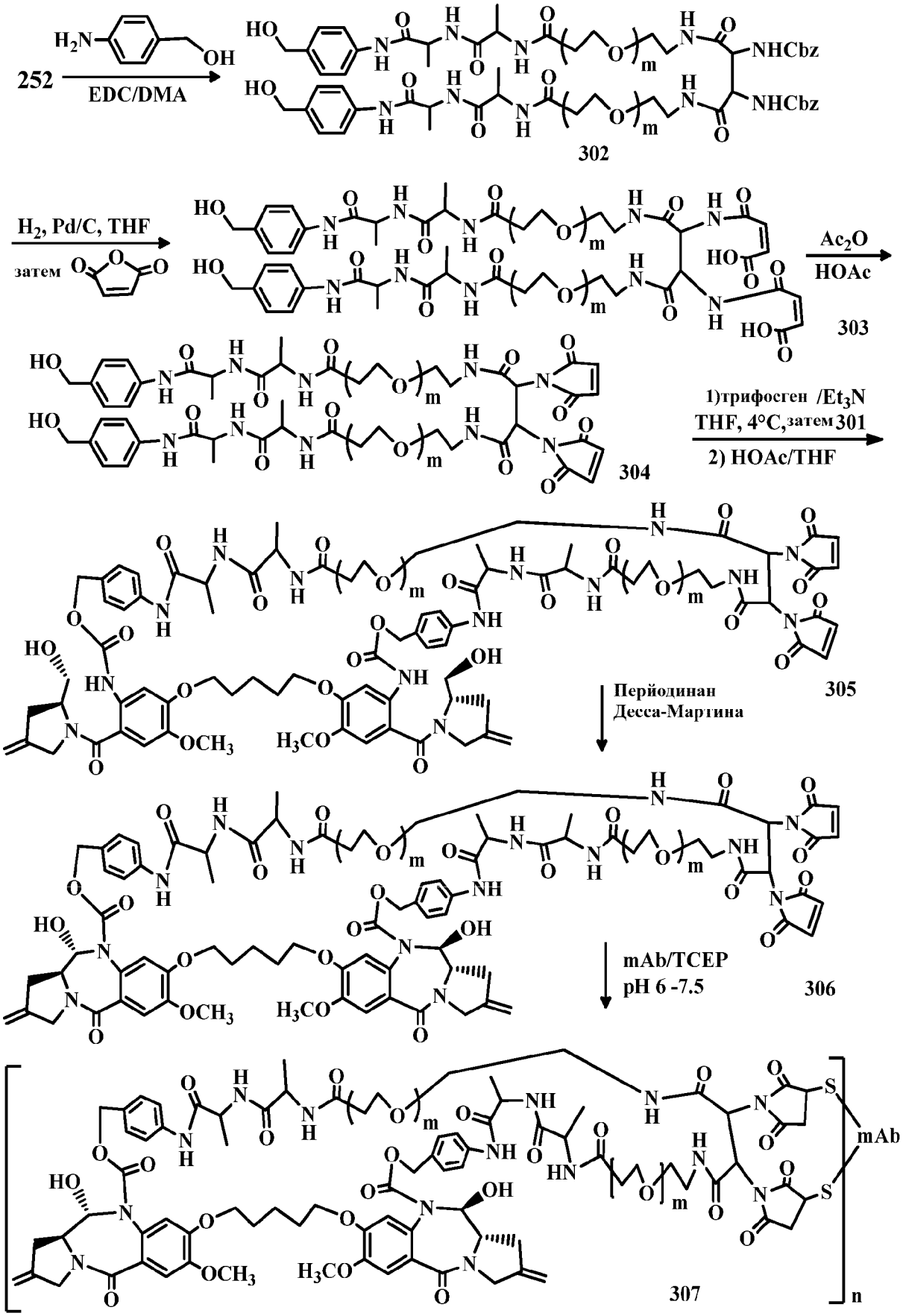
ФИГ. 20


1) TFA/70°C
2)
DMA
281
282
mAb/TCEP
DMA/pH 7.5
283
Ac2O
HOAc/Тол
80 °C
284
mAb/TCEP
DMA, pH 7.5
285
1) TFA/70°C
2)
THF
286

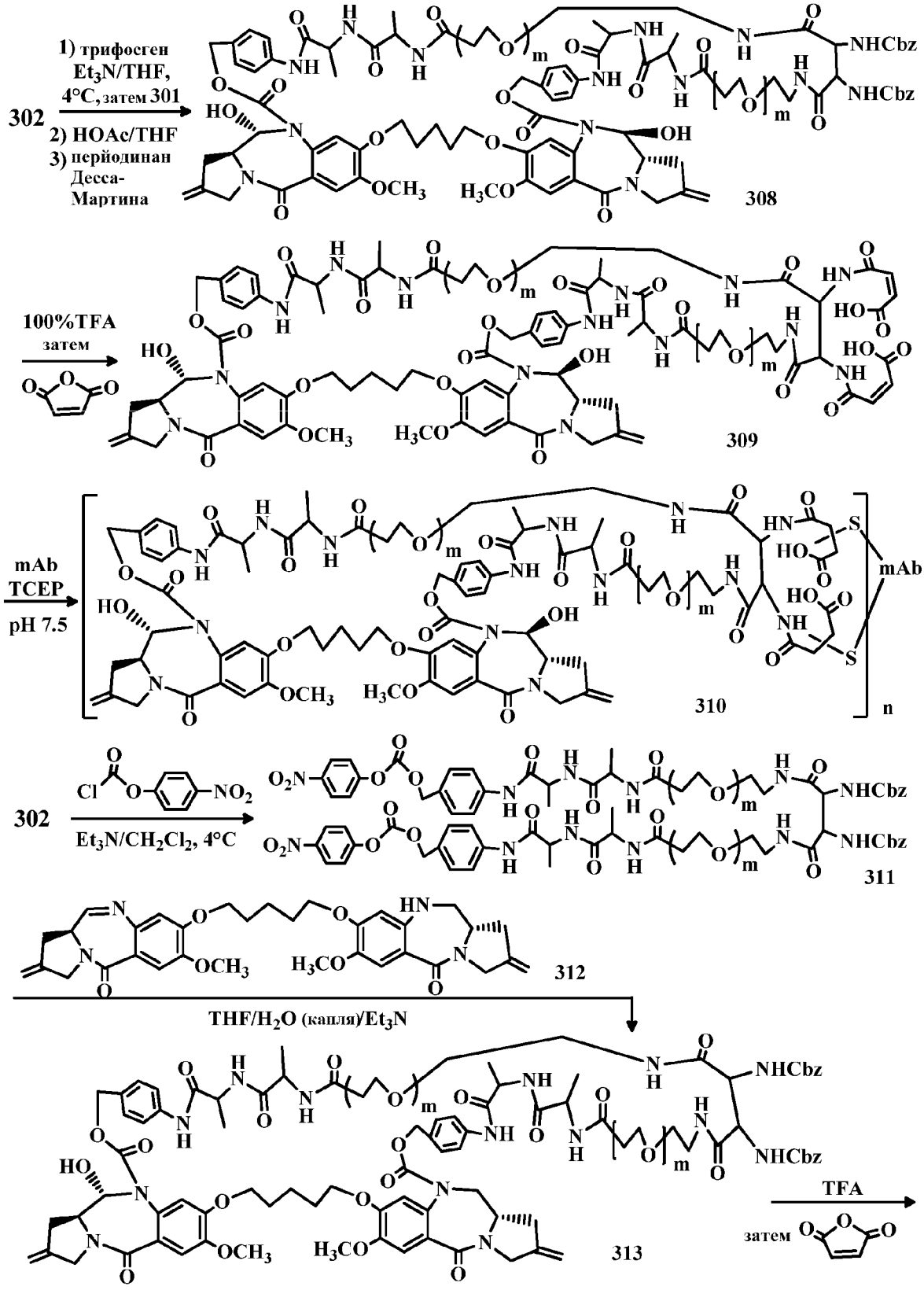
ФИГ. 21


Ac2O
HOAc/Tол
60°C
287
mAb/TCEP
DMA, pH 7.5
288
mAb
1) Boc2O/NaOH
2) (COCl)2
ДМСО, Et3N
-78 °C
289
290
Ph3PMeBr
KO'Bu
DCM
291
LiAlH4
THF, 0°C
292
4N HCl
Диоксан
293
294
BzCl
Et3N/THF
295
HNO3
HOAc/DCM
296
1) (COCl)2
2) 425, DIPEA
297
TBS-Cl
CH2Cl2/Et3N
298
Me3SiI(кат)/LiOAc
DMF/H2O
299
Cs2CO3/ бутанон
300
Na2S2O4
THF/H2O
301

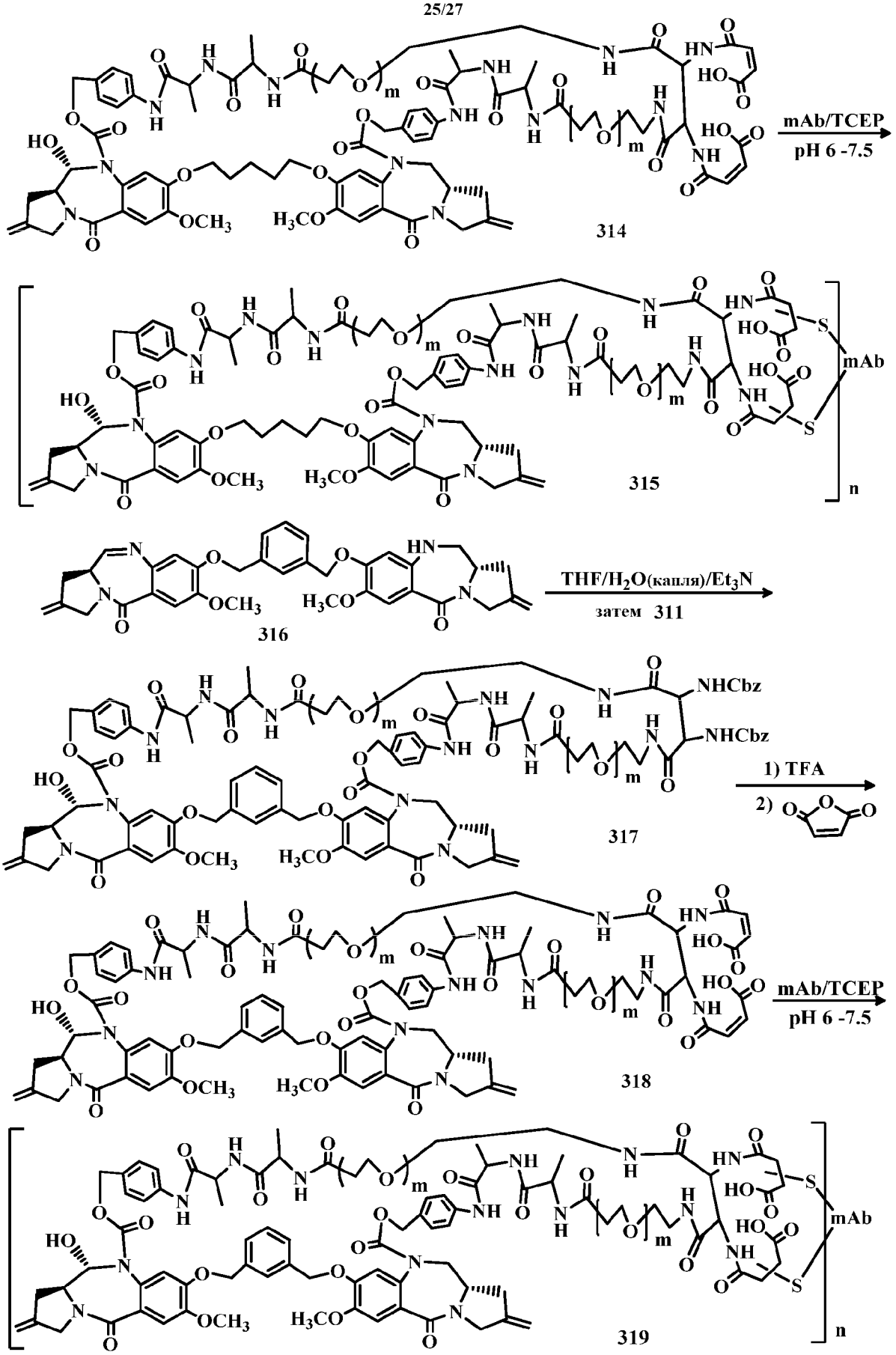
ФИГ. 22


252
EDC/DMA
302
H2, Pd/C, THF
затем
Ac2O
HOAc
303
304
1)трифосген /Et3N
THF, 4°C,затем
2) HOAc/THF
301
305
Перйодинан
Десса-Мартина
306
mAb/TCEP
pH 6 -7.5
307
mAb

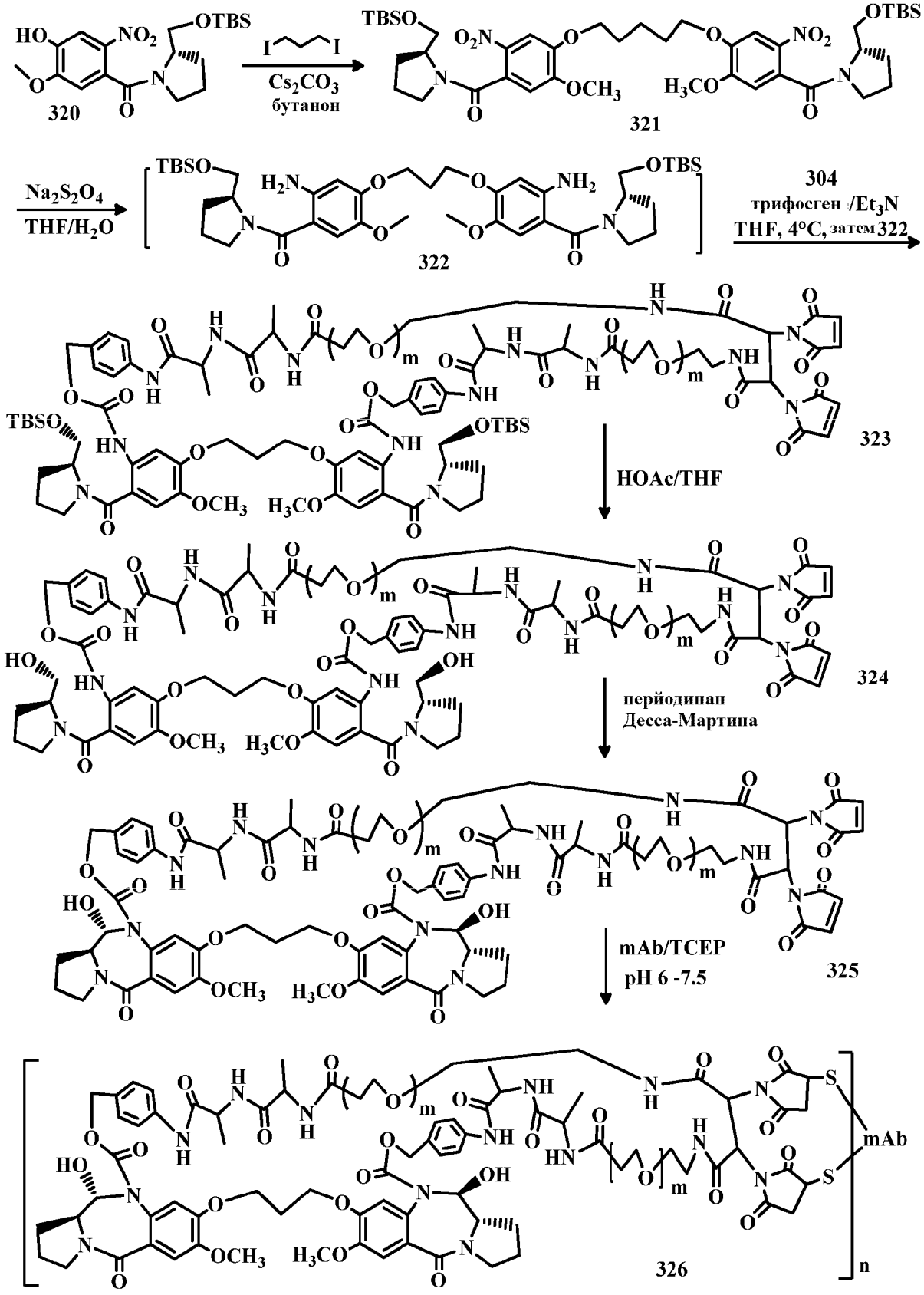
ФИГ. 23


1) трифосген
Et3N/THF,
4°C, затем 301
302
2) HOAc/THF
3) перйодинан
Десса-
Мартина
308
100%TFA
затем
309
mAb
TCEP
pH 7.5
310
n
302
Et3N/CH2Cl2, 4°C
311
312
THF/H2O (капля)/Et3N
313
TFA
затем

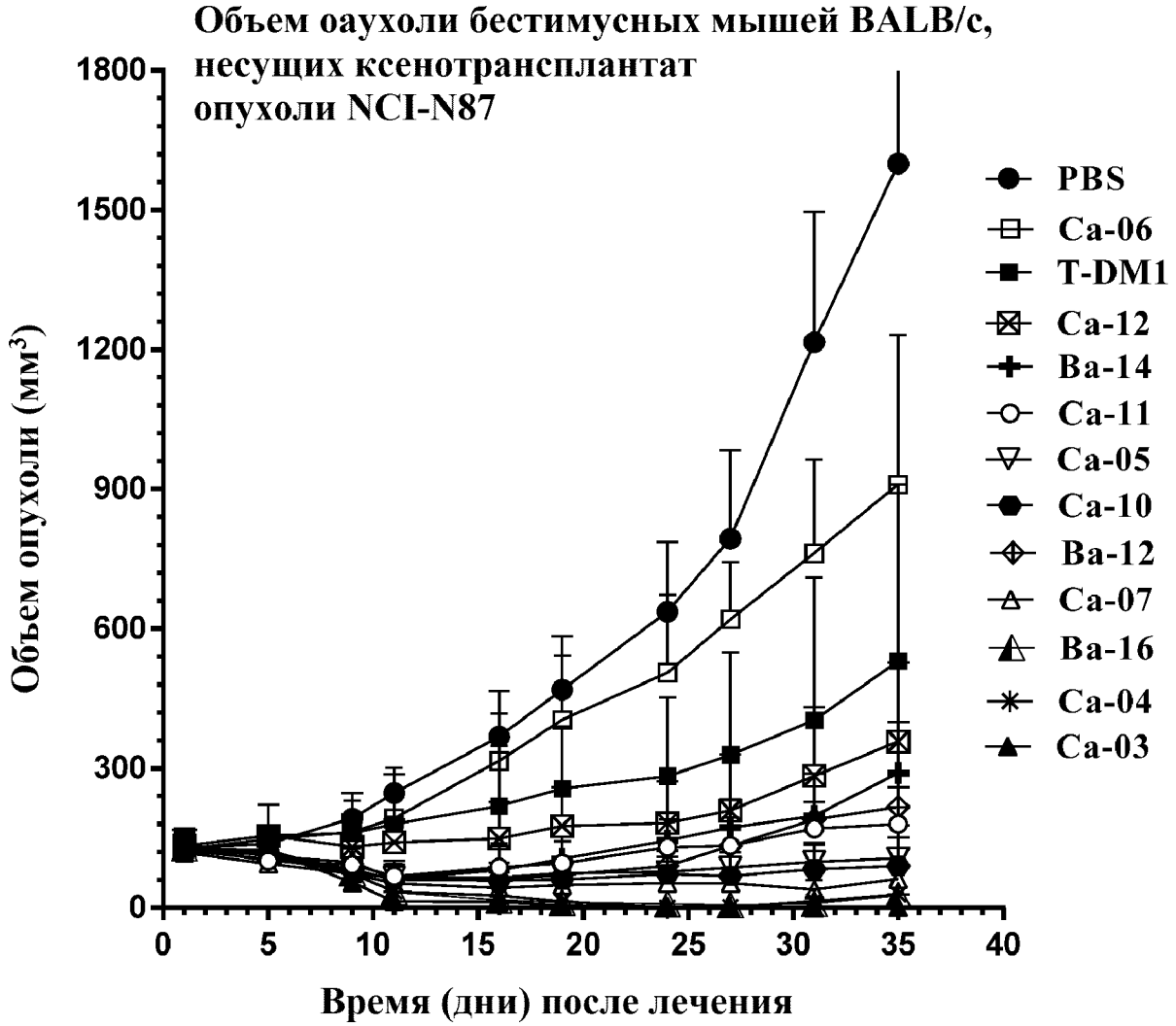
ФИГ. 24


mAb/TCEP
pH 6 -7.5
314
mAb
n
315
THF/H2O(капля)/Et3N
затем 311
316
NHCbz
NHCbz
1) TFA
2)
317
mAb/TCEP
pH 6 -7.5
318
mAb
n
319

ФИГ. 25


320
321
322
304
трифосген /Et3N
THF, 4°C, затем 322
323
HOAc/THF
324
перйодинан
Десса-Мартина
325
mAb/TCEP
pH 6 -7.5
326

ФИГ. 26


Объем оаухоли бестимусных мышей BALB/c, несущих ксенотрансплантат опухоли NCI-N87
Объем опухоли (мм3)
1800
1500
1200
900
600
300
0
0
5
10
15
20
25
30
35
40
Время (дни) после лечения
PBS
Ca-06
T-DM1
Ca-12
Ba-14
Ca-11
Ca-05
Ca-10
Ba-12
Ca-07
Ba-16
Ca-04
Ca-03

ФИГ. 27