(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202290091 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.03.24

(22) Дата подачи заявки
2019.06.24

(51) Int. Cl. ***A61K 47/00*** (2006.01)
A61K 47/50 (2017.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/02 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)

(54) КОНЪЮГАТ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО АГЕНТА С КЛЕТОЧНО-СВЯЗЫВАЮЩЕЙ МОЛЕКУЛОЙ С РАЗВЕТВЛЕННЫМИ ЛИНКЕРАМИ

(86) **PCT/CN2019/092614**
(87) **WO 2020/257998 2020.12.30**

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

(72) Изобретатель:
Чжао Роберт Юнсинь (US), Ян Цинлян, Чжао Линьяо, Хуан Юаньюань, Е Ханбо, Гай Шунь, Цзя Цзюньсян, Бай Лу, Ли Вэньцзюнь, Го Чжисян, Линь Чэнь, Чжэн Цзюнь, Го Хуэйхуэй, Цао Миньцзюнь, Кун Сянфэй, Ду Юн, Сюй Ифан, Чжоу Сяомай, Се Хуншэн, Чжан Сючжэнь, Чэнь Мяомяо, Лю Сяолэй, Цай Сян, Чэнь Биньбинь, Ян Яньлэй, Чжан Линли (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) В данном изобретении предлагается конъюгирование цитотоксического лекарственного средства с клеточно-связывающей молекулой, с линкером боковой цепи. В данном документе предлагаются способы связывания боковых цепей для создания конъюгата цитотоксической молекулы с клеточно-связывающим лигандом, а также способы применения конъюгата для направленного лечения онкологического, инфекционного и аутоиммунного заболевания.

202290091 A1

202290091 A1

КОНЪЮГАТ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО АГЕНТА С КЛЕТОЧНО-СВЯЗЫВАЮЩЕЙ МОЛЕКУЛОЙ С РАЗВЕТВЛЕННЫМИ ЛИНКЕРАМИ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение относится к конъюгированию цитотоксического агента с клеточно-связывающей молекулой с разветвленными линкерами для обеспечения лучшей фармакокинетики при доставке соединения конъюгата, что приводит к более точному целевому лечению аномальных клеток. Настоящее изобретение также относится к способу конъюгирования с разветвленными линкерами цитотоксичего агента и клеточно-связывающегося лиганда с помощью разветвленных связей, и к способам применения конъюгата в направленной профилактике или лечении онкологического, инфекционного и аутоиммунного заболевания.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Конъюгат антитело-лекарственное средство (КАЛС), который состоит из моноклонального антитела (mAb), связанного с цитотоксическим лекарственным средством через специализированную связывающую молекулу, становится одним из основных биотерапевтических средств для лечения онкологических заболеваний, инфекции, аутоиммунного расстройства и других заболеваний, устойчивых к лекарственным средствам (Lambert, J. M. and Berkenblit, A., Annu Rev Med. 2018, 69:191-207; Mariathasan, S. and Tan, M., Trends Mol Med. 2017, 23(2):135-149; Kern, J. C. et al. J. Am. Chem.Soc. 2016, 138, 1430–1445; Lee, H. et al, Bioconjug Chem. 2017, 28(4): 1084-1092). Поскольку антитело, содержащее структуру в 100 раз больше по размеру, обычно имеет гораздо более длительный период полужизни в кровообращении, чем цитотоксическое лекарственное средство. Таким образом, вероятность системного воздействия и токсичности обычного цитотоксического лекарственного средства, связанного с антителом, значительно снижается. Более того, КАЛС может более точно выполнять функцию доставки и высвобождения цитотоксических агентов в месте опухоли или внутри опухолевых клеток-мишеней. Следовательно, терапевтическое окно, которое представляет собой селективность по отношению к опухоли по сравнению с нормальной тканью и специфичность для цитотоксического лекарственного средства, значительно улучшаются. В настоящее время существует пять КАЛС, одобренных FDA США: гемтузумаб озогамицин, брентуксимаб ведотин, трастузумаб эмтанзин, инотузумаб озогамицин и моксетумомаб пасудотокс, и более 100 новых многообещающих агентов находятся в стадии разработки.

В области КАЛС комплексов цитотоксического лекарственного средства, высвобождаемого линкера, антитела, и технологии, конъюгирования компонентов к сайтам антитела, было известно, что линкер существенно влияет на активность, селективность и фармакокинетику полученного конъюгата КАЛС, и он может преодолевать множественные устойчивые к лекарственному средству аномальные клетки, которые сверхэкспрессируют белки-переносчики эффлюксеры (Zhao, RY et al (2011) J. Med. Chem. 54, 3606; Acchionea, M. et al (2012) mAbs, 4, 362; Doronina, S. et al, (2006) Bioconjug Chem, 17, 114; Hamann, P. et al. (2005) Bioconjug Chem. 16, 346). Таким образом, оптимизирование линкера имеет решающее значение для улучшения спектра терапевтического потенциала и профилей безопасности КАЛС.

Поскольку линкер для КАЛС должен быть разлагаемым, конъюгированные цитотоксические лекарственные средства могут потенциально высвобождаться в кровоток и, следовательно, увеличивать системную токсичность и снижать эффективность . Этот тип нецелевой токсичности, а также плохая проницаемость/интернализация, проблемы с метаболизмом и целевая специфичность в отношении опухолевых клеток привели к тому, что более 40 КАЛС лекарственных средств потерпели неудачу в клинических испытаниях за последние 4 десятилетия. Нецелевая токсичность также препятствует широкому применению одобренных КАЛС лекарственных средств. Например, в клинической практике адотрастузумаб эмтанзин (T-DM1, Kadcyla®), в котором используется стабильный (нерасщепляемый) линкер MCC, показал большую пользу при применении у пациентов с HER2-положительным метастатическим онкологическим заболеванием молочной железы (mBC) или у пациентов, которые уже лечились от mBC, или у которых развился рецидив опухоли HER2 в течение шести месяцев после адъювантной терапии (Peddi, P. and Hurvitz, S., Ther. Adv. Med. Oncol. 2014, 6(5), 202 –209; 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 T-DM1 потерпел неудачу в клинических испытаниях в качестве терапии первой линии для пациентов с HER2-положительным неоперабельным местно-распространенным или метастатическим онкологическим заболеванием молочной железы, и терапии второй линии HER2-положительного распространенного рака желудка из-за небольшой пользы для пациентов при сравнении нецелевой токсичности и эффективности (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 КАЛС 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 КАЛС 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 лекарственных средств и академические институты уделяют большое внимание созданию новых надежных специфических линкеров для конъюгирования и сайтспецифических методов конъюгирования для получения КАЛС, которые, по-видимому, имеют более длительный период полужизни в кровотоке, более высокую эффективность, потенциально сниженную нецелевую токсичность и узкий диапазон in vivo фармакокинетических (ФК) свойств КАЛС, и лучшую однородность характеристик от серии к серии при производстве КАЛС (Hamblett, KJ et al., Clin. Cancer Res. 2004, 10, 7063−70; □d□m, Y. □. □t □l, □i□□njug□t□ Chem. 2014, 25, 656−664; □□1□n, N. J. *Bioconjugate Chem.* 2013, *24*, 1008–1016; Strop, P., et al 2013 Chem. Biol. 20, 161−67; W□k□nk□r, □. m□bs, 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), селеноцистеинов (Hofer, T., et al. Biochemistry 2009, 48, 12047–57; Li, X., et al. Methods 2014, 65, 133–8; патенты США 8916159 Национального института рака США), цистеинсодержащих тэгов перфторароматическими реагентами (Zhang, C. et al. Nat. Chem. 2015, 8, 1–9), тиоглюкозы (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), конъюгирование с восстановленными межмолекулярными дисульфидами за счет повторного связывания с дибромомалемидами (Jones, M. W. et al. J. Am. Chem. Soc. 2012, 134, 1847–52), бисульфоновыми реагентами (Badescu, G. et al. Bioconjug. Chem. 2014, 25, 1124–36; WO2013/190272, WO2014/064424 для PolyTherics Ltd). дибромопиридазиндионами (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-

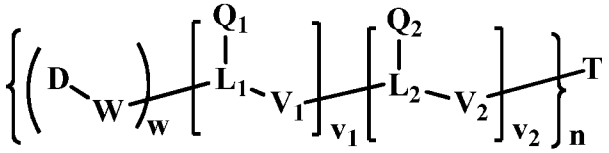
Genzyme), фермент, генерирующий формилглицин (FGE) (Drake, P. M. et al. Bioconj. Chem. 2014, 25, 1331–41; Carrico, I. S. et al патенты США 7985783; 8097701; 8349910 и патентные заявки США 20140141025, 20100210543 Redwood Bioscience), фосфопантетинилтрансферазы (PPTases) (Grünewald, J. et al. Bioconjug. Chem. 2015, 26, 2554–62), сортаза A (Beerli, R. R., et al. PLoS One 2015, 10, e0131177), генетическое введение глутаминового тэга 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/бактерию, образующую 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). КАЛС, полученные с использованием данных линкеров и способов, продемонстрировали лучшие окна терапевтического индекса, чем традиционно неселективно конъюгированные через остатки цистеина или лизина на антителе. В данном документе мы описываем изобретение конъюгатов цитотоксического лекарственного средства, содержащих длинный линкер боковой цепи. Длинный линкер боковой цепи может предотвратить гидролиз конъюгата антитело-лекарственное средство гидролазой, например, протеиназой или эстеразой, и сделать конъюгат более стабильным во время направленной доставки, а также свести к минимуму воздействия на нецелевые клетки, ткани или органы при циркуляции, что приводит к более длительному периоду полураспада в кровотоке, меньшей нецелевой токсичности, и более широким терапевтическим окнам конъюгата.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В настоящем изобретении предложена разветвленная связь аналога цитотоксического агента с антителом. В нем также предложен способ конъюгирования аналога цитотоксического агента и антитела с помощью линкера боковой цепи.

В одном аспекте настоящего изобретения конъюгат со связью на боковой цепи представлен формулой (I):



(I)

где

«—» представляет собой одинарную связь; n равно 1-30;

T представляет собой клеточно-связывающий агент/молекулу, выбранные из группы, состоящей из антитела, одноцепочечного антитела, фрагмента антитела, который связывается с клеткой-мишенью, моноклонального антитела, одноцепочечного моноклонального антитела, фрагмента моноклонального антитела, который связывается с клеткой-мишенью, химерного антитела, фрагмента химерного антитела, который связывается с клеткой-мишенью, доменного антитела, фрагмента доменного антитела, который связывается с клеткой-мишенью, аднектина, который имитирует антитело, белков DARPin, лимфокина, гормона, витамина, фактора роста, колониестимулирующего фактора или переносящей питательные вещества молекулы (трансферрина), связывающего пептида, белка, малой молекулы, прикрепленной к альбумину, полимеру, дендримеру, липосоме, наночастице, везикуле или (вирусному) капсиду;

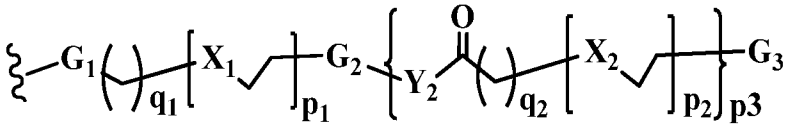
L_1 и L_2 представляют собой цепочку атомов, выбранных из C, N, O, S, Si и P, предпочтительно содержащую 0~500 атомов, которая ковалентно соединяется с W и V_1, а также с V_1 и V_2. Атомы, используемые при образовании L_1 и L_2, могут быть объединены всеми химически подходящими способами, такими как образование алкилена, алкенилена и алкинилена, простых эфиров, полиоксиалкиленов, сложных эфиров, аминов, иминов, полиаминов, гидразинов, гидразонов, амидов, мочевин, семикарбазидов, карбазидов, алкоксиаминов, алкоксиламинов, уретанов, аминокислот, пептидов, ацилоксиламинов, гидроксамовых кислот или их комбинацией. Предпочтительно L_1 и L_2, одинаковые или разные, независимо выбраны из O, NH, N, S, P, NNH, NHNH, $N(R_3)$, $N(R_3)N(R_{3'})$, CH, CO, C(O)NH, C(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)O, полиэтиленокси единицы формулы $(OCH_2CH_2)_pOR_3$, или $(OCH_2CH\text{-}(CH_3))_pOR_3$, или $NH(CH_2CH_2O)_pR_3$, или $NH(CH_2CH(CH_3)O)_pR_3$, или $N[(CH_2CH_2O)_pR_3]\text{-}[(CH_2CH_2O)_{p'}R_{3'}]$, или $(OCH_2CH_2)_pCOOR_3$,

или $CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_pCOOR_3$, где p и p' независимо представляют собой целые числа, выбранные от 0 до около 1000 или их комбинацию; 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; или $(Aa)_r$, r = 1-12 (от 1 до 12 аминокислотных звений), который состоит из природных или неприродных аминокислот, или одинаковых или различных последовательностей дипептидного, трипептидного, тетрапептидного, пентапептидного, гексапептидного, гептапептидного, октапептидного, нонапептидного, декапептидного, ундекапептидного или додекапептидного звена;

W представляет собой удлиняющее звено, обычно саморасщепляющийся спейсер, пептидное звено, гидразоновую, дисульфидную, тиоэфирную, сложноэфирную или амидную связь; w равен 1, или 2, или 3;

V_1 и V_2 независимо представляют собой спейсерное звено и выбраны из O, NH, S, C_1-C_8 алкила, C_2-C_8 гетероалкила, алкенила или алкинила, C_3-C_8 арила, гетероциклила, карбоциклила, циклоалкила, алкилциклоалкила, гетероциклоалкила, гетероаралкила, гетероалкилциклоалкила или алкилкарбонила, или $(Aa)_r$, r = 1-12 (от одной до 12 аминокислотных звений), который состоит из природных или неприродных аминокислот, или одинаковых или различных последовательностей дипептидного, трипептидного, тетрапептидного, пентапептидного, гексапептидного, гептапептидного, октапептидного, нонапептидного, декапептидного, ундекапептидного или додекапептидного звена; или $(CH_2CH_2O)_p$, p равно 0-1000; и v_1 и v_2 независимо равны 0, 1 или 2, но v_1 и v_2 не равны 0 одновременно; когда v_1 или v_2 равно 0, это означает, что один из фрагментов боковой цепи Q_1 или Q_2 отсутствует.

Q_1 и Q_2 независимо представлены Формулой (I-q1):

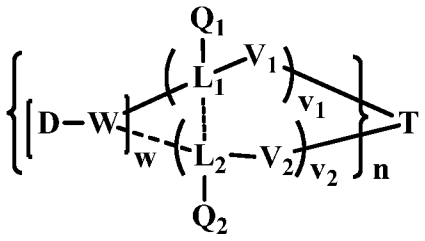


(I-q1);

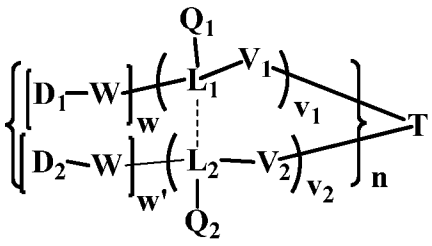
где ∿∿ представляет собой участок, связанный с L_1 или L_2; G_1 и G_2 независимо представляют собой OC(O), NHC(O), C(O), CH_2, NH, OC(O)NH, NHC(O)NH, O, S, B, P(O)(OH), NHP(O)(OH), NHP(O)(OH)NH, $CH_2P(O)(OH)NH$, OP(O)(OH)O, $CH_2P(O)(OH)O$, $NHS(O)_2$, $NHS(O)_2NH$, $CH_2S(O)_2NH$, $OS(O)_2O$, $CH_2S(O)_2O$, Ar, $ArCH_2$, ArO, ArNH, ArS, $ArNR_1$, $(Aa)_r$, (r =1-12); X_1 и X_2 независимо представляют собой O, CH_2, S, NH, $N(R_{12})$, $^+NH(R_{12})$, $^+N(R_{12})(R_{13})$, C(O), OC(O), OC(O)O, $NHSO_2NH$, $NHP(O)(NH)_2$, SO_2NH, $P(O)(NH)_2$, NHS(O)NH, NHP(O)(OH)(NH), OC(O)NH, NHC(O)NH; Y_2 представляет собой O. NH, NR_1,

CH_2. S. Ar; G_3 представляет собой OH, SH, OR_1, SR_1, $OC(O)R_1$, $NHC(O)R_{12}$, $C(O)R_{12}$, CH_3, NH_2, NR_{12}, $^+NH(R_{12})$, $^+N(R_{12})(R_{13})$, C(O)OH, $C(O)NH_2$, $NHC(O)NH_2$, BH_2, $BR_{12}R_{13}$, $P(O)(OH)_2$, $NHP(O)(OH)_2$, $NHP(O)(NH_2)_2$, $S(O)_2(OH)$, $(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $(CH_2)_{q1}P(O)(OH)_2$, $C(O)(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $OC(O)(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $NHC(O)(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $CO(CH_2)_{q1}P(O)(OH)_2$, $NHC(O)O(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $OC(O)NH(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $NHCO(CH_2)_{q1}P(O)(OH)_2$, $NHC(O)(NH)(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $CONH(CH_2)_{q1}P(O)(OH)_2$, $NHS(O)_2(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $CO(CH_2)_{q1}S(O)_2(OH)$, $NHS(O)_2NH(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $OS(O)_2NH(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $NHCO(CH_2)_{q1}S(O)_2(OH)$, $NHP(O)(OH)(NH)(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $CONH(CH_2)_{q1}S(O)(OH)$, $OP(O)(OH)_2$, $(CH_2)_{q1}P(O)(NH)_2$, $NHS(O)_2(OH)$, $NHS(O)_2NH_2$, $CH_2S(O)_2NH_2$, $OS(O)_2OH$, $OS(O)_2OR_1$, $CH_2S(O)_2OR_1$, Ar, ArR_{12}, ArOH, $ArNH_2$, ArSH, $ArNHR_{12}$ или $(Aa)_{q1}$; p_1, p_2 и p_3 независимо равны 0 -100, но не равны 0 одновременно; q_1 и q_2 независимо представляют собой 0 -24; предпочтительно Q_1 и Q_2 независимо представляют собой, линейные или разветвленные, C_2-C_{90} поликарбоксилацид или C_2-C_{90} полиалкиламин, C_6-C_{90} олигосахарид или полисахарид, C_6-C_{90} цвиттерионные бетаины или цвиттерионный поли(сульфобетаин)) (PSB), состоящий из катиона четвертичного аммония и сульфонат-аниона, биоразлагаемый полимер (например, состоящий из сополимера (молочной/гликолевой) кислоты (PLGA), поли(акрилатов), хитозана, сополимера N- (2-гидроксипропил) метакриламида, поли[2-(метакрилоилокси)этилфосфорилхолина] (PMPC), поли-L-глутаминовой кислоты, сополимера (лактида и гликолида) (PLG), сополимера (лактида и гликолида), поли(этиленгликоля) (ПЭГ), поли(пропиленгликоля) (PPG), сополимера (лактида и гликолида), модифицированных поли(этиленгликолем) пептидов, модифицированных поли(этиленгликолем) липидов, модифицированной поли(этиленгликолем) алкилкарбоновой кислоты, модифицированного поли(этиленгликолем) алкиламина, сополимера (лактида и гликолида), полисаркозина, гиалуроновой кислоты (ГК) (гликозаминогликана), гепарина/гепарансульфата (HSGAG), хондроитинсульфата/дерматансульфата (CSGAG), модифицированного поли(этиленгликолем) алкилсульфата, модифицированного поли(этиленгликолем) алкилфосфата или модифицированного поли(этиленгликолем) алкила четвертичного аммония;D представляет собой цитотоксический агент, который независимо выбран из калихеамицинов, камптотецинов, майтансиноидов, таксанов, даунорубицина/доксорубицина, алкалоидов барвинка, ауристатинов, эрибулинов, пирролобензодиазепинов (ПБД), дуокармицинов, ингибиторов киназы, ингибиторов МЕК, ингибиторов KSP, ингибиторов никотинамидфосфорыбозилтрансфразы (NAMPT), иммунотоксинов, их аналогов или пролекарств.

В другом аспекте настоящего изобретения конъюгат со связью на боковой цепи представлен Формулой (II) и (III):



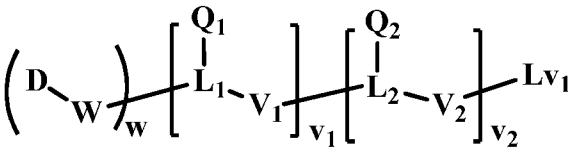
(II),



(III),

где D, W, L_1, L_2, Q_1, Q_2, V_1, V_2, v_1, v_2, n, T определены так же, как в Формуле (I); w и w' независимо равны 1, 2 или 3; и ------ является одинарной связью, двойной связью или отсутствует; D_1 и D_2 одинаковые или разные, и они определены так же, как D.

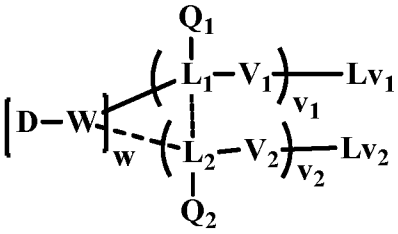
В другом аспекте настоящего изобретения соединение со связью на боковой цепи представлено формулой (IV) и может легко вступать в реакцию с молекулой T, связывающейся с клеткой с образованием конъюгата формулы (I):



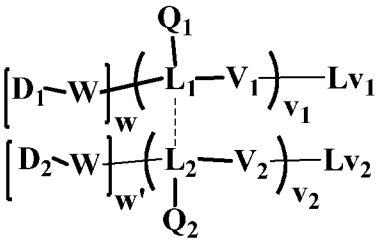
(IV),

где D, W, w, L_1, L_2, Q_1, Q_2, V_1, V_2, v_1, v_2 и n определены так же, как в Формуле (I); Lv1 представляет собой функциональную группу, описанную ниже.

В другом аспекте настоящего изобретения соединение со связью на боковой цепи представлено Формулами (V) и (VI), которые могут легко реагировать с парой сайтов на клеточно-связывающей молекуле T с образованием конъюгата Формулы (II) и (III) соответственно:



(V),



(VI),

где D, D_1, D_2, W, w, w', L_1, L_2, Q_1, Q_2, V_1, V_2, v_1, v_2, ------ и n определены так же, как выше.

Lv_1 и Lv_2 представляют собой одинаковые или разные реакционноспособные группы, которые могут реагировать с тиолом, амином, карбоновой кислотой, селенолом, фенолом или гидроксильной группой в связывающейся с клеткой молекуле. 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, формилангидрида; или молекулы промежуточного соединения, полученного с помощью конденсирующего реагента для образования пептидной связи 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)карбодиимида мето 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 не связанный 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;

Настоящее изобретение также относится к способу получения конъюгата связывающейся с клеткой молекулы и лекарственного средства формулы (I) и формулы (II), а также к применению конъюгатов формулы (I) и формулы (II).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На Фиг. 1 представлен синтез компонентов аналогов тубулизина, содержащих линкер.

На Фиг. 2 представлен синтез компонентов линкера боковой цепи.

На Фиг. 3 представлен синтез аналога тубулизина, содержащего линкер боковой цепи.

На Фиг. 4 представлен синтез аналога тубулизина, содержащего линкер боковой цепи.

На Фиг. 5 представлен синтез фрагмента аналога тубулизина, содержащего линкер боковой цепи.

На Фиг. 6 представлен синтез конъюгатов аналога тубулизина, содержащих линкеры боковой цепи.

На Фиг. 7 представлен синтез экзатекана и фрагментов линкера боковой цепи.

На Фиг. 8 представлен синтез конъюгатов экзатекана, содержащих линкеры боковой цепи.

На Фиг. 9 представлен синтез компонентов линкера боковой цепи.

На Фиг. 10 представлен общий синтез компонентов лекарственное средство-линкер, содержащих линкеры боковой цепи.

На Фиг. 11 представлен синтез конъюгата лекарственного средства, содержащего линкер боковой цепи, и компонента майтансиноид-линкер, имеющего линкер боковой цепи.

На Фиг. 12 представлен синтез конъюгатов майтансиноида и экзатекана, содержащих линкеры боковой цепи.

На Фиг. 13 представлен синтез конъюгата аналога MMAE, содержащего линкер боковой цепи.

На Фиг. 14 представлен синтез конъюгата аналога MMAF, содержащего линкер боковой цепи.

На Фиг. 15 представлен синтез аналогов эрубилина для конъюгирования, содержащих линкеры боковой цепи.

На Фиг. 16 представлены синтезы конъюгата эрибулина, содержащего линкеры боковой цепи, и CBI-димера для конъюгирования, содержащего линкеры боковой цепи.

На Фиг. 17 представлен синтез конъюгата CBI-димера, содержащего линкеры боковой цепи, и конъюгата аналога топотекана, содержащего линкеры боковой цепи.

На Фиг. 18 представлен синтез конъюгата аналога тубулизина, содержащего линкеры боковой цепи, и конъюгата аналога MMAE, содержащего линкеры боковой цепи.

На Фиг. 19 представлен синтез конъюгата аналога тубулизина, содержащего линкеры боковой цепи.

На Фиг. 20 представлено сравнение противоопухолевого эффекта конъюгатов 49 (C-30), 51 (C-48), C-173, C-238, C-312, 132 (C-131), 135 (C-134), C-321 и C-322 с T-DM1 с использованием клеточной модели опухоли желудка N87 при в/в введении одной инъекции в дозе 6 мг/кг.

На Фиг. 21 представлено исследование острой токсичности конъюгатов КАЛС 49 (C-30), 51 (C-48), C-173, C-238, C-312, 132 (C-131), 135 (C-134), C-321, и C-322, и T-DM1 через наблюдение за изменениями массы тела (BW) мышей через 12 дней.

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 в себя от трех до четырнадцати атомов углерода, предпочтительно от шести до десяти атомов углерода. Термин «гетероароматическая группа» относится к одному или более атомам углерода в ароматической группе, 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 простой эфир, 2-метоксиэтоксиметиловый простой эфир, тетрагидропираниловый простой эфир, бензиловый простой эфир, п-метоксибензиловый простой эфир, триметилсилиловый простой эфир, триэтилсилиловый простой эфир, триизопропилсилиловый простой эфир, *трет*-бутилдиметилсилиловый простой эфир, трифенилметилсилиловый простой эфир, ацетатный сложный эфир, замещенные ацетатные сложные эфиры, пивалоат, бензоат, метансульфонат и *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: бромтриспирролидинофосфонийгексафторфосфат; CDI: 1,1'-карбонилдиимидазол; DCC: дициклогексилкарбодиимид; ДХЭ: дихлорэтан; ДХМ: дихлорметан; ДЭАД: диэтилазодикарбоксилат ДИАД: диизопропилазодикарбоксилат; DIBAL-H, диизобутилалюминийгидрид; ДИПЭА или DEA: диизопропилэтиламин; DEPC: диэтилфосфороцианидат; ДМА: N, N-диметилацетамид; ДМАП: 4-(N,N-диметиламино)пиридин; ДМФА: N,N-диметилформамид; ДМСО: диметилсульфоксид; DTPA: диэтилентриаминпентауксусная кислота; DTT: дитиотреитол; EDC: 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимида гидрохлорид; МС-ИЭР: масс-спектрометрия с ионизацией электрораспылением; EtOAc: этилацетат; Fmoc: N-(9-фторенилметоксикарбонил); HATU: гексафторфосфат O-(7-азабензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония; HOBt: 1-гидроксибензотриазол; ВЭЖХ: жидкостная хроматография высокого давления; NHS: N-гидроксисукцинимид; MeCN: ацетонитрил; MeOH: метанол; MMP: 4-метилморфолин; PAB: п-аминобензил; ФБСР: фосфатно-буферный солевой раствор (pH 7,0~7,5); Ph: фенил; phe: L-фенилаланин; PyBrop: гексафторфосфат бром-трис-пирролидино-фосфония; ПЭГ: полиэтиленгликоль; SEC: эксклюзионная хроматография; TCEP: трис(2-карбоксиэтил)фосфин; ТФК: трифторуксусная кислота; ТГФ: тетрагидрофуран; Val: валин; ТСХ: тонкослойная хроматография; УФ: ультрафиолет.

Термин «аминокислота (ы)» может относиться к природным и/или неприродным аминокислотам, предпочтительно альфа-аминокислотам. Природные аминокислоты являются кислотами, которые кодируются генетическим кодом: аланин, аргинин, аспарагин, аспарагиновая кислота, цистеин, глутаминовая кислота, 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, Asp-Lys, Asp-Glu, Glu-Lys, Lys, Cit, Ser и Glu.

Термин «гликозид» описывает молекулу, в которой сахарная группа через свой аномерный углерод связана с другой группой через гликозидную связь. Гликозиды могут быть связаны через 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 быть получены из любых видов. 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 традиционные нетоксичные соли или четвертичные аммониевые соли исходного соединения, образуемые, например, их 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.

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.

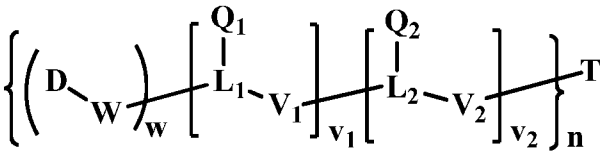
В контексте инфекционного заболевания термин «лечение» включает любое или все из: предотвращение роста, размножения или репликации патогена, вызывающего инфекционное заболевание, и облегчение одного или нескольких симптомов инфекционного заболевания.

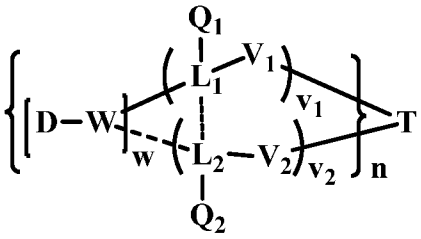
Примеры «млекопитающего» или «животного» включают, но не ограничиваются ими, человека, крысу, мышь, морскую свинку, обезьяну, свинью, козу, корову, лошадь, собаку, кошку, птицу и домашнюю птицу.

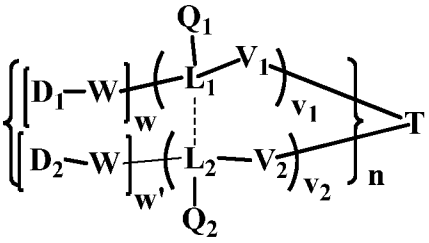
В новых конъюгатах, описанных в данном документе, используют мостиковые линкеры. Примеры некоторых подходящих линкеров и их синтез представлены на Фиг. **1–26**.

КОНЪЮГАТ СВЯЗЫВАЮЩЕГОСЯ С КЛЕТКОЙ АГЕНТА И ЦИТОТОКСИЧЕСКОЙ МОЛЕКУЛЫ, СВЯЗАННЫЙ ПОСРЕДСТВОМ СВЯЗИ НА БОКОВОЙ ЦЕПИ

В одном аспекте настоящего изобретения конъюгат со связью на боковой цепи представлен Формулой (I), (II) и (III):


(I)


(II),


(III),

где

«——» представляет собой одинарную связь; ------ представляет собой одинарную связь, двойную связь или отсутствует; n равен от 1 до 30; w и w’ независимо равны 1, 2 или 3; и.

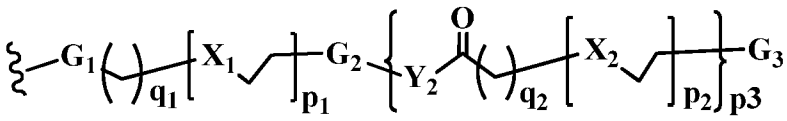
T представляет собой клеточно-связывающий агент/молекулу, выбранные из группы, состоящей из антитела, одноцепочечного антитела, фрагмента антитела, который связывается с клеткой-мишенью, моноклонального антитела, одноцепочечного моноклонального антитела, фрагмента моноклонального антитела, который связывается с клеткой-мишенью, химерного антитела, фрагмента химерного антитела, который связывается с клеткой-мишенью, доменного антитела, фрагмента доменного антитела, который связывается с клеткой-мишенью, аднектина, который имитируют антитело, белков DARPin, лимфокина, гормона, витамина, фактора роста, колониестимулирующего фактора или переносящей питательные вещества молекулы (трансферрин) и/или связывающегося с клеткой пептида, белка или малой молекулы, прикрепленной к альбумину, полимеру, дендримеру, липосоме, наночастице, везикуле или (вирусному) капсиду;

L_1 и L_2 представляют собой цепочку атомов, выбранных из C, N, O, S, Si и P, предпочтительно содержащую 0~500 атомов, которая ковалентно соединяется с W и V_1, а также с V_1 и V_2. Атомы, используемые при образовании L_1 и L_2, могут быть объединены всеми химически подходящими способами, такими как образование алкилена, алкенилена и алкинилена, простых эфиров, полиоксиалкиленов, сложных эфиров, аминов, иминов, полиаминов, гидразинов, гидразонов, амидов, мочевин, семикарбазидов, карбазидов, алкоксиаминов, алкоксиламинов, уретанов, аминокислот, пептидов, ацилоксиламинов, гидроксамовых кислот или их комбинацией. Предпочтительно L_1 и L_2, одинаковые или разные, независимо выбраны из O, NH, N, S, P, NNH, NHNH, $N(R_3)$, $N(R_3)N(R_{3'})$, CH, CO, C(O)NH, C(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)O, полиэтиленокси единицы формулы $(OCH_2CH_2)_pOR_3$, или $(OCH_2CH\text{-}(CH_3))_pOR_3$, или $NH(CH_2CH_2O)_pR_3$, или $NH(CH_2CH(CH_3)O)_pR_3$, или $N[(CH_2CH_2O)_pR_3]\text{-}[(CH_2CH_2O)_{p'}R_{3'}]$, или $(OCH_2CH_2)_pCOOR_3$, или $CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_pCOOR_3$, где p и p' независимо представляют собой целые числа, выбранные от 0 до около 1000 или их комбинация; 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; или $(Aa)_r$, r = 1-12 (от 1 до 12 аминокислотных звений), который состоит из природных или неприродных аминокислот, или одинаковых или различных последовательностей дипептидного, трипептидного, тетрапептидного, пентапептидного, гексапептидного, гептапептидного, октапептидного, нонапептидного, декапептидного, ундекапептидного или додекапептидного звена;

W представляет собой удлиняющее звено, содержащее C_1-C_{18}, обычно саморасщепляющийся спейсер, пептидное звено, гидразоновую, дисульфидную, тиоэфирную, сложноэфирную или амидную связь;

V_1 и V_2 независимо представляют собой спейсерное звено и выбраны из O, NH, S, C_1-C_8 алкила, C_2-C_8 гетероалкила, алкенила или алкинила, C_3-C_8 арила, гетероциклила, карбоциклила, циклоалкила, алкилциклоалкила, гетероциклоалкила, гетероаралкила, гетероалкилциклоалкила или алкилкарбонила, или $(Aa)_r$, r = 1-12 (от одной до 12 аминокислотных звений), который состоит из природных или неприродных аминокислот, или одинаковых или различных последовательностей дипептидного, трипептидного, тетрапептидного, пентапептидного, гексапептидного, гептапептидного, октапептидного, нонапептидного, декапептидного, ундекапептидного или додекапептидного звена; или $(CH_2CH_2O)_p$, p равно 0-1000 ; и v_1 и v_2 независимо равны 0, 1 или 2, но v_1 и v_2 равны 0 одновременно; когда v_1 или v_2 не равно 0, это означает, что один из фрагментов боковой цепи Q1 или Q2 отсутствует.

Q_1 и Q_2 независимо представлены Формулой (I-q1):



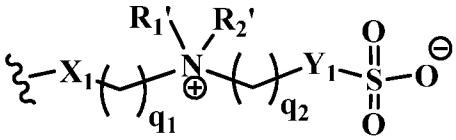
(I-q1);

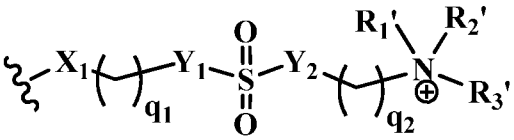
где ∿∿ представляет собой участок, связанный с L_1 или L_2; G_1 и G_2 независимо представляют собой OC(O), NHC(O), C(O), CH_2, NH, OC(O)NH, NHC(O)NH, O, S, B, P(O)(OH), NHP(O)(OH), NHP(O)(OH)NH, $CH_2P(O)(OH)NH$, OP(O)(OH)O, $CH_2P(O)(OH)O$, $NHS(O)_2$, $NHS(O)_2NH$, $CH_2S(O)_2NH$, $OS(O)_2O$, $CH_2S(O)_2O$, Ar, $ArCH_2$, ArO, ArNH, ArS, $ArNR_1$ или $(Aa)_{q1}$; G_3 представляет собой OH, SH, OR_{12}, SR_{12}, $OC(O)R_{12}$, $NHC(O)R_{12}$, $C(O)R_{12}$, CH_3, NH_2, NR_{12}, $^+NH(R_{12})$, $^+N(R_{12})(R_{12'})$, C(O)OH, $C(O)NH_2$, $NHC(O)NH_2$, BH_2, $BR_{12}R_{12'}$, $P(O)(OH)_2$, $NHP(O)(OH)_2$, $NHP(O)(NH_2)_2$, $S(O)_2(OH)$, $(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $(CH_2)_{q1}P(O)(OH)_2$, $C(O)(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $OC(O)(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $NHC(O)(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $CO(CH_2)_{q1}P(O)(OH)_2$, $NHC(O)O(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $OC(O)NH(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $NHCO(CH_2)_{q1}P(O)(OH)_2$, $NHC(O)(NH)(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $CONH(CH_2)_{q1}P(O)(OH)_2$, $NHS(O)_2(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $CO(CH_2)_{q1}S(O)_2(OH)$, $NHS(O)_2NH(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $OS(O)_2NH(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $NHCO(CH_2)_{q1}S(O)_2(OH)$, $NHP(O)(OH)(NH)(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $CONH(CH_2)_{q1}S(O)(OH)$, $OP(O)(OH)_2$, $(CH_2)_{q1}P(O)(NH)_2$, $NHS(O)_2(OH)$, $NHS(O)_2NH_2$, $CH_2S(O)_2NH_2$, $OS(O)_2OH$, $OS(O)_2OR_1$, $CH_2S(O)_2OR_{12}$, Ar, ArR_{12}, ArOH, $ArNH_2$, ArSH, $ArNHR_{12}$ или $(Aa)_{q1}$; $(Aa)_{q1}$ представляет собой пептид, содержащий одинаковые или разные последовательности природных или неприродных аминокислот; X_1 и X_2 независимо представляют собой O, CH_2, S, S(O), NHNH, NH, $N(R_{12})$, $^+NH(R_{12})$, $^+N(R_{12})(R_{12'})$, C(O),

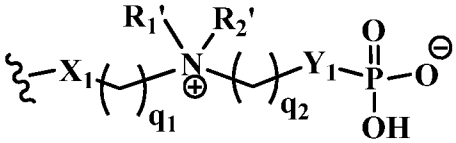
OC(O), OC(O)O, OC(O)NH, NHC(O)NH; Y_2 представляет собой O. NH, NR_{12}, CH_2. S, NHNH, Ar; p_1, p_2 и p_3 независимо равны 0–100, но не равны 0 одновременно; q_1 и q_2 независимо равны 0–24; R_{12}, $R_{12'}$, R_{13} и $R_{13'}$ независимо представляют собой H, C_1~C_8 алкил; C_2~C_8 гетероалкил или гетероциклил; C_3~C_8 арил, Ar-алкил, циклоалкил, алкилциклоалкил, гетероциклоалкил, гетероалкилциклоалкил, карбоциклил или алкилкарбонил;

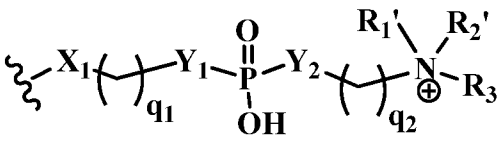
Предпочтительно Q_1 и Q_2 независимо представляют собой C_2-C_{100} поликарбоксилацид, C_2-C_{90} полиалкиламин, C_6-C_{90} олигосахарид или полисахарид, C_6-C_{100} цвиттерионные бетаины или цвиттерионный поли(сульфобетаин)) (PSB), состоящий из катиона четвертичного аммония и сульфонат-аниона, C_6-C_{100} биоразлагаемый полимер, состоящий из сополимера (молочной/гликолевой) кислоты (PLGA), поли(акрилатов), хитозана, сополимера N- (2-гидроксипропил) метакриламида, поли[2-(метакрилоилокси)этилфосфорилхолина] (PMPC), поли-L-глутаминовой кислоты, сополимера (лактида и гликолида) (PLG), сополимера (лактида и гликолида), поли(этиленгликоля) (ПЭГ), поли(пропиленгликоля) (PPG), сополимера (лактида и гликолида), модифицированных поли(этиленгликолем) пептидов, содержащих поли(этиленгликоль) аминокислот или пептидов, модифицированных поли(этиленгликолем) липидов, полиглицина, поли-N-метилглицина, модифицированной поли(этиленгликолем) алкилкарбоновой кислоты, модифицированного поли(этиленгликолем) алкиламина, сополимера (лактида и гликолида), гиалуроновой кислоты (ГК) (гликозаминогликана), гепарина/гепарансульфата (HSGAG), хондроитинсульфата/дерматансульфата (CSGAG), модифицированного поли(этиленгликолем) алкилсульфата, модифицированного поли(этиленгликолем) алкилфосфата или модифицированного поли(этиленгликолем) алкил четвертичного аммония.

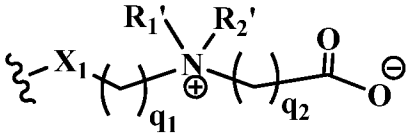
Ниже показаны примеры структур Q_1 и Q_2:

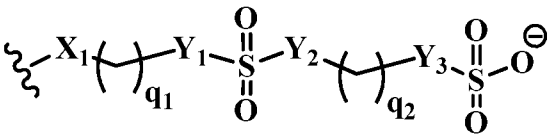

Iq-01,

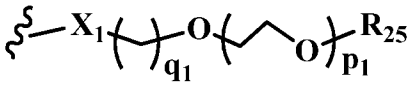

Iq-02,

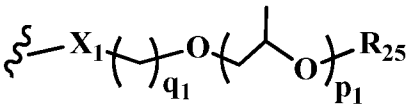

Iq-03,

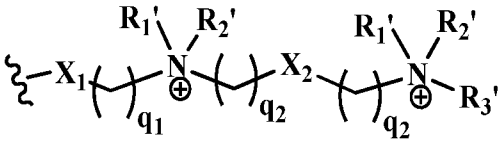

Iq-04,

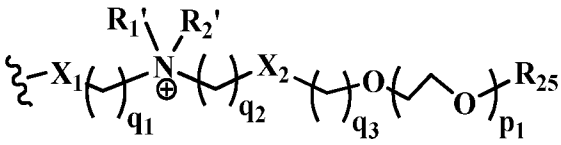

Iq-05,

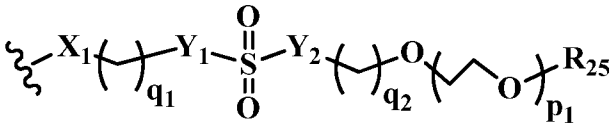

Iq-06,

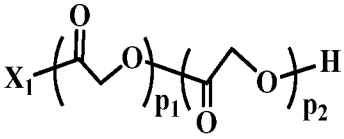

Iq-07,

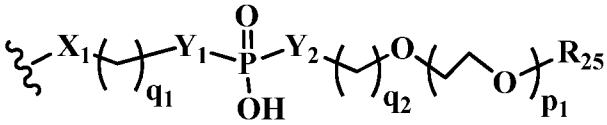

Iq-08,

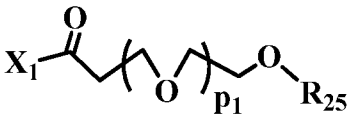

Iq-09,

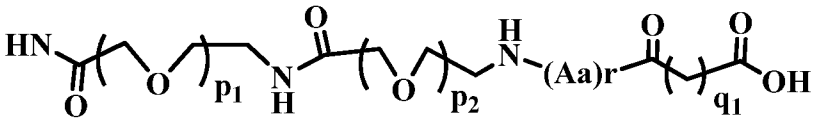

Iq-10,

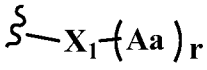

Iq-11,

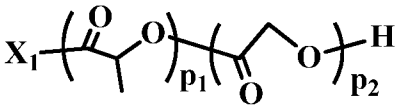

Iq-12,

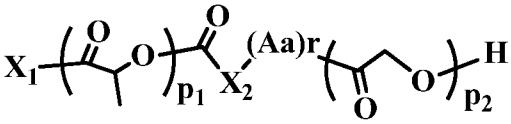

Iq-13,

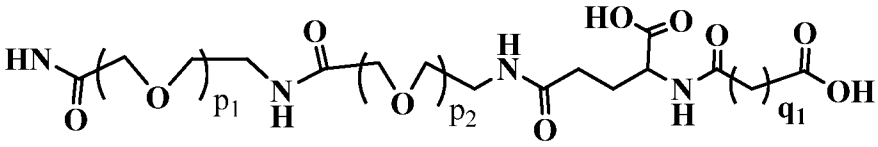

Iq-14,

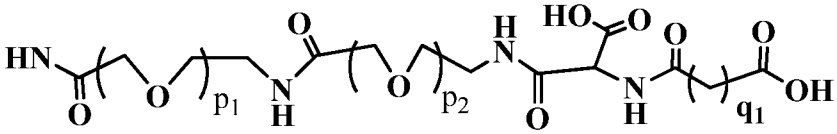

Iq-15,

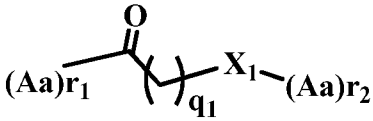

Iq-16,

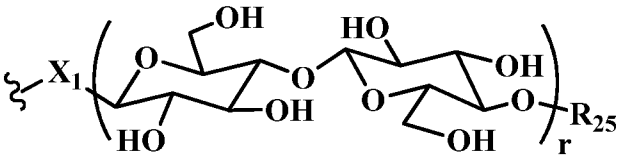

Iq-17,

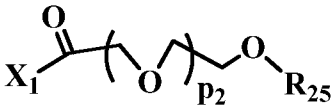

Iq-18,

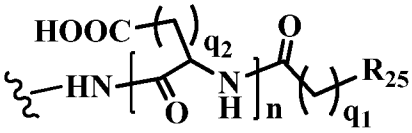

, Iq-19,

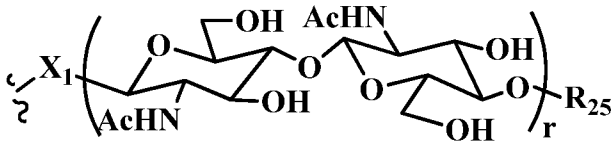

Iq-20,

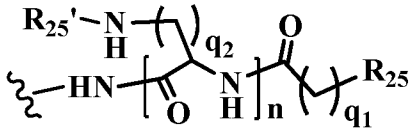

Iq-21,

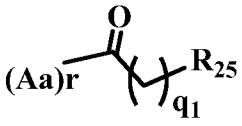

Iq-22,

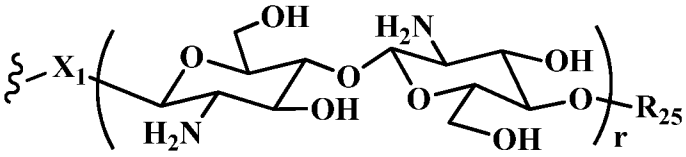

Iq-23,

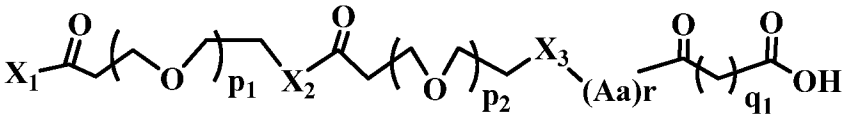

Iq-24,

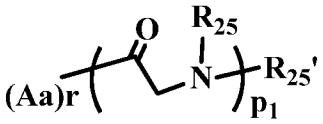

Iq-25,

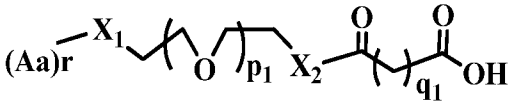

Iq-26,

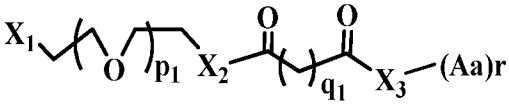

Iq-27,

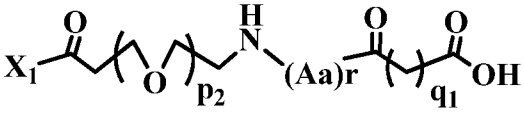

Iq-28,

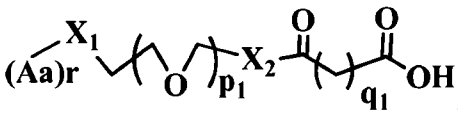

Iq-29,

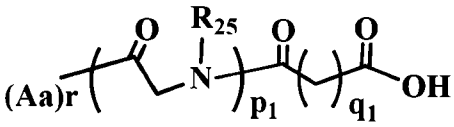

, Iq-30,

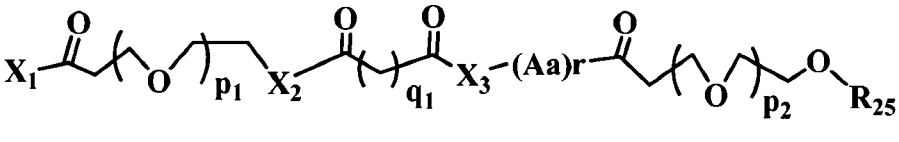

Iq-31,

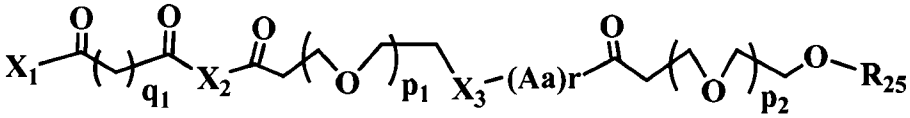

Iq-32,


Iq-33,


Iq-34、


Iq-35、


Iq-36、

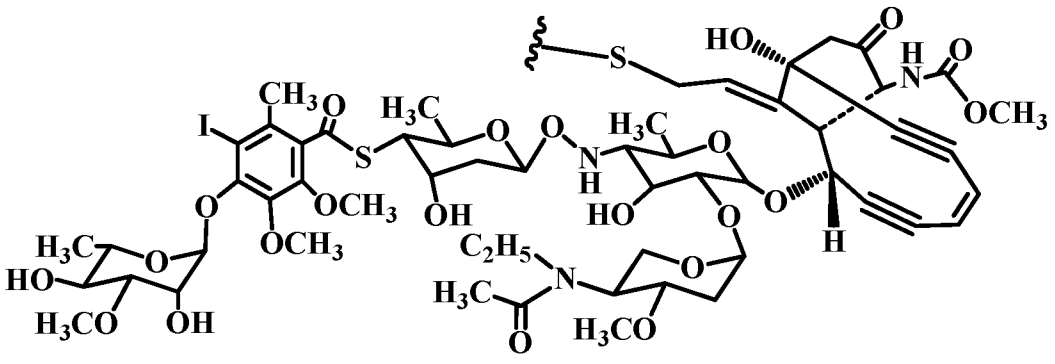

Iq-37 ,

где R_{25} и $R_{25'}$ независимо выбраны из H; HC(O), $CH_3C(O)$, $CH_3C(NH)$, $NHCH_3$, COOH, $CONH_2$, $CONHCH_3$, C_1-C_{18} алкила, C_1-C_{18} алкила, алкил-Y_1-SO_3H, C_1-C_{18} алкил-Y_1-PO_3H_2, C_1-C_{18} алкил-Y_1-CO_2H, C_1-C_{18} алкил-Y_1-$N^+R_{12}R_{13}R_{13}'R_{14}$, C_1-C_{18} алкил-Y_1-$CONH_2$, C_2-C_{18} алкилена, C_2-C_{18} сложного эфира, C_2-C_{18} простого эфира, C_2-C_{18} амина, C_2-C_{18} алкилкарбоксиламида, C_3-C_{18} арила, C_3-C_{18} циклоалкила, C_3-C_{18} гетероциклила, 1~24 аминокислот; C_2-C_{18} липида, C_2-C_{18} жирной кислоты или C_2-C_{18} жирного аммониевого липида; X_1 и X_2 независимо выбраны из NH, $N(R_{12}')$, O, CH_2, S, C(O), S(O), $S(O_2)$, P(O)(OH), NHNH, CH=CH, Ar или $(Aa)q_1$, q_1 =0–24 (0–24 аминокислоты, q_1 = 0, означает отсутствие); X_1, X_2, X_3, X_4, Y_1, Y_2 и Y_3 независимо выбраны из NH, $N(R_{12}')$, O, C(O), CH_2, S, S(O), NHNH, C(O), OC(O), OC(O)O, OC(O)NH, NHC(O)NH, Ar или Ar или $(Aa)q_1$, X_1, X_2, X_3, X_4, Y_1, Y_2 и Y_3 могут независимо отсутствовать; p_1, p_2 и p_3 независимо равны 0–100, но не равны 0 одновременно; q_1, q_2 и q_3 независимо равны 0–24; R_{12}, R_{13}, R_{13}' и R_{14}' независимо выбраны из H и C_1-C_6 алкила; Aa представляет собой природную или неприродную аминокислоту;

Ar или $(Aa)q_1$ представляют собой одинаковые или разные последовательности пептидов; $q_1 = 0$ означает отсутствие $(Aa)q_1$;

D представляет собой цитотоксический агент, которые независимо выбран из калихеамицинов, майтансиноидов, камфотецинов, таксанов, антрациклинов (даунорубицина/доксорубицина), алкалоидов барвинка, ауристатинов, эрубулинов, (пирроло)бензодиазепинов (ПБД), CC-106/дуокармицинов, тубулизинов, аматоксинов (таких как аманитинов), ингибиторов протеинкиназ, ингибиторов МЕК, ингибиторов KSP, ингибиторов никотинамидфосфорибозилтрансферазы (NAMPT), иммунотоксинов, их аналогов или пролекарств; D_1 и D_2 являются одинаковыми или разными, и они определены аналогично D;

Калихеамицины и родственные им эндииновые антибиотики, которые 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. Калихеамицины предпочтительно имеют структуру следующей формулы:

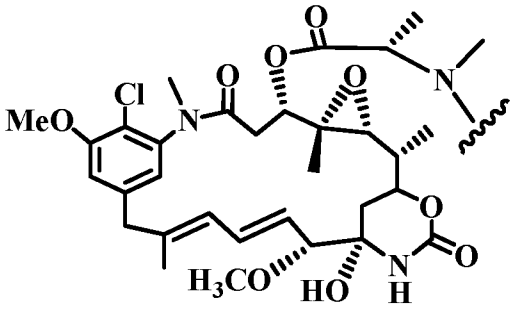


(Ia),

или ее изотоп, или ее фармацевтически приемлемая соль, гидраты или гидратированная соль; или полиморфная кристаллическая структура; или оптический изомер, рацемат, диастереомер или энантиомер,

где ∿∿ представляет собой участок связывания с W;

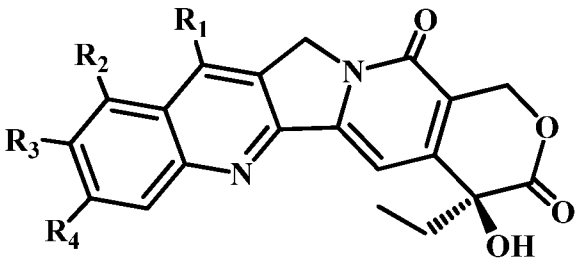
Майтансиноиды, включая майтанзинол и его аналоги, описаны в патентах США № 4256746, 4361650, 4307016, 4294757, 4294757, 4371533, 4424219, 4331598, 4450254, 4364866, 4313946, 4315929 4362663, 4322348, 4371533, 4424219, 5208020, 5416064, 5208020; 5416064; 6333410; 6441163; 6716821, 7276497, 7301019, 7303749, 7368565, 7411063, 7851432 и 8163888. Майтансиноиды предпочтительно имеют структуру следующей формулы:


(Ib),

где ∿∿ представляет собой участок связывания с W.

Камптотецин (CPT) и его производные, которые являются ингибиторами топоизомеразы, предотвращающими повторное лигирование ДНК и, следовательно, вызывающие повреждение ДНК, приводящее к апоптозу, описаны в: Shang, X. F. et al, Med Res Rev. 2018, 38(3):775-828; Botella, P. and Rivero-Buceta, E. J Control Release. 2017, 247: 28-54; Martino, E. et al, Bioorg Med Chem Lett. 2017, 27(4):701-707; Lu, A., et al, Acta Pharmacol Sin 2007, 28(2): 307–314. Они включают SN-38, топотекан, иринотекан (CPT-11), силатекан (DB-67, AR-67), козитекан (BNP-1350), этиринотекан, экзатекан, луртотекан, гиматекан (ST1481), белотекан (CKD-602), рубитекан и ряд других (Shang, X. F. et al, Med Res Rev. 2018, 38(3):775-828). К настоящему времени одобрены три аналога CPT, топотекан, иринотекан и белотекан, которые используются в химиотерапии онкологических заболеваний (Palakurthi, S., Expert Opin Drug Deliv. 2015;12(12):1911-21; Shang, X. F. et al, Med Res Rev. 2018, 38(3):775-828), и SN-38 и экзатекан успешно использовались в качестве полезной нагрузки для конъюгатов КАЛС в клинических испытаниях (Ocean, AJ 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).

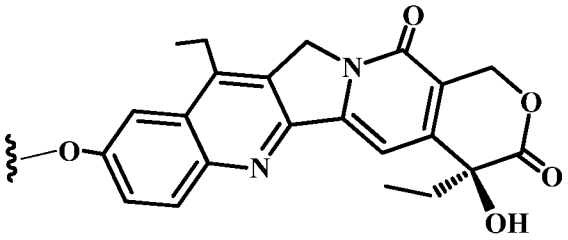
Структура камптотецина (CPT) показана ниже в формуле:

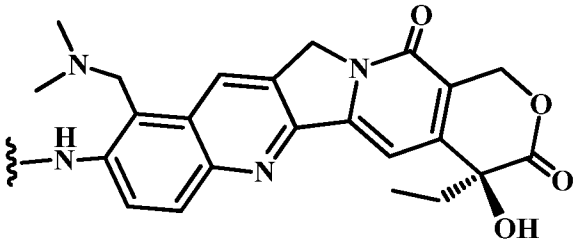

(Ic)

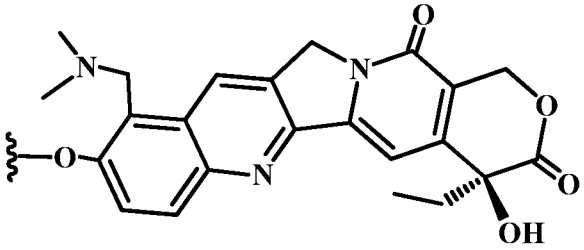
или изотоп одного или более химических элементов, или фармацевтически приемлемые соли, гидраты или гидратированные соли; или полиморфные кристаллические структуры этих соединений; или оптические изомеры, рацематы, диастереомеры или энантиомеры; где

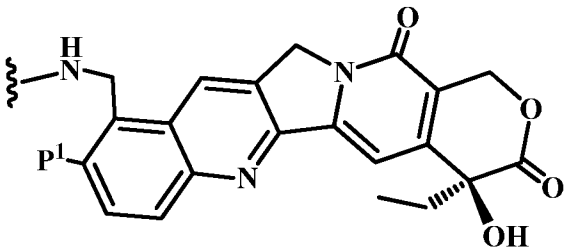
R_1, R_2 и R_4 независимо выбраны из H, F, Cl, Br, CN, NO_2, C_1~C_8 алкила; O-C_1~C_8 алкил; NH-C_1~C_8 алкил; C_2-C_8 гетероалкила, алкилциклоалкила, гетероциклоалкила; C_3-C_8 арила, Ar-алкила, гетероциклила, карбоциклила, циклоалкила, гетероалкилциклоалкила, алкилкарбонила, гетероарила; или сложных эфиров, простого эфира, амида, карбоната, мочевины или карбамата с 2-8 атомами углерода; R_3 представляет собой H, OH, NH_2, C_1~C_8 алкил; O-C_1~C_8 алкил; NH-C_1~C_8 алкил; C_2-C_8 гетероалкил, алкилциклоалкил, гетероциклоалкиа; или сложный эфир, простой эфир, амид, карбонат, мочевину или карбамат с 2-8 атомами углерода; или R_1R_2, R_2R_3 и R_3R_4 независимо образуют 5-7-членную карбоциклическую, гетероциклическую, гетероциклоалкильную, ароматическую или гетероароматическую кольцевую систему.

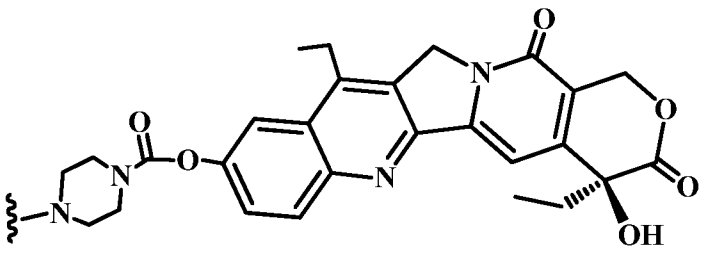
Кампотецины предпочтительно имеют структуру следующей формулы:


(Ic-01), SN-38,

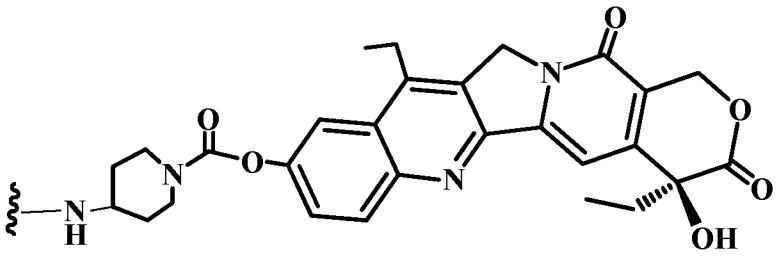

(Ic-02)


(Ic-03), аналог топотекана,

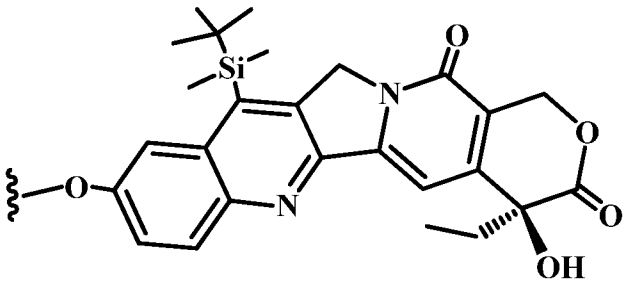

(Ic-04),



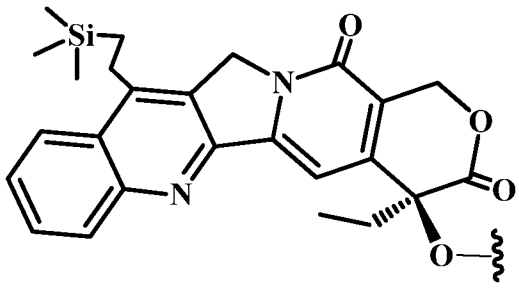
(Ic-05), аналог иринотекана,



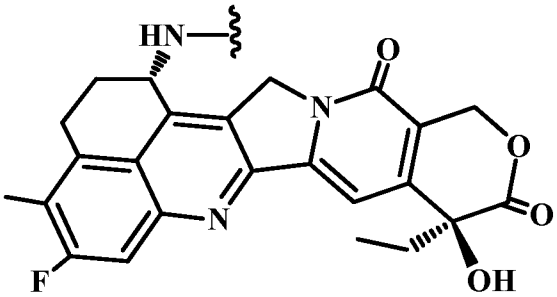
(Ic-06), аналог иринотекана,



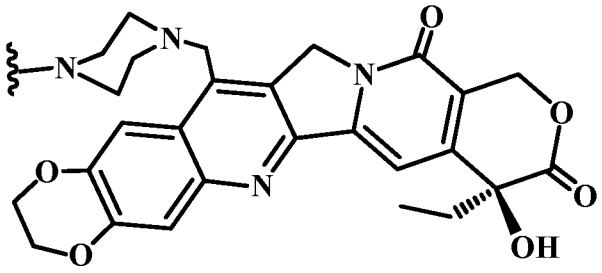
(Ic-07), силатекан,



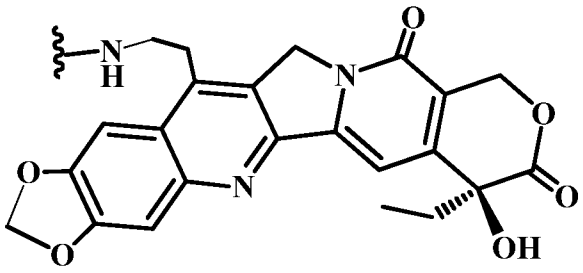
(Ic-08), козитекан,



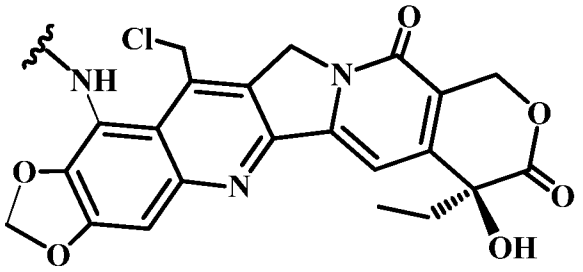
(Ic-09), экзатекан,



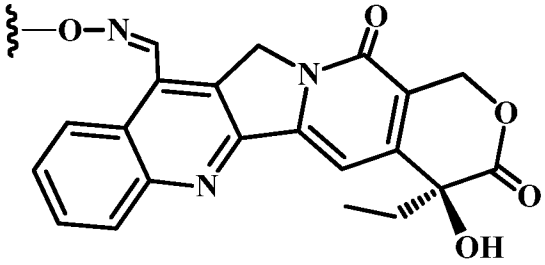
(Ic-10), луртотекан,



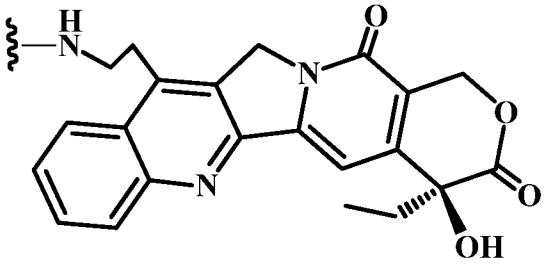
(Ic-11),



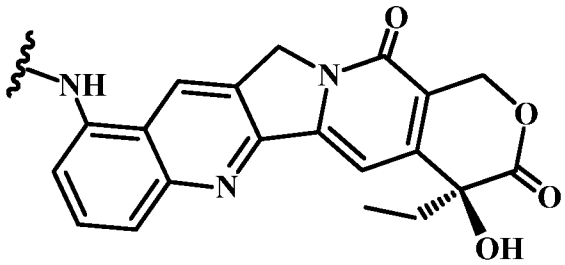
(Ic-12), аналог GI-149893,



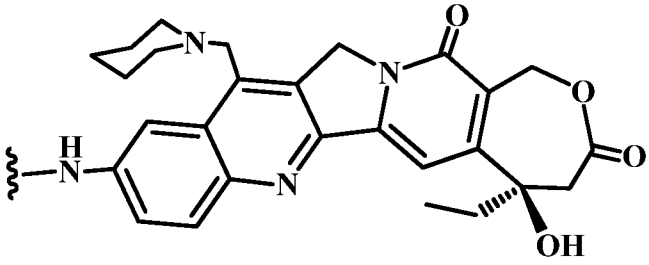
(Ic-13), гиматекан,



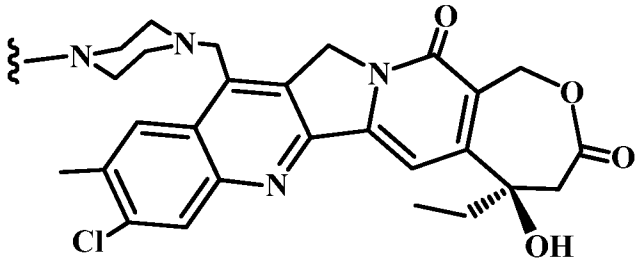
(Ic-14), белотекан,



(Ic-15), рубитекан или аналог IDEC-132,



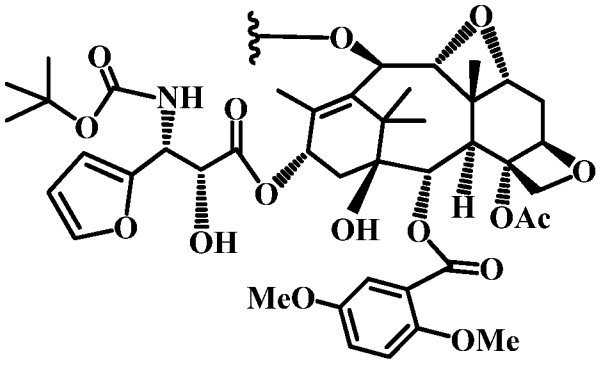
(Ic-16), аналог BN-80927,



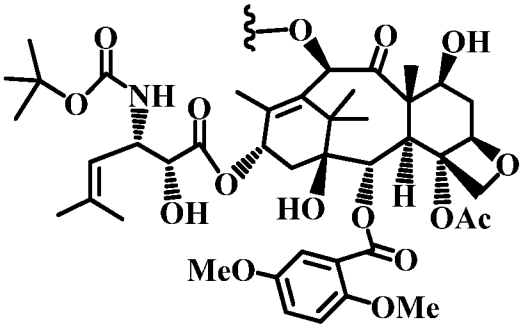
(Ic-17), аналог BN-80927,

или изотоп одного или более химических элементов, или фармацевтически приемлемые соли, гидраты или гидратированные соли; или полиморфные кристаллические структуры этих соединений; или оптические изомеры, рацематы, диастереомеры или энантиомеры; где ∿∿ сайт связан с W; P^1 представляет собой H, OH, NH_2, COOH, $C(O)NH_2$, $OCH_2OP(O)(OR^{18})_2$, $OC(O)OP(O)(OR^{18})_2$, $OPO(OR^{18})_2$, $NHPO(OR^{18})_2$, $OC(O)R^{18}$, $OP(O)(OR^{18})OP(O)(OR^{18})_2$, $OC(O)NHR^{18}$, $OC(O)N(C_2H_4)_2NCH_3$, $OSO_2(OR^{18})$, O-(C_4-C_{12}-гликозид), $OC(O)N(C_2H_4)_2CH_2N(C_2H_4)_2CH_3$, C_1-C_8 линейный или разветвленный алкил или гетероалкил; C_2-C_8 линейный или разветвленный алкенил, алкинил, алкилциклоалкил, гетероциклоалкил; C_3-C_8 линейный или разветвленный арил, Ar-алкил, гетероциклил, карбоциклил, циклоалкил, гетероалкилциклоалкил, алкилкарбонил, гетероарил; карбонат (-$C(O)OR^{17}$), карбамат (-$C(O)NR^{17}R^{18}$); R^{17} и R^{18} независимо представляют собой H, линейный или разветвленный алкил или гетероалкил; C_2-C_8 линейный или разветвленный алкенил, алкинил, алкилциклоалкил, гетероциклоалкил; C_3 -C_8 линейный или разветвленный арил, Ar-алкил, гетероциклил, карбоциклил, циклоалкил, гетероалкилциклоалкил, алкилкарбонил, гетероарил; карбонат (-$C(O)OR^{17}$), карбамат (-$C(O)NR^{17}R^{18}$).

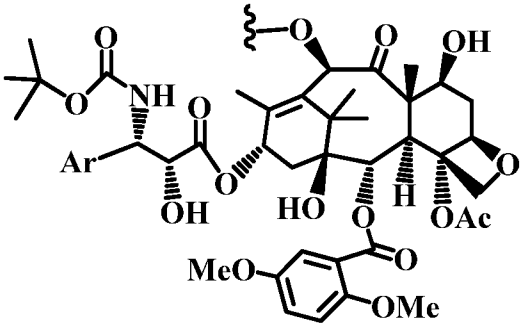
Таксаны, которые включают в себя паклитаксел (таксол), цитотоксический природный продукт и доцетаксел (таксотер), полусинтетическое производное и их аналоги, которые являются предпочтительными для конъюгирования, приводятся в следующих примерах: K C. Nicolaou et al., J. Am. Chem. Soc. 117, 2409-20, (1995); 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. Таксаны предпочтительно имеют структуру следующей формулы:



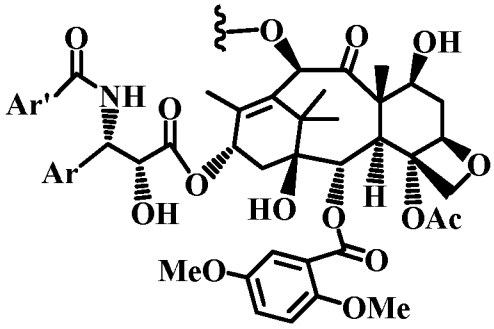
(Id-01),



(Id-02),



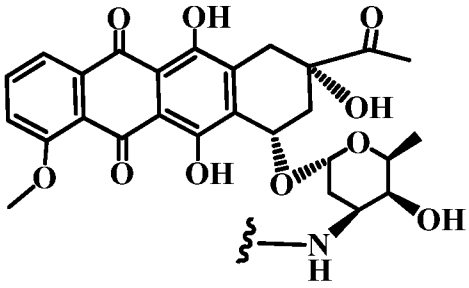
(Id-03),



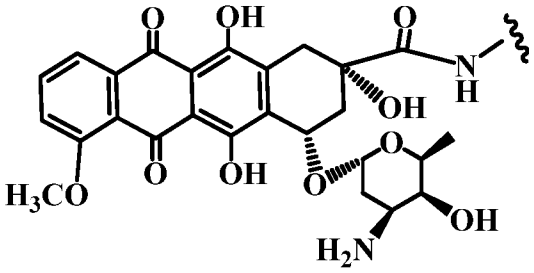
(Id-04),

где ∿∿ сайт связан с W; Ar и Ar 'независимо представляют собой арил или гетероарил. Антрациклины представляют собой ингибиторы топоизомеразы II ДНК млекопитающих, которые способны стабилизировать комплексы фермент-ДНК, в которых цепи ДНК разрезаны и ковалентно связаны с белком. Эти противоонкологические агенты играют важную роль в лечении многих форм солидных опухолей и острых лейкозов в течение последних нескольких десятилетий. Однако антрациклины приводят к сердечно-сосудистым заболеваниям и смертности (Sagi, JC, et al, Pharmacogenomics. 2016, 17(9), 1075-87; McGowan, J. V., et al, Cardiovasc Drugs Ther. 2017, 31(1), 63-75). Таким образом, для

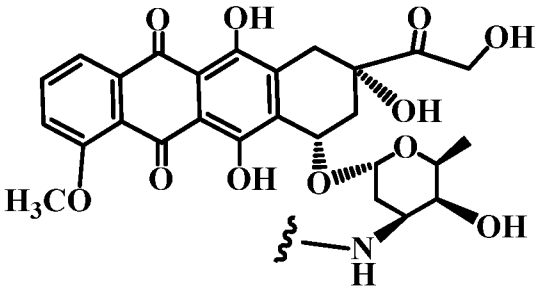
повышения специфической активности таких молекул при одновременном снижении кардиотоксичности исследователи активно используют конъюгирование антрациклинов с клеточно-связывающей молекулой в качестве общего подхода для улучшения терапевтического индекса этих лекарственных средств (Mollaev, M. et al, Int. J Pharm. 2018 Dec 29. pii: S0378-5173(18) 30991-8; Rossin, R., et al, Bioconjug Chem. 2016, 27(7):1697-706; Dal Corso, A., et al, J Control Release. 2017, 264:211-218). Антрациклины предпочтительно имеют структуру следующей формулы:



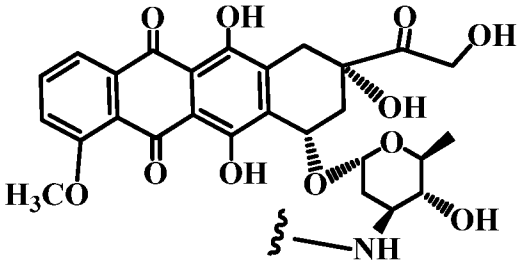
(Ie-01), аналог даунорубицина,



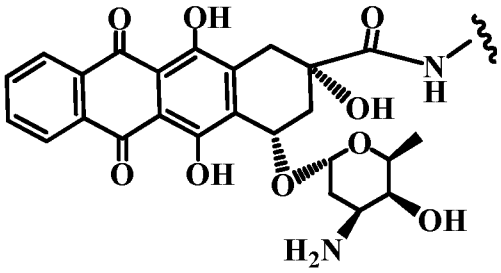
(Ie-02), аналог даунорубицина,



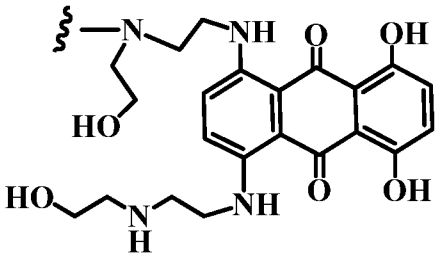
(Ie-03), аналог доксорубицина,



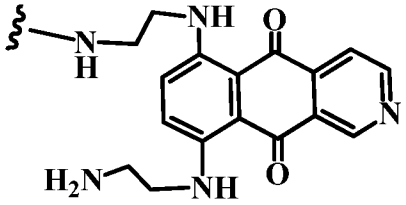
(Ie-04), аналог эпирубицина,



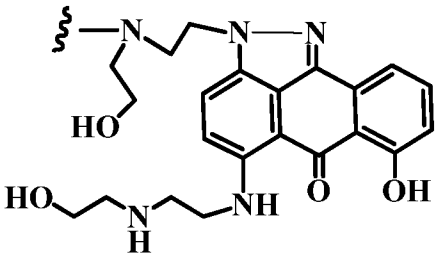
(Ie-05), аналог идарубицина,



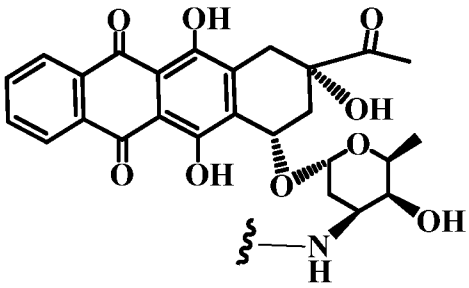
(Ie-06), аналог митоксантрона,



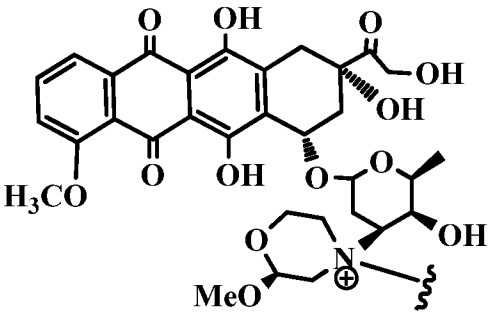
(IE-07), аналог пиксантрона,



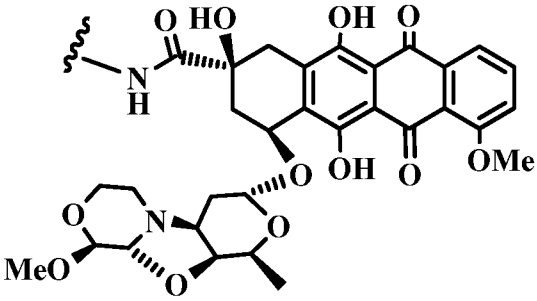
(Ie-08), аналог лозоксантрона ,



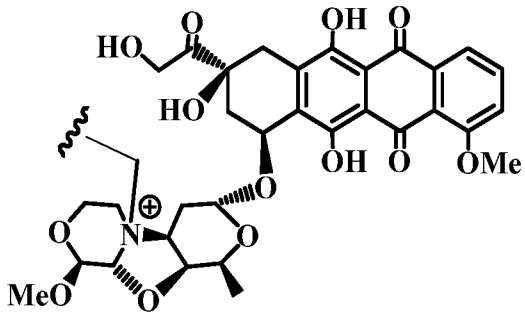
(Ie-09), аналог,



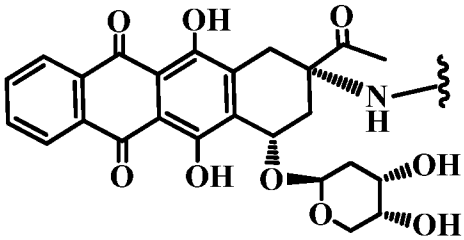
(Ie-10),



(Ie-11),



(Ie-12),

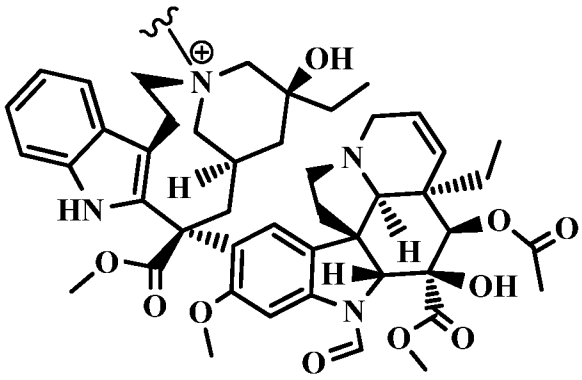


(Ie-13), аналог амрубицина.

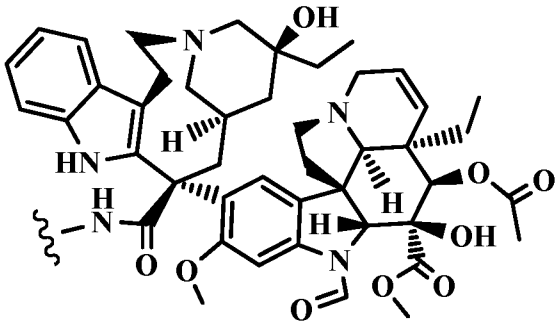
где ∿∿ представляет собой участок связывания.

Алкалоиды барвинка представляют собой набор антимитотических и антимикротрубочковых алкалоидов, которые действуют, подавляя способность раковых клеток делиться. Алкалоиды барвинка , включают винбластин, винкристин, виндезин, лейрозин, винорелбин, катарантин, виндолин, винкаминол, винередин, миновинцин, метоксиминовинцин, миновинцинин, винкадифформин, дезоксивинкаминол, винкамайин,

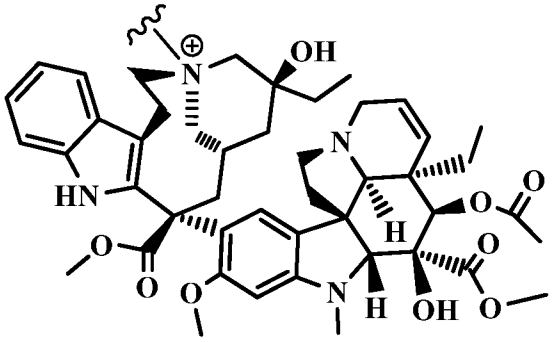
винкамин , винпоцетин, и винбурнин. По структуре алкалоиды барвинка предпочтительны винбластин, винкристин, имеют следующую формулу:



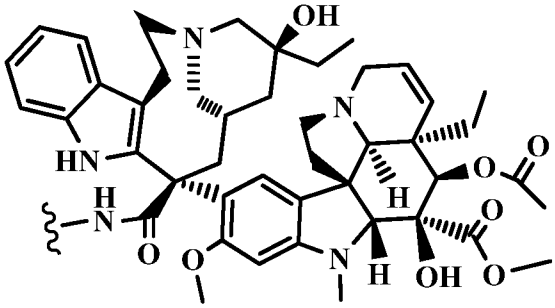
(If-01), винкристин (лейрокристин),



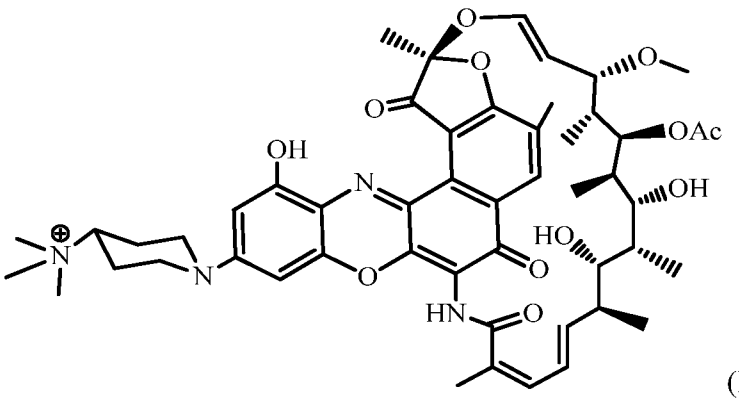
(If-02), винкристин (лейрокристин),



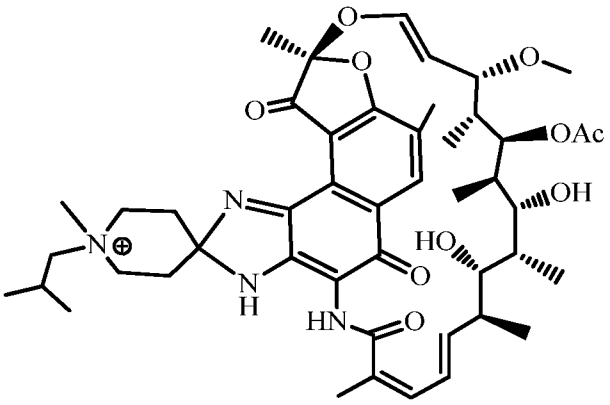
(If-03), винбластин,



(If-04), винбластин;

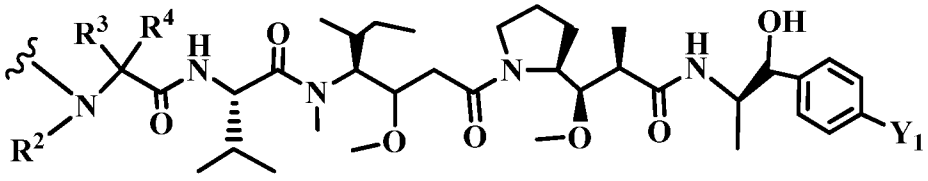


(If-05), аналог рифатубина

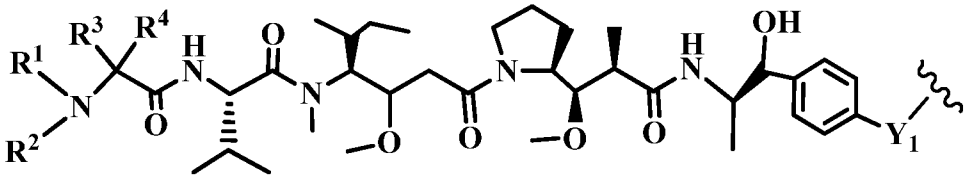


(If-06), аналог рифатубина

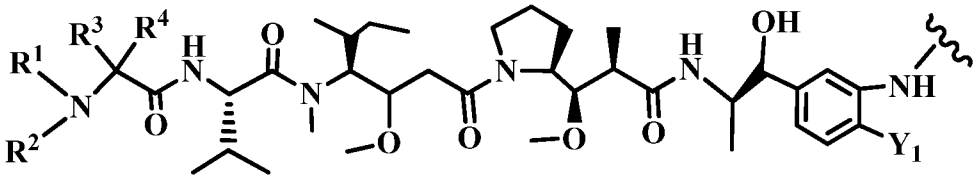
Аналоги ауристатина и доластатина являются предпочтительными при конъюгировании включающем бис-линкеры настоящего патента. Ауристатины (например, ауристатин E (AE), ауристатин EB (AEB), ауристатин EFP (AEFP), монометилауристатин E (MMAE), монометилауристатин (MMAF), ауристатин F фенилендиамин (AFP) и 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. Структуры аналогов ауристатина являются предпочтительными в следующих формулах (Ih-01), (Ih-02), (Ih-03), (Ih-04), (Ih-05), (Ih-06) и (Ih- 07):



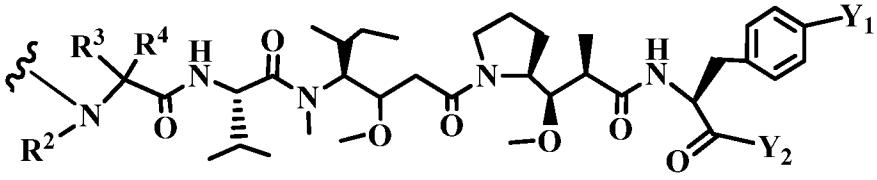
(Ih-01),



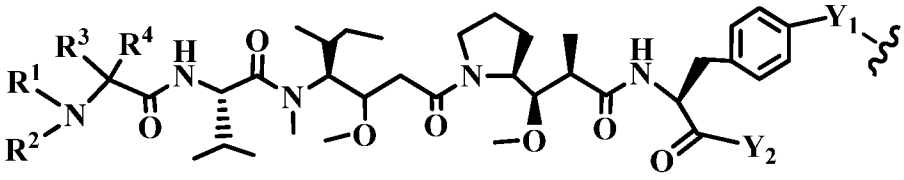
(Ih-02),



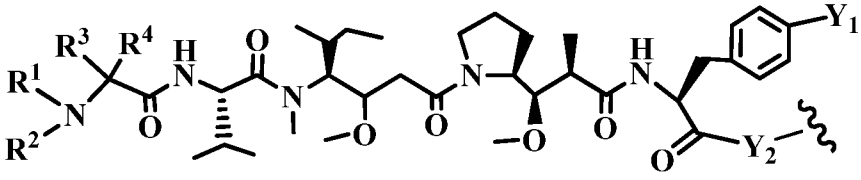
(Ih-03),



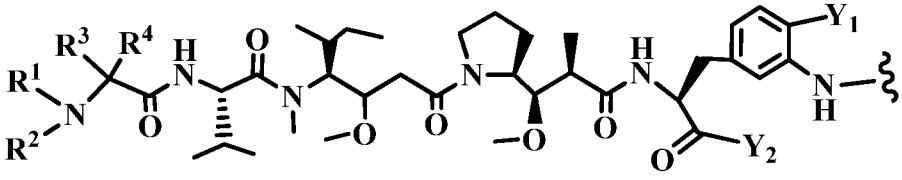
(Ih-04),



(Ih-05),



(Ih-06),



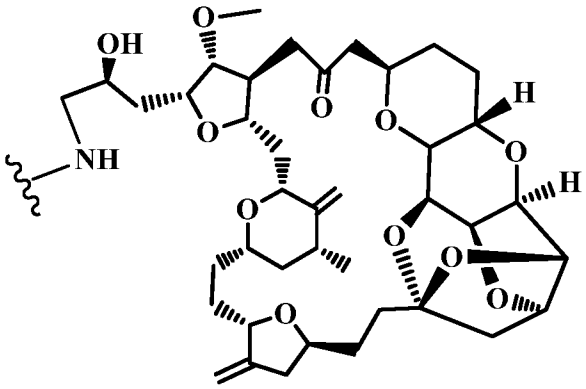
(Ih-07),

или изотоп одного или более химических элементов, или фармацевтически приемлемые соли, гидраты или гидратированные соли; или полиморфные кристаллические структуры этих соединений; или оптические изомеры, рацематы, диастереомеры или энантиомеры; где 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 группу, имеющую 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 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.д.), NH-гликозид, S-гликозид или CH_2-гликозид; M_1 и M_2 независимо представляют собой H, Na, K, Ca, Mg, NH_4, $NR_1R_2R_3$; 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, $OC(O)N(R_1)$, $N(R_1)C(O)N(R_2)$, C(O)NHNHC(O) и $C(O)NR_1$, когда связаны с сайтом связывания «∿»; или OH, NH_2, $NHNH_2$, NHR_5, SH, C(O)OH, $C(O)NH_2$, $OC(O)NH_2$, OC(O)OH, $NHC(O)NH_2$, NHC(O)SH, $OC(O)NH(R_1)$, $N(R_1)C(O)NH(R_2)$, C(O)NHNHC(O)OH и $C(O)NHR_1$ когда не связаны с сайтом связывания «∿»; 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 одинаковых или разных аминокисилот; p равно 1 -5000; R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2, и n представляют собой как описано выше.

Эрибулин, который связывается предпочтительно с малым числом высокоаффинных сайтов на плюсовых концах существующих микротрубочек, имеет оба цитотоксический и не-цитотоксический 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 антимитотическом действии, доклинические исследования на моделях рака груди человека показали, что эрибулин также оказывает комплексное воздействие на биологию выживших раковых

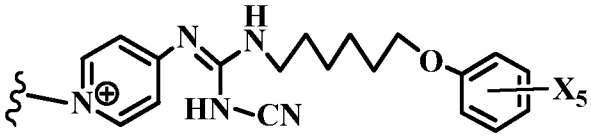
клеток и остаточных опухолей, которые, по-видимому, не связаны с его антимитотическим действием. Эрибулин был одобрен FDA США для лечения метастатического рака, которые ранее получали как минимум два режима химиотерапии для поздних стадий заболевания, включая химиотерапию на основе антрациклина и таксана, а также для лечения липосаркомы (специфический тип саркомы мягких тканей), которая не может быть удалена хирургическим путем (неоперабельная) или находится на поздней стадии (метастатическая). Ерибулин был использован в качестве полезной нагрузки для конъюгатов КАЛС (US20170252458). Эрибулин предпочтительно имеет структуру следующей формулы, Eb01:



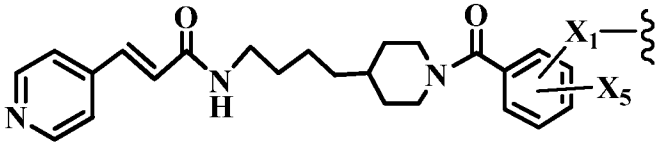
Eb01,

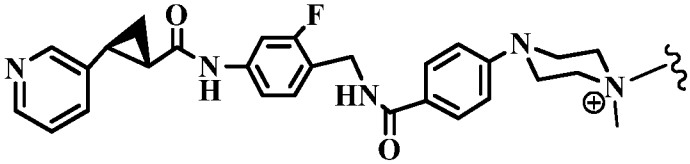
Ингибитор никотинамидфосфорибозилтрансфераз (NAMPT) может быть интересной полезной нагрузкой для КАЛС из-за его уникальных механизмов высокой активности (Sampath D, et al, Pharmacol Ther **2015**; 151, 16-31). NAMPT регулирует уровни никотинамидадениндинуклеотида (НАД) в клетках, где НАД играет роль важного окислительно-восстановительного кофактора для поддержки энергетического и анаболического метаболизма. НАД 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 НАД$^+$ для удаления ацетильных групп из белков. В дополнение к этим метаболическим функциям НАД$^+$ 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 он может играть важную внеклеточную роль (Billington R. A, et al, Mol Med. 2006, 12, 324–7). Когда присутствуют ингибиторы NAMPT, уровни НАД снижаются ниже уровня, необходимого для метаболизма, что приводит к энергетическому кризису и, следовательно, к гибели клеток. К настоящему времени клинические кандидаты в ингибиторы NAMPT FK-866,

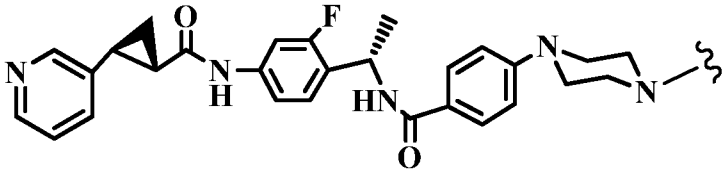
CHS-828 и GMX-1777 прошли клинические испытания, но каждый из них столкнулся с ограничивающей дозу токсичностью до появления каких-либо объективных ответов (Holen K., et al, Invest New Drugs 2008, 26, 45-51; Hovstadius, P., et al, Clin Cancer Res 2002, 8, 2843-50; Pishvaian, M. J., et al, J Clin Oncol 2009, 27, 3581). Таким образом, использование КАЛС для нацеленной доставки ингибиторов NAMPT может обойти системную токсичность для достижения гораздо более широкого терапевтического индекса. Предпочтительны структуры ингибиторов NAMPT имеют следующие формулы: NP01, NP02, NP03, NP04, NP05, NP06, NP07, NP08 и NP09:

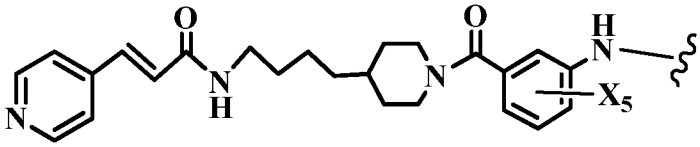

NP01,


NP02,


NP03,

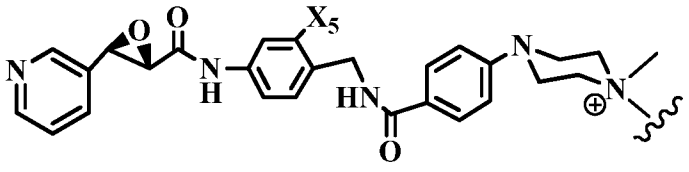

NP04,


NP05,


NP06,


NP07,

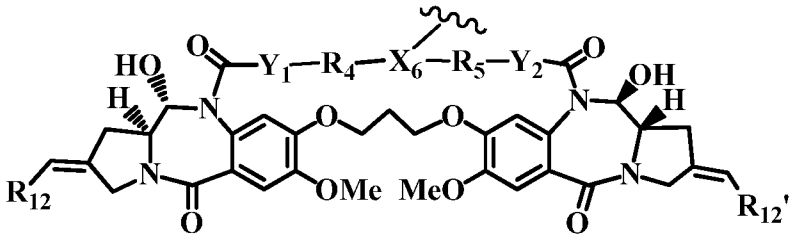

NP08,



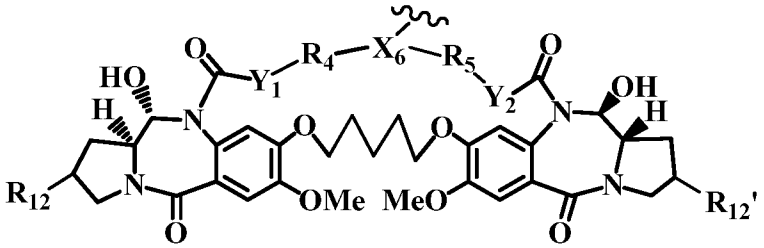
NP09,

или изотоп одного или более химических элементов, или фармацевтически приемлемые соли, гидраты или гидратированные соли; или полиморфные кристаллические структуры этих соединений; или оптические изомеры, рацематы, диастереомеры или энантиомеры; при этом «∿∿» является таким, как описано выше; X_5 представляет собой F, Cl, Br, I, OH, OR_1, R_1, OPO_3H_2, OSO_3H, NHR_1, $OCOR_1$, $NHCOR_1$.

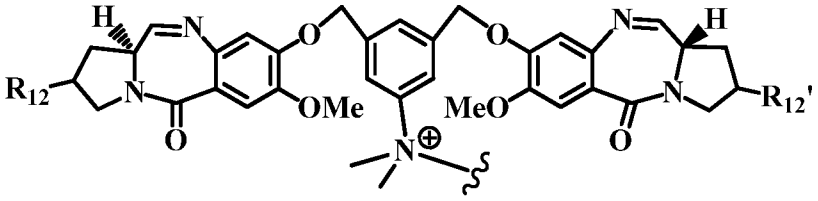
Димер бензодиазепина и его аналог: (например, димер пирролобензодиазепина (ПБД) или (томаймицин), индолинобензодиазепин, имидазобензотиадиазепин или оксазолидинобензодиазепины), который является предпочтительным цитотоксическим агентом согласно настоящему изобретению, представлен в следующих примерах: 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; 6344451; 5880122; 4935362; 4764616; 4761412; 4723007; 4723003; 4683230; 4663453; 4508647; 4464467; 4427587; 4000304; патентные заявки США 20100203007, 20100316656, 20030195196. Примеры структур конъюгата антитело-димер бензодиазепина через данный линкер проиллюстрированы ниже PB01, PB02, PB03, PB04, PB05, PB06, PB07, PB08, PB09, PB10, PB11, PB12, PB13, PB14, PB15 и PB16.



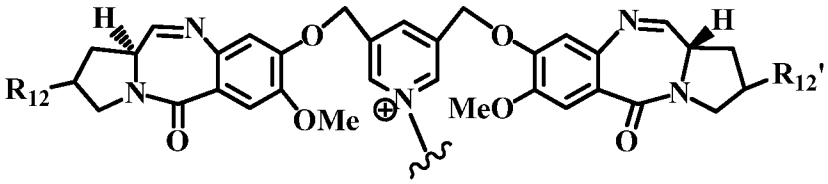
PB01,



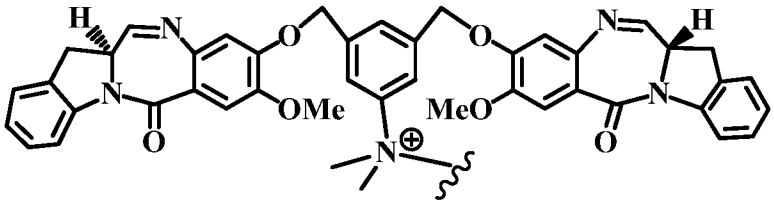
PB02,



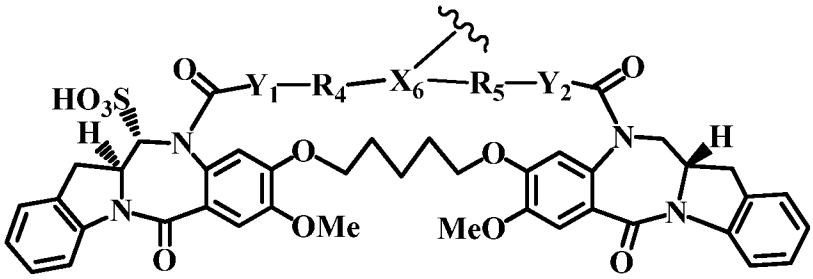
PB03,



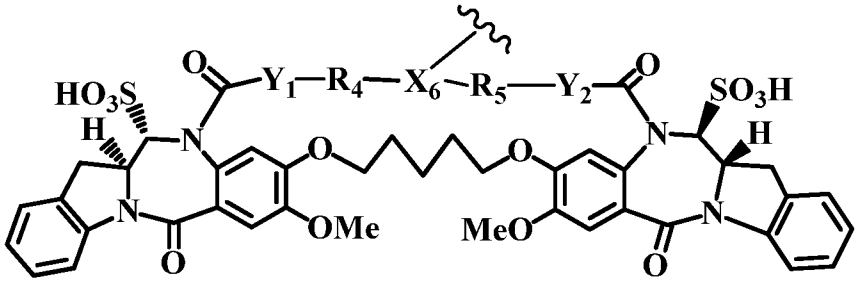
PB04,



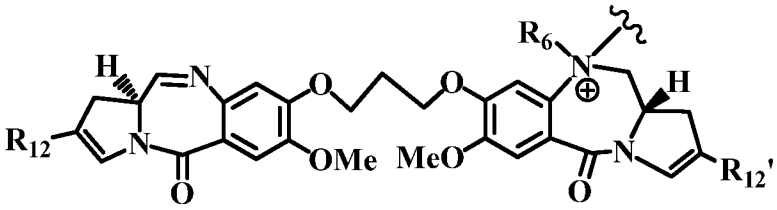
PB05,



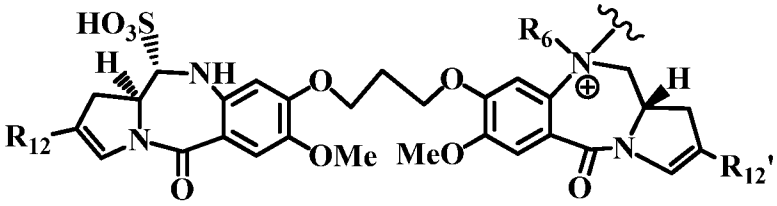
PB06,



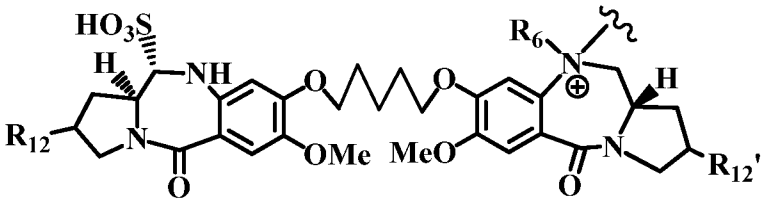
PB07,



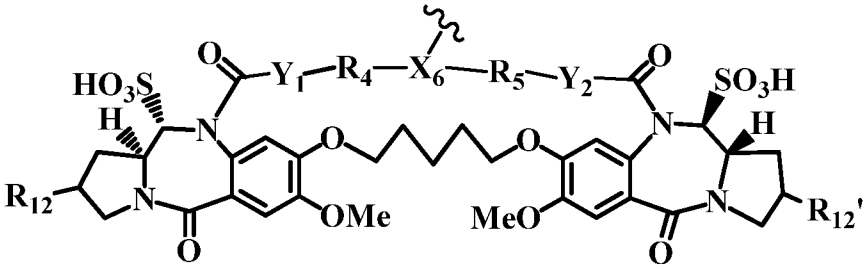
PB08,



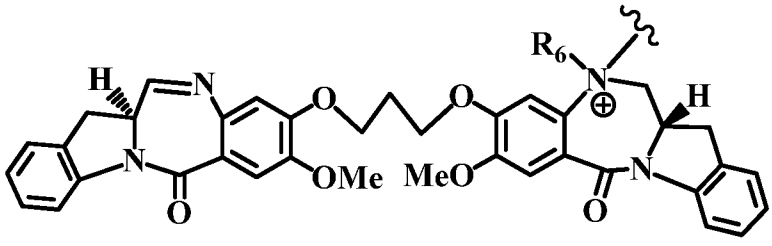
PB09,



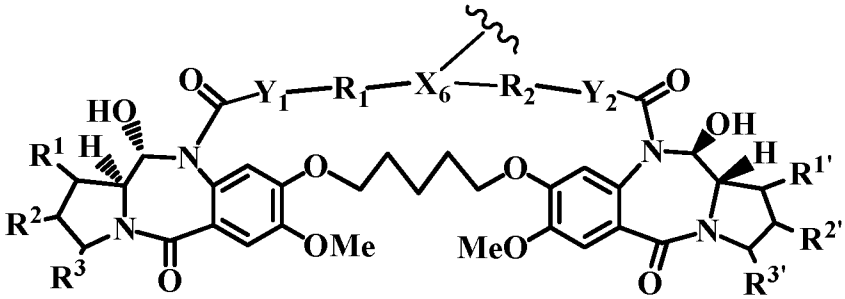
PB10,



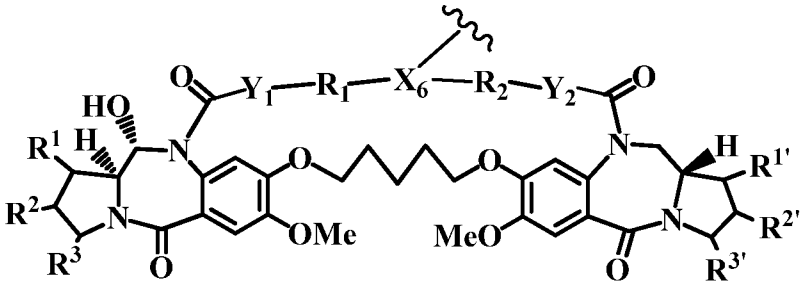
PB11,



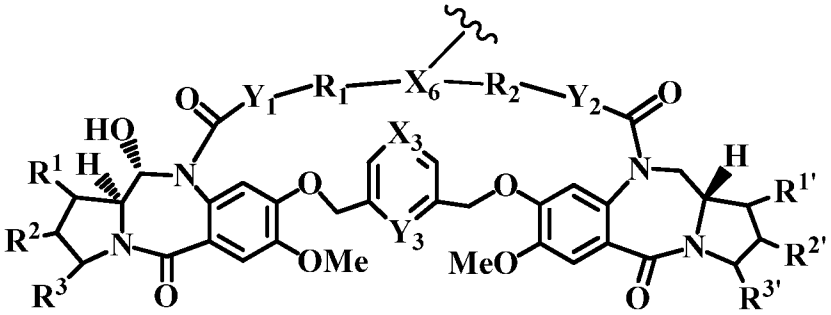
PB12,



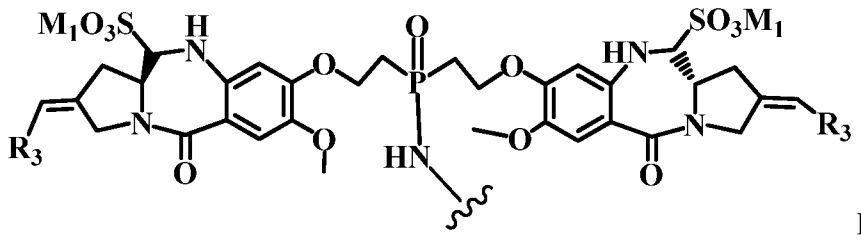
PB13,



PB14,



PB15,

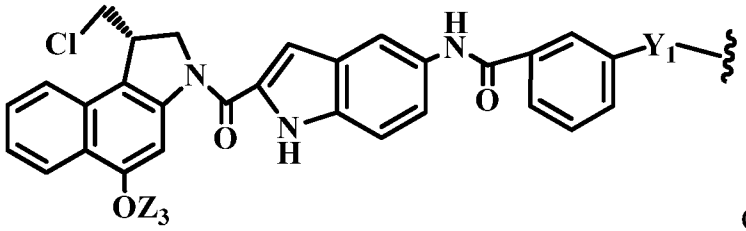


PB16,

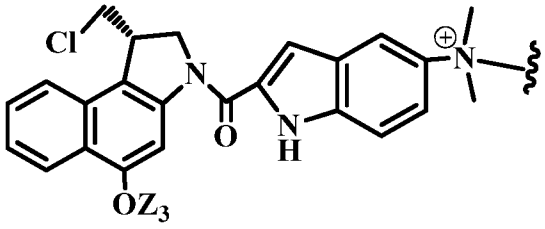
или изотоп одного или более химических элементов, или фармацевтически приемлемые соли, гидраты или гидратированные соли; или полиморфные кристаллические структуры этих соединений; или оптические изомеры, рацематы, диастереомеры или энантиомеры; где X_1, X_2, Y_1, Y_2, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2 и n определены 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) and 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 является целым числом 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_4, 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, $NR_1R_2R_3$.

Аналог 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,

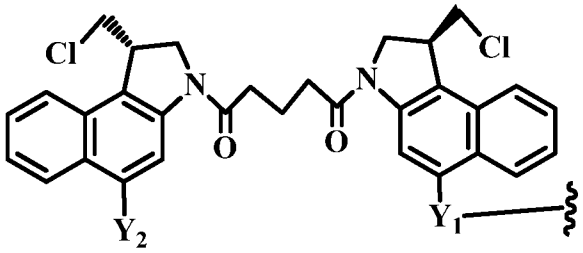
5569825, 5571698, 5573922, 5580717, 5585089, 5585499, 5587161, 5595499, 5606017, 5622929, 5625126, 5629430, 5633425, 5641780, 5660829, 5661016, 5686237, 5693762, 5703080, 5712374, 5714586, 5739116, 5739350, 5770429, 5773001, 5773435, 5786377 5786486, 5789650, 5814318, 5846545, 5874299, 5877296, 5877397, 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. Примерами структур конъюгата антитело-аналоги CC-1065 связанных через линкер настоящего патента проиллюстрированы ниже CC01, CC02, CC03, CC04, CC05, CC06 и CC07:



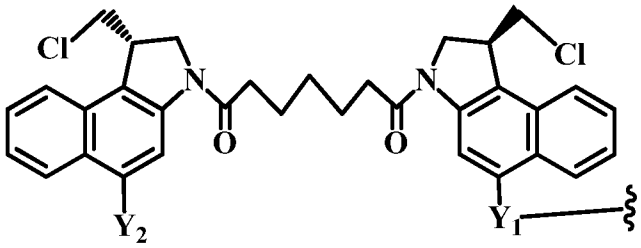
CC01,



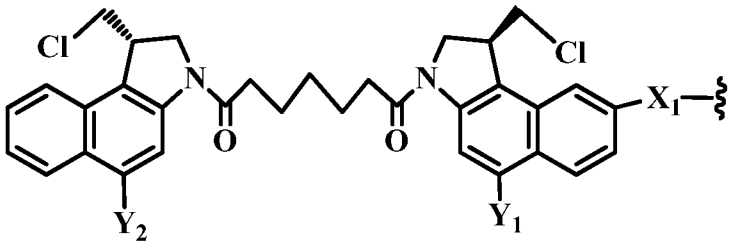
CC02,



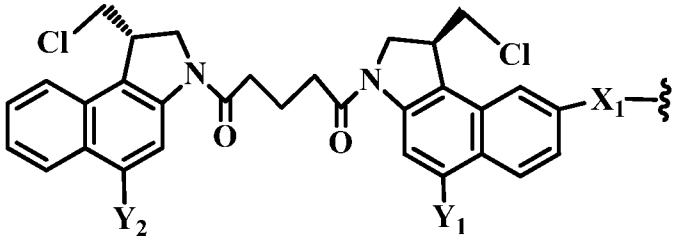
CC03,



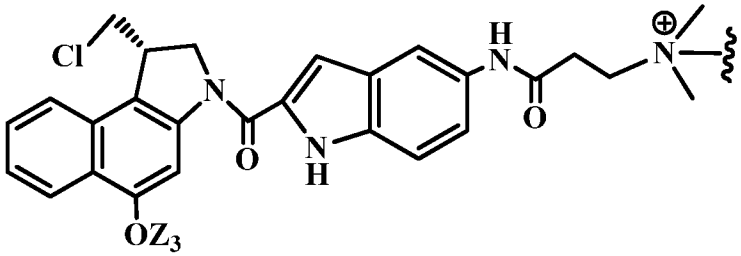
CC04,



CC05,



CC06,

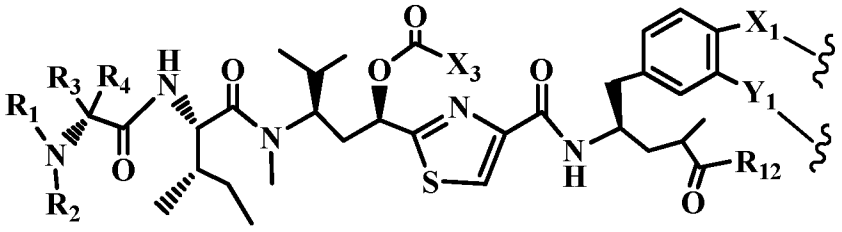


CC07,

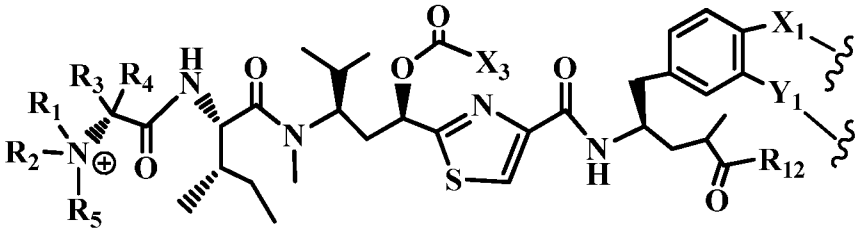
где X_1, X_2, Y_1 и Y_2 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_5, S, C(O)O, C(O)NH, OC(O)NH, OC(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)S, OC(O)N(R_1), N(R_1)C(O)N(R_2), C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1, когда связаны с участком связывания « ∿∿ »; или OH, NH_2, $NHNH_2$, NH_1, SH, C(O)OH, C(O)NH_2, OC(O)NH_2, OC(O)OH, NHC(O)NH_2, NHC(O)SH, OC(O)NH(R_1), N(R_1)C(O)NH(R_2), C(O)NHNHC(O)OH и C(O)NH_1, когда не связаны с участком связывания « ∿∿ »; 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_1 или гликозид; где R_1, R_2, R_3, M_1, M_2 и n такие как, определено выше;

Тубулизин и его аналоги, 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; 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; 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.

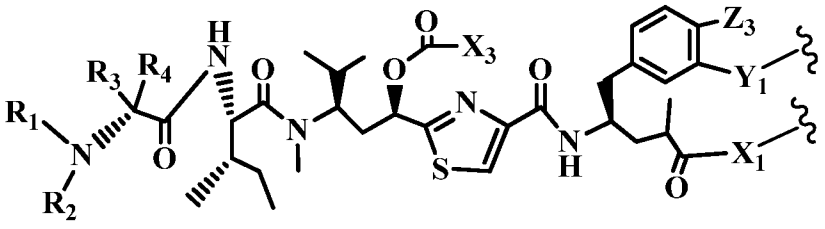
Angew Chem Int Ed Engl, 2007, 46, 3526-9; Domling, A., et al., Angew Chem Int Ed Engl, 2006, 45, 7235-9; Patent applications: Zanda, M., et al, Can. Pat. Appl. CA 2710693 (2011); Chai, Y., et al. Eur. Pat. Appl. 2174947 (2010), WO 2010034724; Leamon, C. et al, WO2010033733, WO 2009002993; Ellman, J., 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 клеточно-связывающих молекул, описаны в патентной заявке PCT/IB2012/053554. Примерами структур конъюгатов антитело-аналони тубулизина связанных через линкер являются Tb01, Tb02, Tb03, Tb04, Tb05, Tb06 Tb07, Tb08, Tb09 и T10 проиллюстрированные ниже:



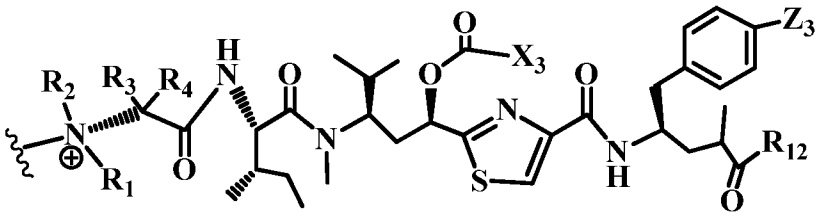
Tb01,



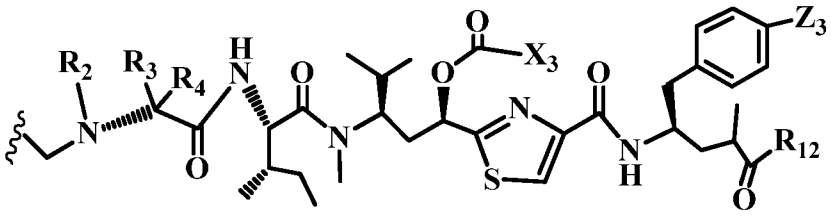
Tb02,



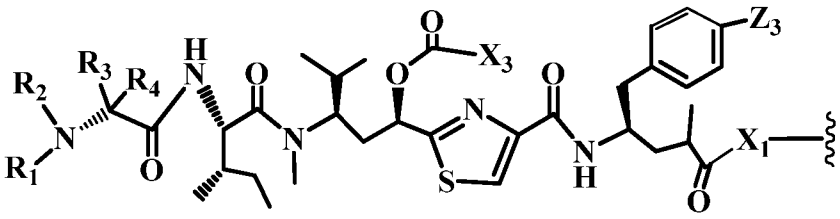
Tb03,



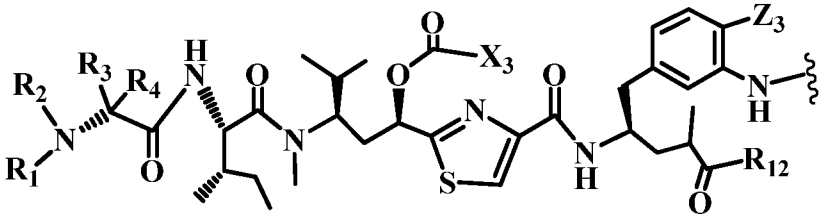
Tb04,



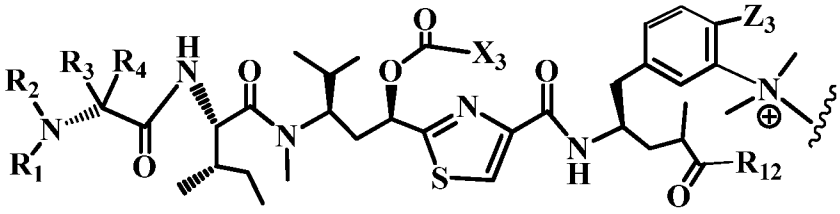
Tb05,



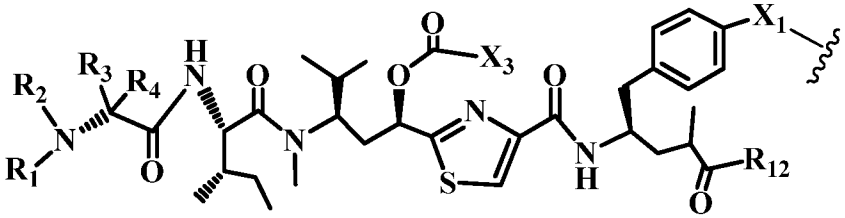
Tb06,



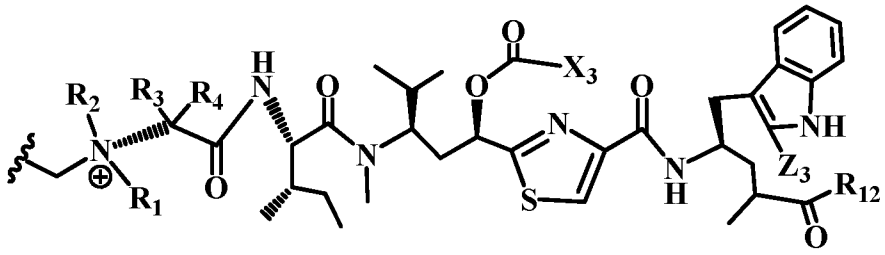
Tb07,



Tb08,



Tb09,



Tb10,

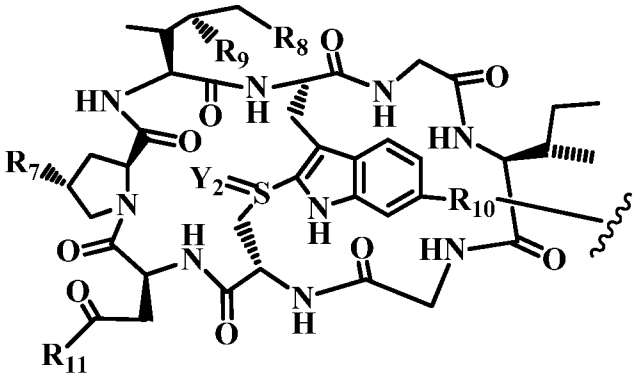
или изотоп одного или более химических элементов, или фармацевтически приемлемые соли, гидраты или гидратированные соли; или полиморфные кристаллические структуры этих соединений; или оптические изомеры, рацематы, диастереомеры или энантиомеры; где

X_1 и Y_1 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 $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$ где Aa представляет собой 1-8 аминокислот; n и m_1 независимо представляют собой 1-20; p равно 1-5000; предпочтительно R_1, R_1', R_2, R_3, и R_4 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 полиэтиленоксигруппу имеющую формулу $(OCH_2CH_2)_p$ или $(OCH_2CH(CH_3))_p$, где p является целым числом 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_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, $NR_1R_2R_3$.

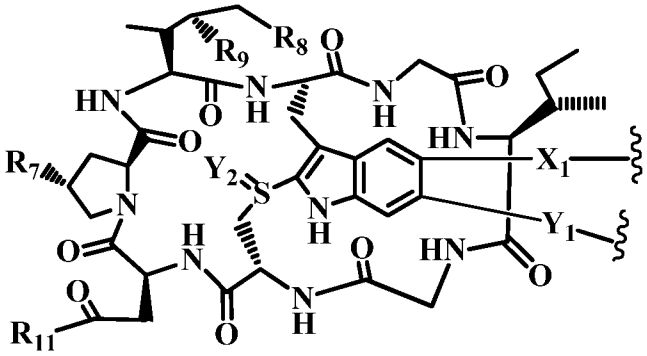
Аматоксин его аналоги, которые представляют собой подгруппу по меньшей мере из десяти токсических соединений, первоначально найденных в нескольких родах ядовитых грибов, в частности Amanita phalloides и некоторых других видов грибов, также являются предпочтительными для конъюгирования согласно настоящего патента. Указанные десять аматоксинов, называемых α-аманитином, β-аманитином, γ-аманитином, ε-аманитином,

амануллином, амануллиновой кислотой, аманинамидом, аманином, проамануллином, 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.*). Amatoxins can be* produced *from collected Amanita phalloides mushrooms (*Yocum, R. R. 1978 Biochemistry 17(18): 3786-9; *Zhang, P. et al, 2005, FEMS Microbiol. Lett.252(2), 223-8), or from fermentation using a basidiomycete (Muraoka, S. and Shinozawa T., 2000 J. Biosci. Bioeng. 89(1): 73-6) or from fermentation using 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

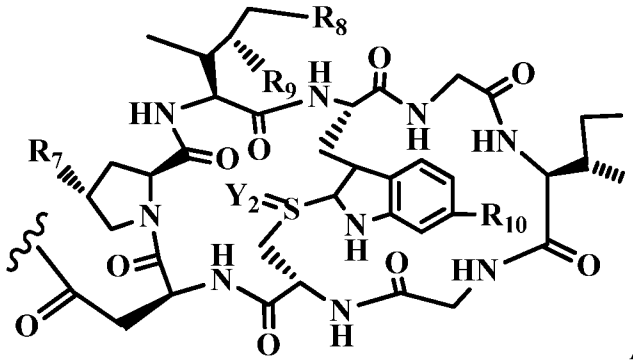
Lett, 2010. 12(16): 3582-5; Luo, H., et al., Chem Biol, 2014. 21(12): 1610-7; Zhao, L., et al., Chembiochem, 2015. 16(10): 1420-5) и большая часть этих способов являлась частичным синтезом. Из-за их чрезвычайно сильной активности и уникального механизма цитотоксичности, аматоксины использовались в качестве 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. Примерами структур конъюгата антитело-аматоксины, связанных через линкер, являются предпочтительными в качестве следующих структур Am01, Am02 и Am03:



Am01,



Am02,

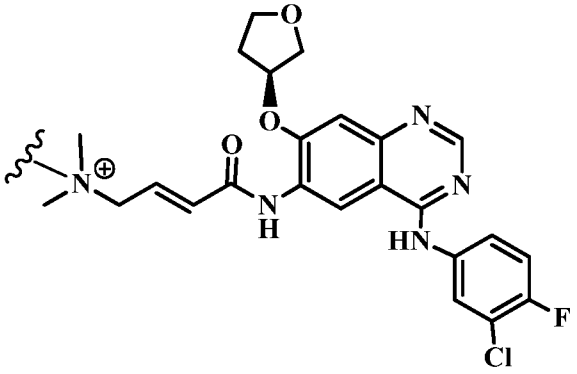


Am03,

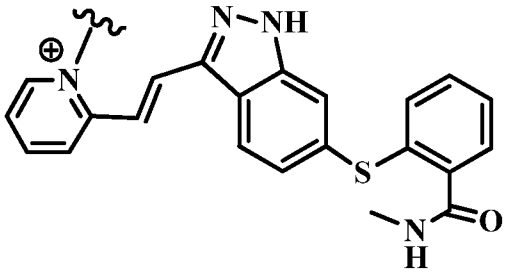
или изотоп одного или более химических элементов, или фармацевтически приемлемые соли, гидраты или гидратированные соли; или полиморфные кристаллические структуры этих соединений; или оптические изомеры, рацематы, диастереомеры или энантиомеры; где X_1 и Y_1 независимо представляют собой O, NH, NHNH, 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_7, R_8 и R_9 независимо представляют собой H, OH, OR_1, NH_2, NH_2, 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, NH_2, NH_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-$NHSO_3H$, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, 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-$R_1$-$NHPO_3H_2$ или $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, где $(Aa)_r$ представляет собой 1-8 аминокислот; n и m_1 независимо равны 1-20; p равен 1 -5000; R_1 и Ar является, как определено в Формуле (I).

Ингибиторы протеинкиназ, которые блокируют активность фермента по добавлению фосфатной группы (PO_4) к серину, треонину или тирозину на белке, и могут модулировать функцию белка. Ингибиторы протеинкиназ можно использовать для лечения заболеваний, вызванных гиперактивными протеинкиназами (включая мутантные или сверхэкспрессированные киназы) при онкологическом заболевании, или для модуляции функций клеток с целью преодоления других факторов заболевания. Структуры ингибиторов протеинкиназ предпочтительнее выбирать из адавосертиба, афатиниба, акситиниба, бафетиниба, бозутиниба, кобиметиниба, кризотиниба, кабозантиниба, дазатиниба, энтректиниба, эрдафитиниба, эрлотиниба, эрлотиниба, фостаматиниба, гефитиниба, ибрутиниба, иматиниба, лапатиниба, ленватиниба, мубритиниба, нилотиниб,

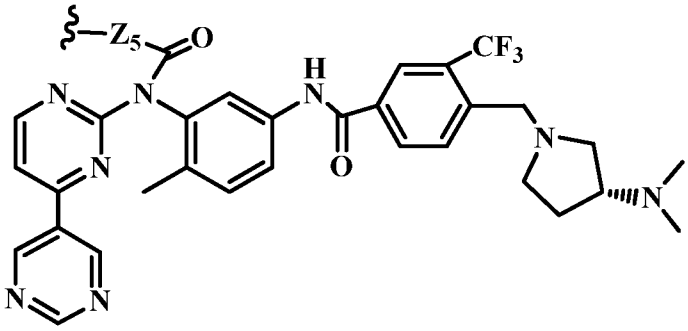
пазопаниба, пегаптаниба, понатиниба, ребастиниба, регорафениба, руксолитиниба, сорафениба, сунитиниба, SU6656, тофацитиниба, вандетаниба и вемурафениба, имеющих следующую формулу, PK01 ~ PK29:



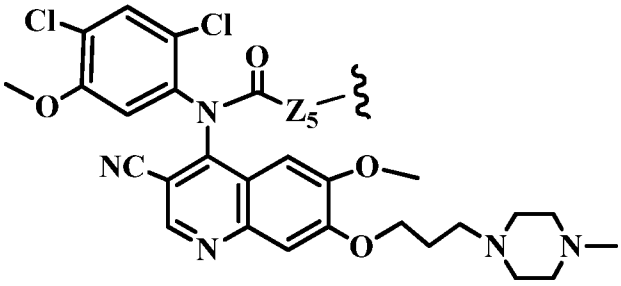
PK01, **Афатиниб**,



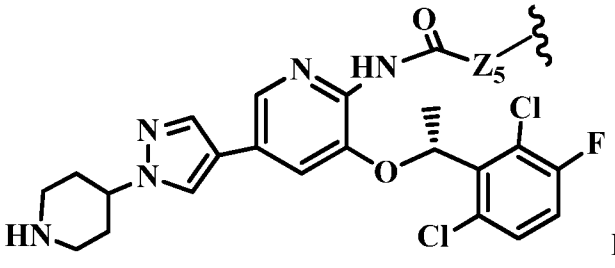
PK02, **Акситиниб,**



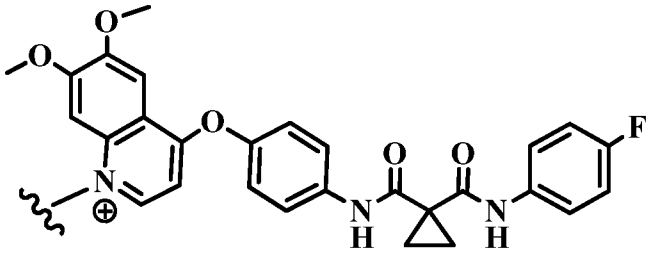
PK03, Бафетиниб



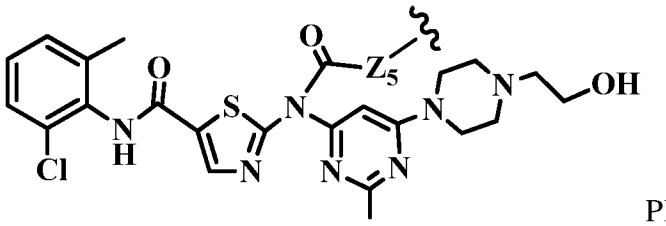
PK04, **Бозутиниб,**



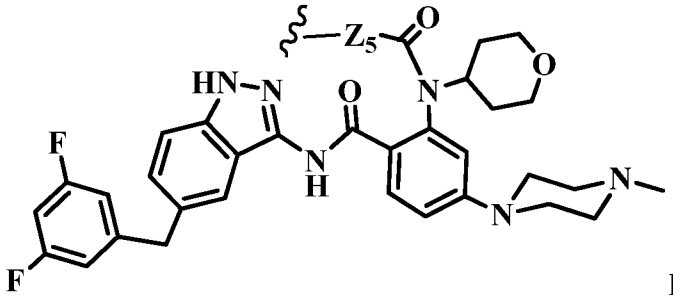
PK05, **Кризотиниб,**



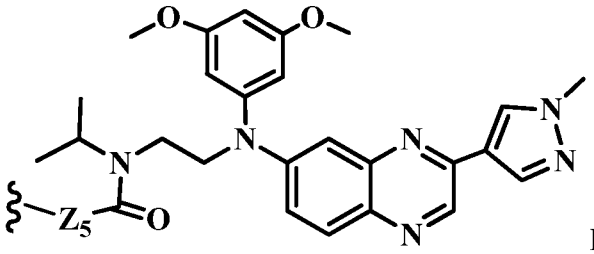
РК06, **Кабозантиниб,**



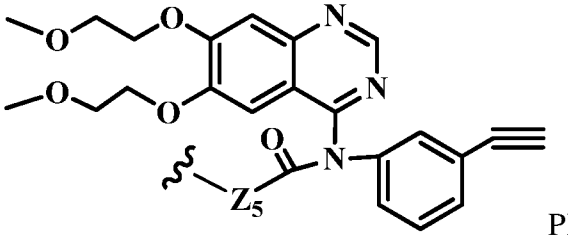
РК07, **Дазатиниб,**



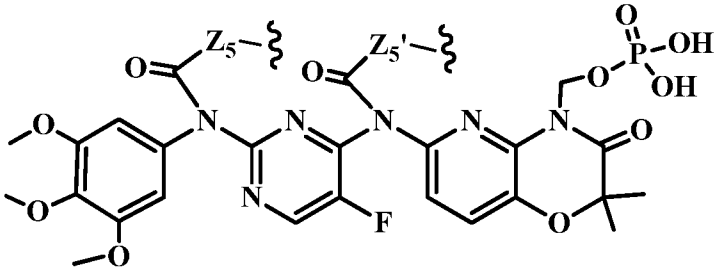
РК08, **Энтректиниб,**



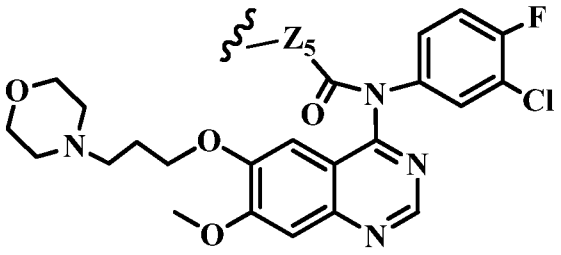
РК09, **Эрдафитиниб,**



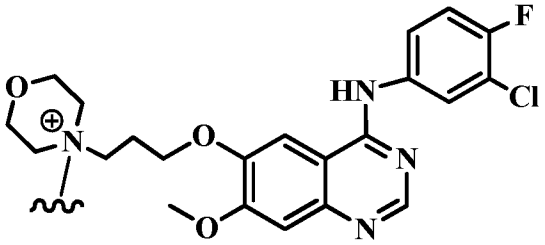
РК10, **Эрлотиниб,**



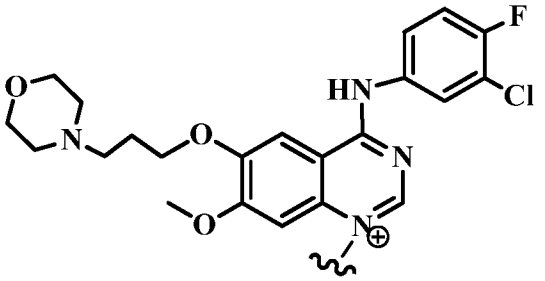
РК11, **Фостаматиниб,**



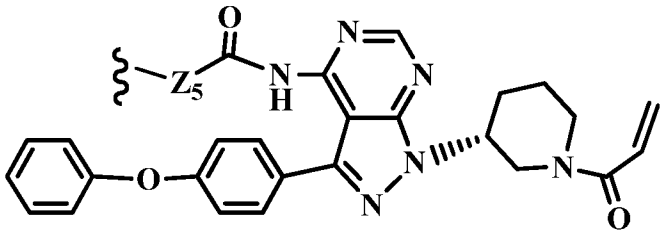
РК12, **Гефитиниб,**



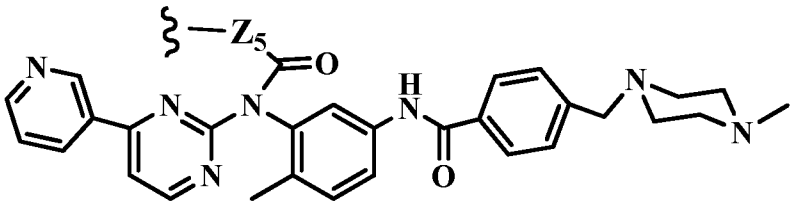
РК13, **Гефитиниб,**



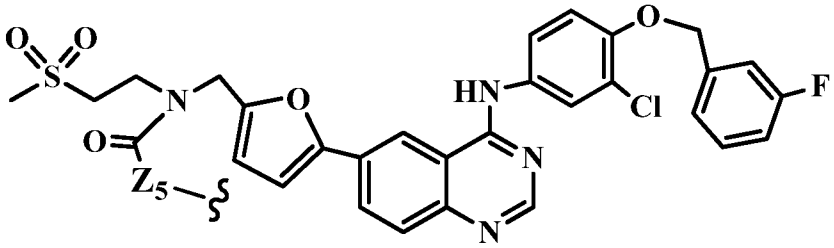
РК14, **Гефитиниб,**



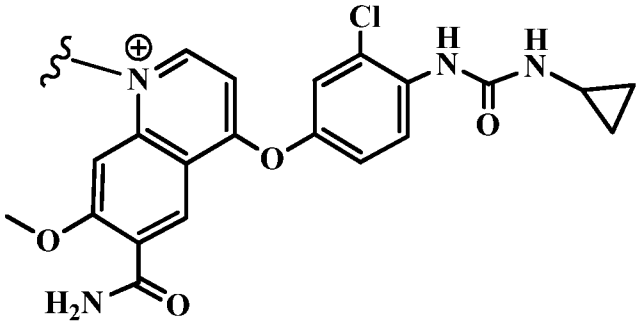
РК15, Ибрутиниб,



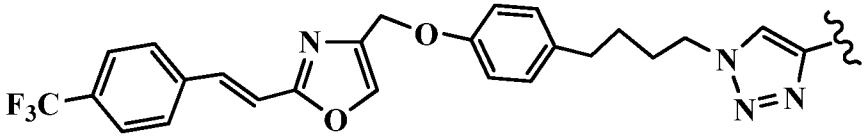
РК16, Иматиниб,



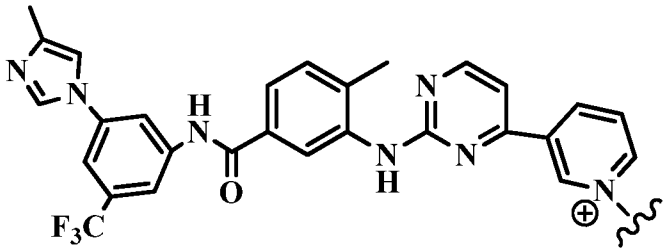
РК17, Лапатиниб,



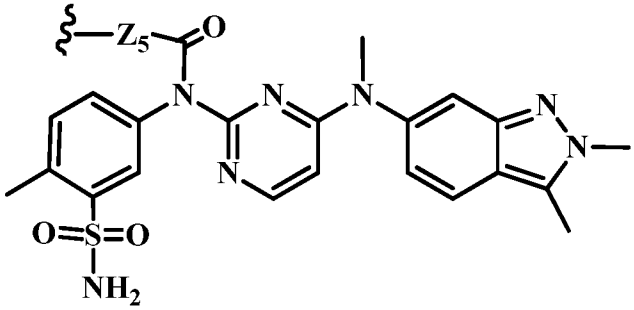
PK18, Ленватиниб,



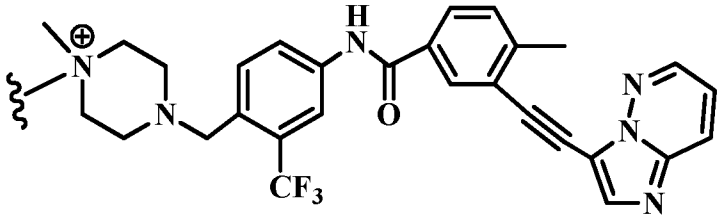
PK19, Мубритиниб,



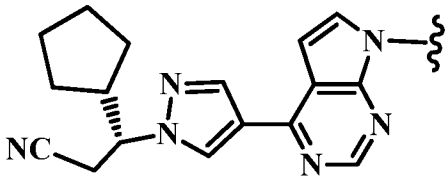
PK20, Нилотиниб,



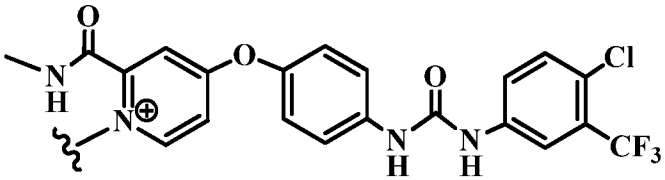
PK21, Пазопаниб,



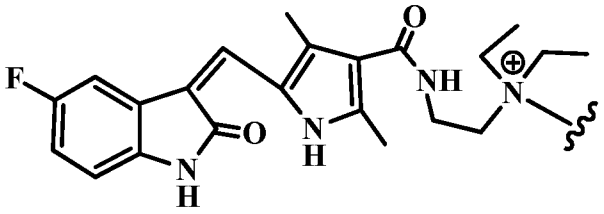
PK22, Понатиниб,



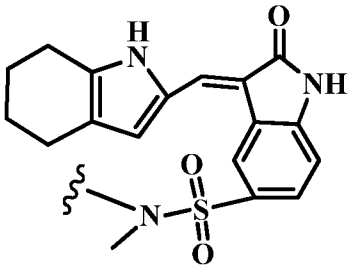
PK23, Руксолитиниб,



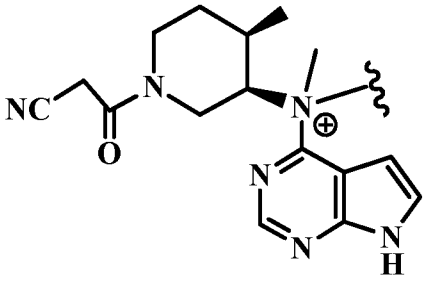
PK24, Сорафениб,



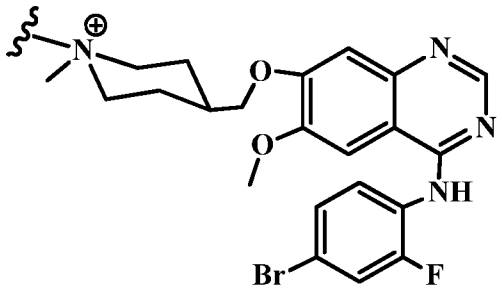
РК25, Сунитиниб,



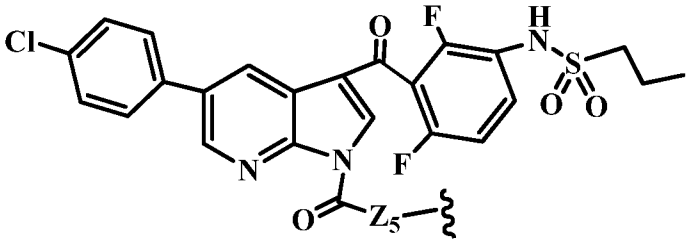
РК26, SU6656,



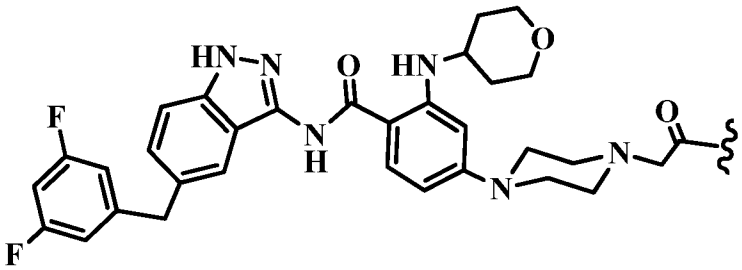
РК27, Тофацитиниб,



РК28, Вандетаниб,



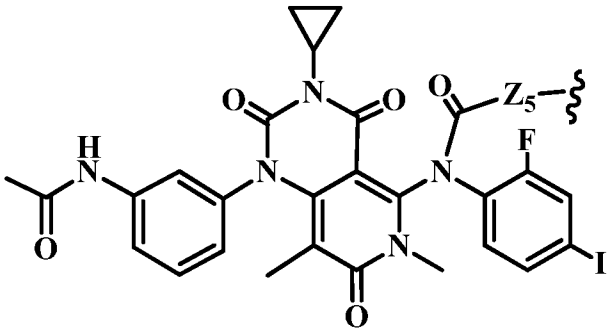
РК29, Вемурафениб;



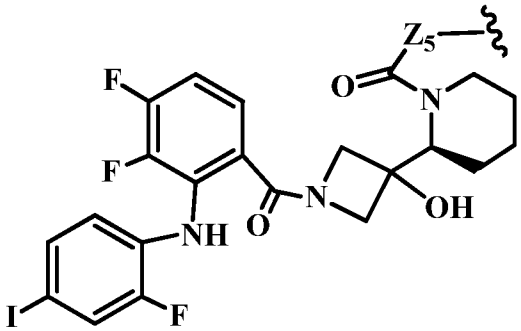
РК 30, Энтректиниб;

Ингибитор МЕК ингибирует митоген-активируемые протеинкиназы МЕК1 и/или МЕК2, которые часто обладают повышенной активностью при некоторых видах онкологических заболеваний. Ингибиторы МЕК особенно используются для лечения меланомы с мутацией

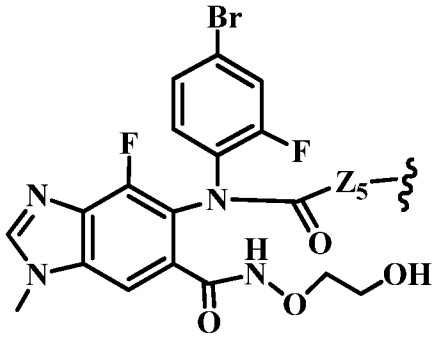
BRAF, колоректального рака с мутацией KRAS/BRAF, рака молочной железы и немелкоклеточного рака легких (НМРЛ). Ингибиторы MEK выбраны из PD0325901, селуметиниба (AZD6244), кобиметиниба (XL518), рефаметиниба, траметиниба (GSK1120212), пимасертиба, биниметиниба (MEK162), AZD8330, RO4987655, RO5126766, WX-554, E6201, GDC-0623, PD-325901 и TAK-733. Предпочтительные ингибиторы MEK выбраны из траметиниба (GSK1120212), кобиметиниба (XL518), биниметиниба (MEK162), селуметиниба, имеющих следующую формулу:



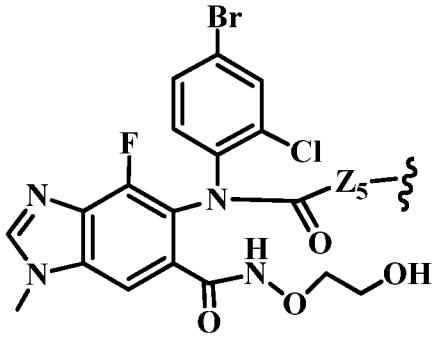
MEK01, траметиниб,



MEK02, кобиметиниб,



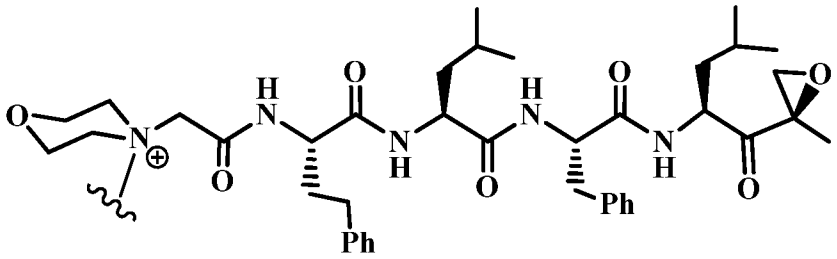
MEK03, биниметиниб,



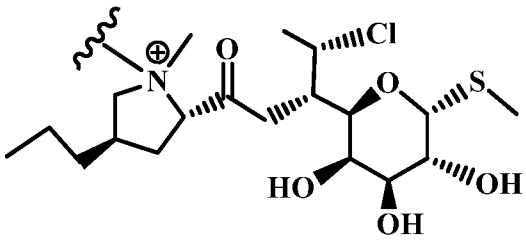
MEK04, селуметиниб,

где Z_5 выбран из O, NH, NHNH, NR_5, S, C(O)O, C(O)NH, OC(O)NH, OC(O)O, NHC(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)S, OC(O)N(R_1), N(R_1)C(O)N(R_2), C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1;

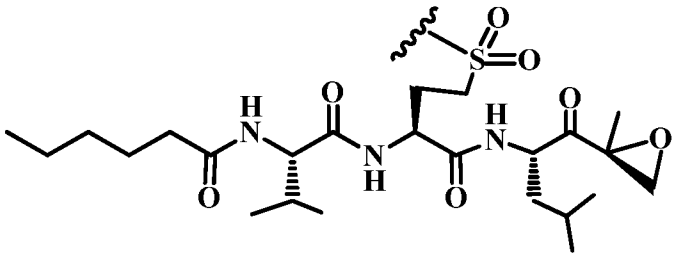
Ингибитор протеиназы, используемый в качестве полезной нагрузки, предпочтительно выбирают из: карфилзомиб, клиндамицин, ретапамулин, индибулин, как показано в следующих структурах:



PI01, карфилзомиб,



PI02, клиндамицин,

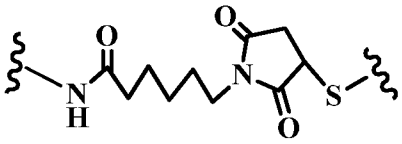
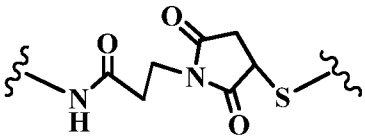


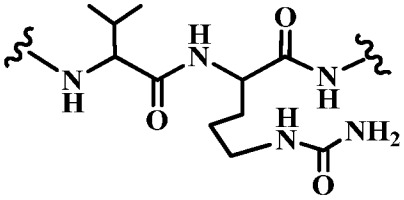
PI03, аналог кармафицина,

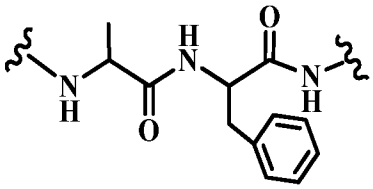
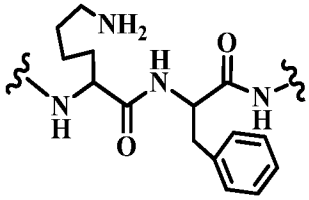
Иммунотоксин в данном описании представляет собой макромолекулярное лекарственное средство, которое обычно представляет собой цитотоксический белок, полученный из бактериального или растительного белка, такого как дифтерийный токсин (DT), холерный токсин (CT), трихосантин (TCS), диантин, экзотоксин Pseudomonas 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 сконструирован для избирательной активации ферментом в простате, что приводит к локальной гибели клеток и разрушению тканей без повреждения соседних тканей и нервов; иммунотоксин в данном документе предпочтительно конъюгирован через линкер боковой цепи документа через аминокислоту, имеющую свободную амино, тиольную или

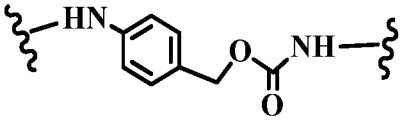
карбоксильную кислотную группу; и более предпочтительно через N-концевую аминокислоту.

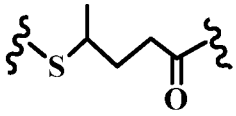
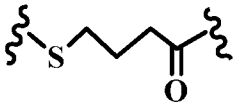
Кроме того, W, L_1, L_2, V_1 и V_2 могут независимо состоять из одного или более линкерных компонентов 6-малеимидокапроила («MC»), малеимидопропаноила («MP»), валин-цитруллина («val-cit» или «vc»), аланин-фенилаланина («ala-phe» или «af»), п-аминобензилоксикарбонила («PAB»), 4-тиопентаноата («SPP»), 4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилата («MCC»), (4-ацетил)аминобензоата («SIAB»), 4 -тиобутирата (SPDB), 4-тио-2-гидроксисульфонилбутирата (2-сульфо-SPDB), как в показанных ниже структурах или природных или неприродных пептидах, содержащих 1~12 природных или неприродных аминокислотных звеньев. 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;

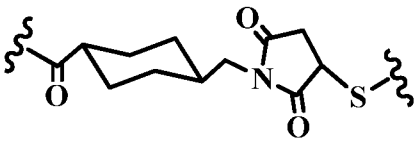

6-малеимидокапроила (MC),


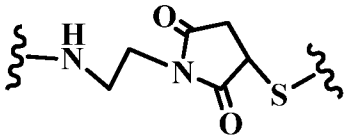
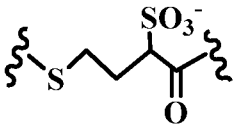
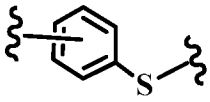
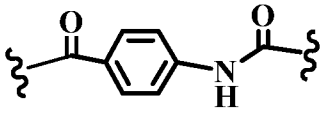
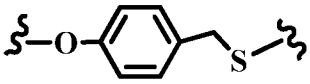
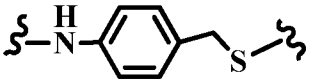
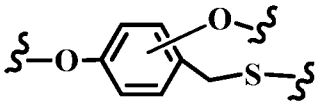
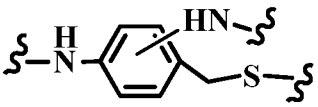
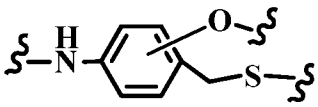
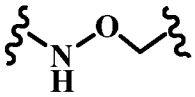
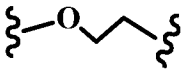
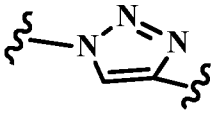
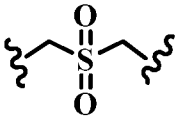
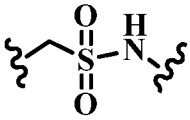
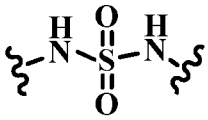
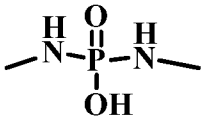
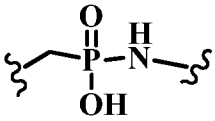
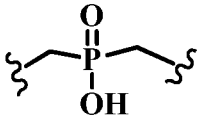
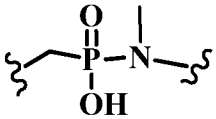
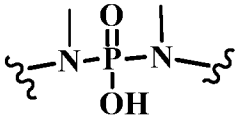
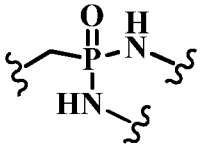
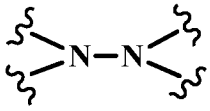
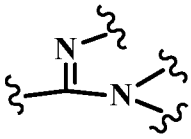
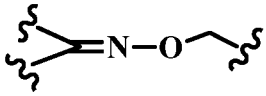
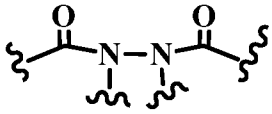

малеимидопропаноила (MP), валин-цитруллина (val-cit),

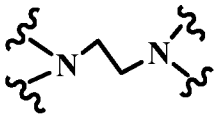

аланин-фенилаланина (ala-phe),

лизин-фенилаланина (lys-phe),

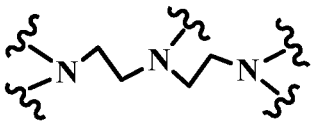

п-аминобензилоксикарбонила (PAB),

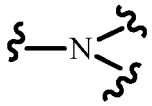

4-тиопентаноата (SPP),

4-тиобутирата (SPDB),

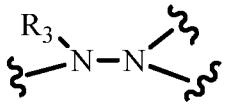

4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилата (MCC),

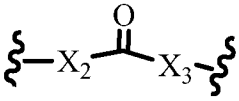

малеимидоэтила (ME), 
4-тио-2-гидроксисульфонилбутирата (2-сульфо-SPDB), 
арилтиола (PySS), 
(4-ацетил)аминобензоата (SIAB), 
оксилбензилтио, 
аминобензилтио, 
диоксилбензилтио, 
диаминобензилтио, 
аминооксилбензилтио, 
алкоксиамино (AOA), 
этиленокси (EO), 
4-метил-4-дитиопентаноила (MPDP), 
триазола, 
дитио, 
алкилсульфонила, 
алкилсульфонамида, 
сульфонбисамида, 
фосфондиамида, 
алкилфосфонамида, 
фосфиновой кислоты, 
N-метилфосфонамидной кислоты, 
N,N’-диметилфосфонамидной кислоты, 
N,N’-диметилфосфонамида, 
гидразина, 
ацетимидамида; 
оксима, 
ацетилацетогидразида,

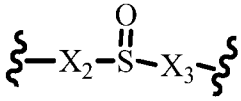


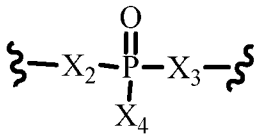


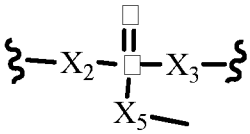


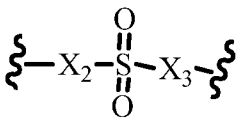


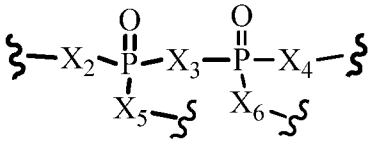


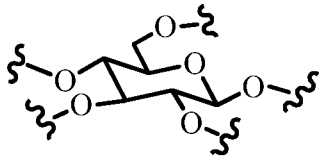


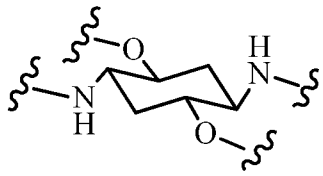


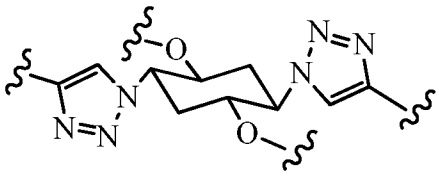


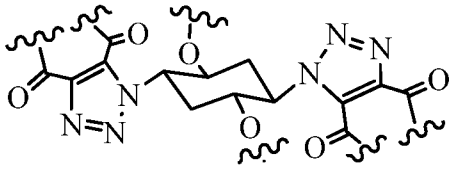


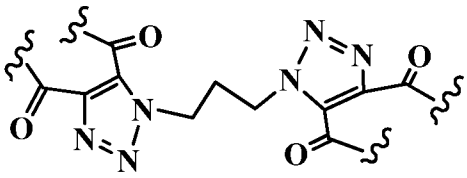


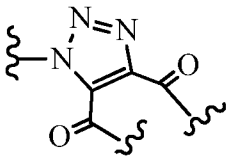


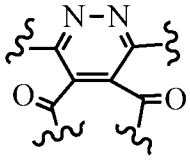


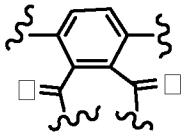


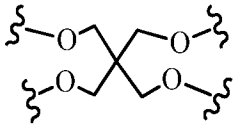


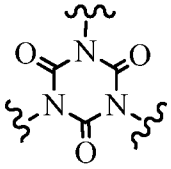


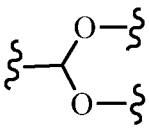


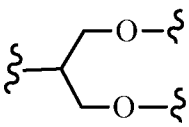


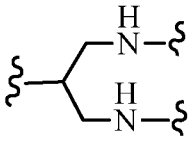


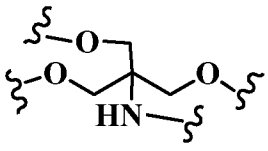


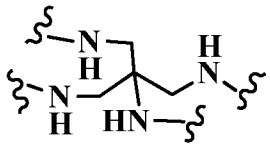


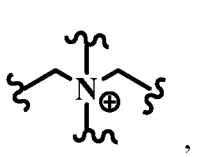


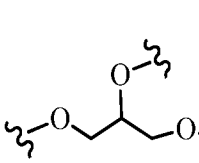


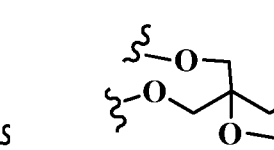


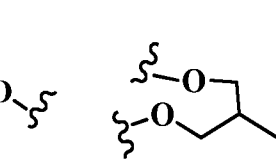


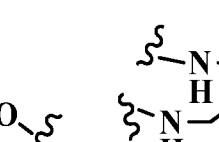


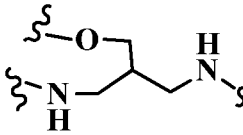


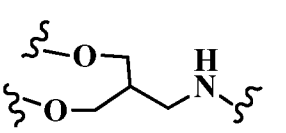


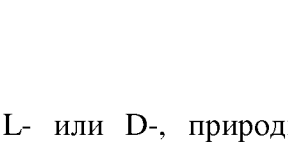


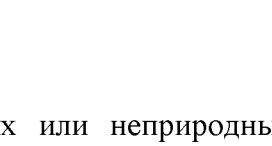


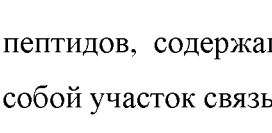


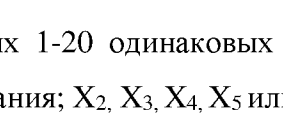












 аминоэтиламина, аминоэтиламиноэтиламина,

, , , , ,

, , , ,

, ,

, , ,

, , , , , ,

, , , , ,

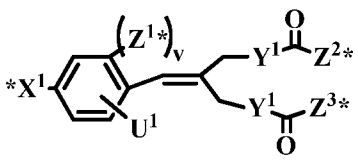
, , , ,

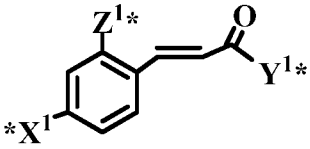
, и L- или D-, природных или неприродных пептидов, содержащих 1-20 одинаковых или разных аминокислот; где $\S$ представляет собой участок связывания; X_2, X_3, X_4, X_5 или X_6 независимо выбраны из NH; NHNH; $N(R_{12})$; $N(R_{12})N(R_{12'})$; O; S; C_1-C_6 алкила; C_2-C_6 гетероалкила, алкилциклоалкила, гетероциклоалкила; C_3-C_8 арила, Ar-алкила, гетероциклила, карбоциклила, циклоалкила, гетероалкилциклоалкила, алкилкарбонила, гетероарила; CH_2OR_{12}, CH_2SR_{12}, CH_2NHR_{12} или

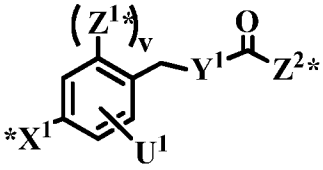
1 ~ 8 аминокислот; причем R_{12} и $R_{12'}$ независимо представляют собой H; C_1-C_8 алкил; C_2-C_8 гетероалкил, алкилциклоалкил, гетероциклоалкил; C_3-C_8 арил, Ar-алкил, гетероциклил, карбоциклил, циклоалкил, гетероалкилциклоалкил, алкилкарбонил, гетероарил; или сложные эфиры, простой эфир или амид с 1-8 атомами углерода; или полиэтиленоксигруппу формулы $(OCH_2CH_2)_p$ или $(OCH_2CH(CH_3))_p$, при этом p представляет собой целое число от 0 до около 1000 или их комбинацию вышеуказанного;

W, L_1, L_2 V_1 и V_2 могут также независимо содержать саморасщепляющийся или несаморасщепляющийся компонент, пептидные звенья, гидразоновую связь, дисульфидную, сложноэфирную, оксимную, амидную или тиоэфирную связь. Саморасщепляющийся фрагмент включает, без ограничений, 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;

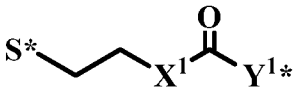
Предпочтительно, саморасщепляющийся линкерный компонент имеет одну из следующих структур:

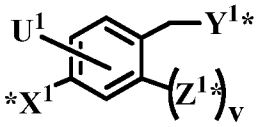




;


;.

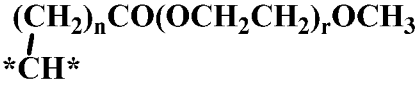


; или


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_1, OR_1, SR_1, COX_1R_1 где X_1 и R_1 являются такими, как определено выше; v равен 0 или 1; U^1 независимо представляет собой 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 солей катионов;

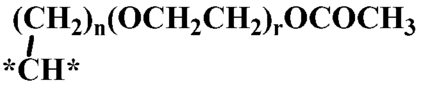
W, L_1, L_2 V_1 и V_2 могут также независимо содержать несаморасщепляющийся линкерный компонент, имеющий одну из следующих структур:

$*(CH_2CH_2O)_r*$;



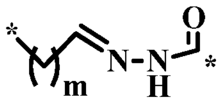
$\overset{(CH_2)_nCO(OCH_2CH_2)_rOCH_3}{*CH*}$;

$\overset{(CH_2)_nCON(CH_2CH_2O)_rCOCH_3}{*CH*}$;

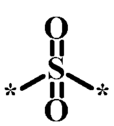


$\overset{(CH_2)_n(OCH_2CH_2)_rOCOCH_3}{*CH*}$;

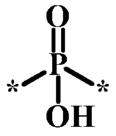
$\overset{(CH_2)_nCO(OCH_2CH_2)_rOCOCH_3}{*CH*}$;



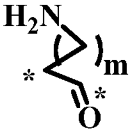
;



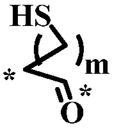
;



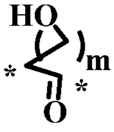
;



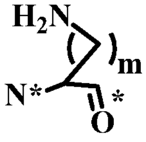
;



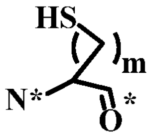
;



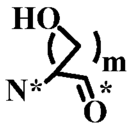
;



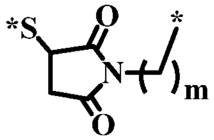
;



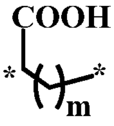
;



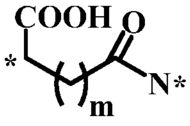
;



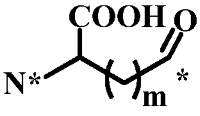
;



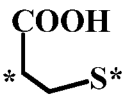
;



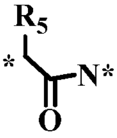
;



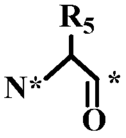
;



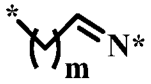
;



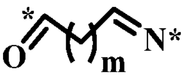
;



;



;

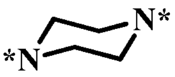


;

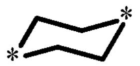
;

;

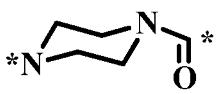
;



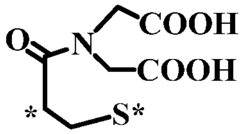
;



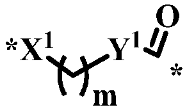
;



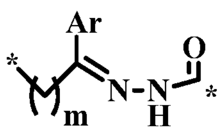
;



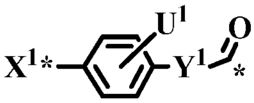
;



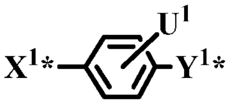
;



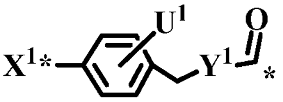
;



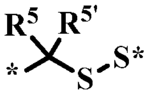
;



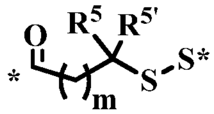
;



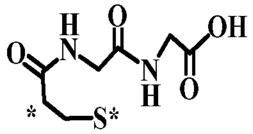
;



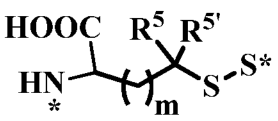
;



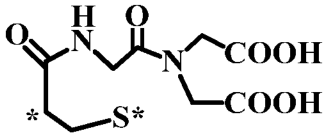
;



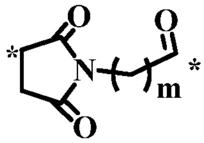
;



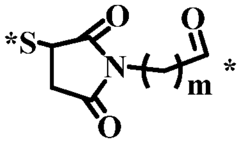
;



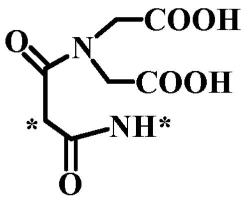
;



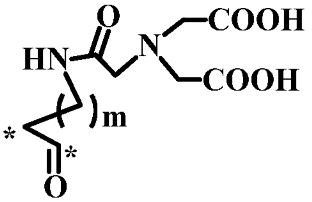
;



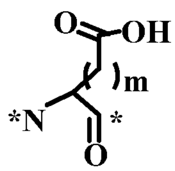
;



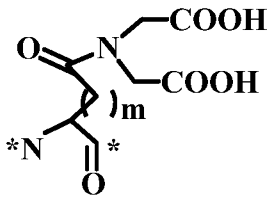
;



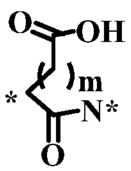
;



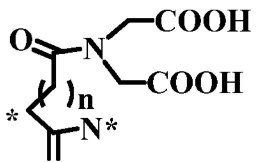
;



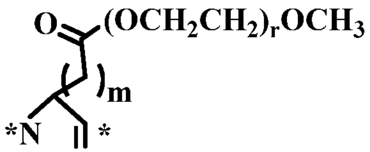
;



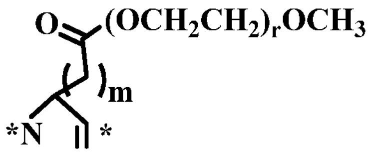
;



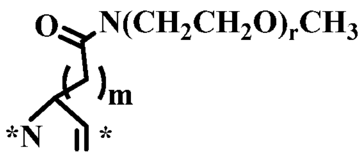
;



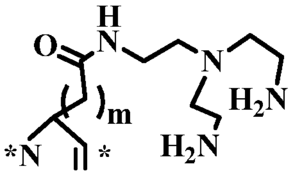
;



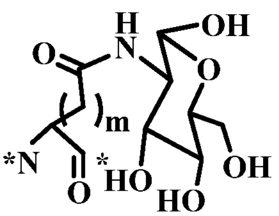
;



;

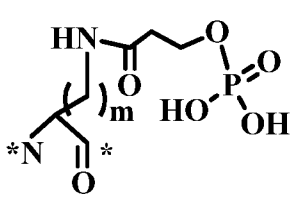
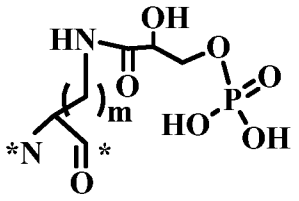
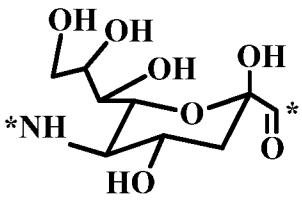
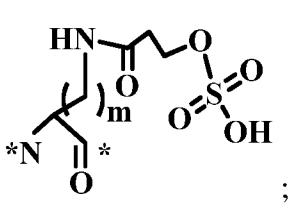
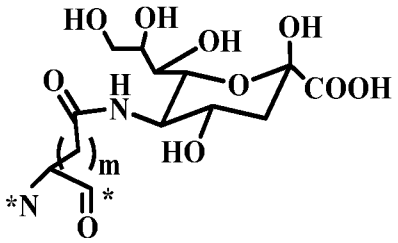
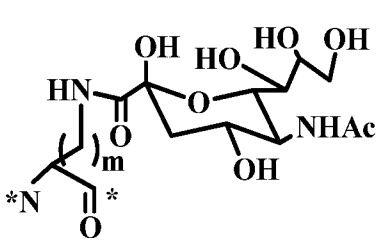
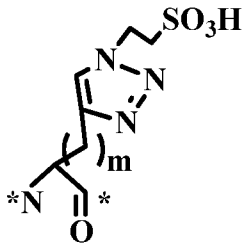
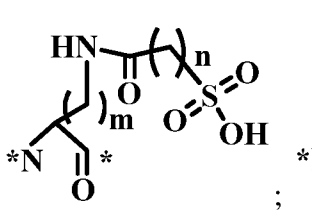
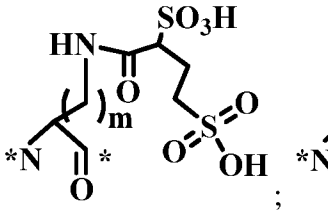
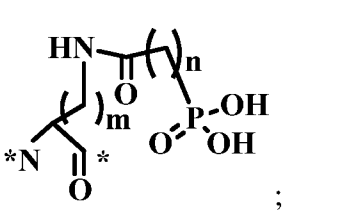


;



;

;


;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

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;

Кроме того, предпочтительно, чтобы W, L_1, L_2 V_1 и V_2 могли независимо представлять собой высвобождаемый линкерный компонент. Термин «высвобождаемый» относится к линкеру, который включает по меньшей мере одну связь, которая может быть разорвана в физиологических условиях, таких как pH-лабильная, кислотно-лабильная, щелочно-лабильная, окислительно-лабильная, метаболически лабильная, биохимически лабильная или фермент-лабильная связь. Понятно, что такие физиологические условия, приводящие к разрыву связи, необязательно включают биологический или метаболический процесс и вместо этого могут включать стандартную химическую реакцию, такую как реакция гидролиза или замещения, например, эндосома, имеющая более низкий pH, чем цитозольный pH и/или реакцию обмена дисульфидной связи с внутриклеточным тиолом, таким как миллимолярный диапазон избытка глутатиона внутри злокачественных клеток;

Примеры высвобождаемых компонентов W, L_1, L_2, V_1 и V_2 независимо включают, без ограничений:

$-(CR_{15}R_{16})_m(Aar)r(CR_{17}R_{18})_n(OCH_2CH_2)_t-$, $-(CR_{15}R_{16})_m(CR_{17}R_{18})_n(Aa)_r(OCH_2CH_2)_t-$, $-(Aa)_r-(CR_{15}R_{16})_m(CR_{17}R_{18})_n(OCH_2CH_2)_t-$, $-(CR_{15}R_{16})_m(CR_{17}R_{18})_n(OCH_2CH_2)_r(Aa)_t-$, $-(CR_{15}R_{16})_m(CR_{17}=CR_{18})(CR_{19}R_{20})_n(Aa)_t(OCH_2CH_2)_r-$, $-(CR_{15}R_{16})_m(NR_{11}CO)(Aa)_t(CR_{19}R_{20})_n-(OCH_2CH_2)_r-$, $-(CR_{15}R_{16})_m(Aa)_t(NR_{21}CO)(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r-$, $-(CR_{15}R_{16})_m(OCO)(Aa)_t-$

$(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_{15}R_{16})_m(OCNR_{17})(Aa)_t(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_{15}R_{16})_m$-$(CO)(Aa)_t$-$(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_{15}R_{16})_m(NR_{21}CO)(Aa)_t(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_{15}R_{16})_m$-$(OCO)(Aa)_t(CR_{19}R_{20})_n$-$(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_{15}R_{16})_m(OCNR_{17})(Aa)_t(CR_{19}R_{20})_n$-$(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_{15}R_{16})_m(CO)(Aa)_t(CR_{19}R_{20})_n$-$(OCH_2CH_2)_r$-, -$(CR_{15}R_{16})_m$-фенил-$CO(Aa)_t$-$(CR_{17}R_{18})_n$-, -$(CR_{15}R_{16})_m$-фурил-$CO(Aa)_t(CR_{17}R_{18})_n$-, -$(CR_{15}R_{16})_m$-оксазолил-$CO(Aa)_t(CR_{17}R_{18})_n$-, -$(CR_{15}R_{16})_m$-тиазолил-$CO(Aa)_t(CCR_{17}R_{18})_n$-, -$(CR_{15}R_{16})_t$-тиенил-$CO(CR_{17}R_{18})_n$-, -$(CR_{15}R_{16})_t$-имидазол-CO-$(CR_{17}R_{18})_n$-, -$(CR_{15}R_{16})_t$-морфолино-$CO(Aa)_t$-$(CR_{17}R_{18})_n$-, -$(CR_{15}R_{16})_t$-пиперазино-$CO(Aa)_t(CR_{17}R_{18})_n$-, -$(CR_{15}R_{16})_t$-N-метилпиперазин-$CO(Aa)_t(CR_{17}R_{18})_n$-, -$(CR_{15}R_{16})_m$-$(Aa)_t$фенил-, -$(CR_{15}R_{16})_m$-$(Aa)_t$фурил-, -$(CR_{15}R_{16})_m$-оксазолил$(Aa)_t$-, -$(CR_{15}R_{16})_m$-тиазолил$(Aa)_t$-, -$(CR_{15}R_{16})_m$-тиенил-$(Aa)_t$-, -$(CR_{15}R_{16})_m$-имидазол$(Aa)_t$-, -$(CR_{15}R_{16})_m$-морфолино-$(Aa)_t$-, -$(CR_{15}R_{16})_m$-пиперазино-$(Aa)_t$-, -$(CR_{15}R_{16})_m$-N-метилпиперазино-$(Aa)_t$-,

-$K(CR_{15}R_{16})_m(Aa)r(CR_{17}R_{18})_n(OCH_2CH_2)_t$-, -$K(CR_{15}R_{16})_m(CR_{17}R_{18})_n(Aa)_r(OCH_2CH_2)_t$-, -$K(Aa)_r$-$(CR_{15}R_{16})_m(CR_{17}R_{18})_n(OCH_2CH_2)_t$-, -$K(CR_{15}R_{16})_m(CR_{17}R_{18})_n(OCH_2CH_2)_r(Aa)_t$-, -$K(CR_{15}R_{16})_m(CR_{17}=CR_{18})(CR_{19}R_{20})_n(Aa)_t(OCH_2CH_2)_r$, -$K(CR_{15}R_{16})_m(NR_{11}CO)(Aa)_t$-$(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$K(CR_{15}R_{16})_m(Aa)_t(NR_{21}CO)(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$K(CR_{15}R_{16})_m(O$-$CO)(Aa)_t(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$K(CR_{15}R_{16})_m(OCNR_{17})(Aa)_t(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$K(CR_{15}R_{16})_m(CO)(Aa)_t$-$(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$K(CR_{15}R_{16})_m(NR_{21}CO)(Aa)_t(CR_{19}R_{20})_n$-$(OCH_2CH_2)_r$-, -$K(CR_{15}R_{16})_m$-$(OCO)(Aa)_t(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$K(CR_{15}R_{16})_m(OCNR_{17})(Aa)_t$-$(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -K-$(CR_{15}R_{16})_m(CO)(Aa)_t(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -$K(CR_{15}R_{16})_m$-фенил-$CO(Aa)_t(CR_{17}R_{18})_n$-, -K-$(CR_{15}R_{16})_m$-фурил-$CO(Aa)_t(CR_{17}R_{18})_n$-, -$K(CR_{15}R_{16})_m$-оксазолил-$CO(Aa)_t(CR_{17}R_{18})_n$-, -$K(CR_{15}R_{16})_m$-тиазолил-$CO(Aa)_t$-$(CR_{17}R_{18})_n$-, -$K(CR_{15}R_{16})_t$-тиенил-$CO(CR_{17}R_{18})_n$-, -$K(CR_{15}R_{16})_t$имидазол-CO-$(CR_{17}R_{18})_n$-, -$K(CR_5R_6)_t$морфолино-$CO(Aa)_t$-$(CR_{17}R_{18})_n$-, -$K(CR_{15}R_{16})_t$-пиперазино-$CO(Aa)_t$-$(CR_{17}R_{18})_n$-, -$K(CR_{15}R_{16})_t$-N-метилпиперазино-$CO(Aa)_t(CR_{17}R_{18})_n$-, -$K(CR_{15}R_{16})_m$-$(Aa)_t$фенил, -K-$(CR_{15}R_{16})_m$-$(Aa)_t$фурил-, -$K(CR_{15}R_{16})_m$-оксазолил-$(Aa)_t$-, -$K(CR_{15}R_{16})_m$-тиазолил$(Aa)_t$-, -$K(CR_{15}R_{16})_m$-тиенил-$(Aa)_t$-, -$K(CR_{15}R_{16})_m$-имидазол$(Aa)_t$-, -$K(CR_{15}R_{16})_m$-морфолино$(Aa)_t$-, -$K(CR_{15}R_{16})_m$пиперазино$(Aa)_tG$, -$K(CR_{15}R_{16})_m$

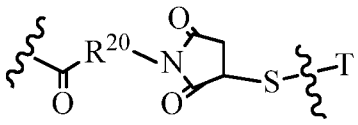
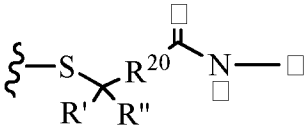
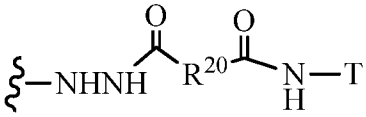
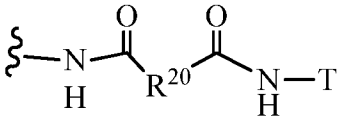
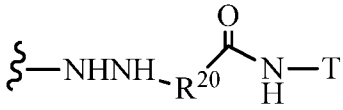
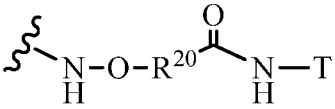
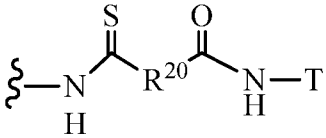
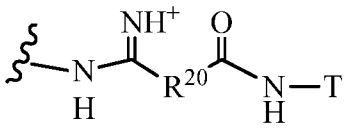
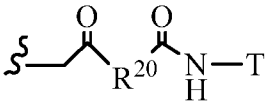
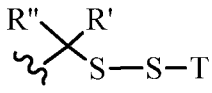
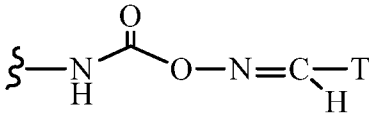
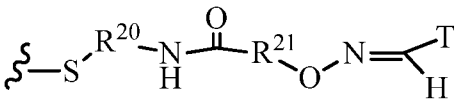
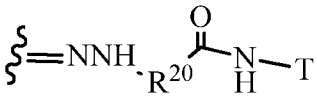
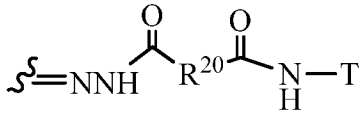
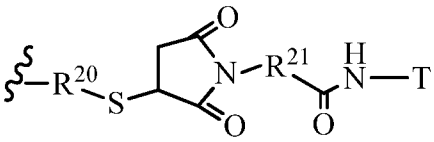
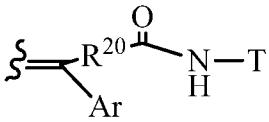
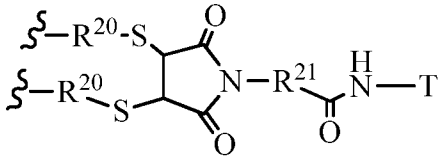
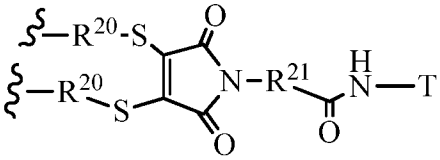
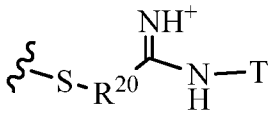
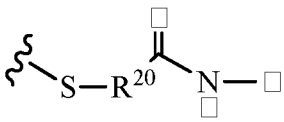
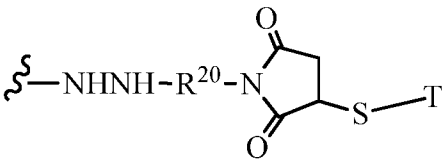
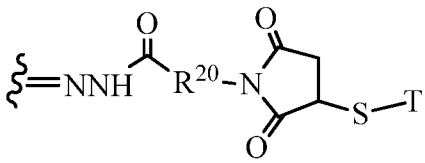
-N-метилпиперазино$(Aa)_t$-; где m, Aa, n, R_{13}, R_{14} и R_{15} являются как описано выше; t и r независимо равны 0 – 100; R_{16}, R_{17}, R_{18}, R_{19} и R_{20} независимо выбраны из H; галогенида; C_1~C_8 алкила или гетероалкила; C_2~C_8 арила, алкенила, алкинила, простого эфира, сложного эфира, амина или амида, C_3~C_8 арила, который необязательно замещен одним или более галогенидами, CN, $NR_{12}R_{12'}$, CF_3, OR_{12}, арилом, гетероциклом, $S(O)R_{12}$, SO_2R_{12}, -CO_2H, -SO_3H, -OR_{12}, -CO_2R_{12}, -$CONR_{12}$, -$PO_2R_{12}R_{13}$, -PO_3H или $P(O)R_{12}R_{12'}R_{13}$; K

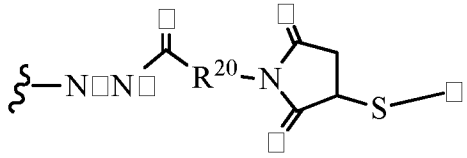
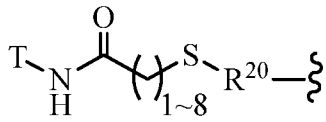
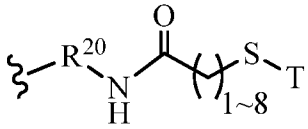
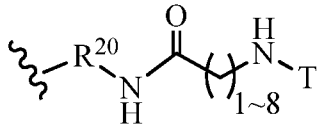
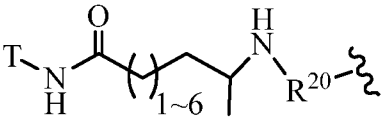
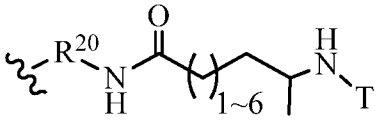
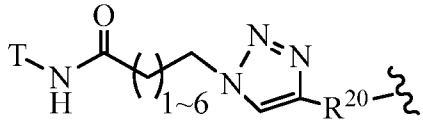
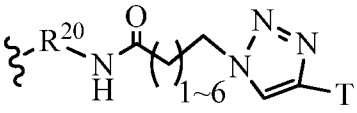
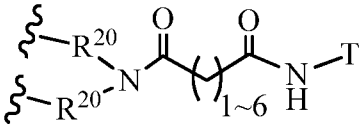
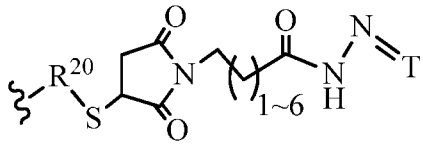
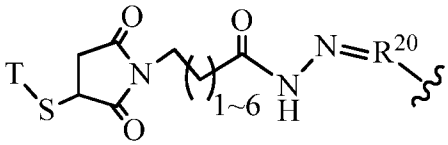
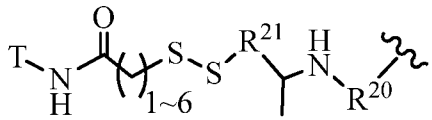
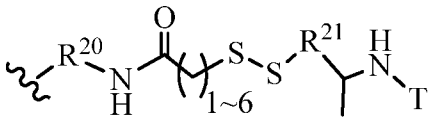
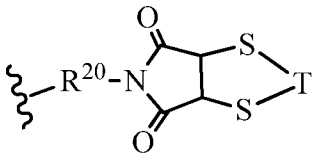
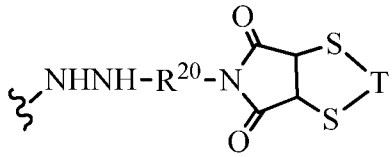
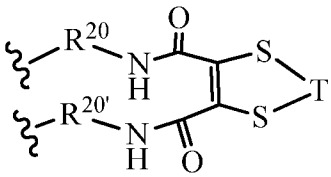
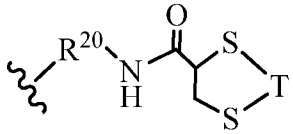
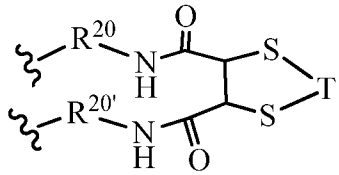
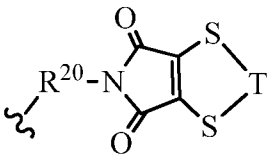
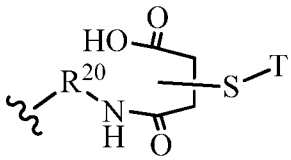
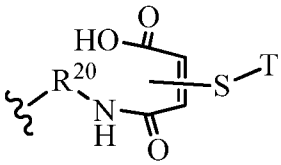
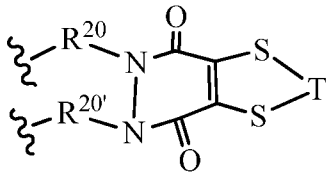
представляет собой NR_{12}, -SS-, -C(=O)-, -C(=O)NH-, -C(=O)O-, -C=NH-O-, -C=N-NH-, -C(=O)NH-NH-, O, S, Se, B, Het (гетероциклическое или гетероароматическое кольцо, имеющее C_3-C_{12}) или пептиды, содержащие одинаковые или разные 1-20 аминокислот;

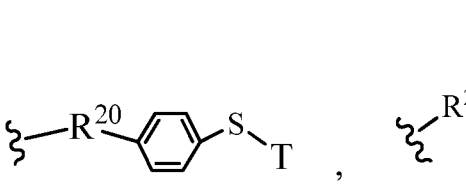
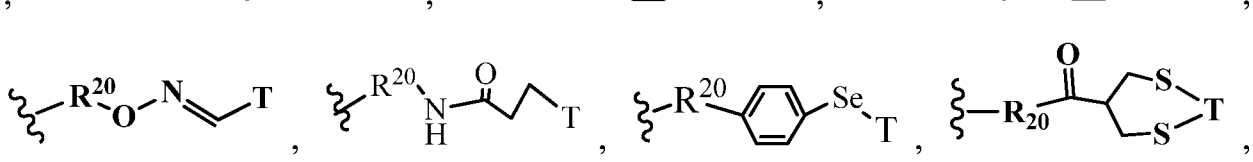
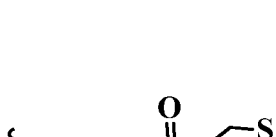
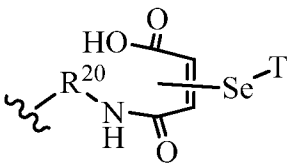
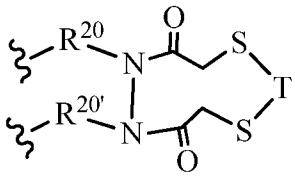
Более предпочтительно, компоненты W, L_1, L_2 V_1 и V_2 независимо представляют собой линейный алкил, содержащий от 1 до 6 атомов углерода, или полиэтиленоксигруппу формулы $(OCH_2CH_2)_p$, p = 1~5000, или пептид, содержащий 1~4 аминокислотных звеньев (L или D форма) или вышеуказанную комбинацию.

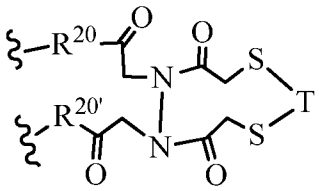
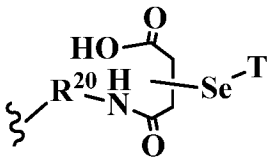
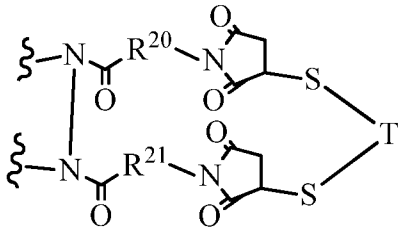
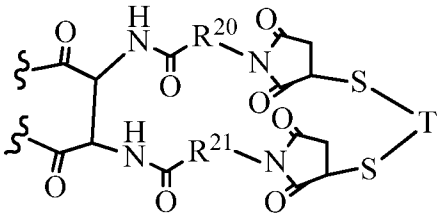
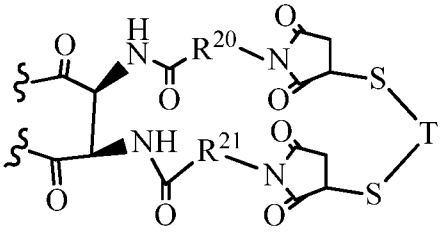
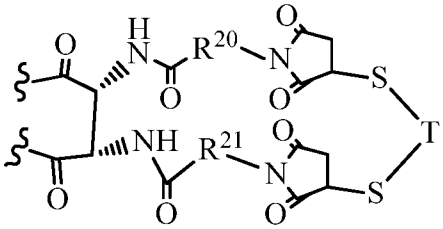
Альтернативно, один или более из W, Q_1, Q_2, L_1, L_2, V_1, или V_2, может независимо отсутствовать, но Q_1 и Q_2 не отсутствуют одновременно.

Говоря в общем, в другом аспекте, когда V_1 и/или V_2 связаны со связывающей клетку молекулой T, или когда L_1 и/или L_2 непосредственно связаны с T (где V_1 и V_2, отсутствуют), возможна одна или более следующих структур линкера конъюгата:


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

;

,

,


,

,

,

,

,

,

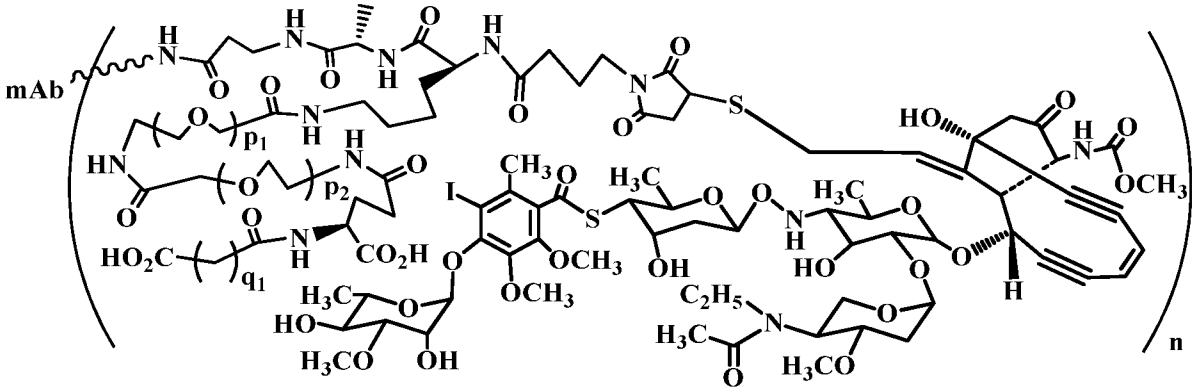
где R^{20} и R^{21} независимо представляют собой C_1~C_8 алкил; C_2~C_8 гетероалкил или гетероциклил; C_3~C_8 арил, Ar-алкил, циклоалкил, алкилциклоалкил, гетероциклоалкил, гетероалкилциклоалкил, карбоциклил или алкилкарбонил; или C_2-C_{100} полиэтиленгликоль, имеющий формулу $(CH_2CH_2O)_p$, p является как определено выше; или отсутствует.

В другом дополнительном аспекте, Q_1 и Q_2, предпочтительно выбирают из полиглицина или полиалкиленгликоля , содержащего C_2-C_{18} липид, или C_2-C_{18} жирную кислоту, или C_2-C_{18} жирный липид аммония. Полиалкиленгликолевая цепь не только помогает конъюгату быть более гидрофильным во время получения, но также предотвращает гидролиз конъюгатного линкера посредством гидролазы, например, протеиназы или эстеразы. Липид может способствовать связыванию конъюгата с альбумином в крови млекопитающих, а затем приводит к медленной диссоциации конъюгата из этого комплекса во время циркуляции в кровотоке. Таким образом линкер боковой цепи по настоящей патентной заявке делает конъюгат более стабильным при введении. Полиалкиленгликоли, описанные в настоящем документе включают, без ограничений, 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-

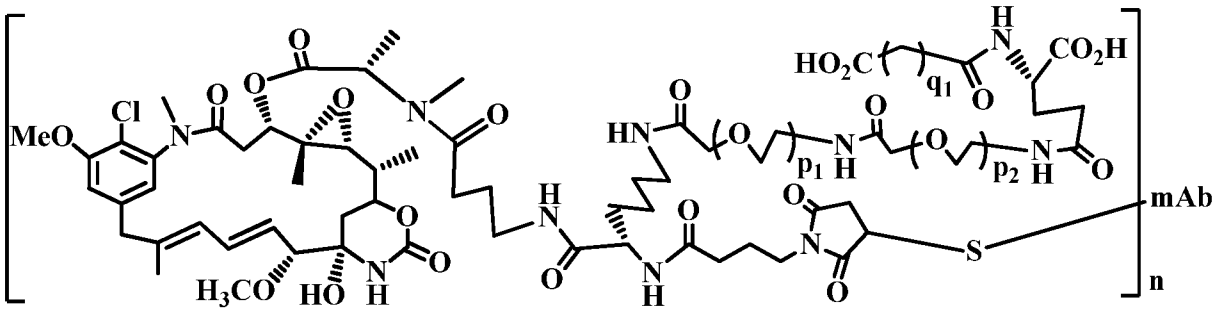
моноиодоацетамиды, гидроксиПЭГ-мономалеимиды, гидроксиПЭГ-моноортопиридилдисульфиды, гидроксиПЭГ-монооксимы, гидроксиПЭГ-монофенилкарбонаты, гидроксиПЭГ-монофенилглиоксали, гидроксиПЭГ-монотиазолидин-2-оны, гидроксиПЭГ-монотиосложные эфиры, гидроксиПЭГ-монотиолы, гидроксиПЭГ-монотриазины и гидроксиПЭГ-моновинилсульфоны). Полиалкиленгликоль имеет молекулярную массу от около 10 Да до около 200 кДа, предпочтительно от около 88 Да до около 40 кДа; две разветвленные цепи, каждая с молекулярной массой от около 88 Да до около 40 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 массой 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.

Связывающийся с клеткой агент/молекула Т может быть любого типа, известного в настоящее время, или который станет известным, включая молекулу, которая связывается, образует комплексы или реагирует с некоторой частью клеточной популяции, которую требуется терапевтически или иным образом биологически модифицировать. 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; DARPin (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;

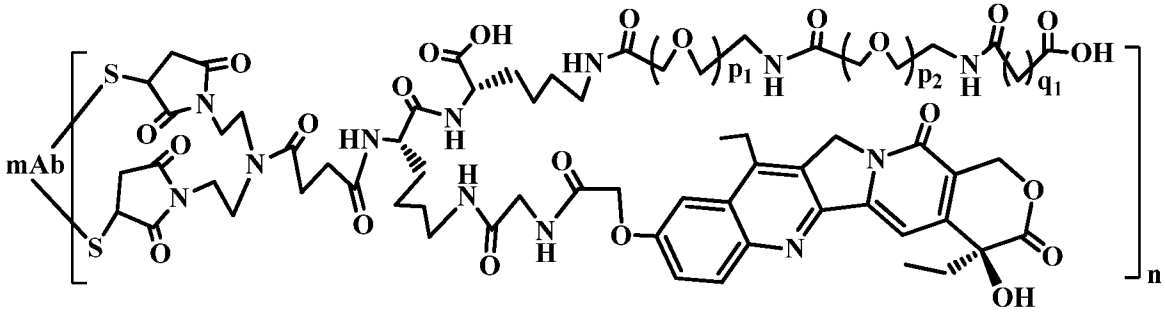
Ниже перечислены примеры Формулы (I),(II) и (III):



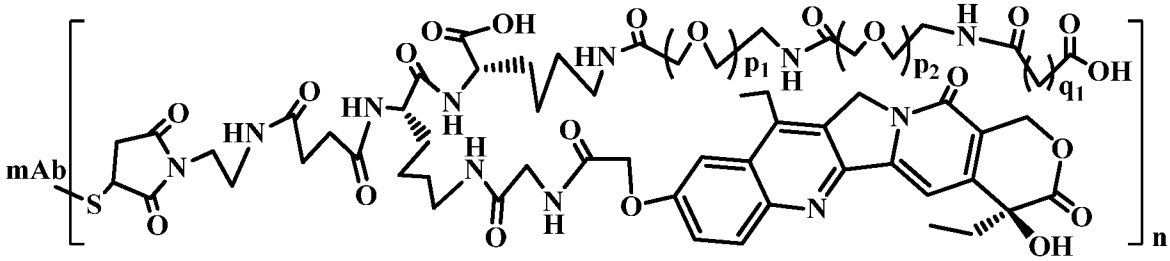
a001,



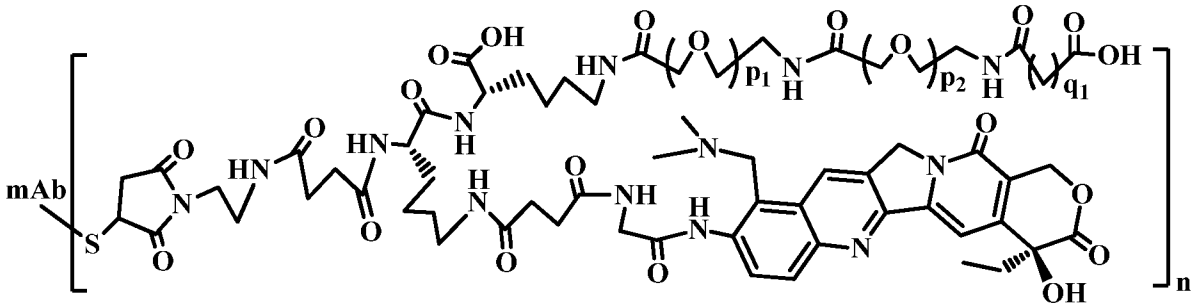
a002,



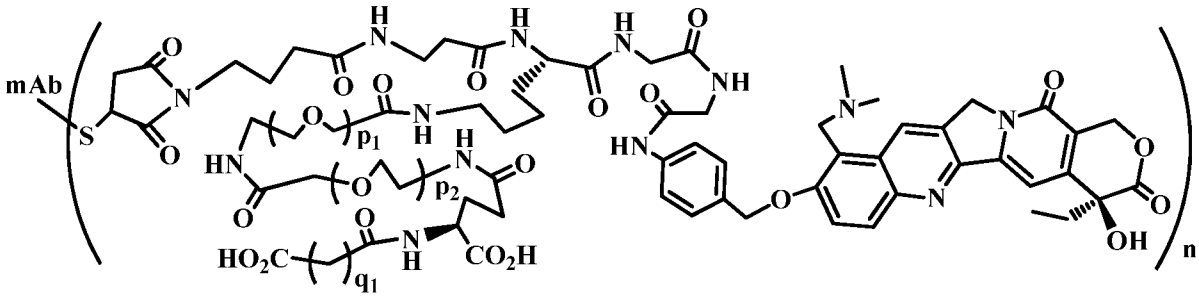
a003,



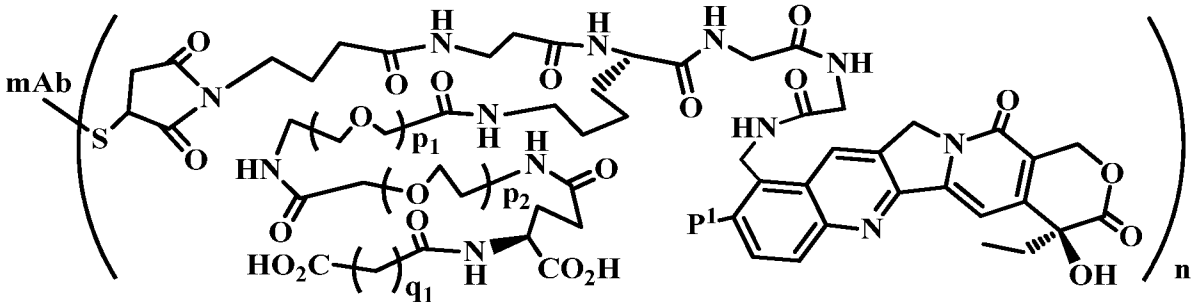
a004,



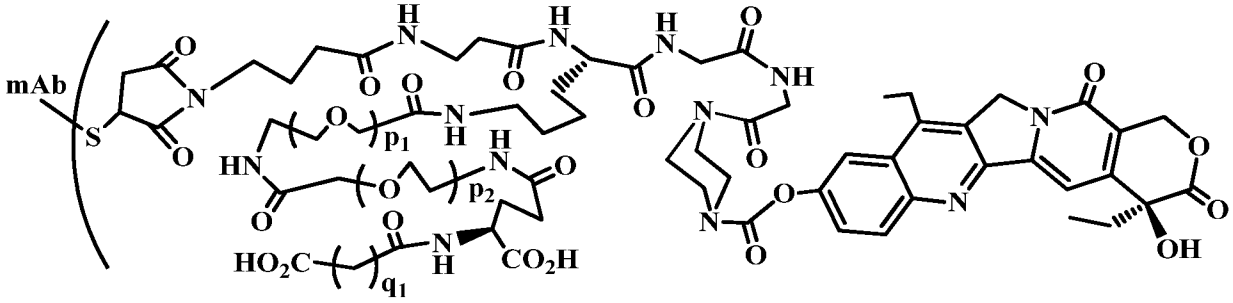
a005,



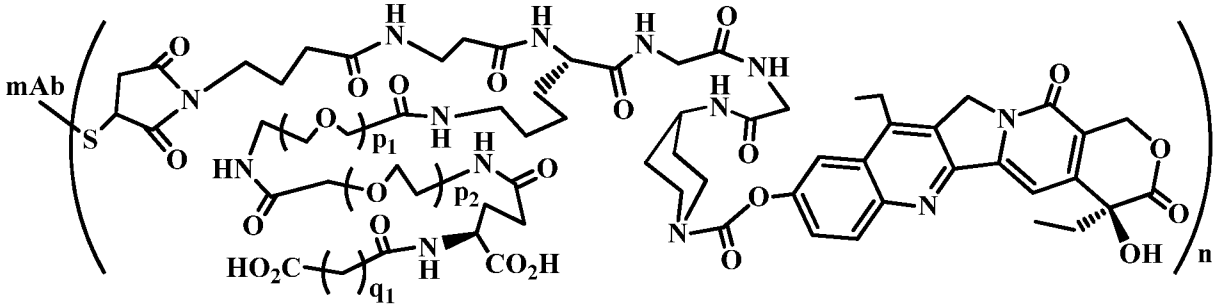
a006,



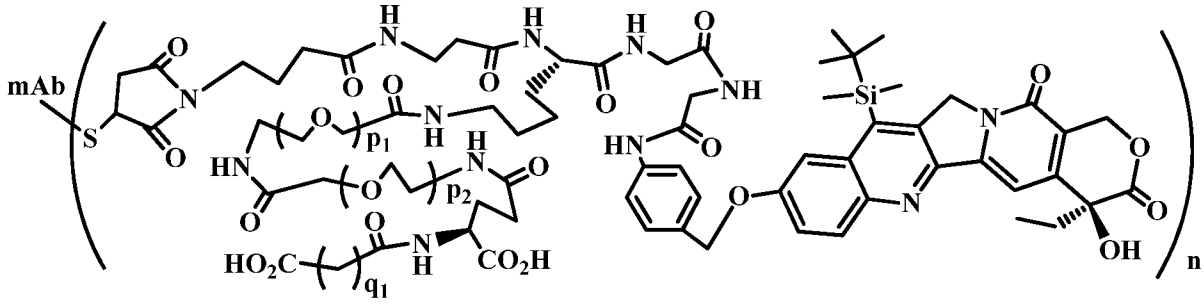
a007,



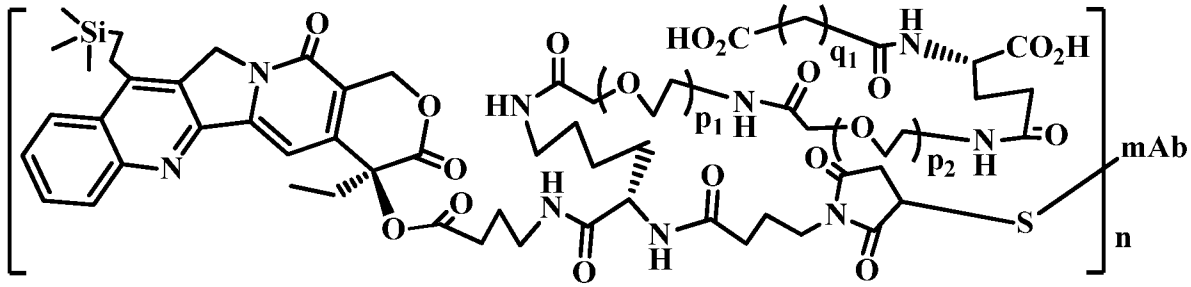
a008,



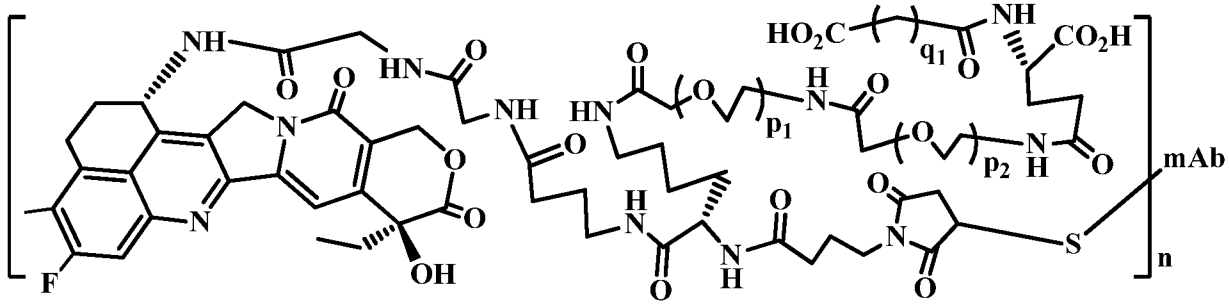
a009,



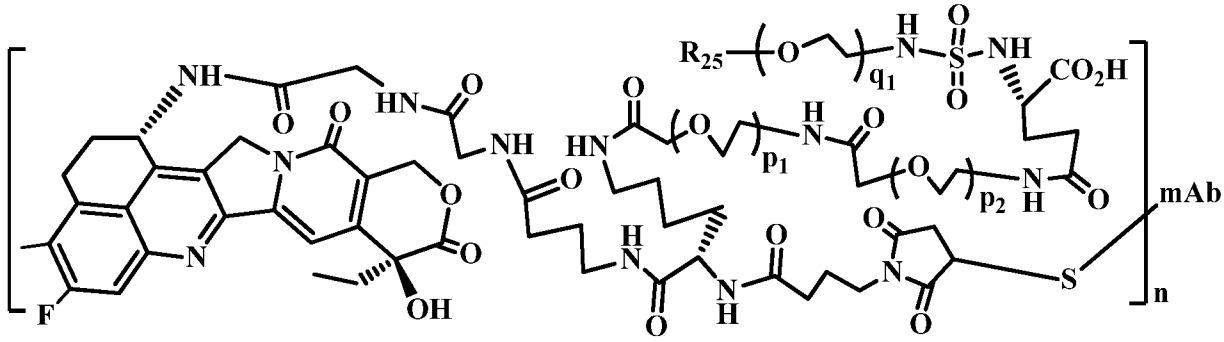
a010,



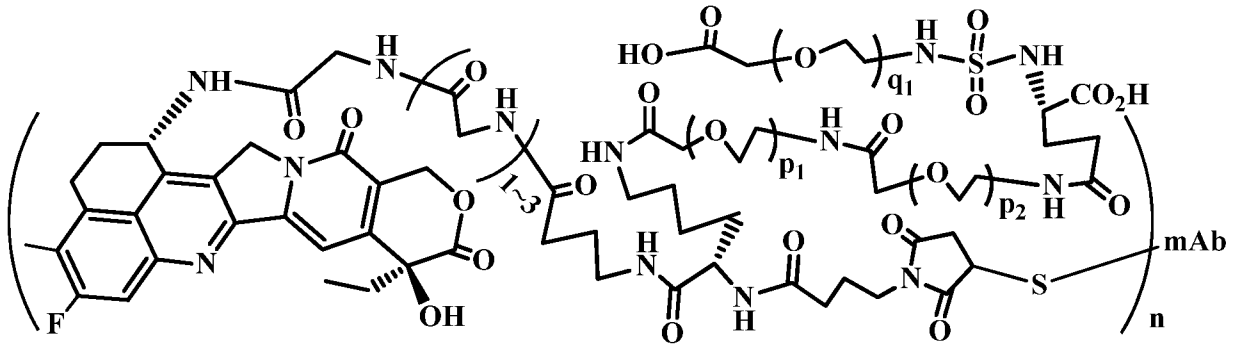
a011,



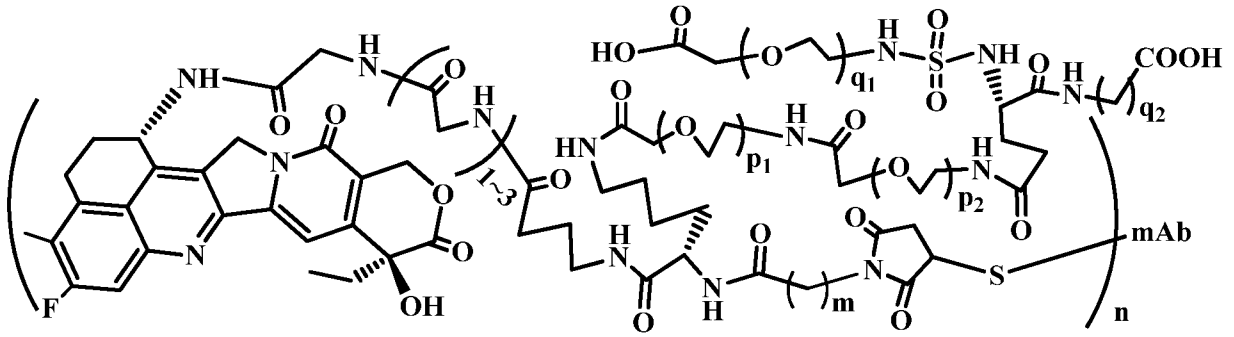
a012,



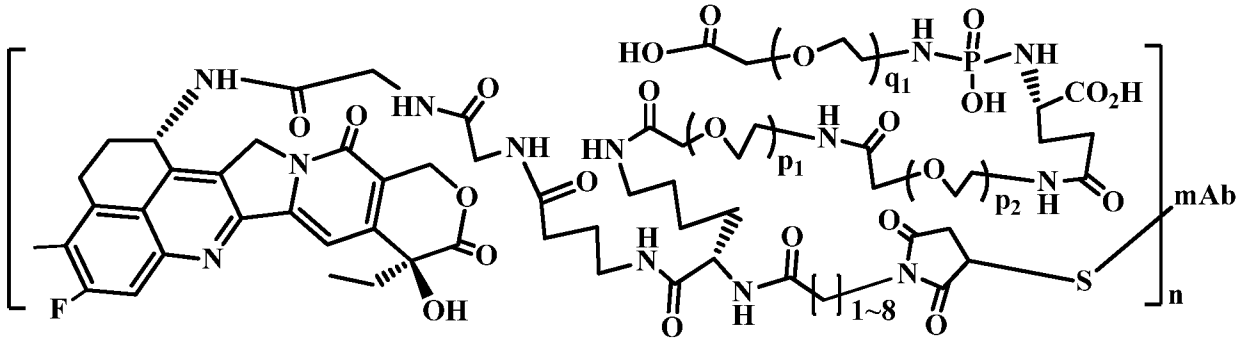
a013,



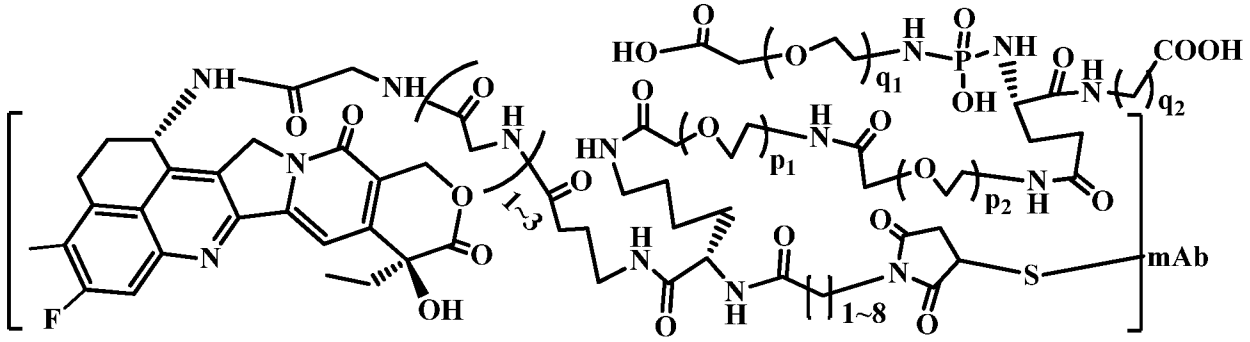
a014,



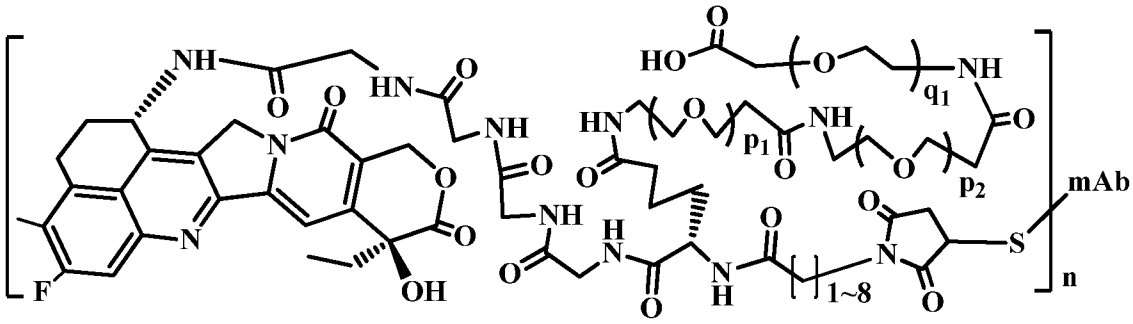
a015,



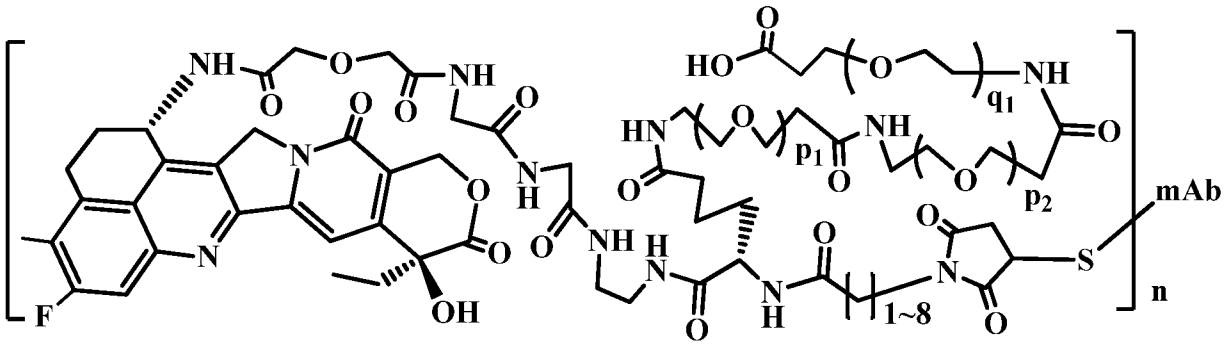
a016,



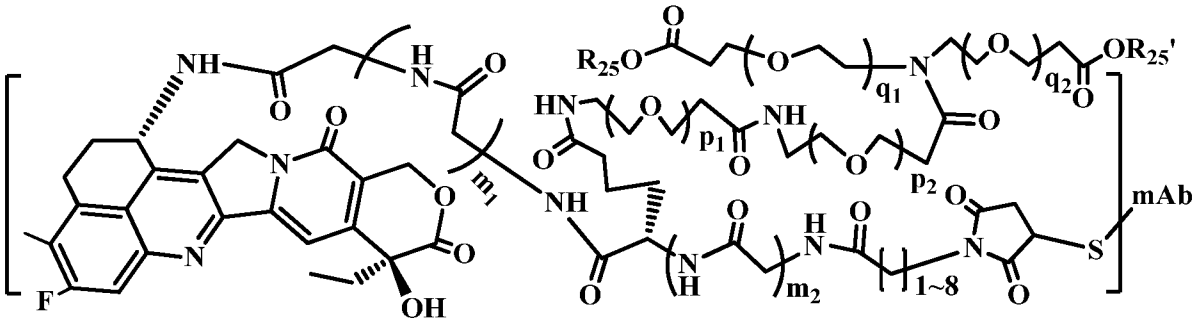
a017,



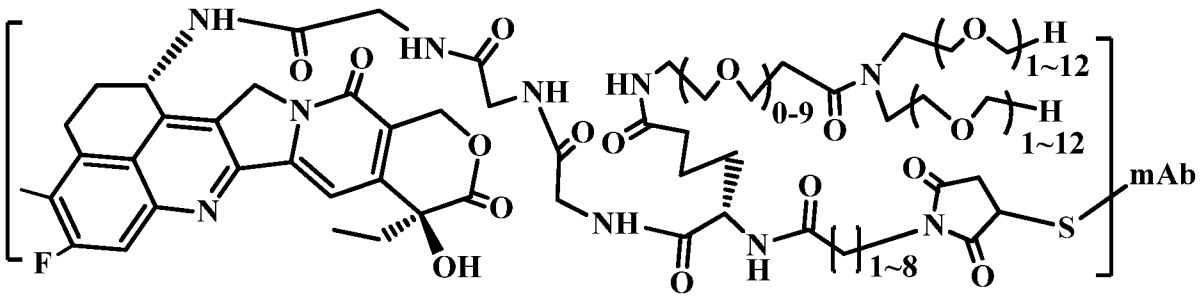
a018,



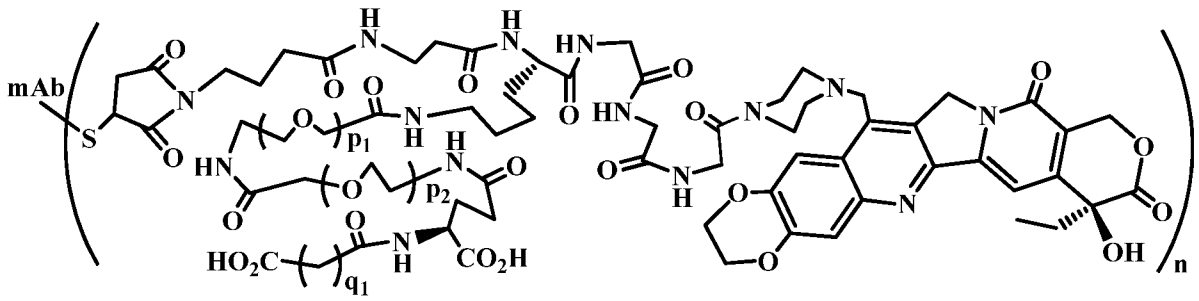
a019,



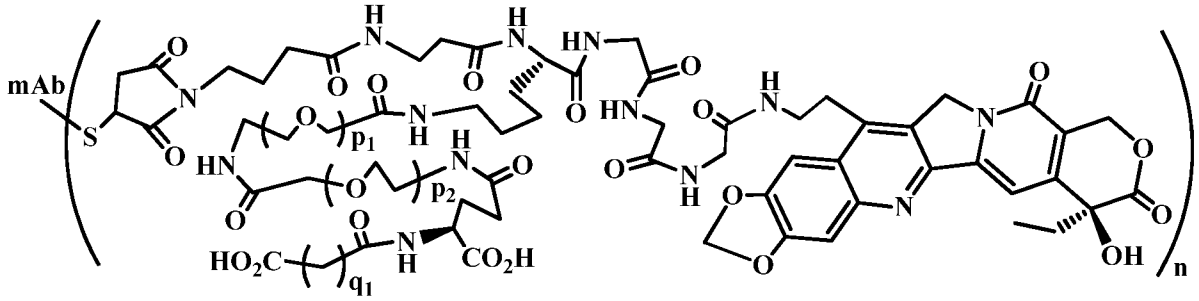
a020,



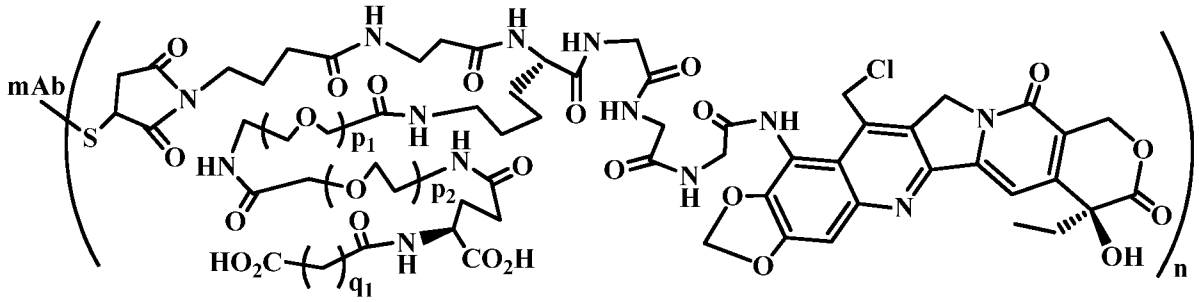
a021,



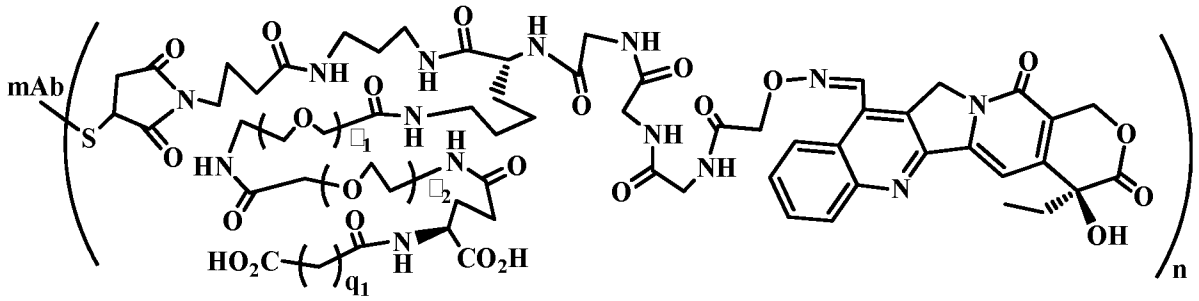
a022,



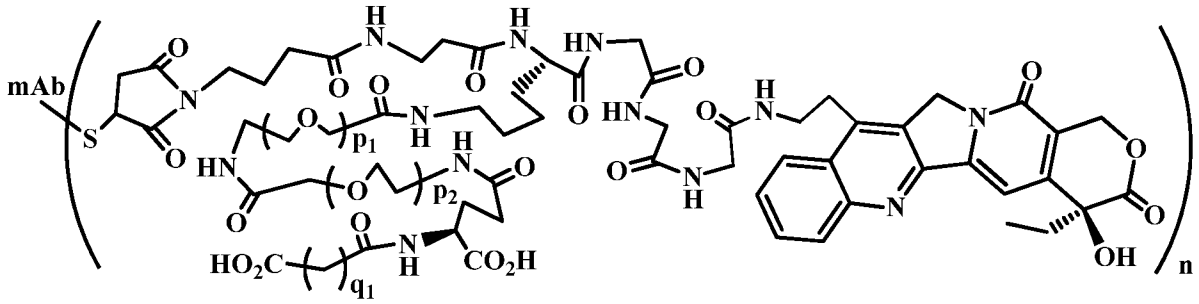
a023,



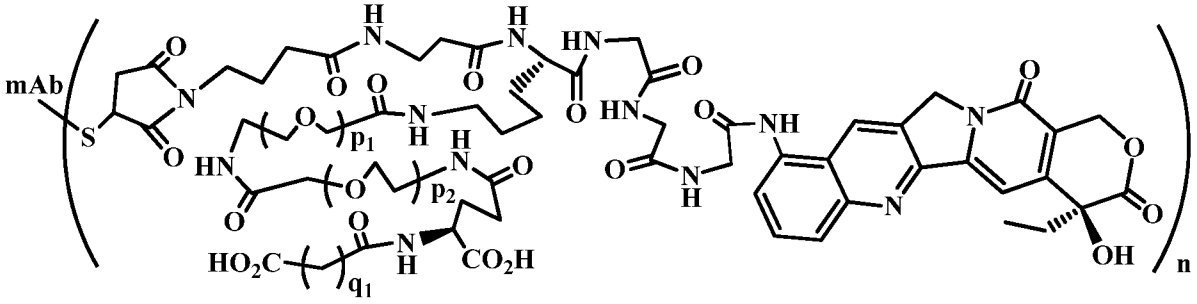
a024,



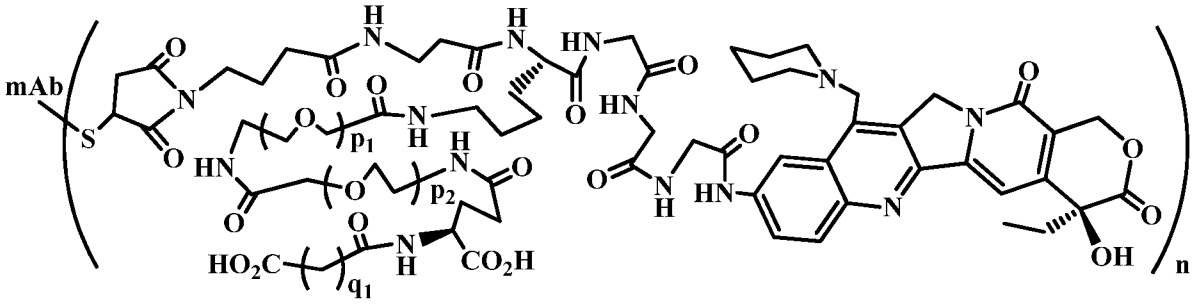
a025,



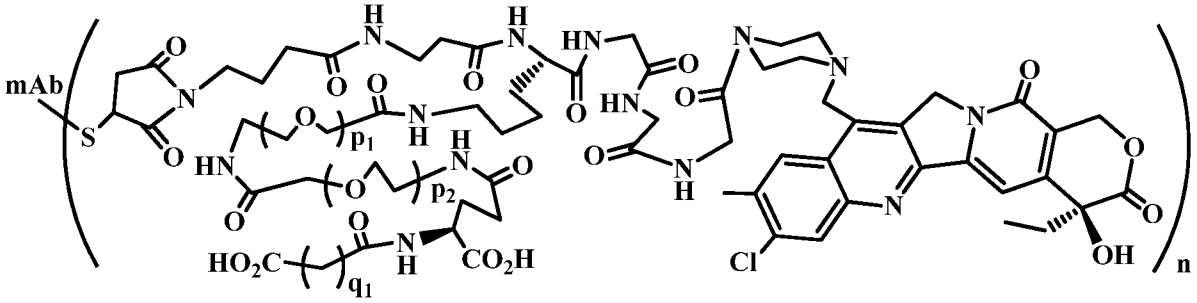
a026,



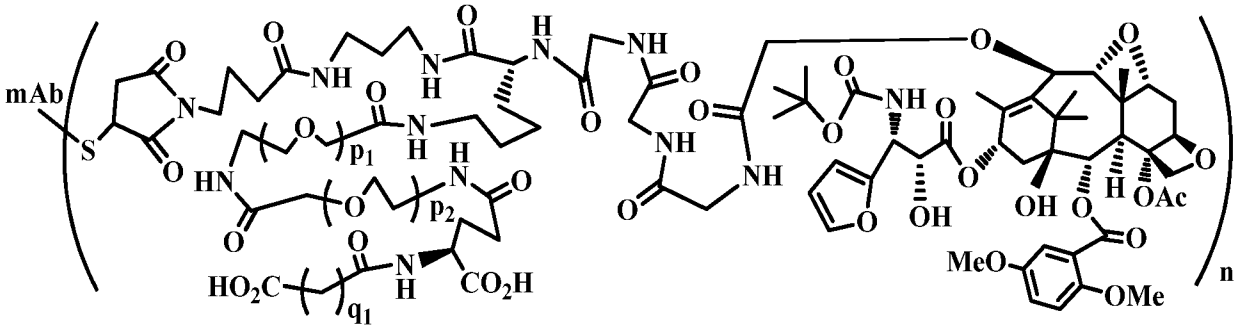
a027,



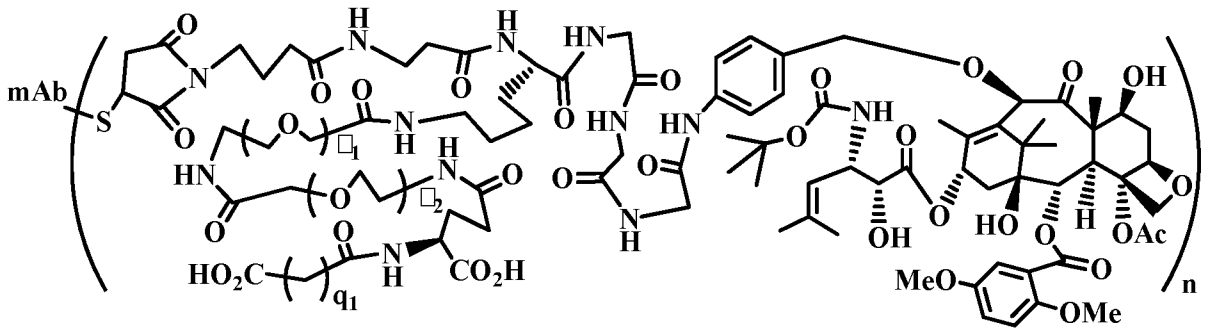
a028，



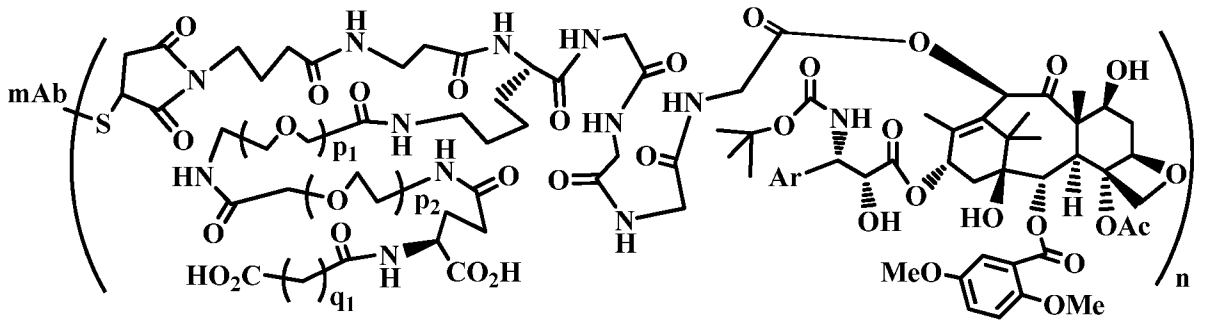
a029,



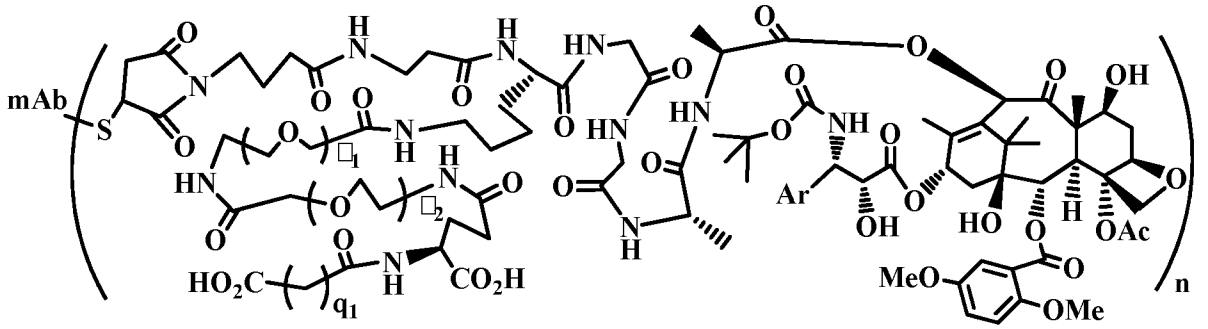
a030,



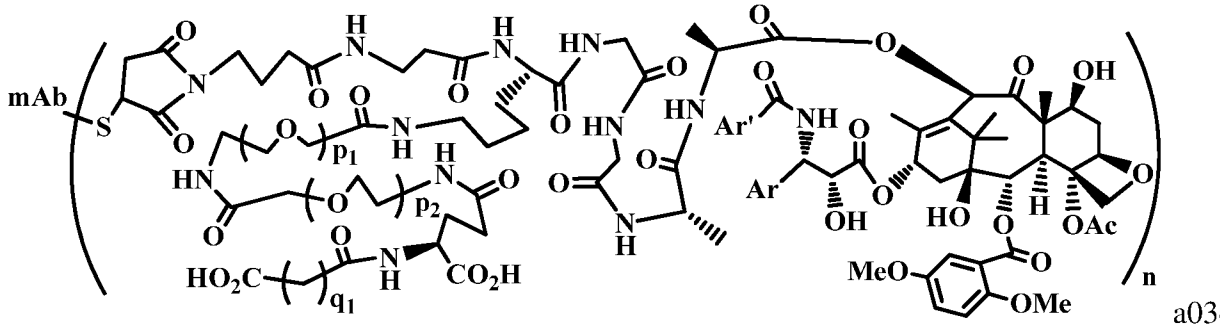
a031,



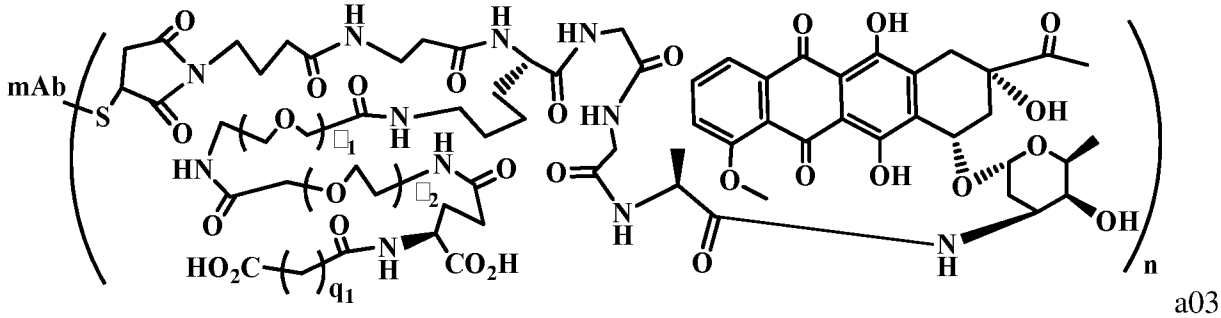
a032,



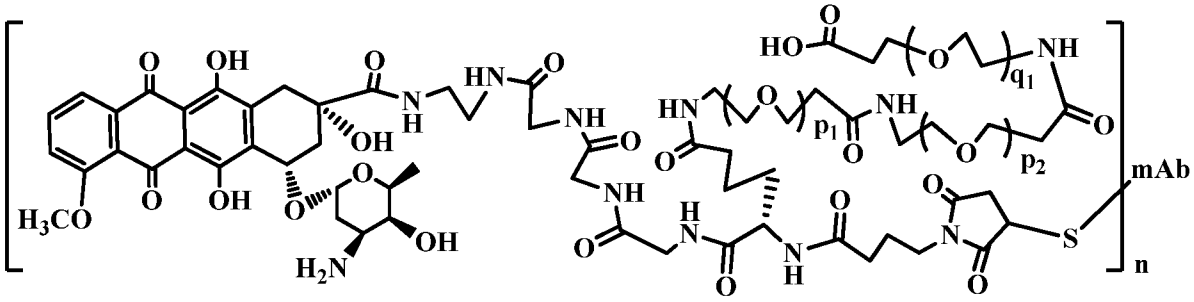
a033,



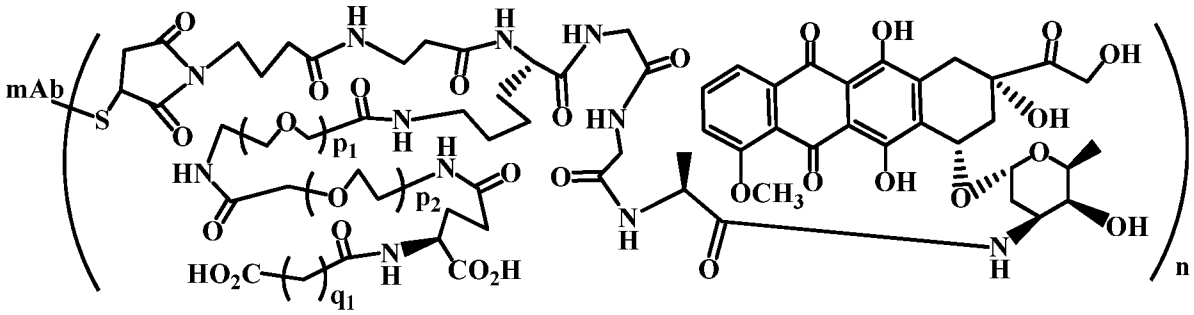
a034,



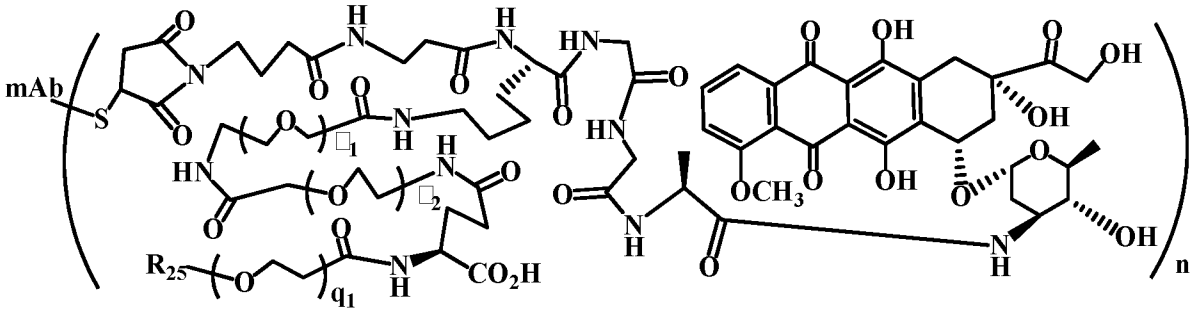
a035,



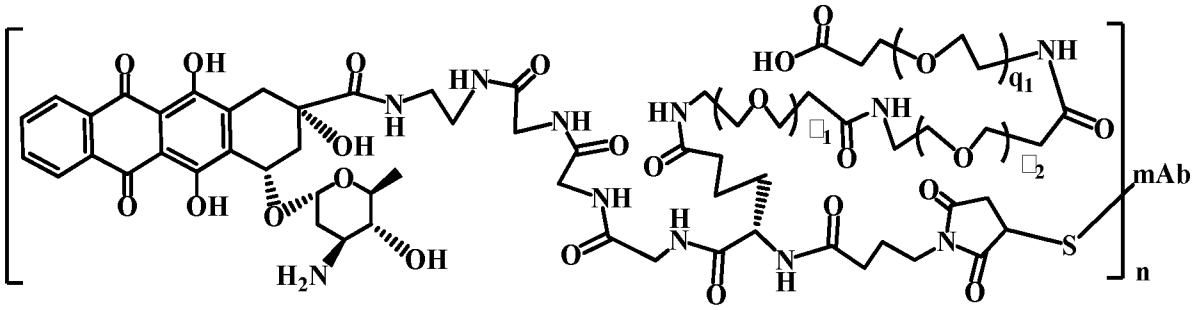
a036,



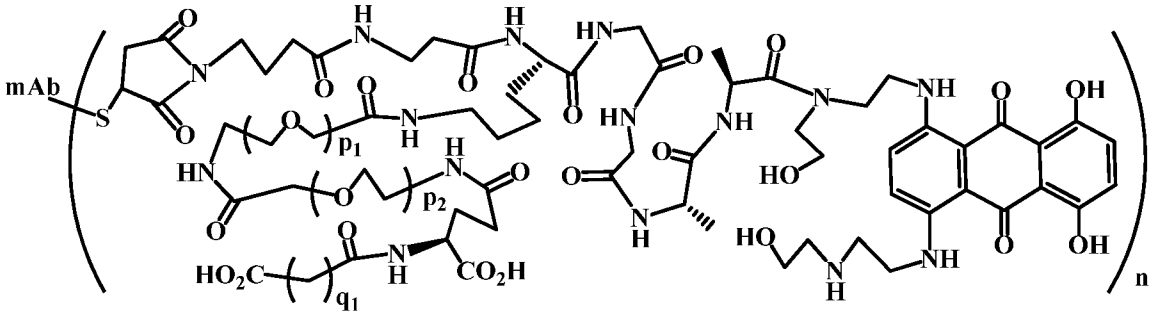
a037,



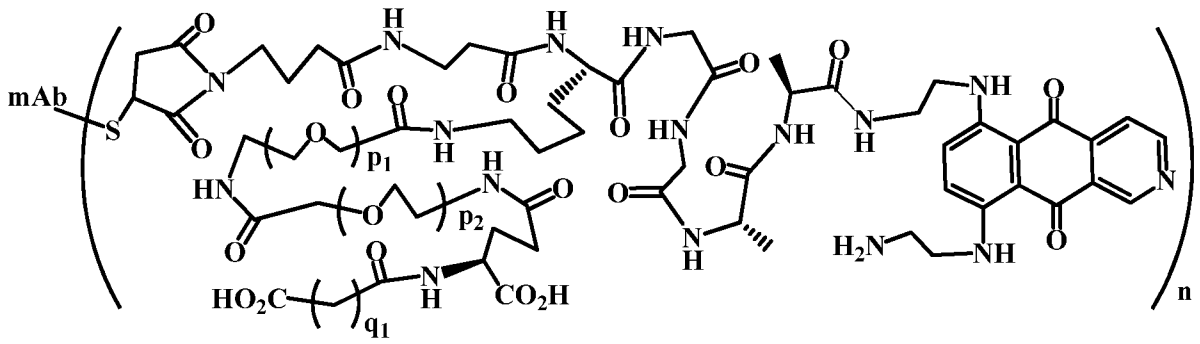
a038,



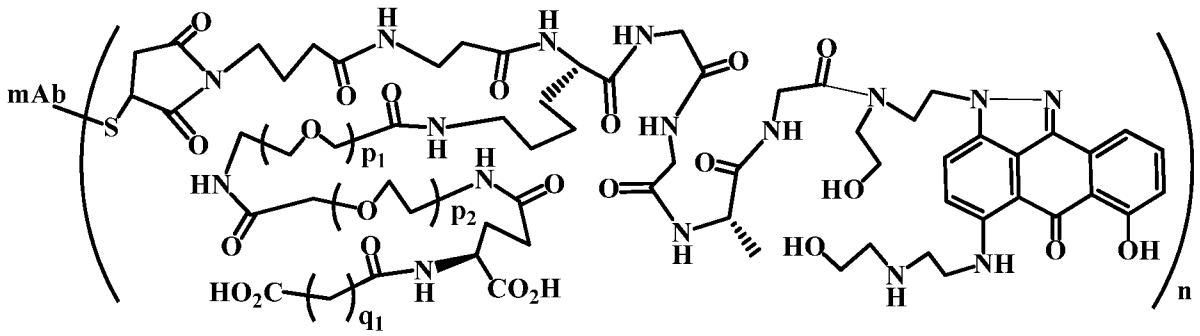
a039,



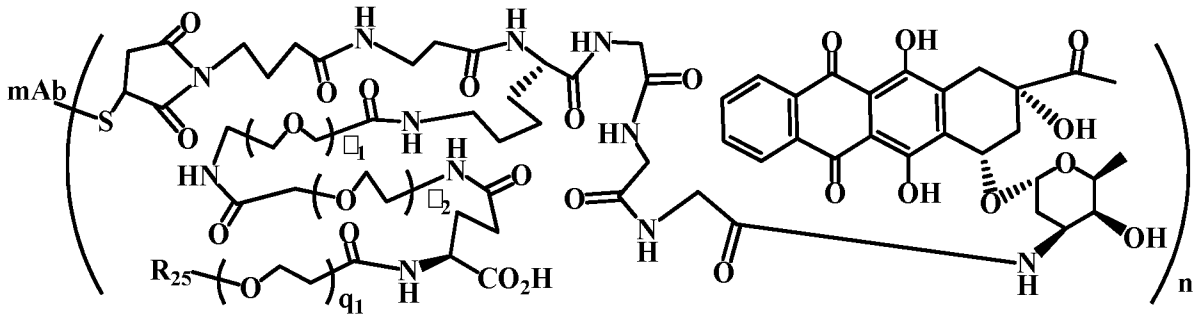
a040,



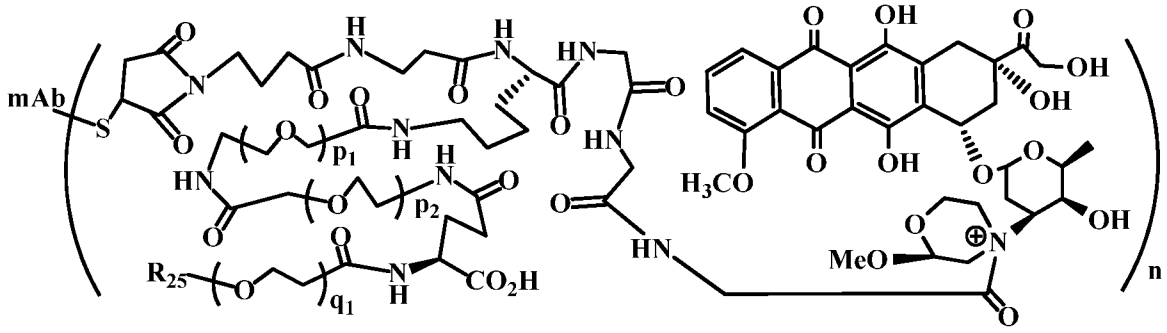
a041,



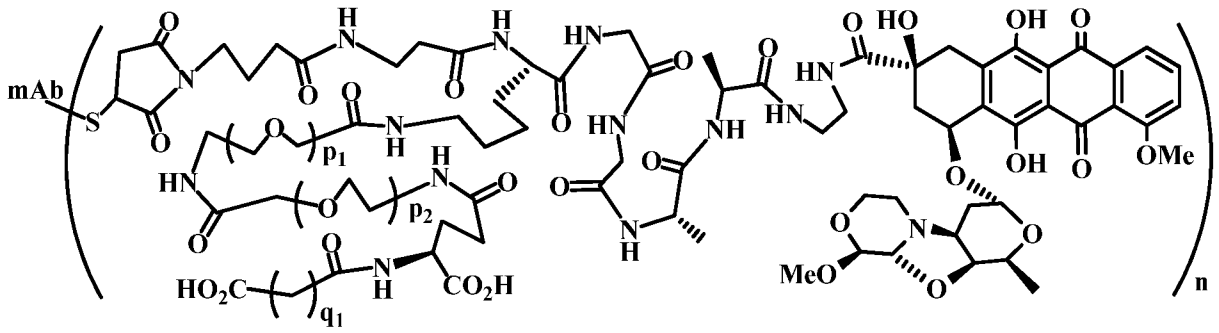
a042,



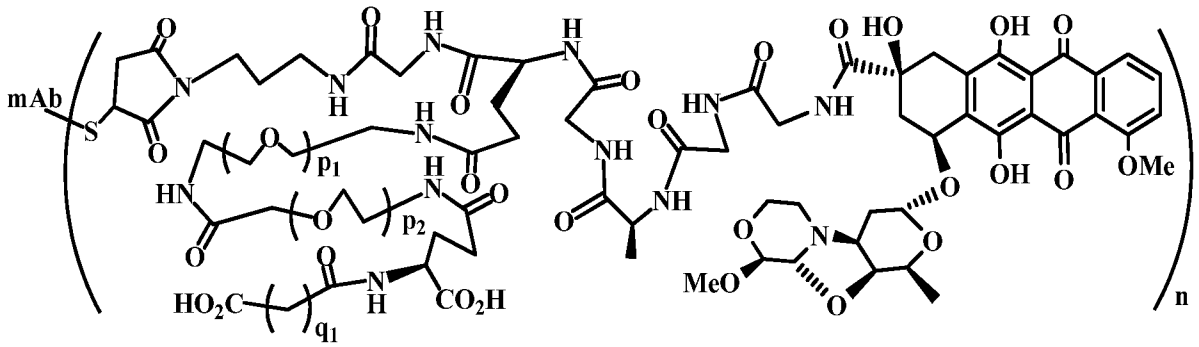
a043,



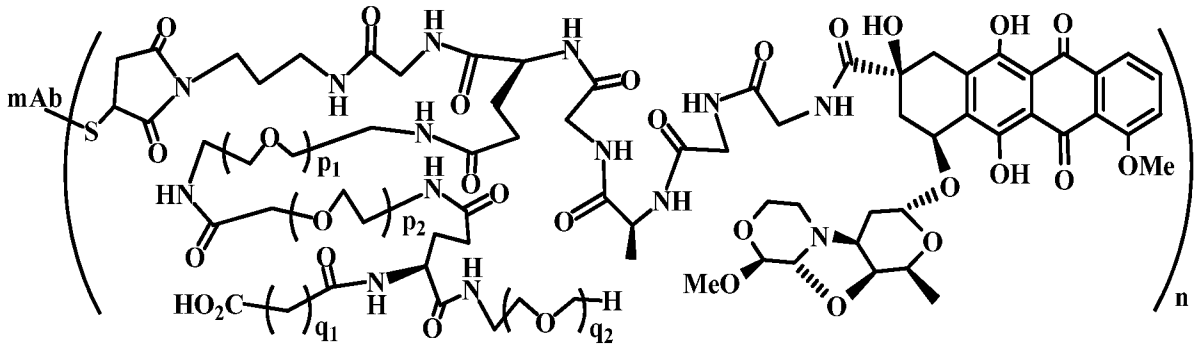
a044,



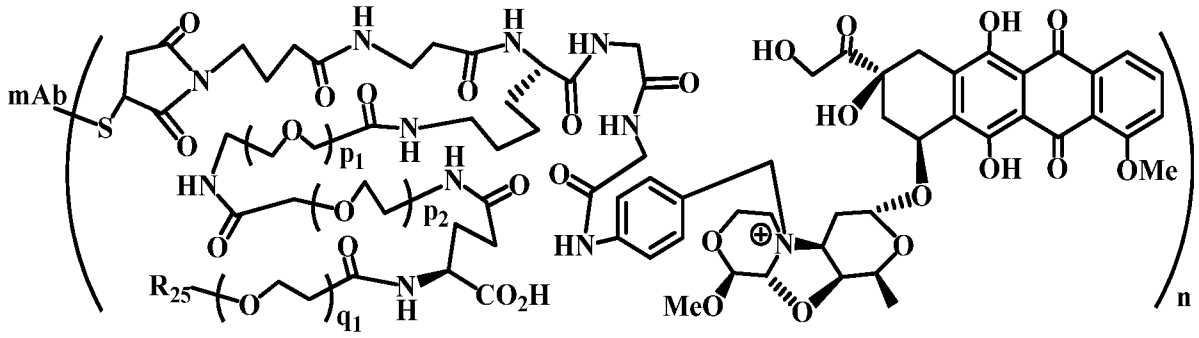
a045,



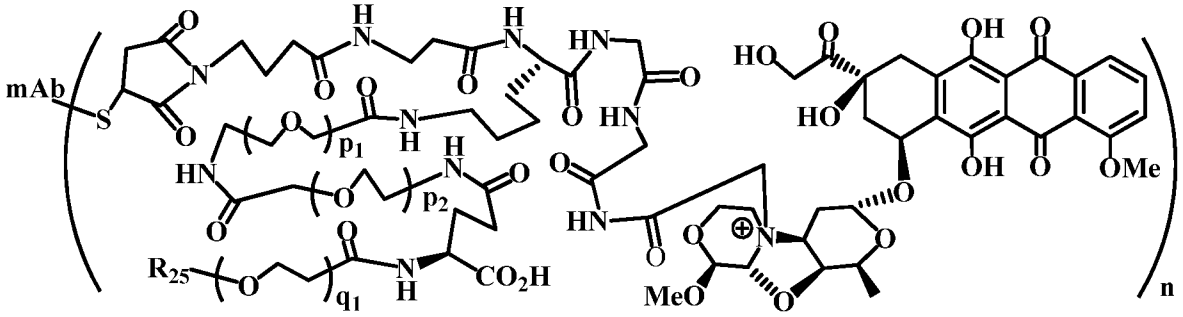
a046,



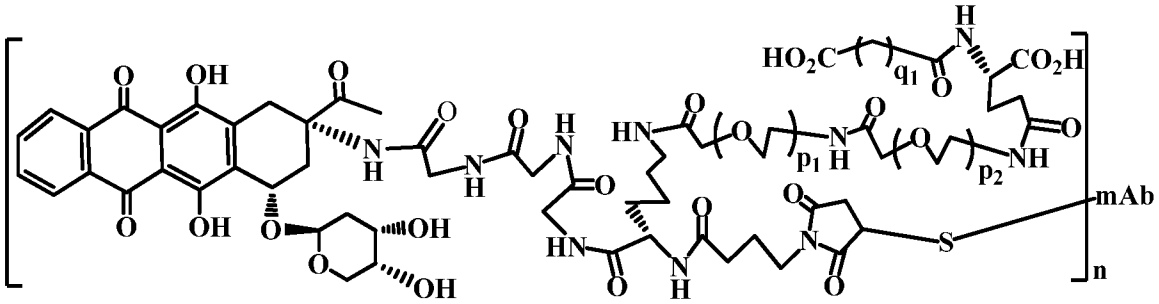
a047,



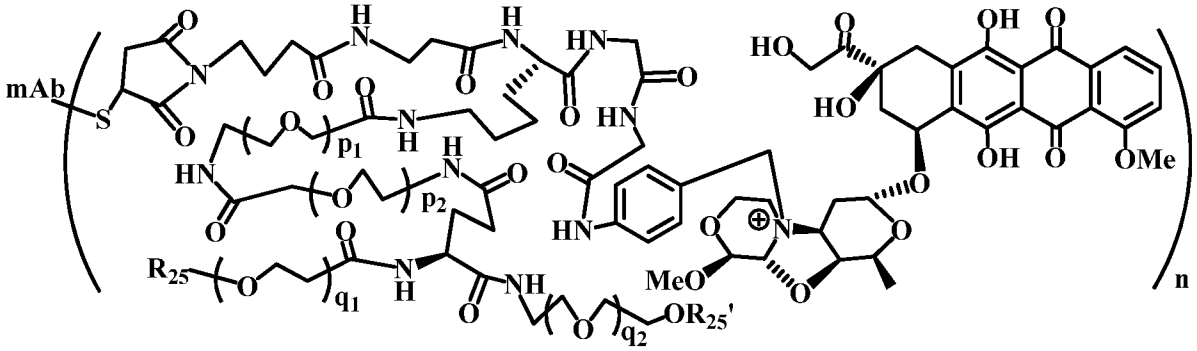
a048,



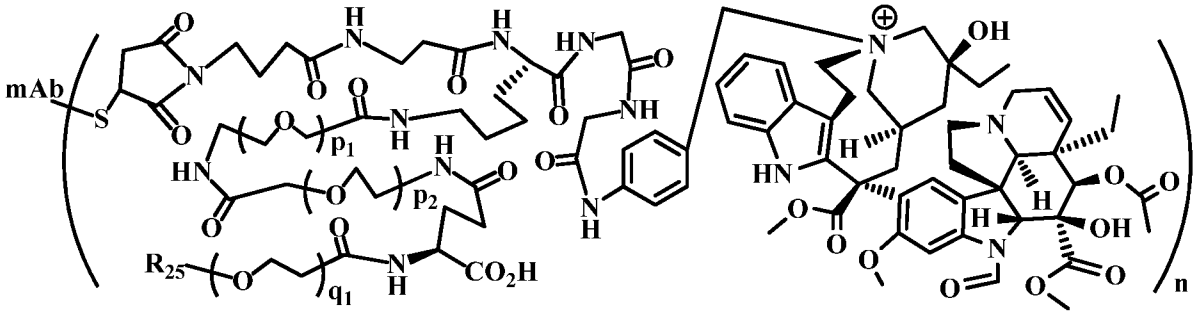
a049,



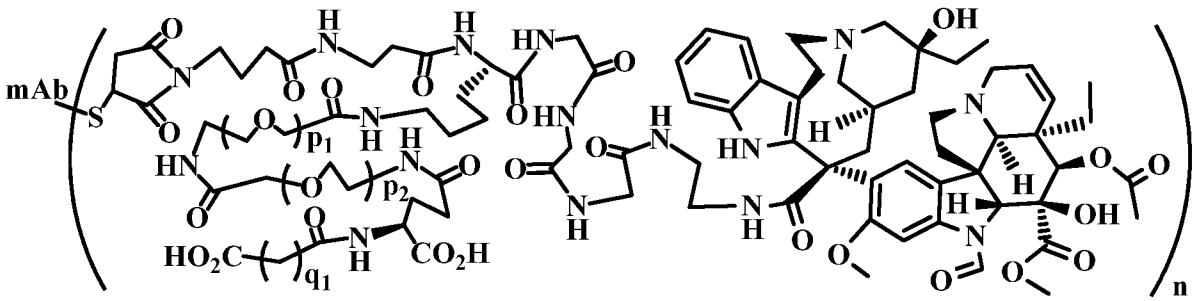
a050,



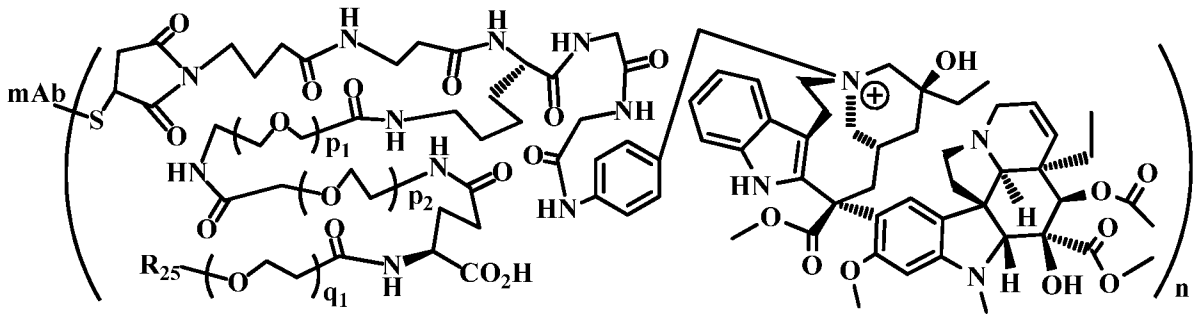
a051,



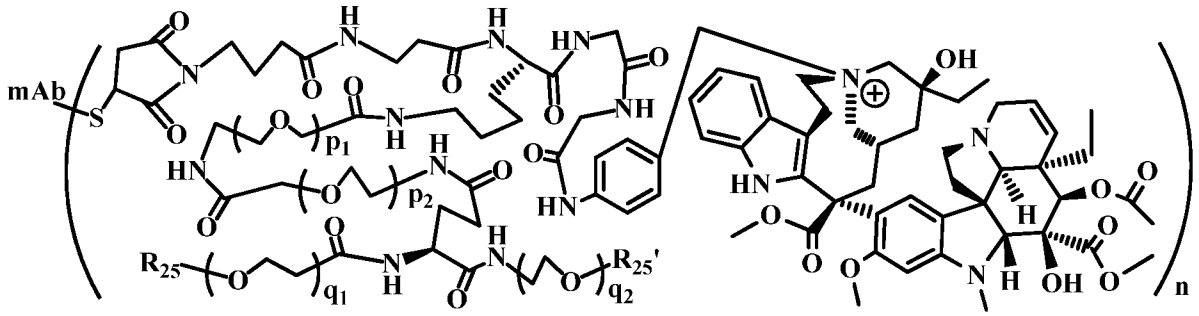
a052,



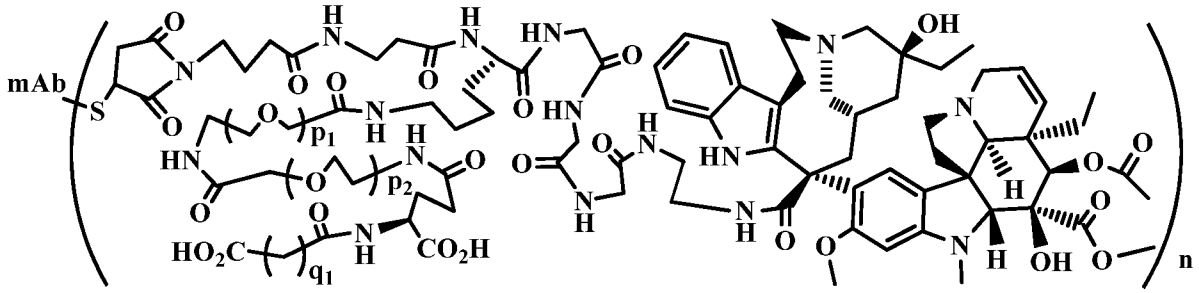
a053,



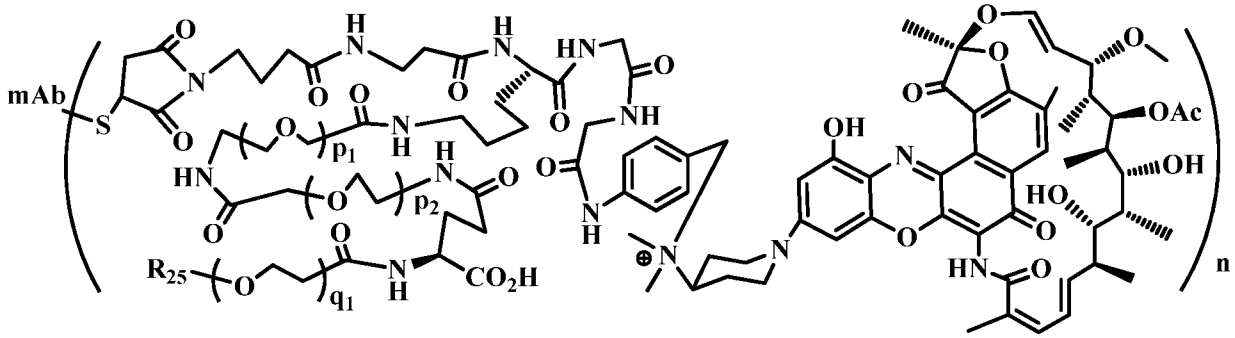
a054,



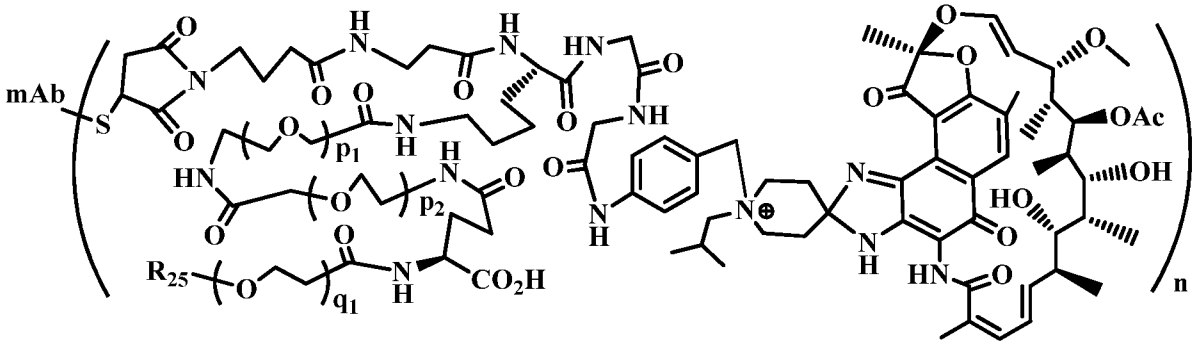
a055,



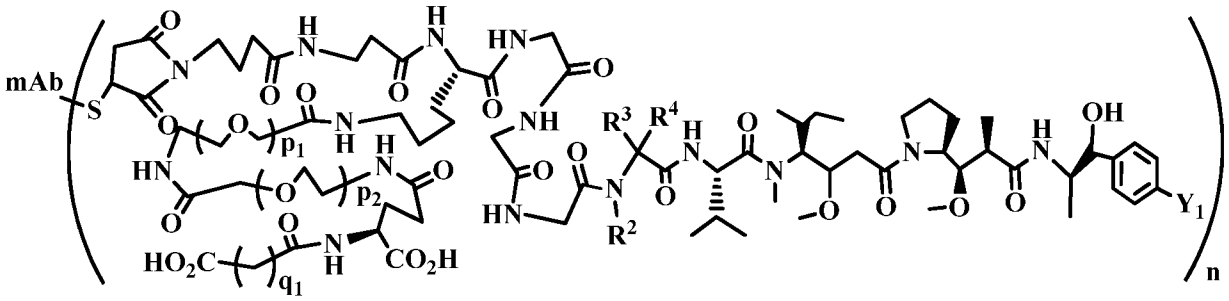
a056,



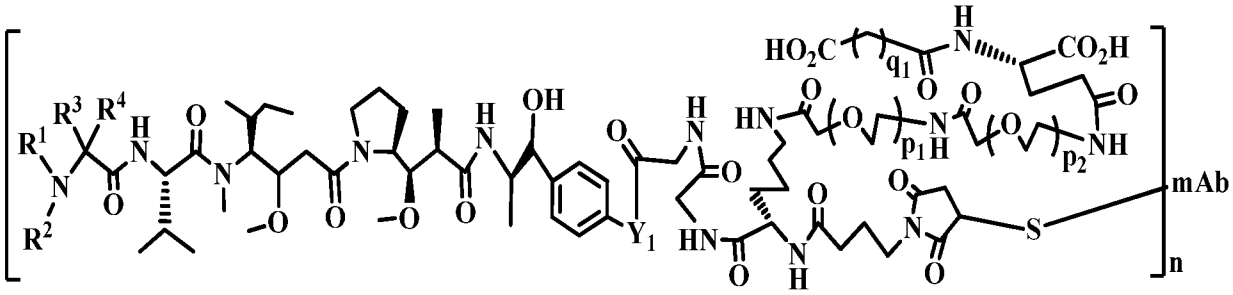
a057,



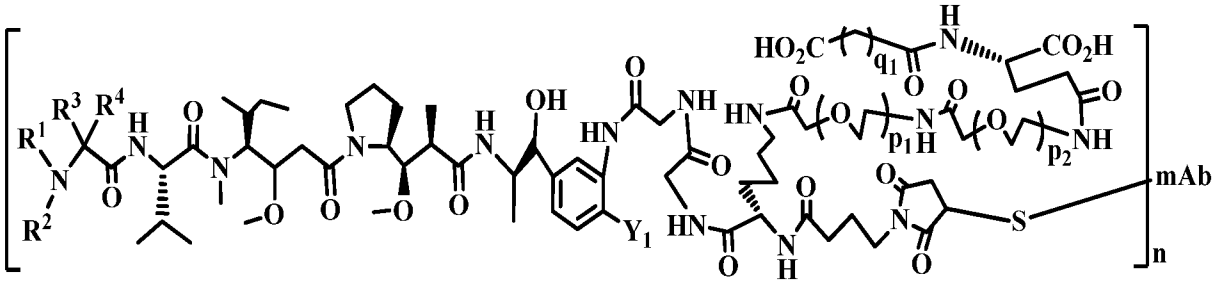
a058,



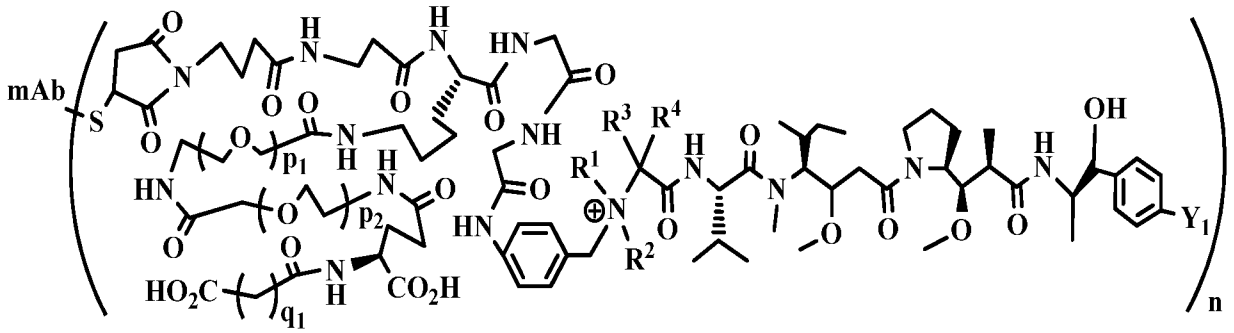
a059,



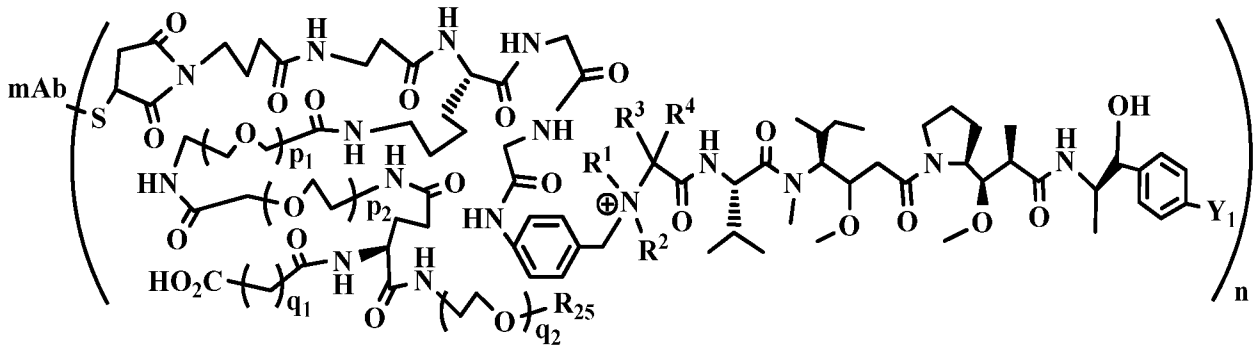
a060,



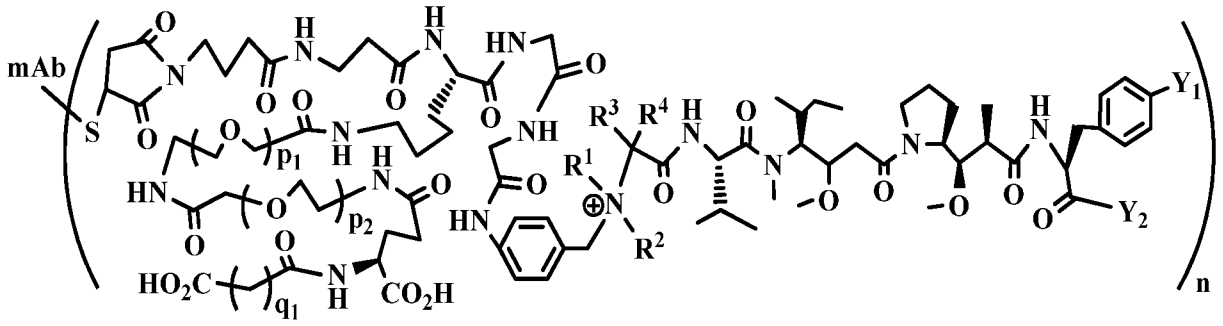
a061,



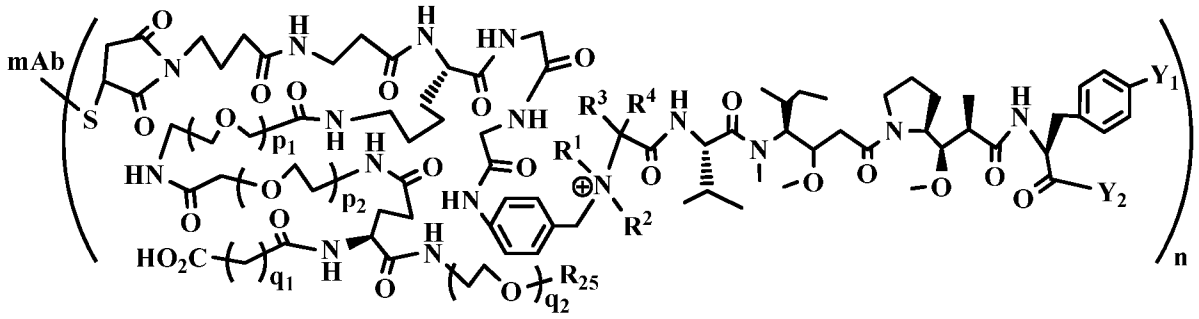
a062,



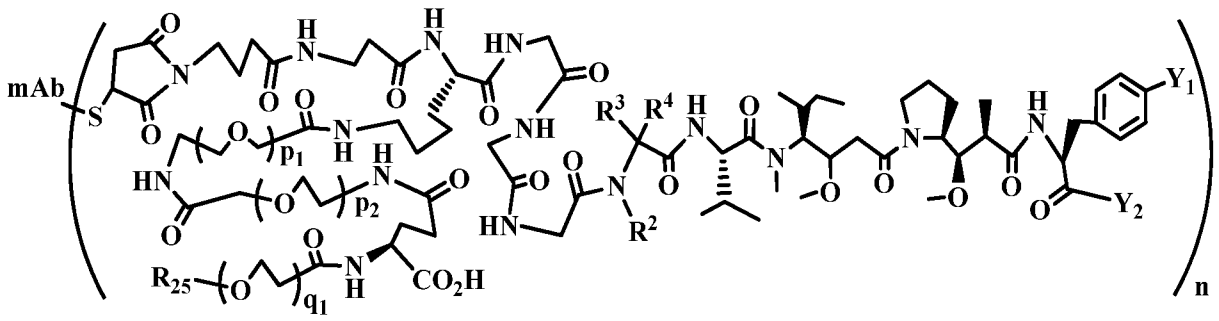
a063,



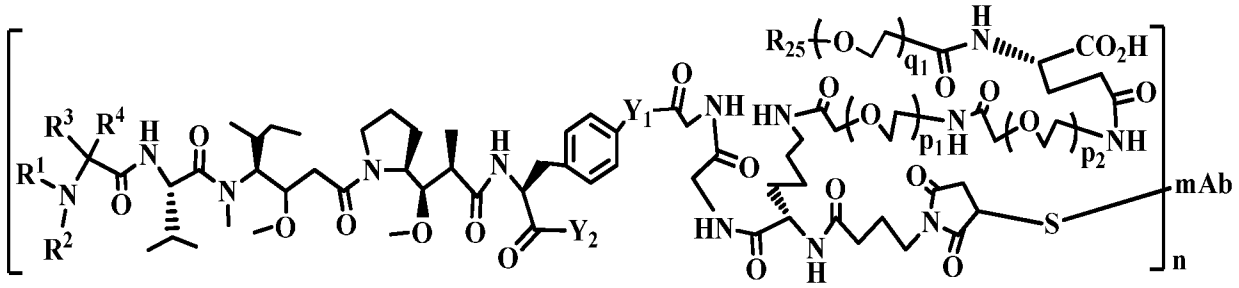
a064,



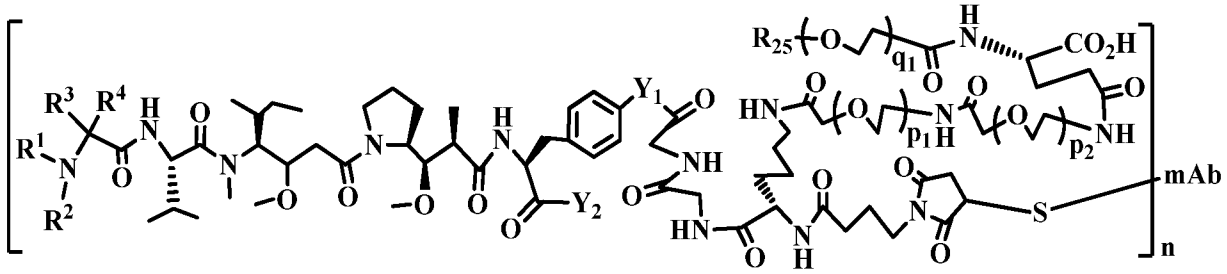
a065,



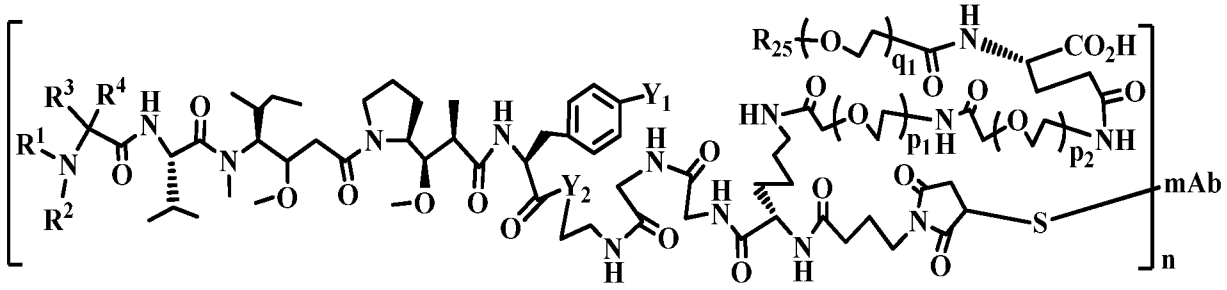
a066,



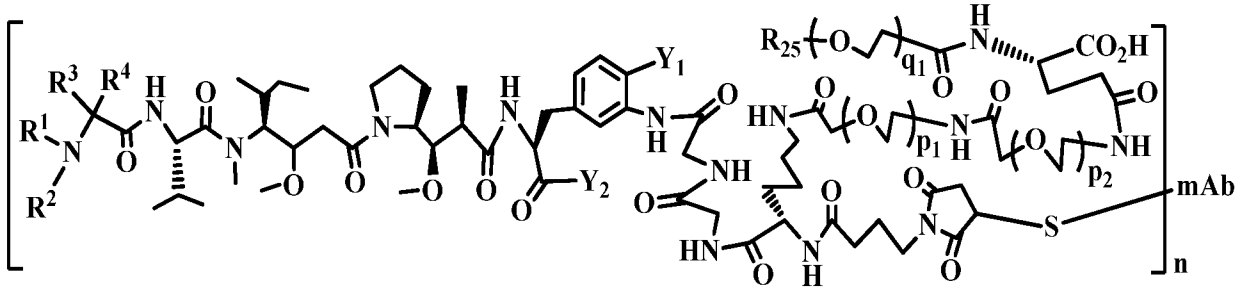
a067,



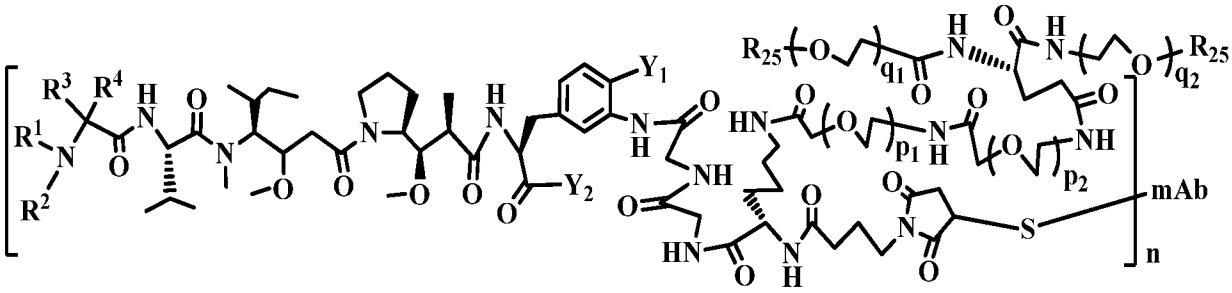
a068,



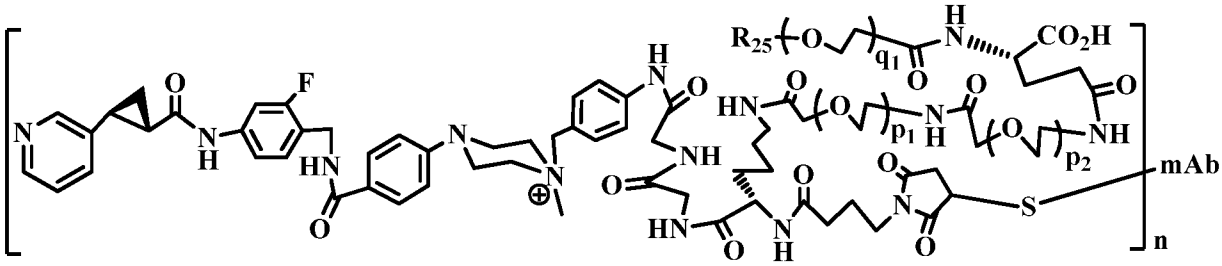
a069,



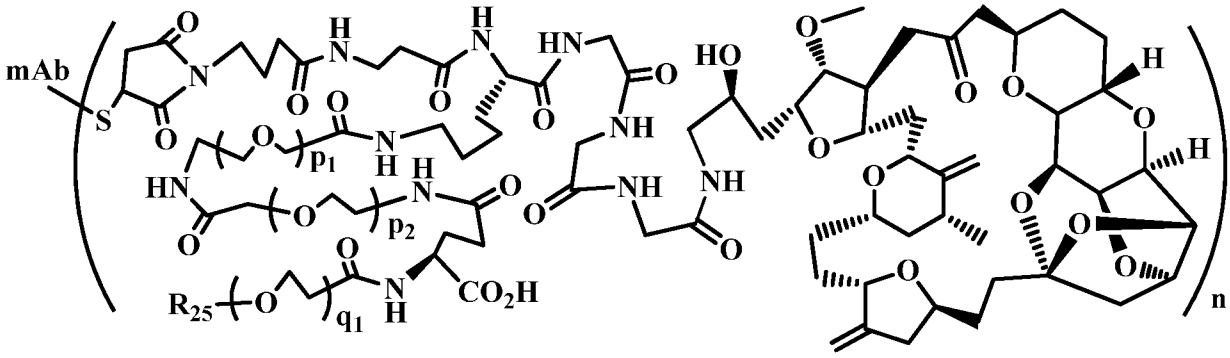
a070,



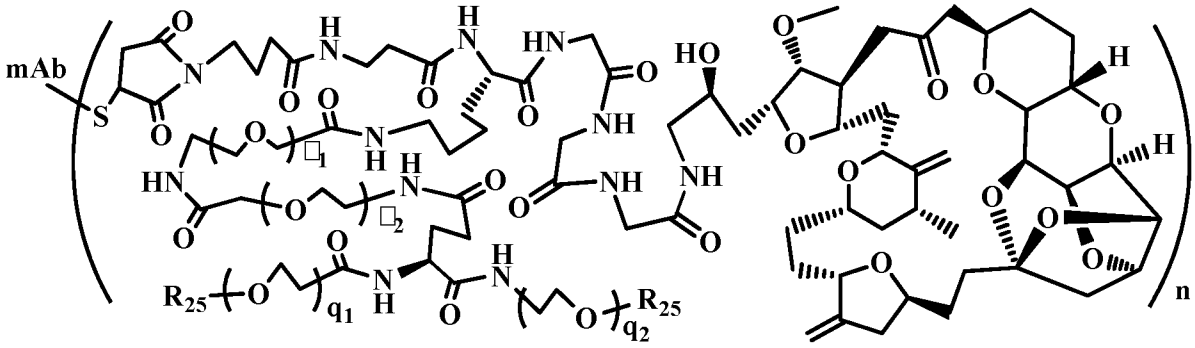
a071,



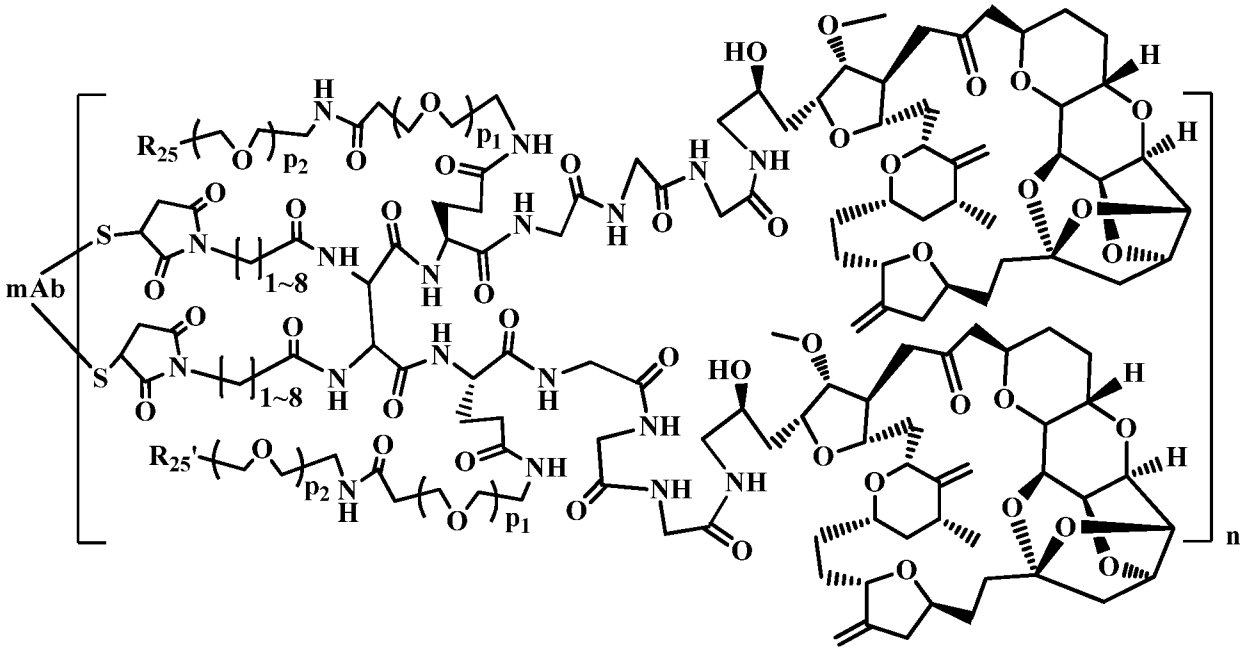
a072,



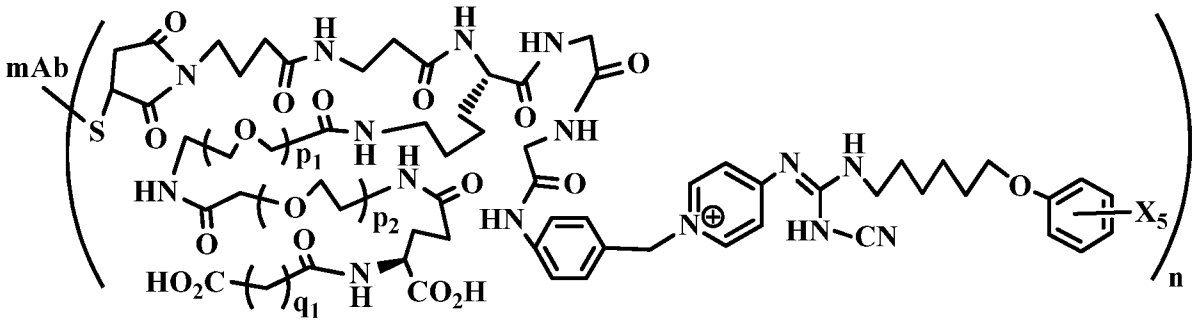
a073,



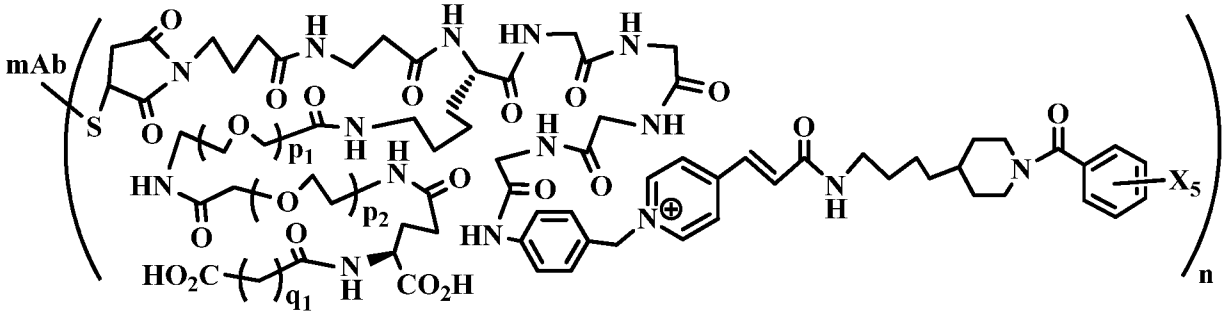
a074,



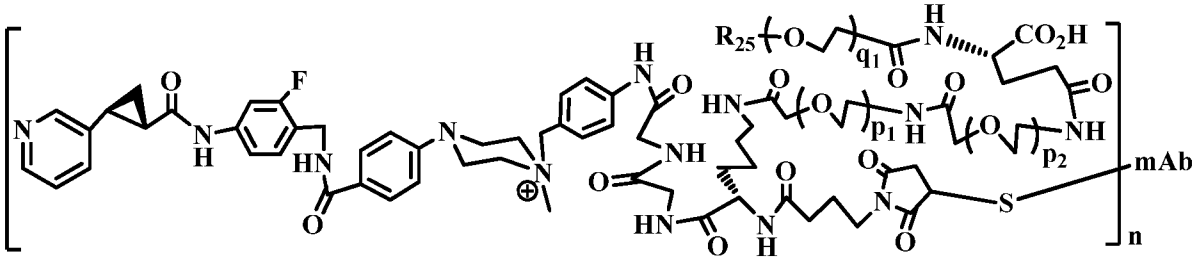
a075,



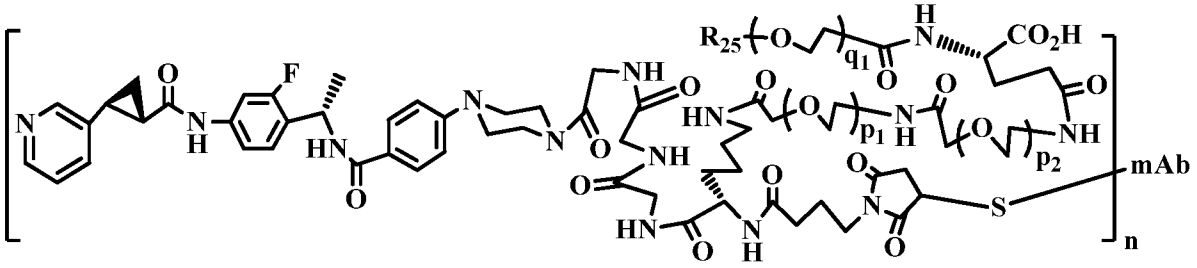
a076,



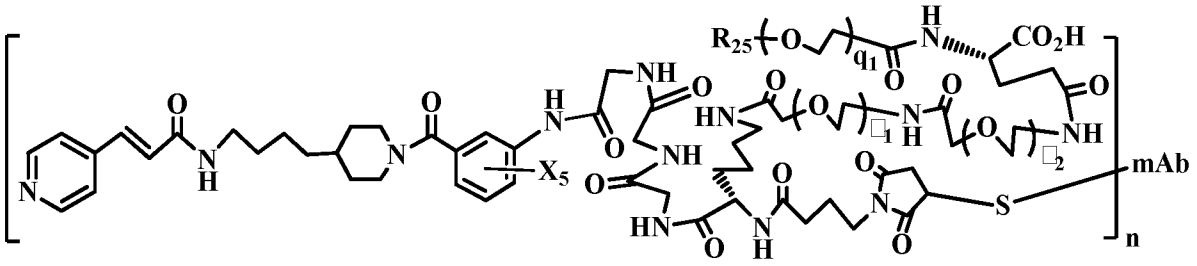
a077,



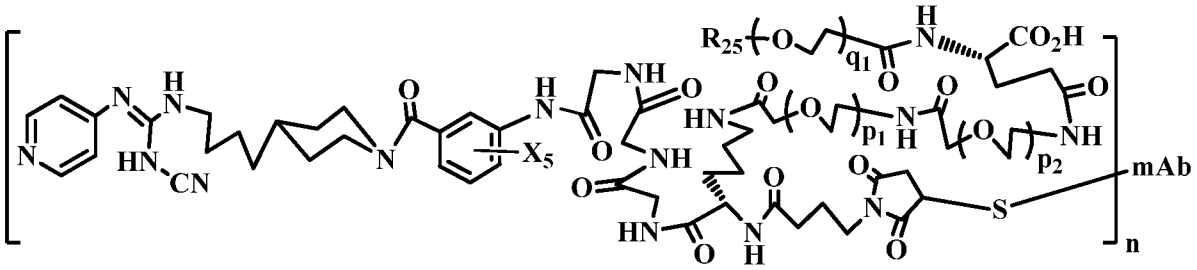
a078,



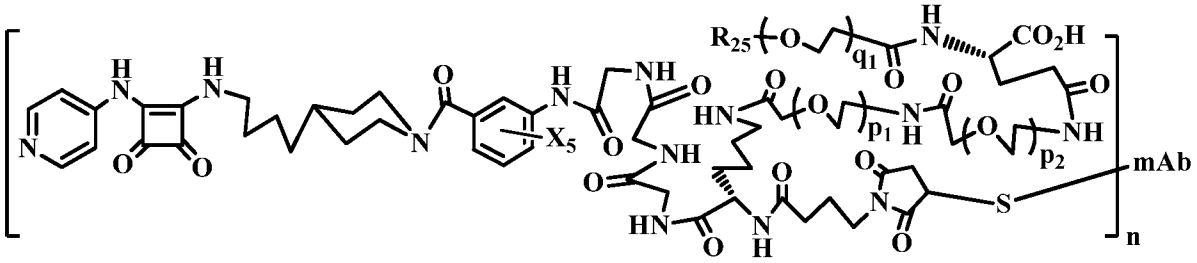
a079,



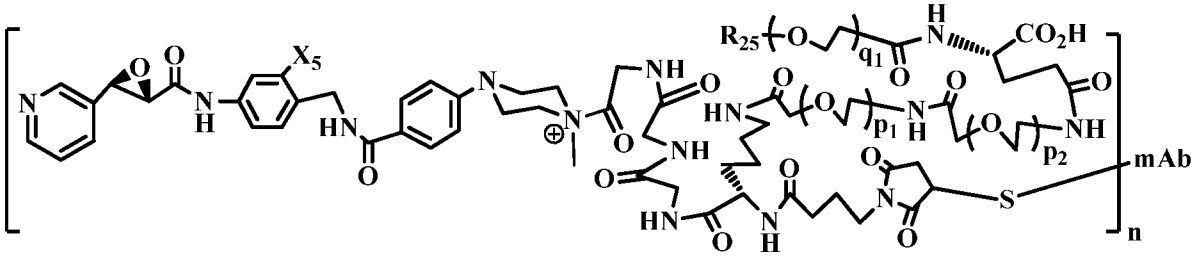
a080,



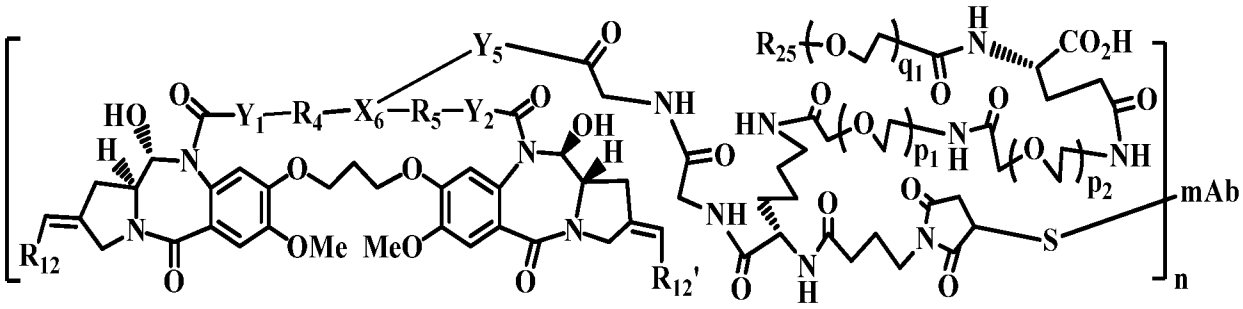
a081,



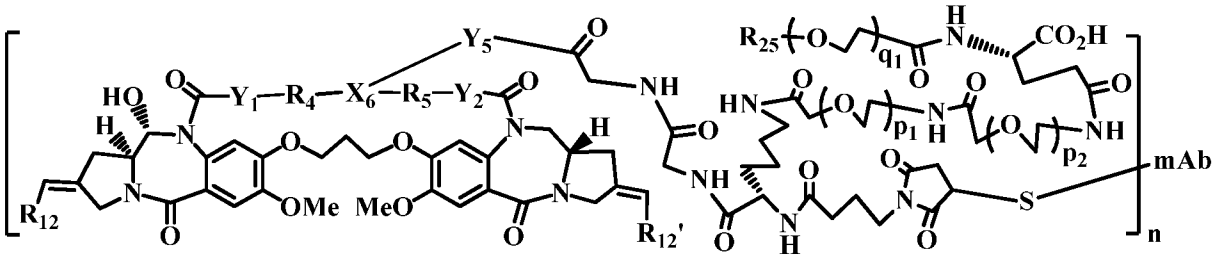
a082,



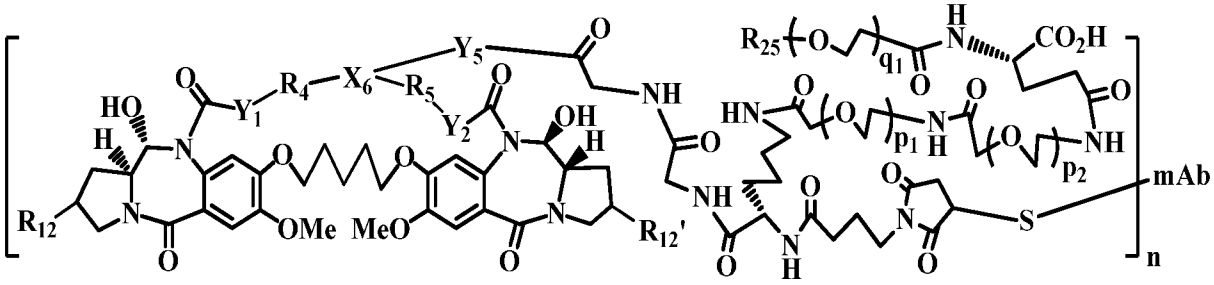
a083,



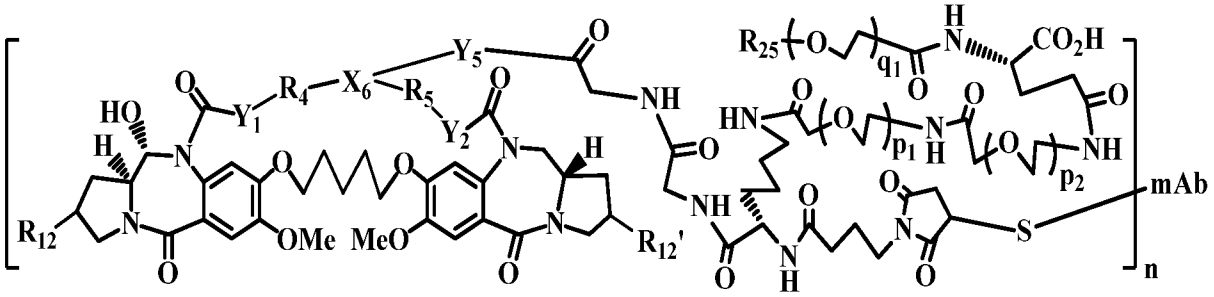
a084,



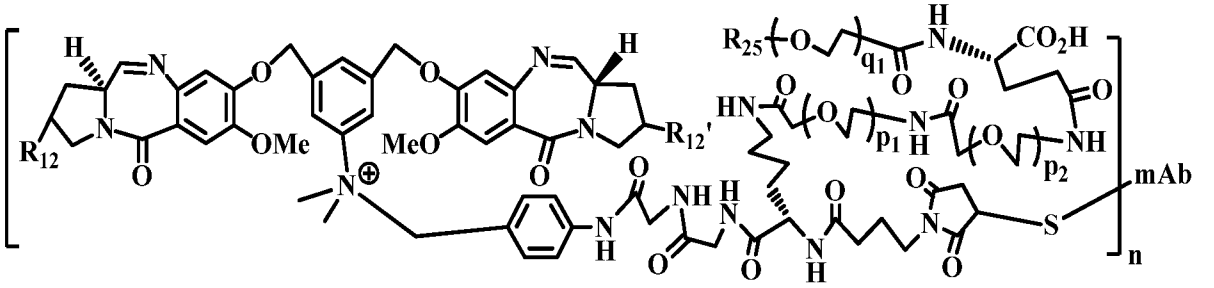
a085,



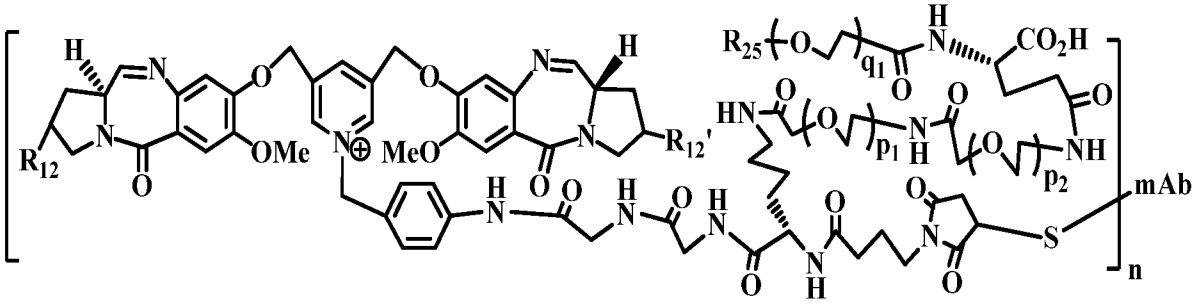
a086,



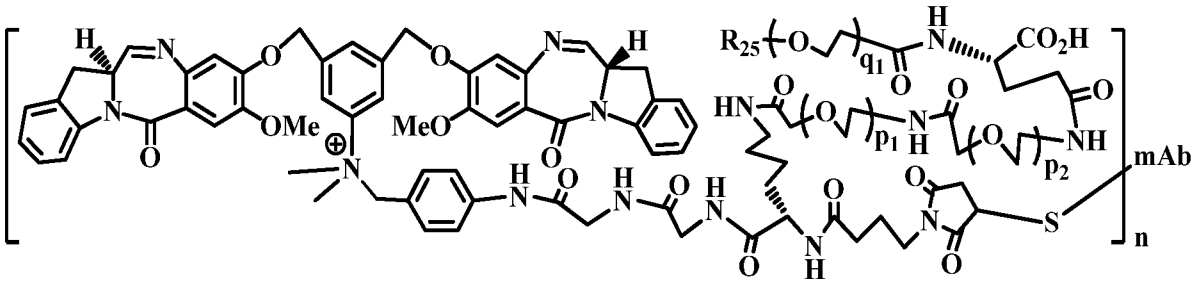
a087,



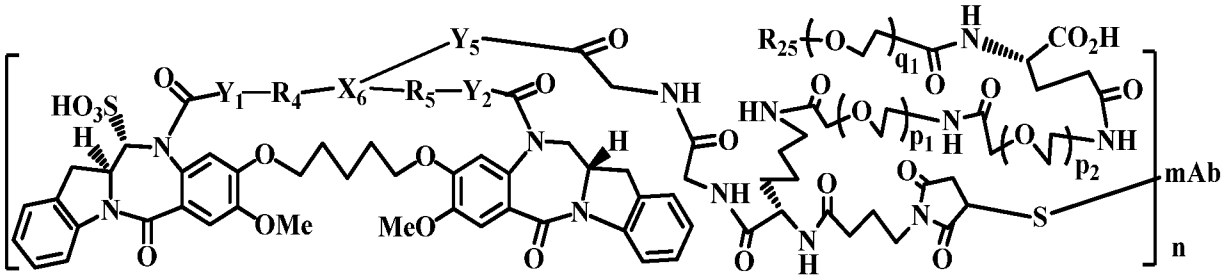
a088,



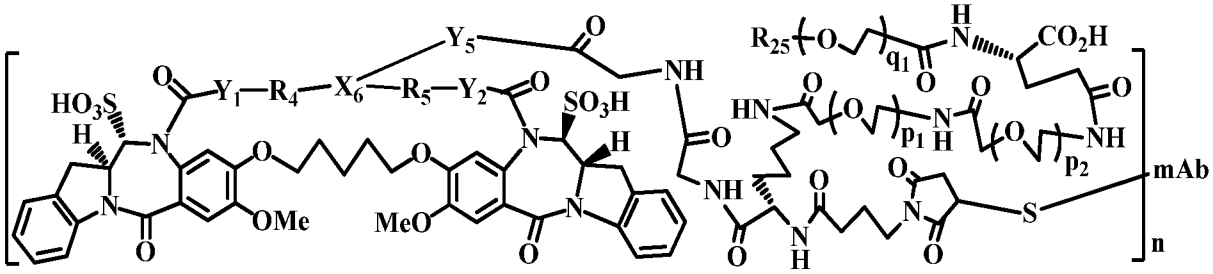
a089,



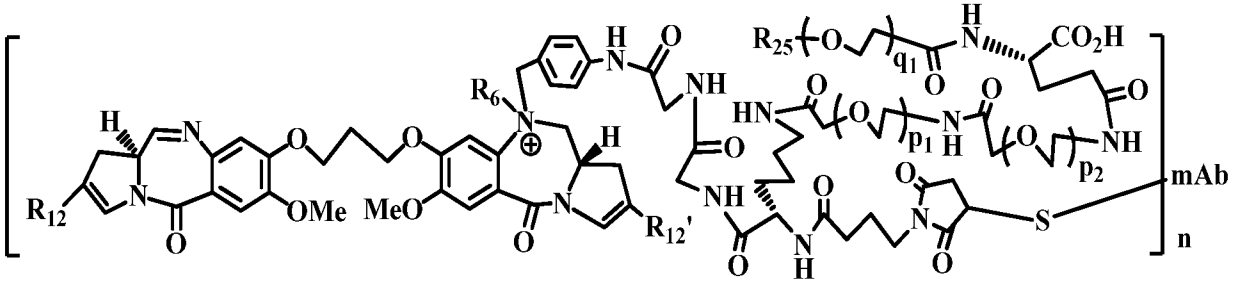
a090,



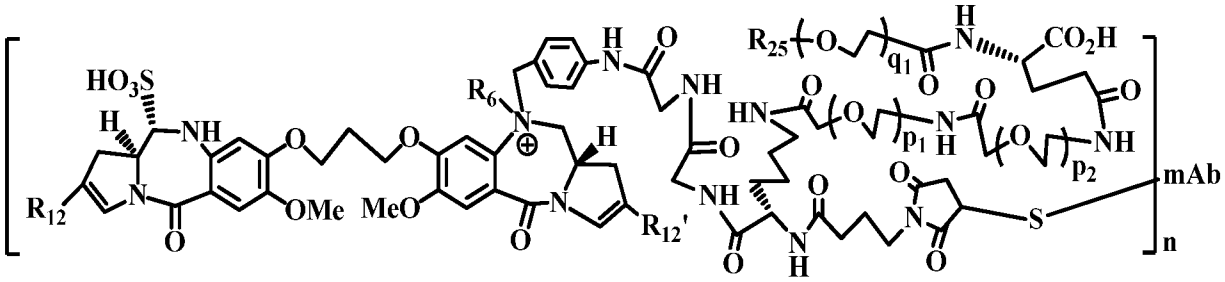
a091,



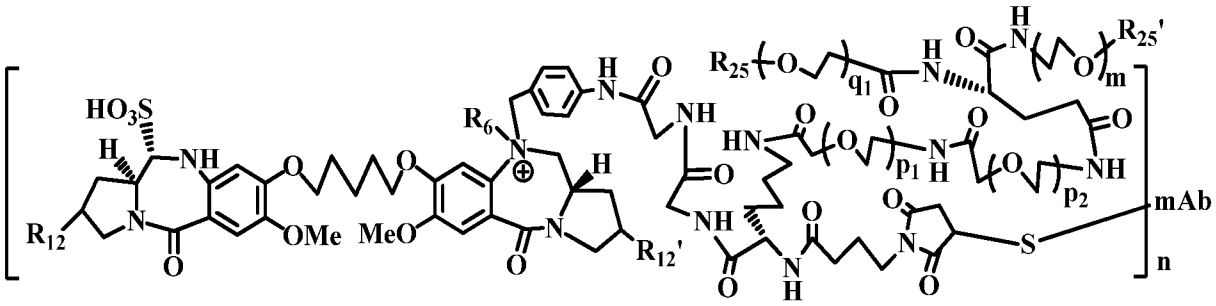
a092,



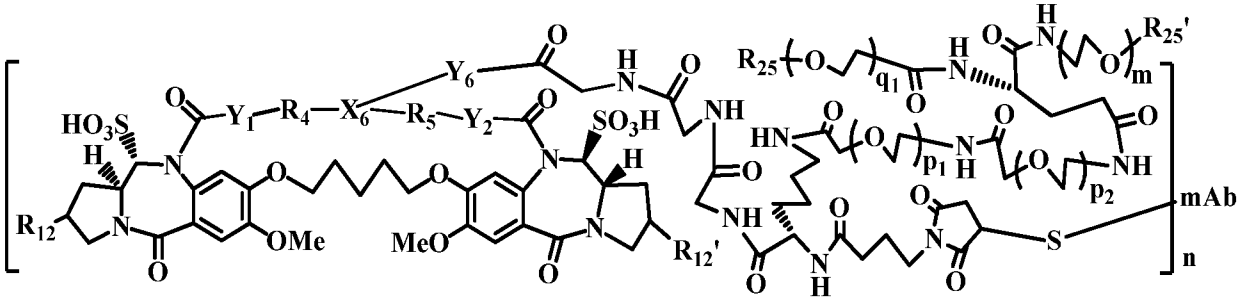
a093,



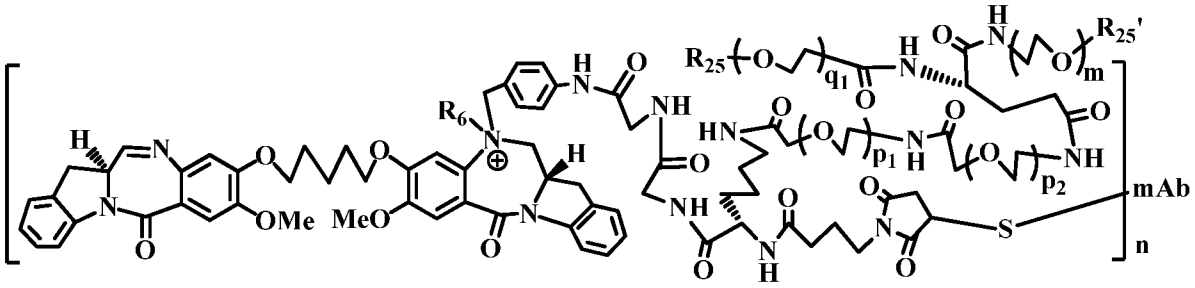
a094,



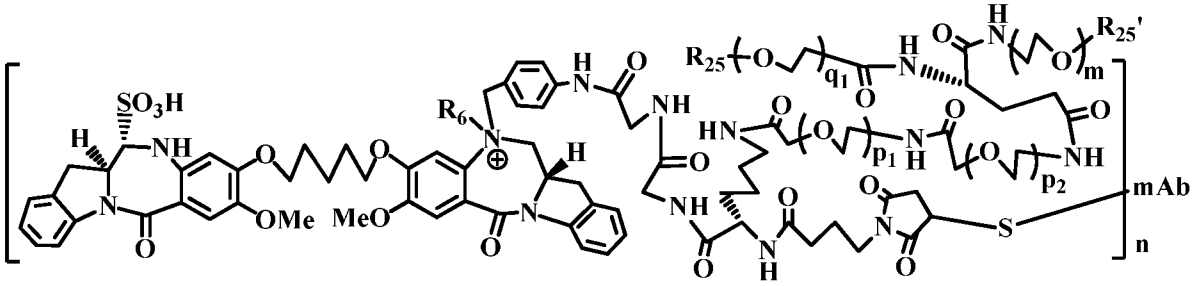
a095,



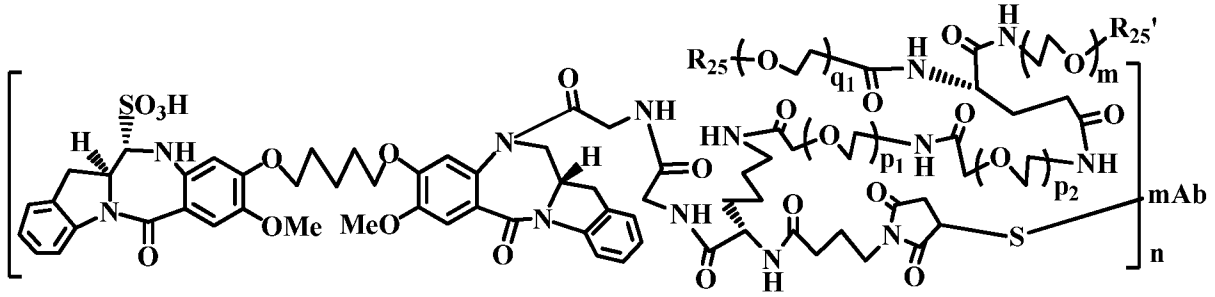
a096,



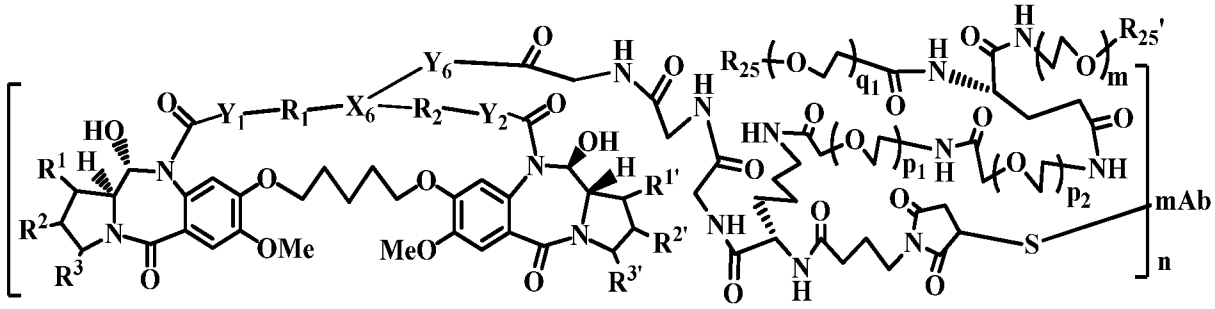
a097,



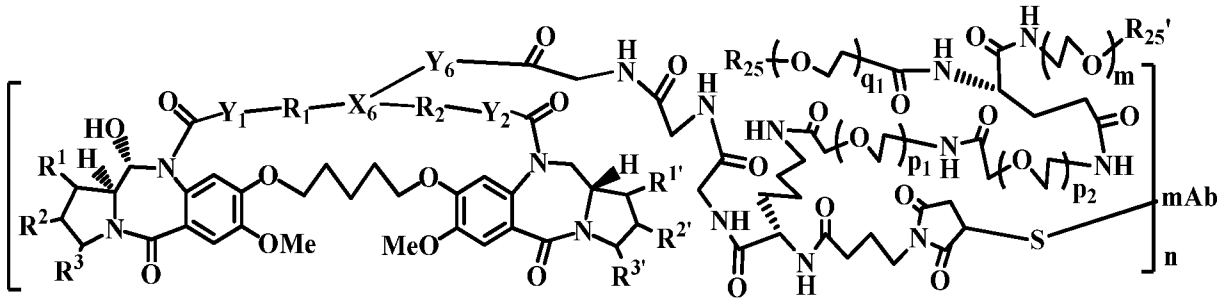
a098,



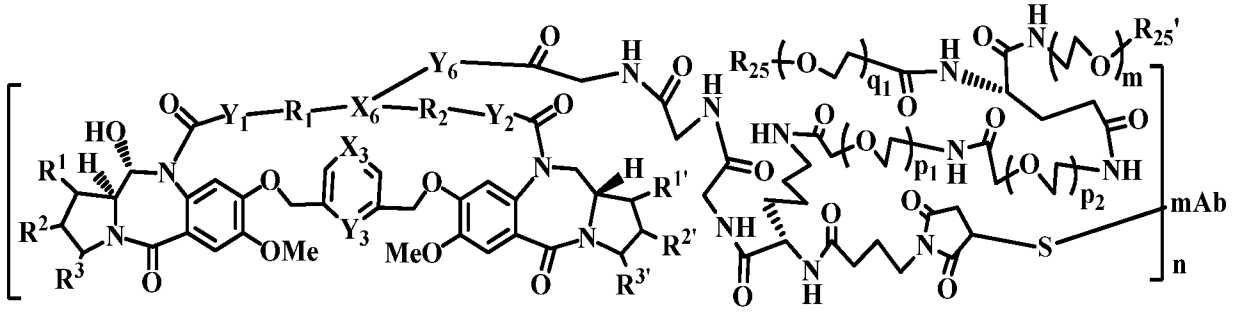
a099,



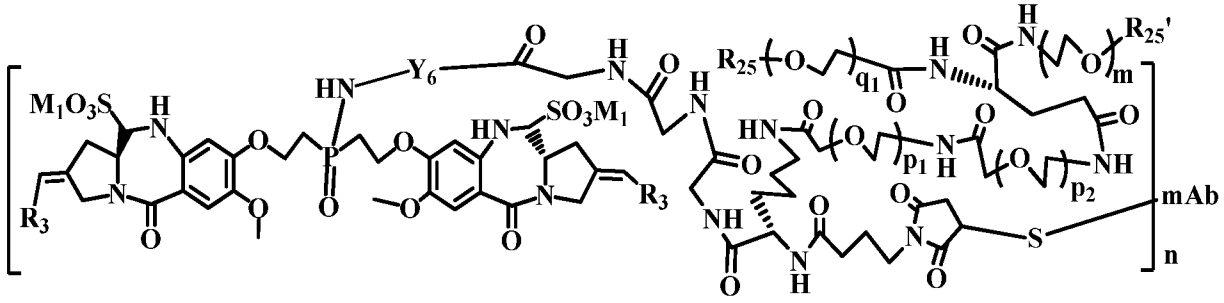
a100,



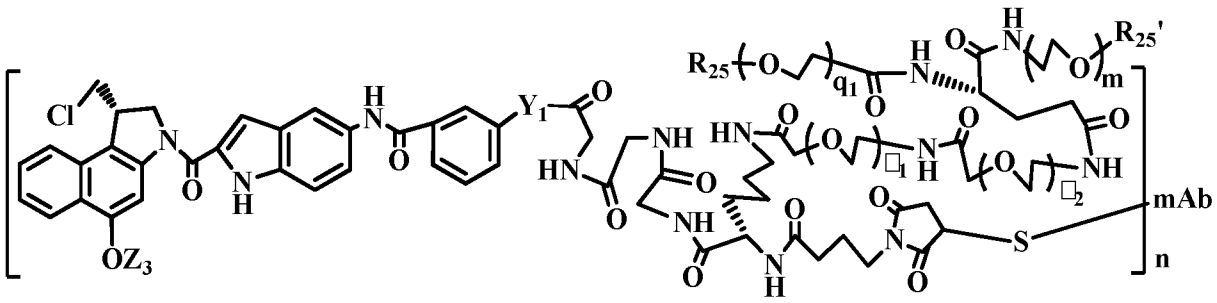
a101,



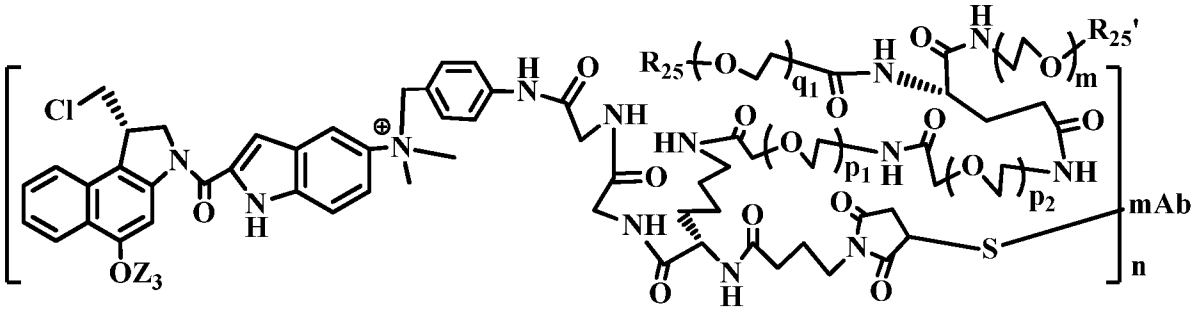
a102,



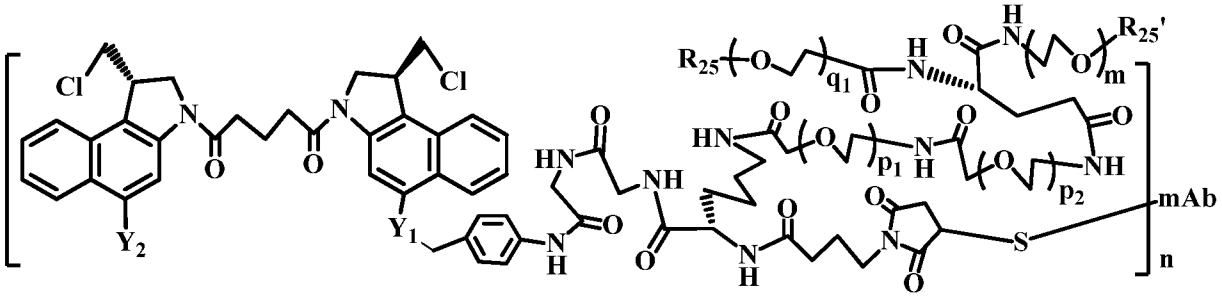
a103,



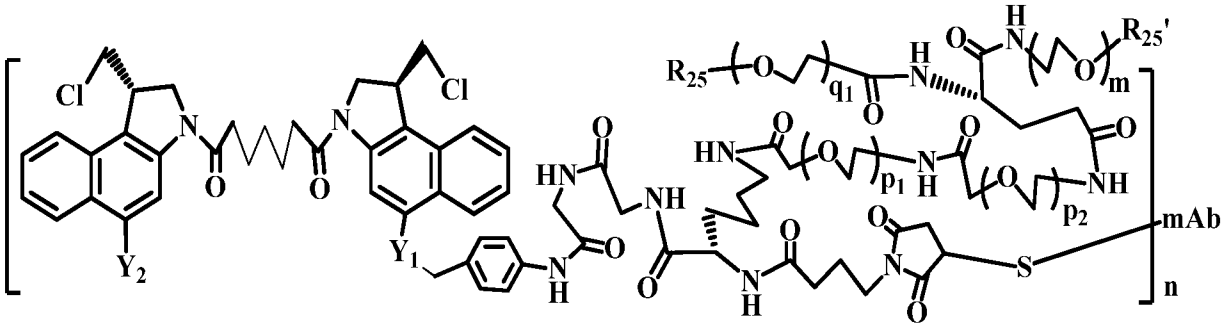
a104,



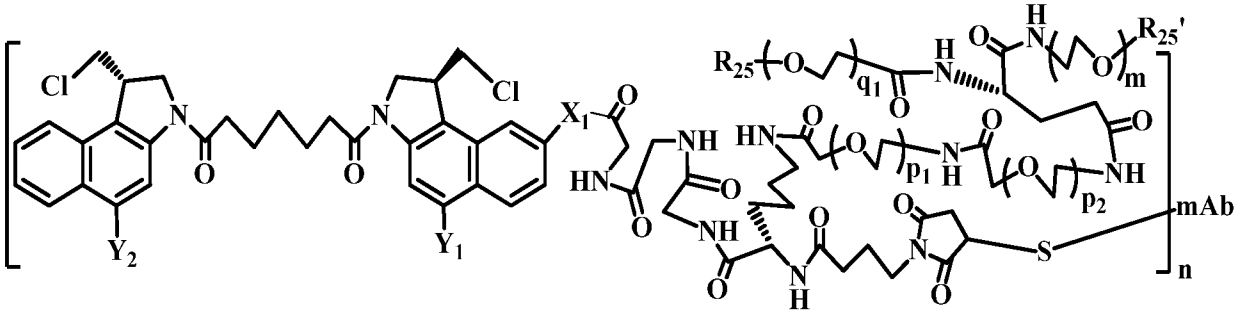
a105,



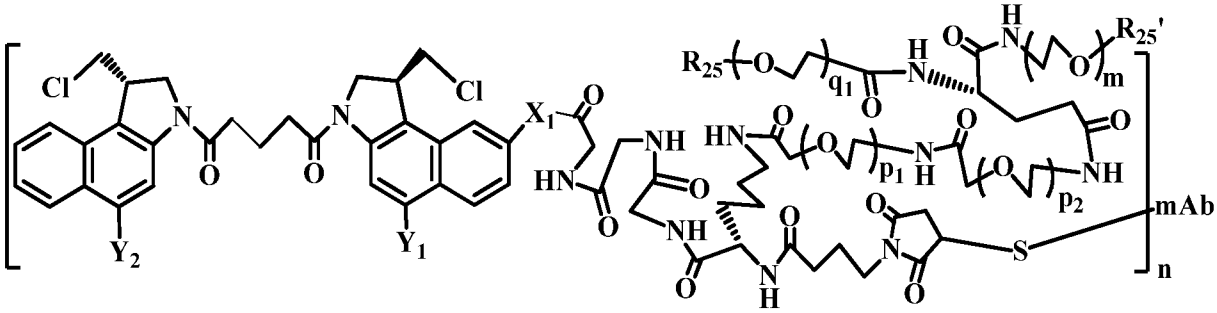
a106,



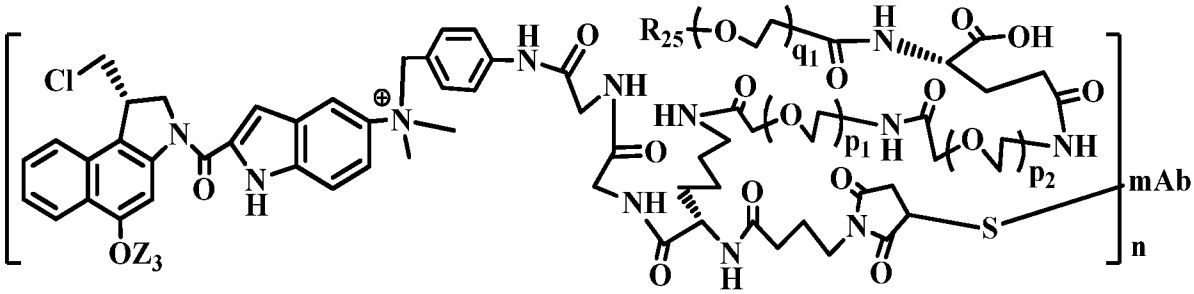
a107,



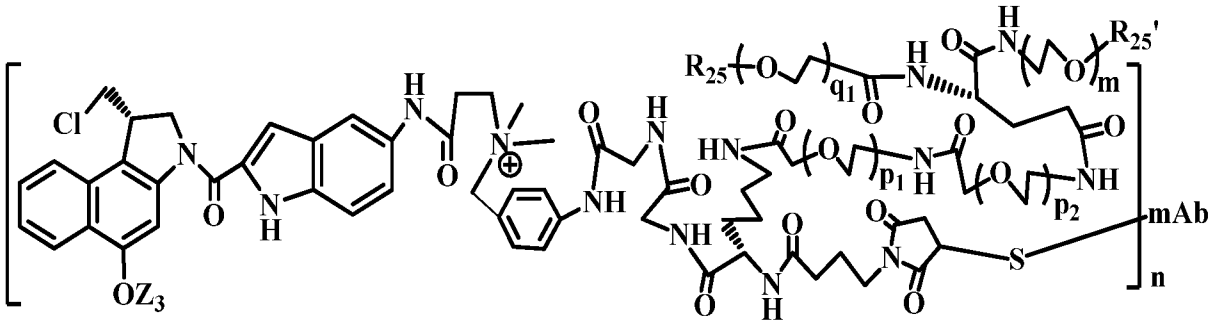
a108,



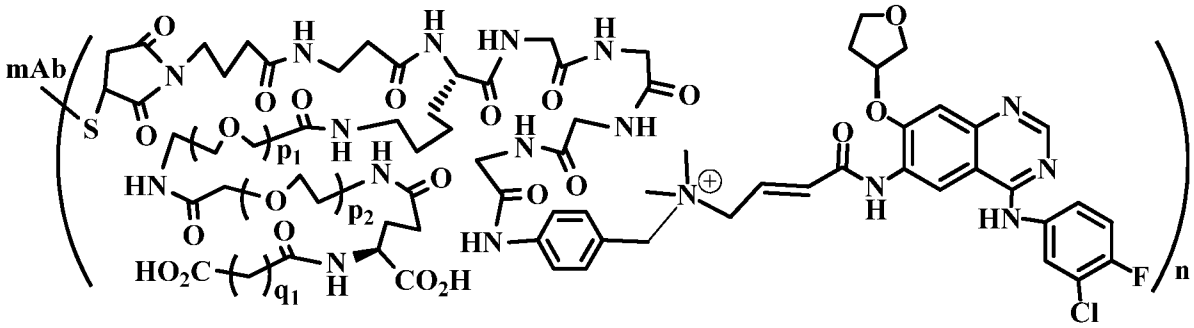
a109,



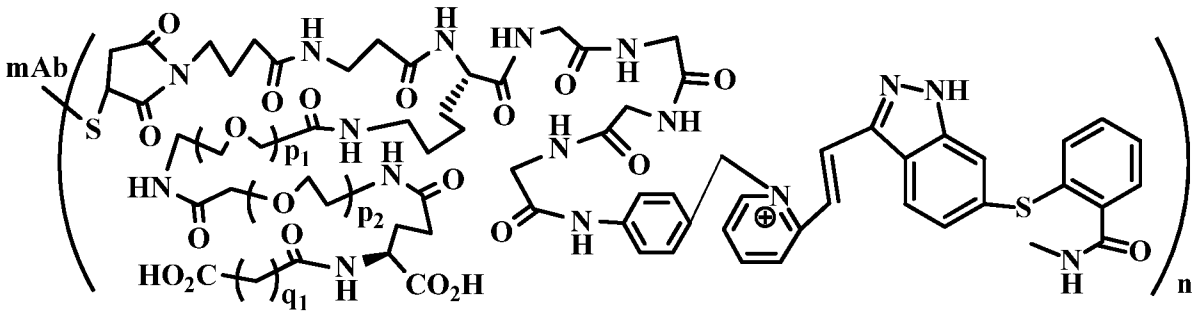
a110,



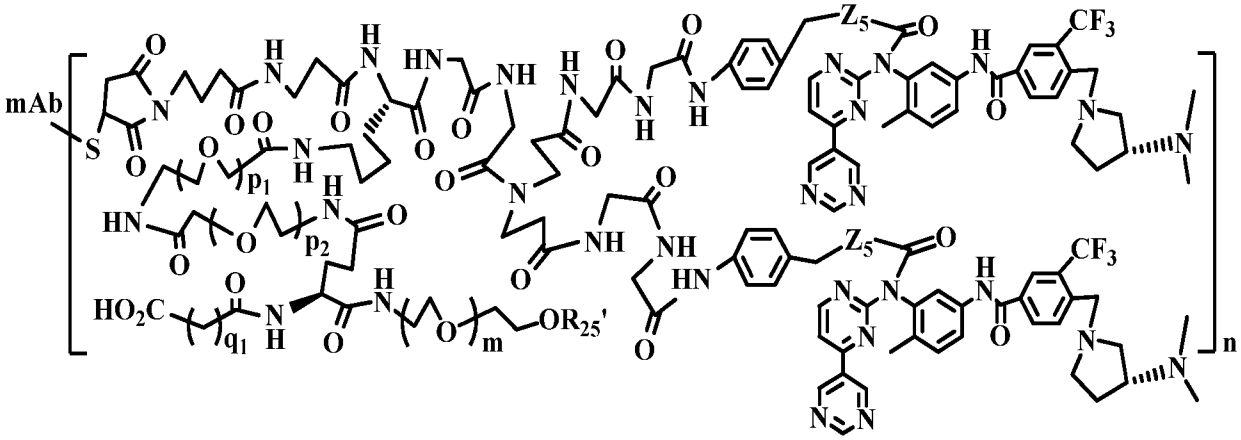
a111,



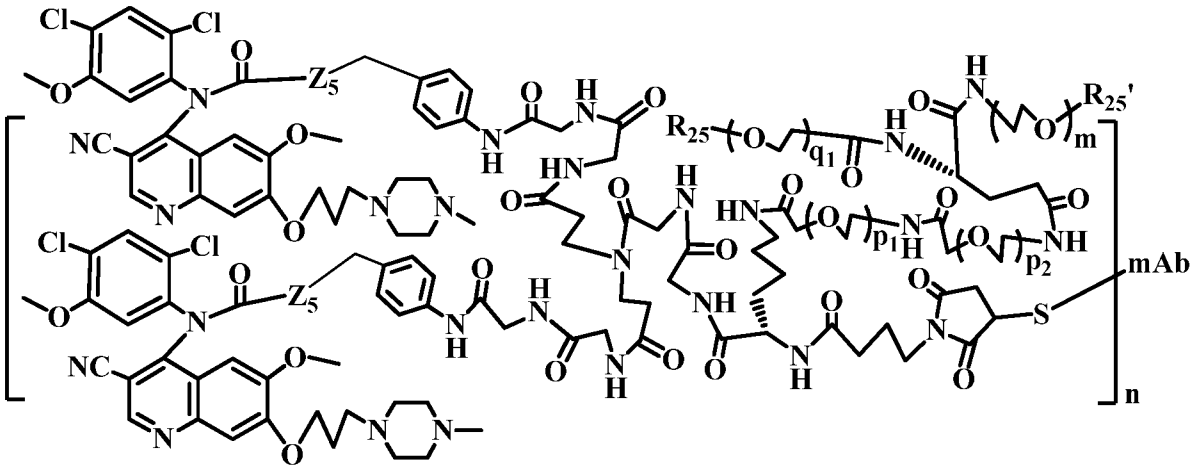
a112,



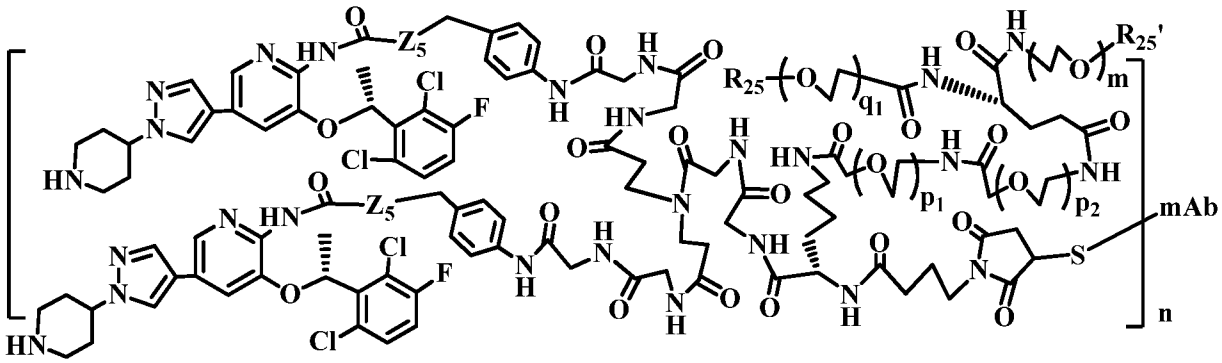
a113,



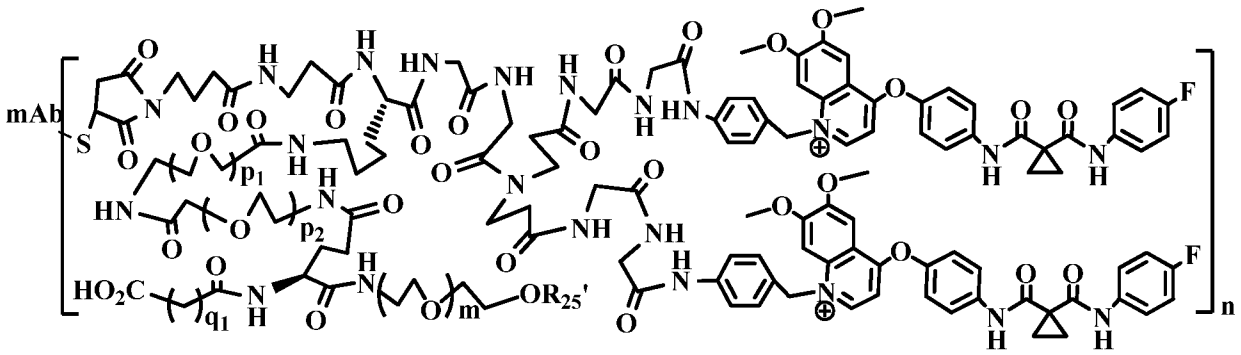
a114,



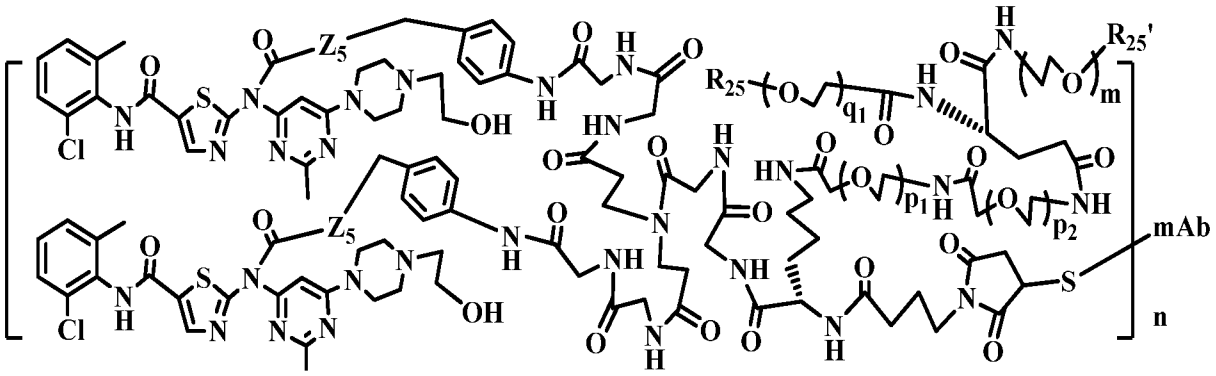
a114,



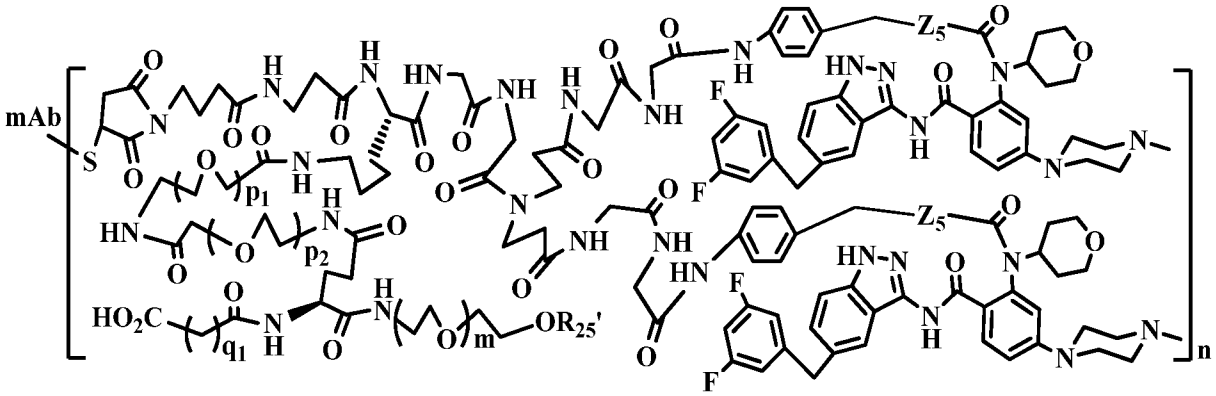
a115,



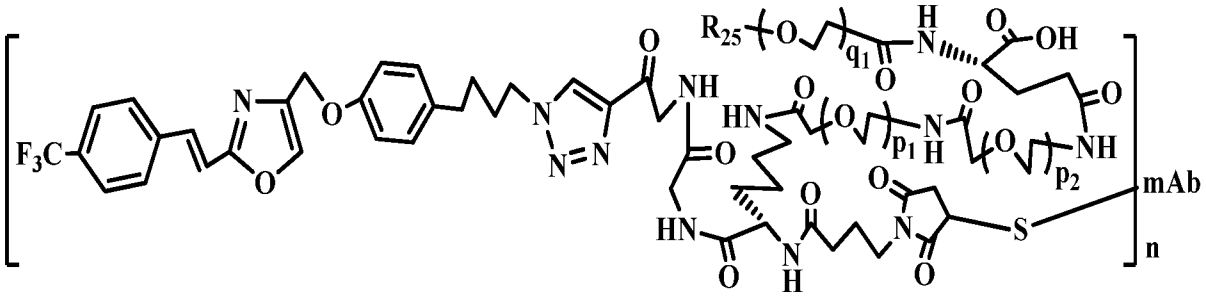
a116,



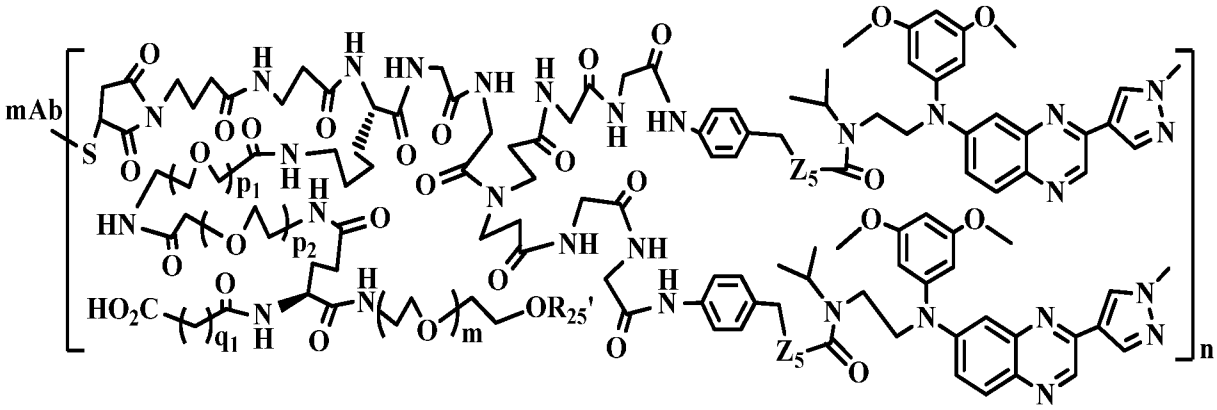
a117,



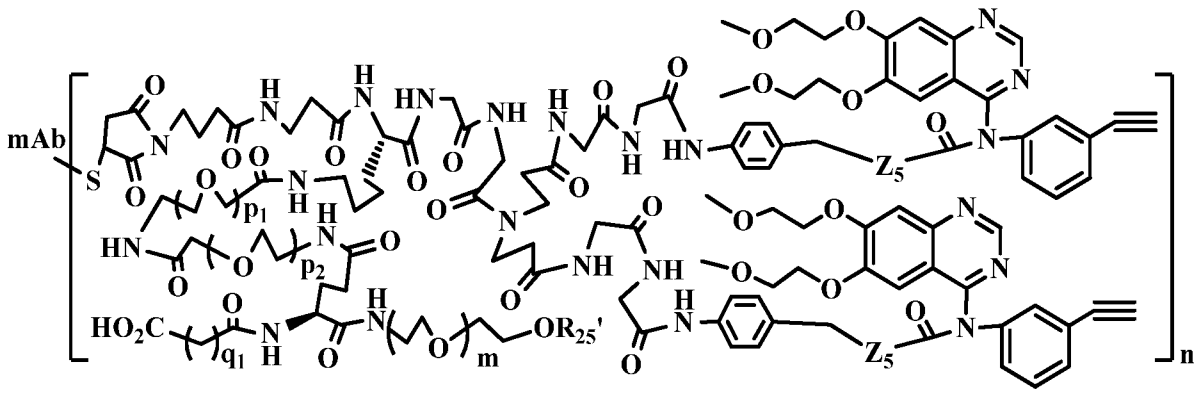
a118,



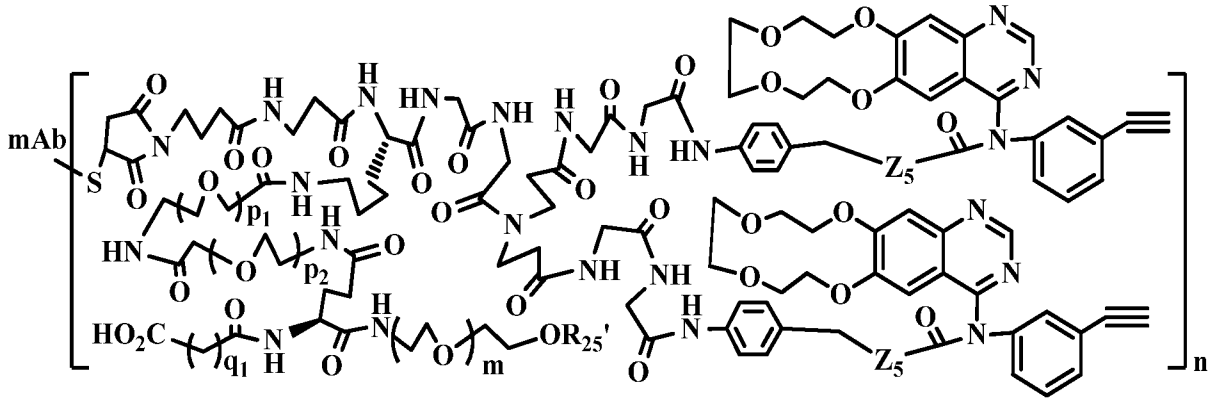
a119,



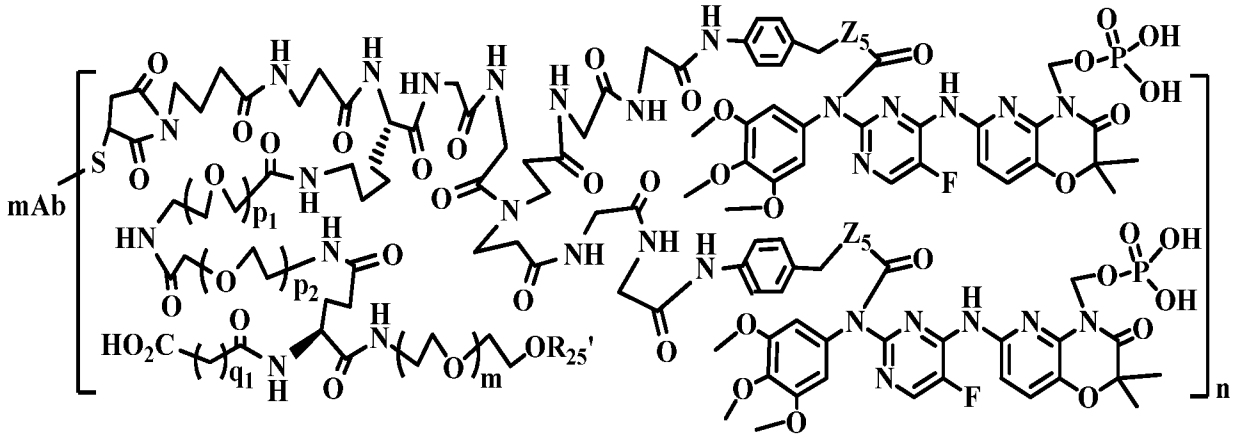
a120,



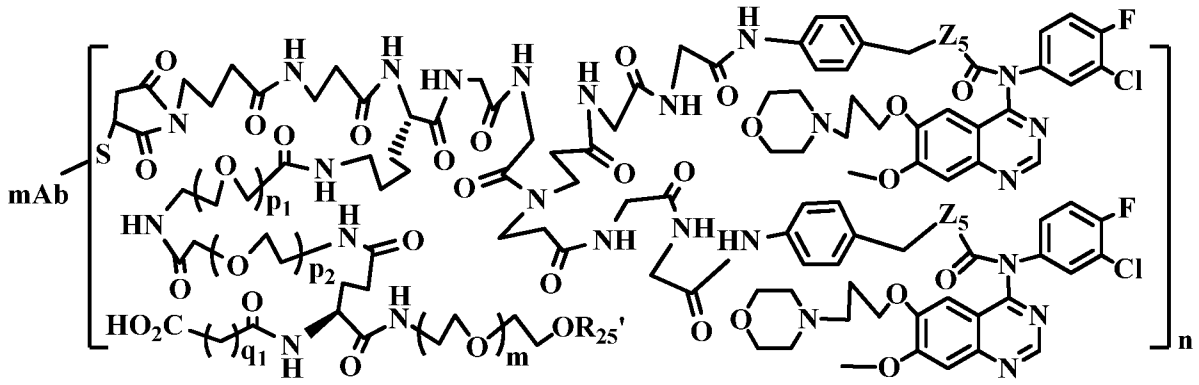
a121,



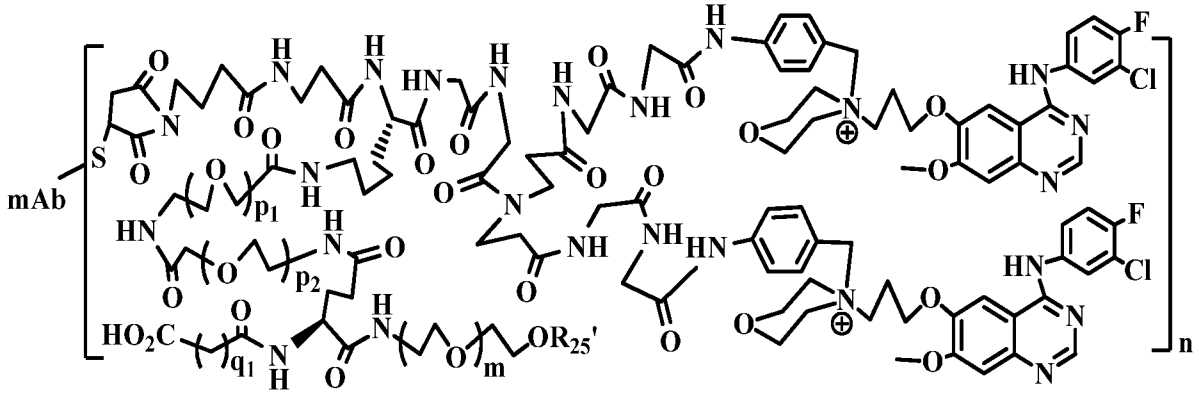
a122,



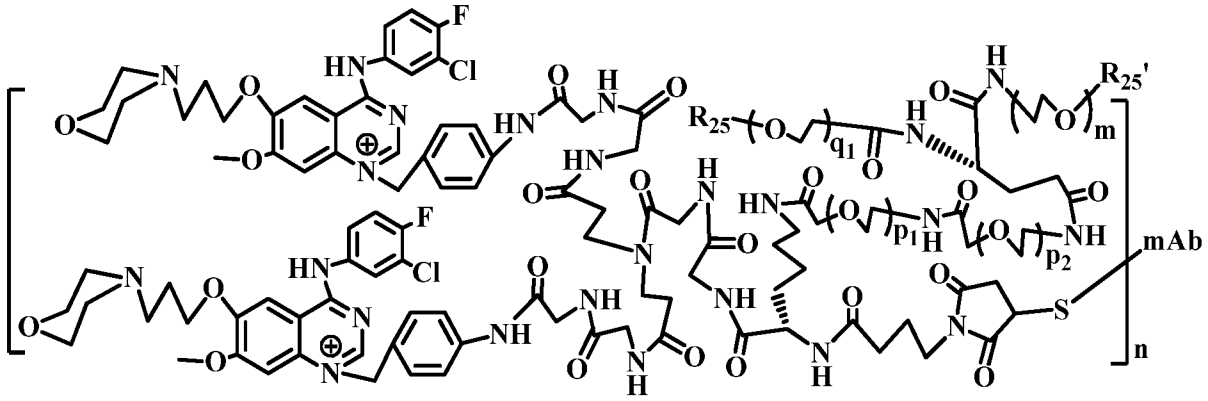
a123,



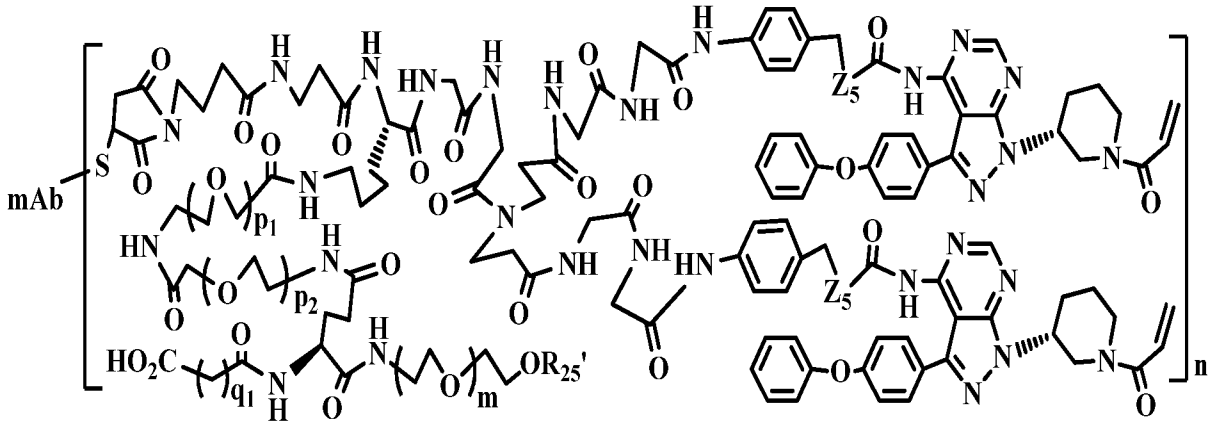
a124,



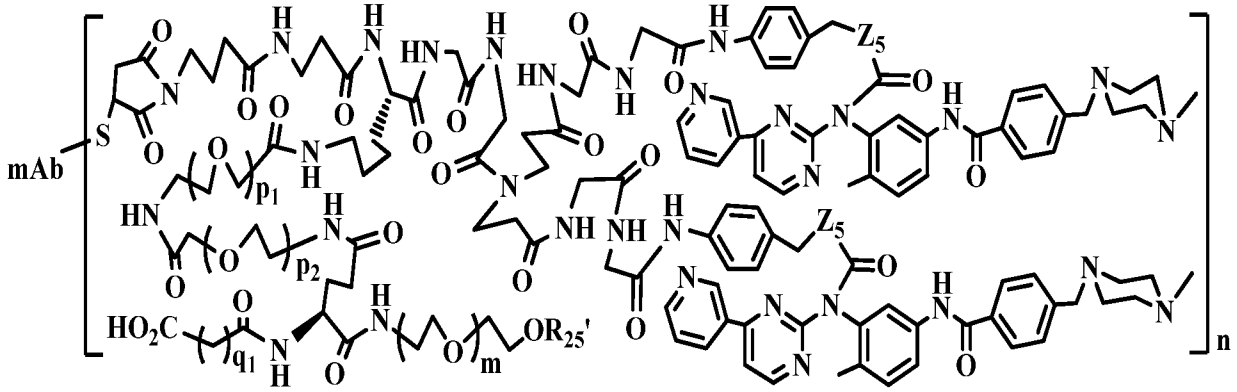
a125,



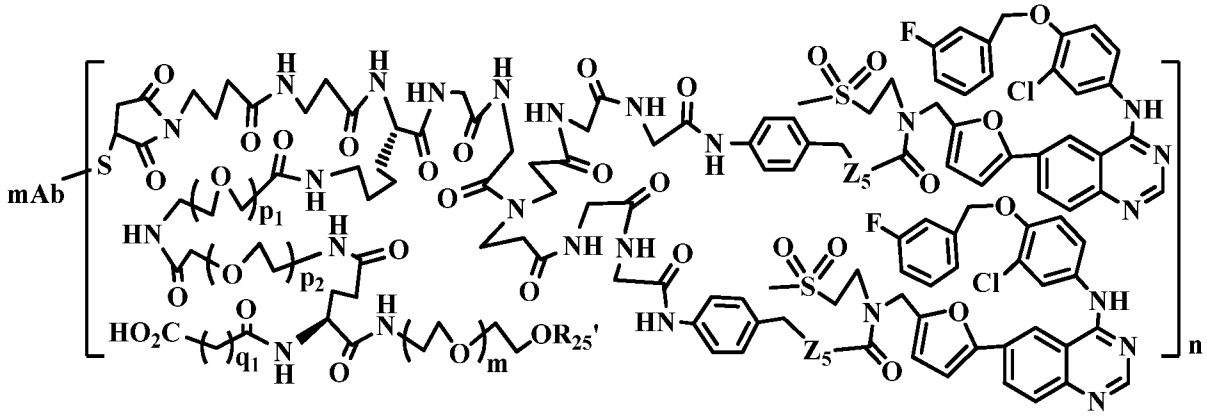
a126,



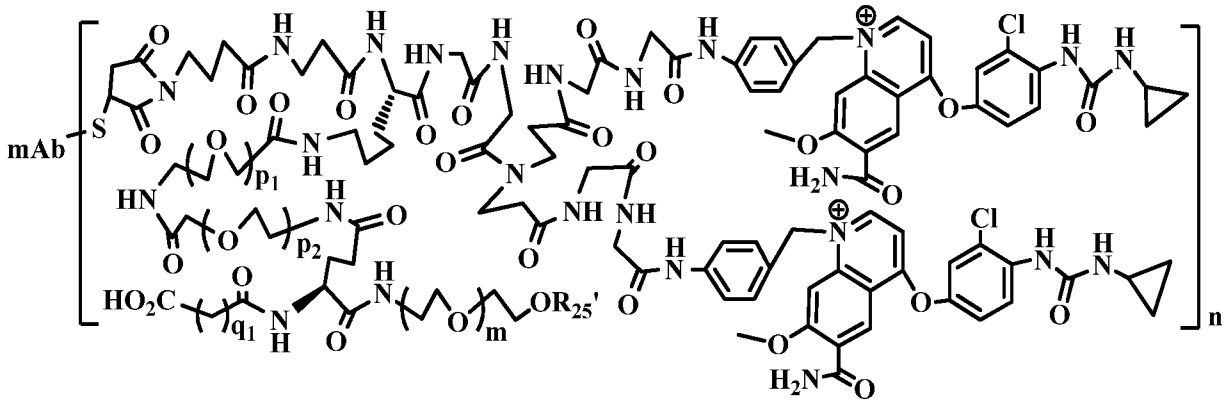
a127,



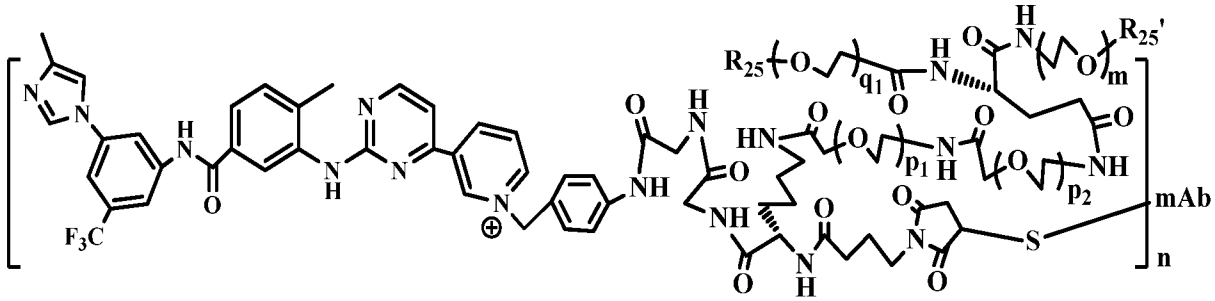
a128,



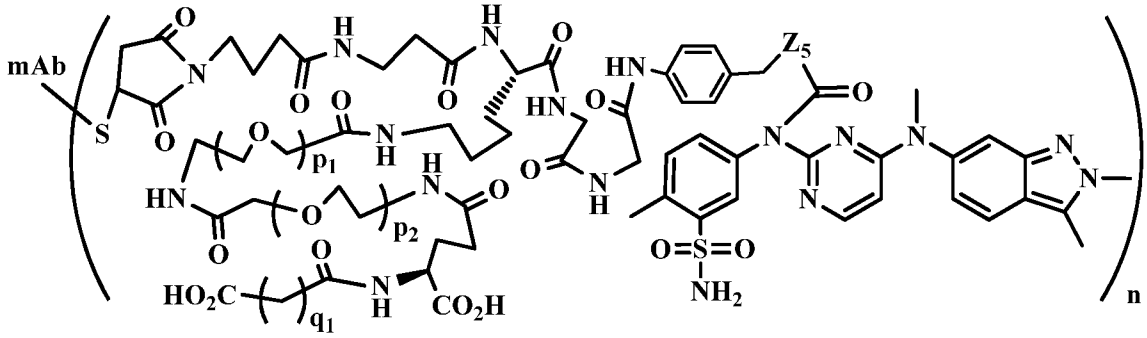
a129,



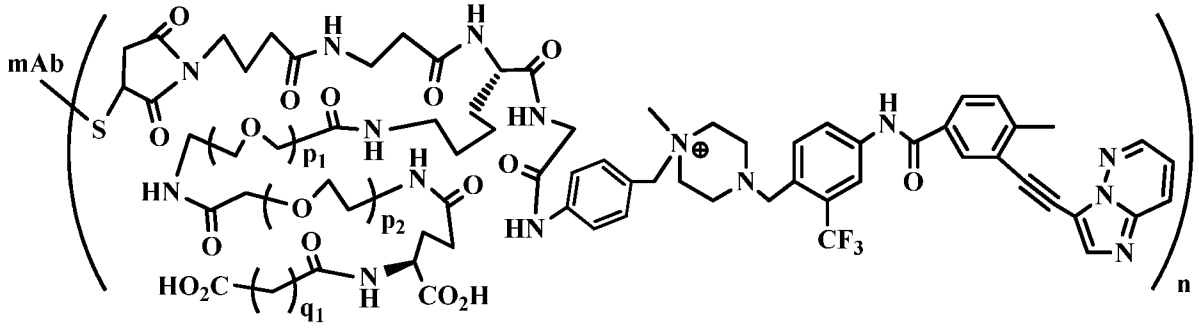
a130,



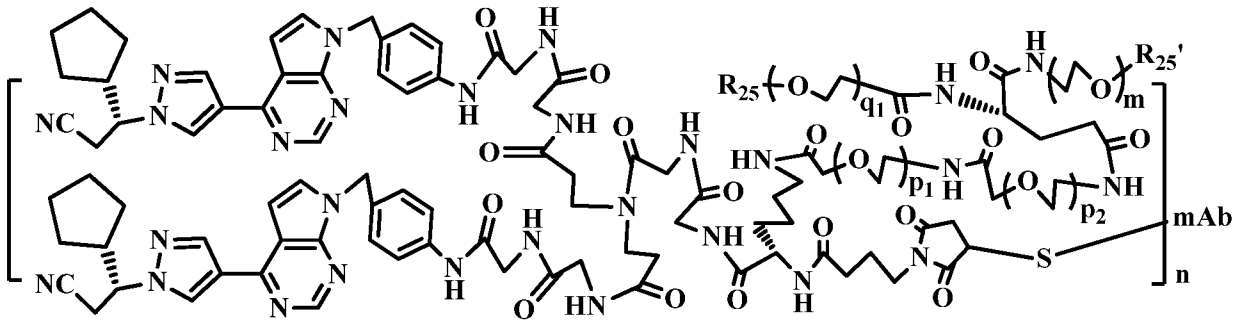
a131,



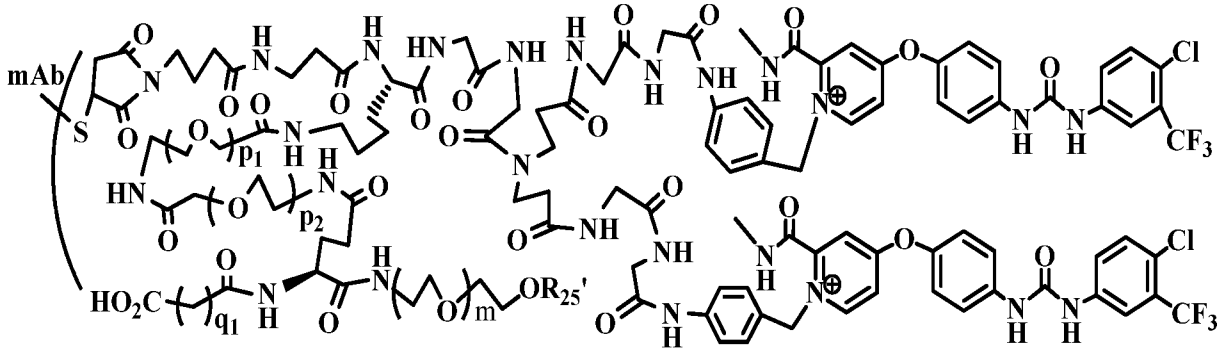
a132,



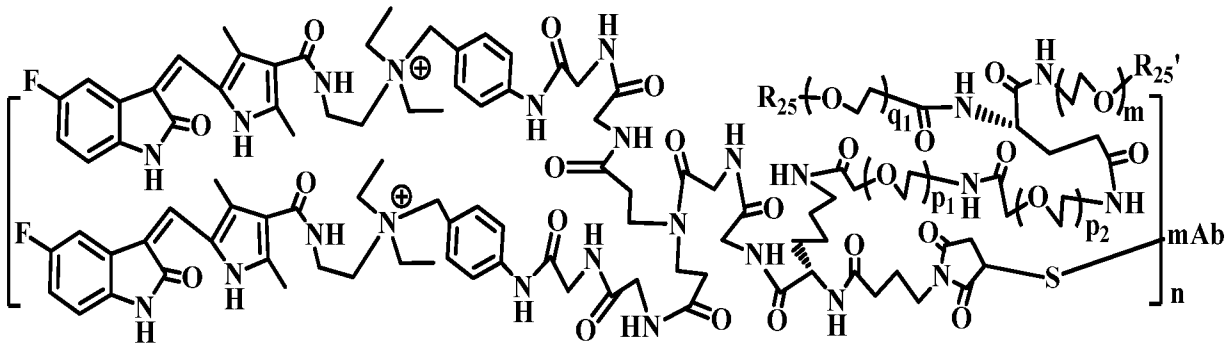
a133,



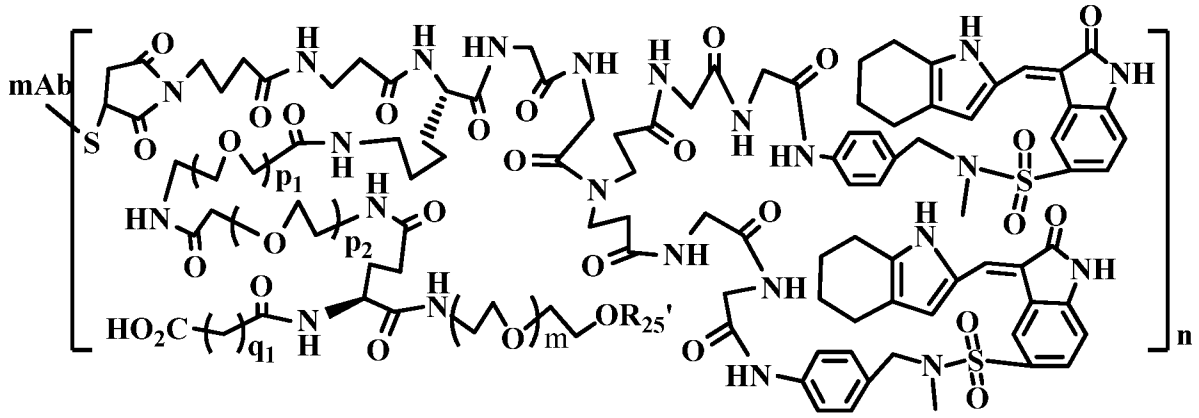
a134,



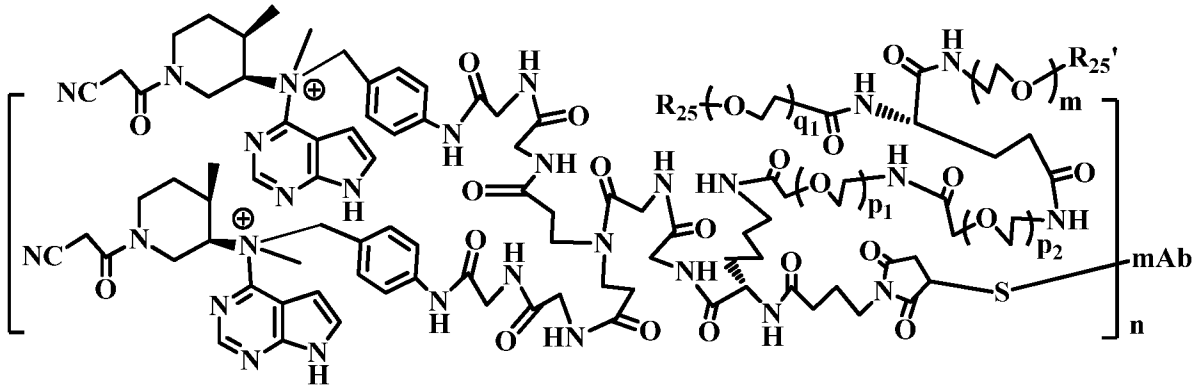
a135,



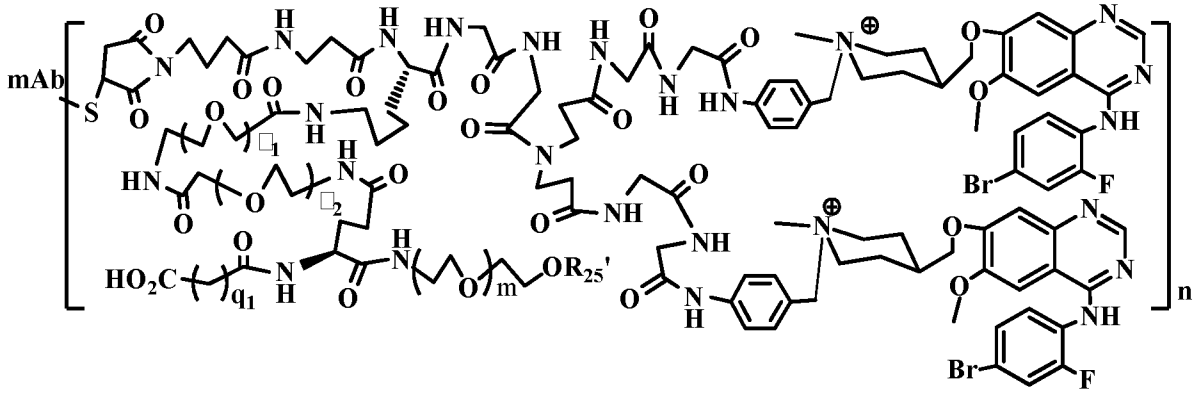
a136,



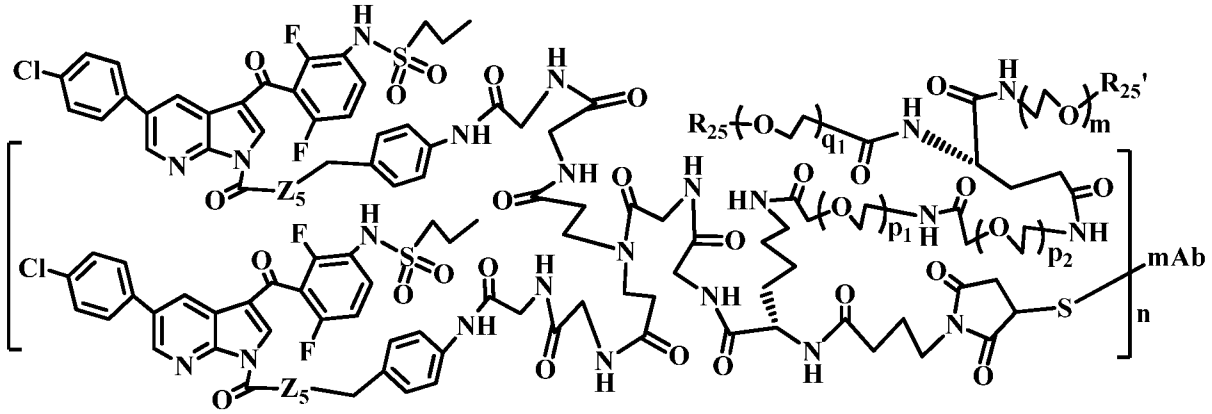
a137,



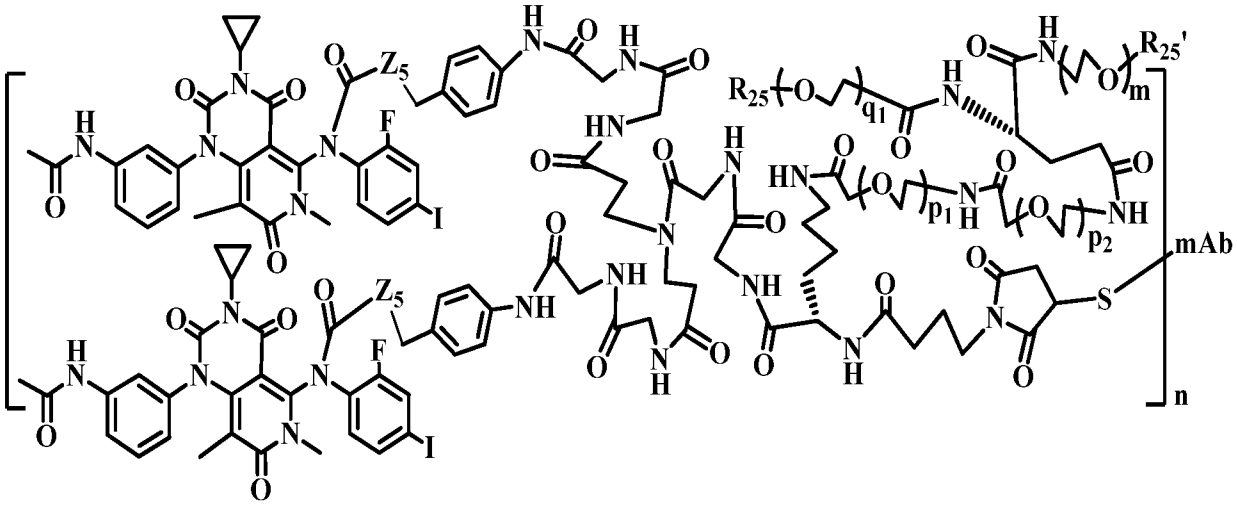
a138,



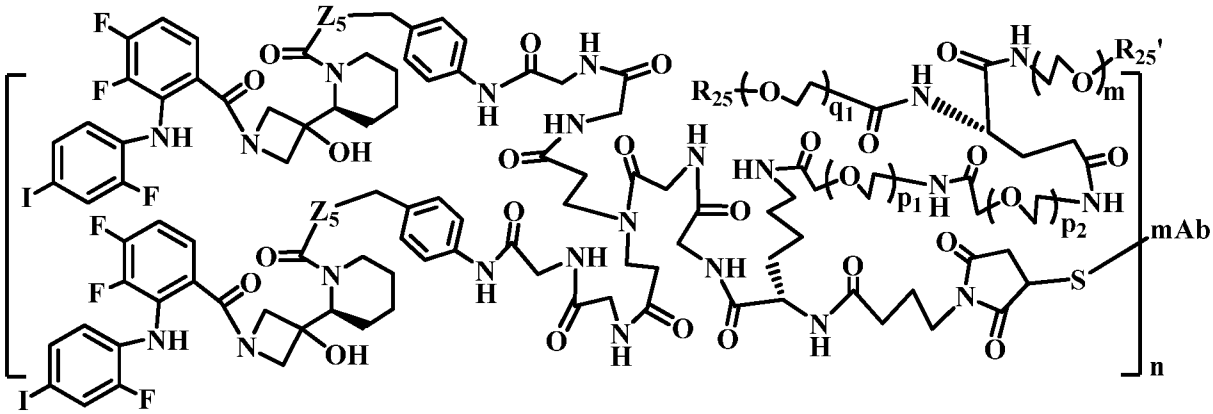
a139,



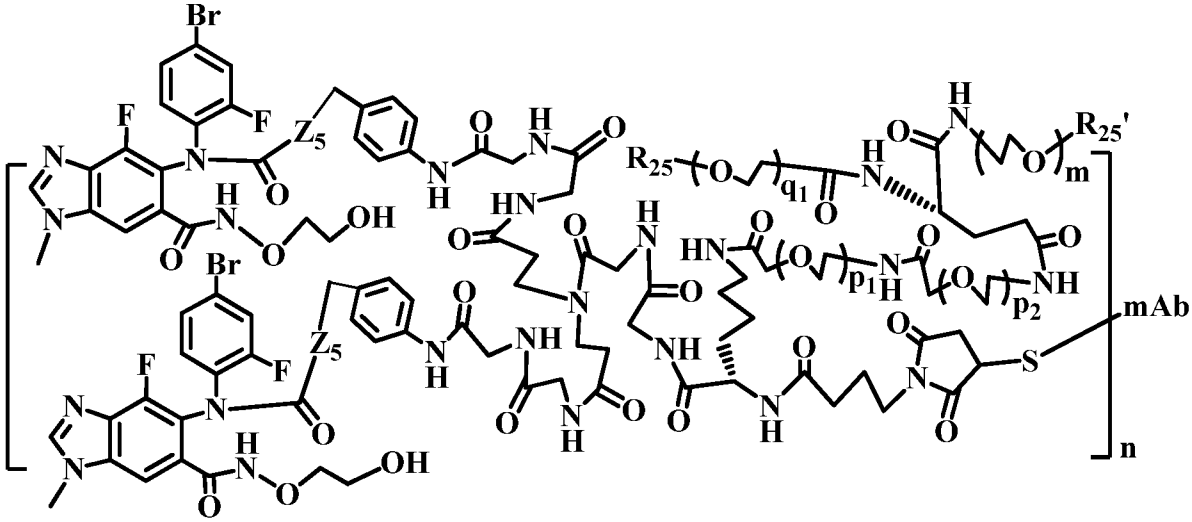
a140,



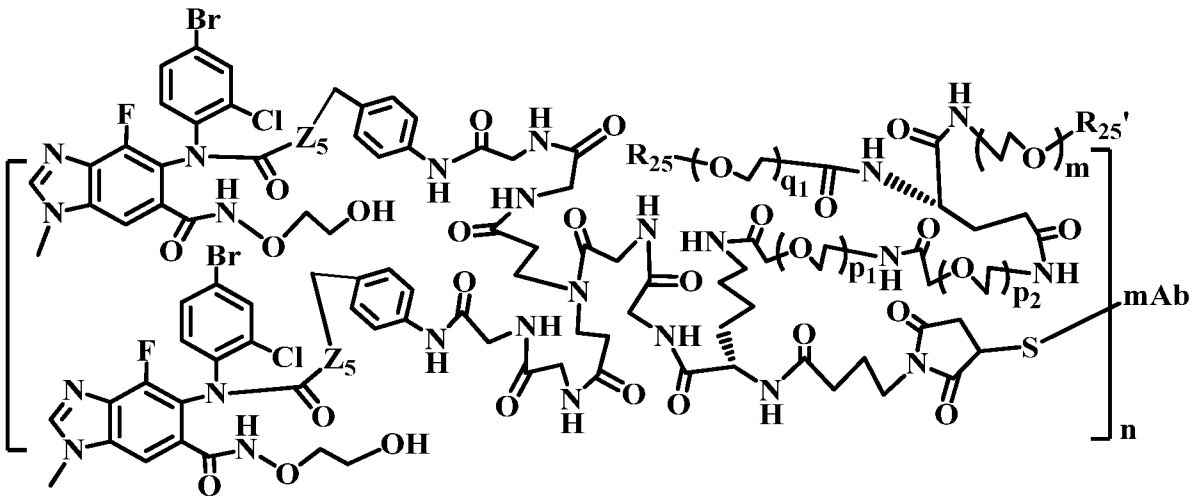
a141,



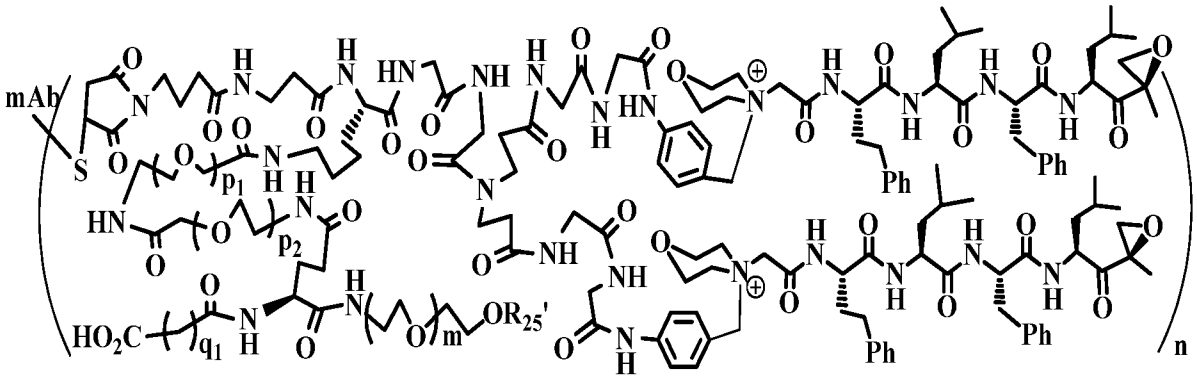
a142,



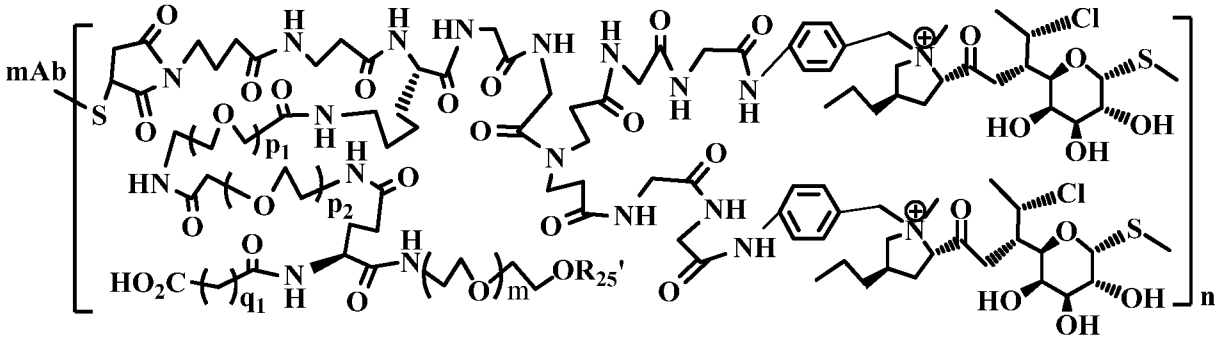
a143,



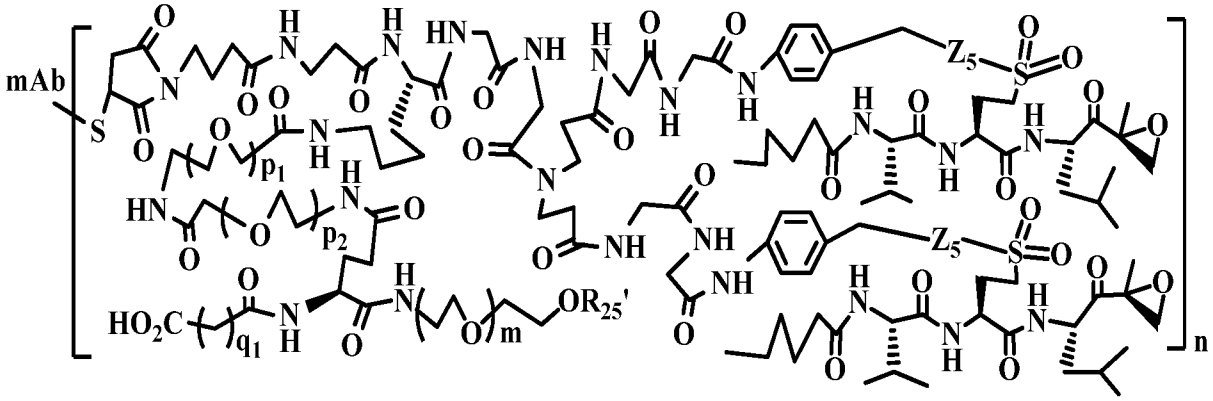
a144,



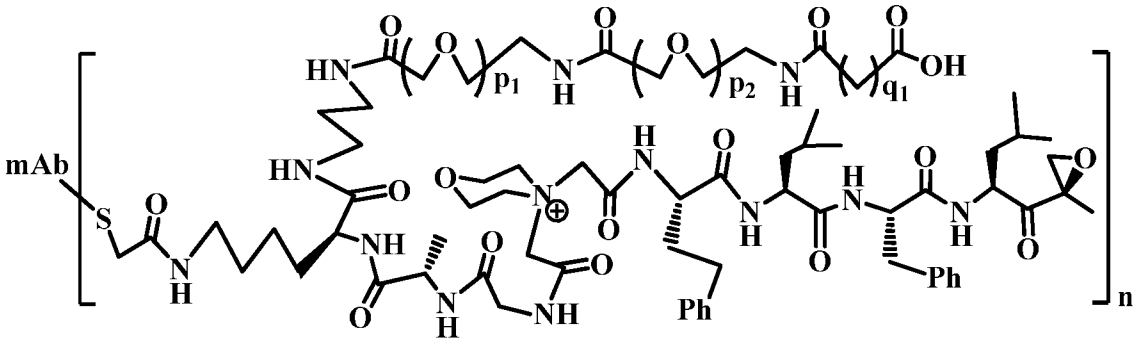
a145,



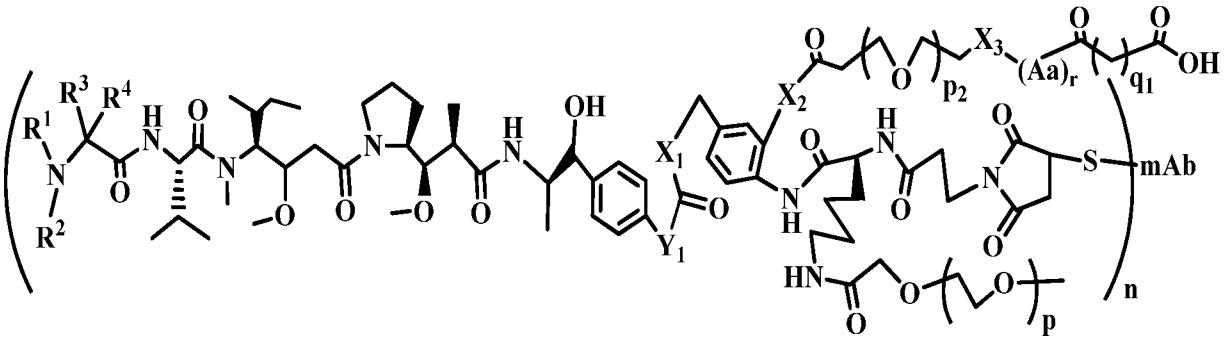
a146,



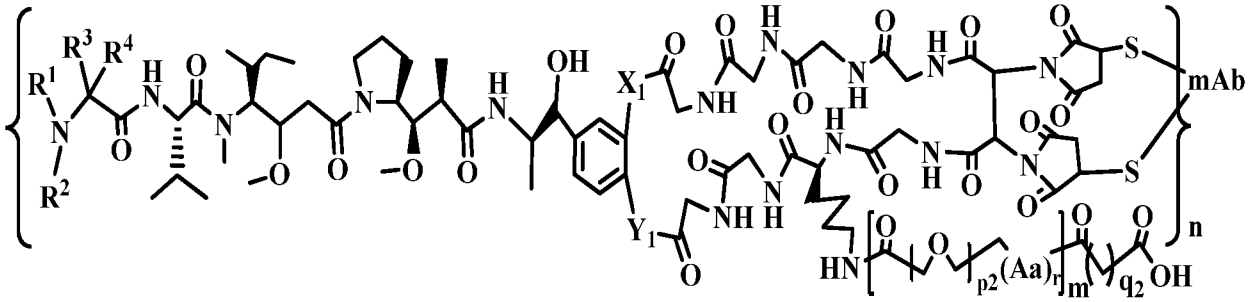
a147,



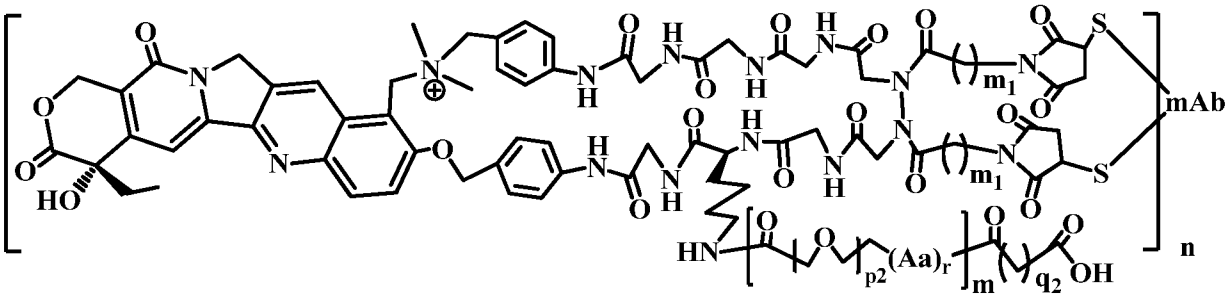
a148,



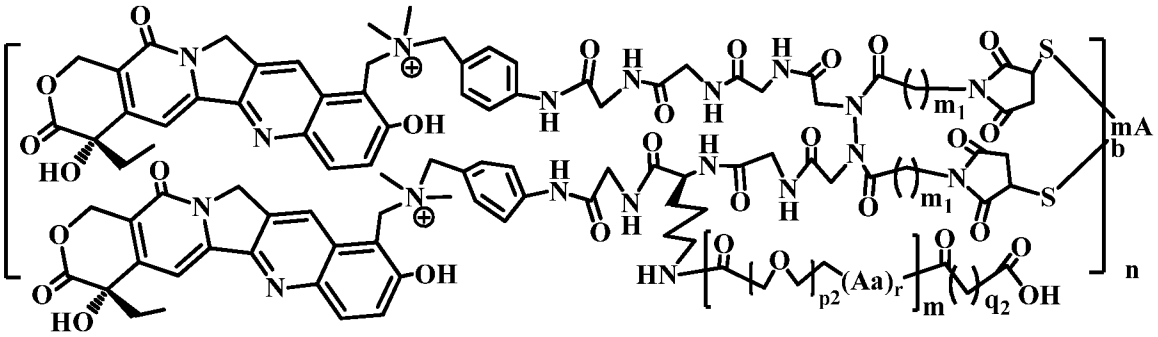
a149,



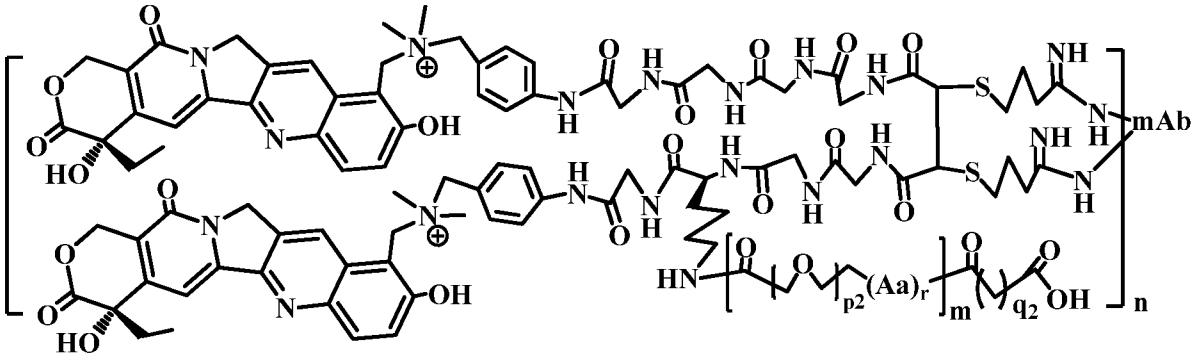
a150,



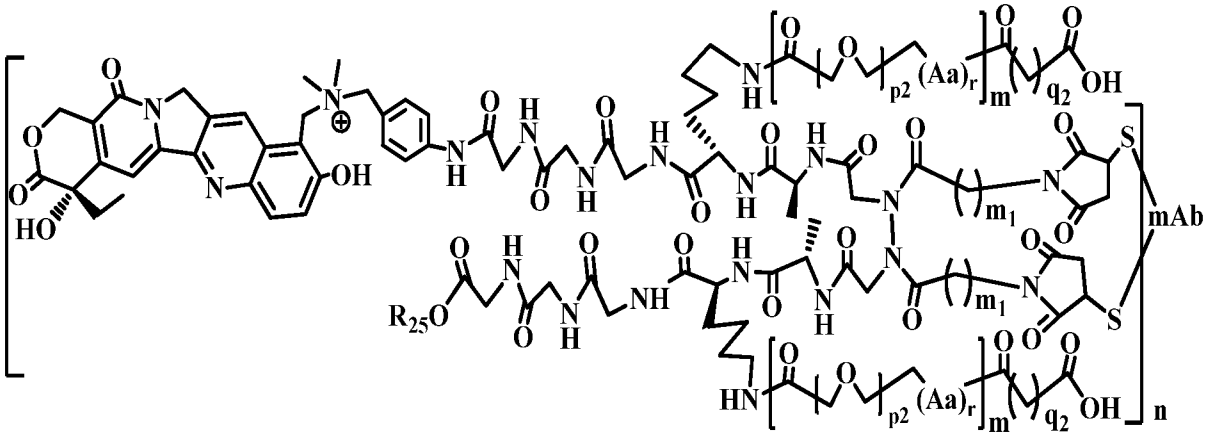
a151,



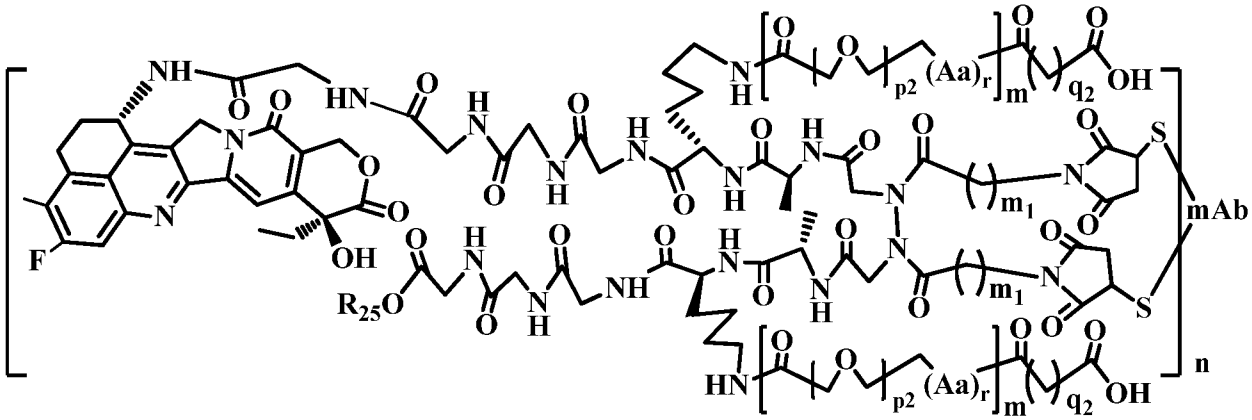
a152,



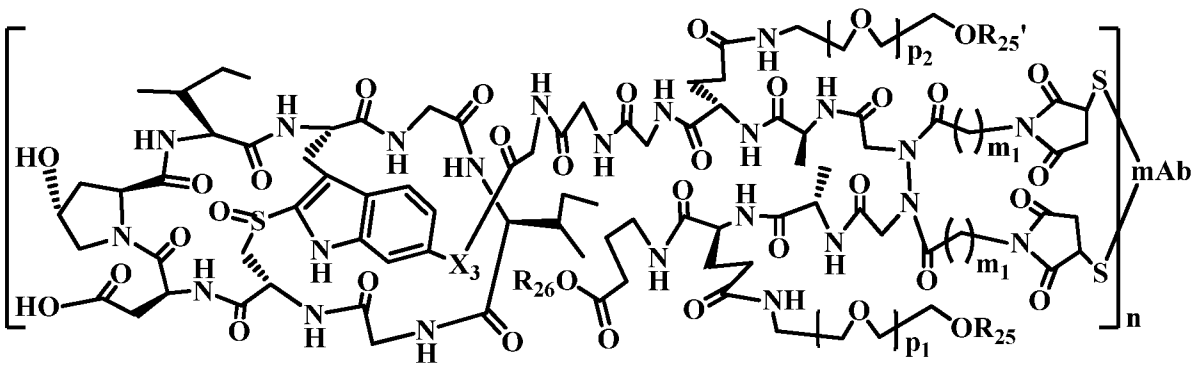
a153,



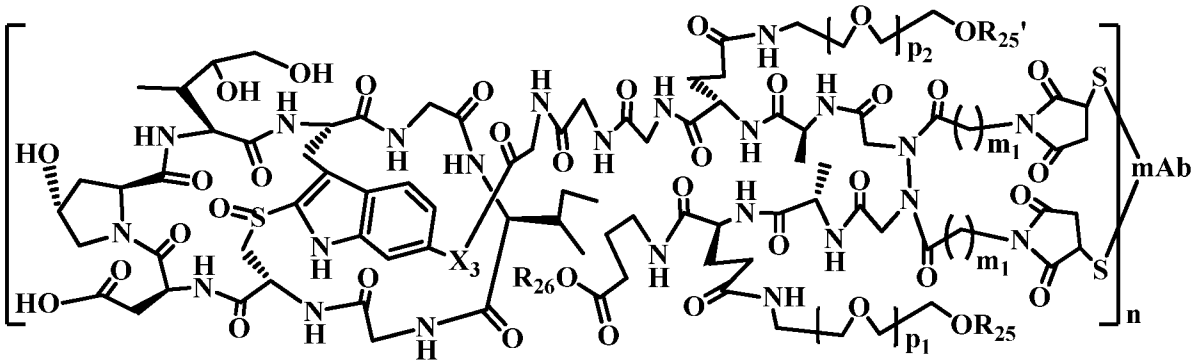
a154,



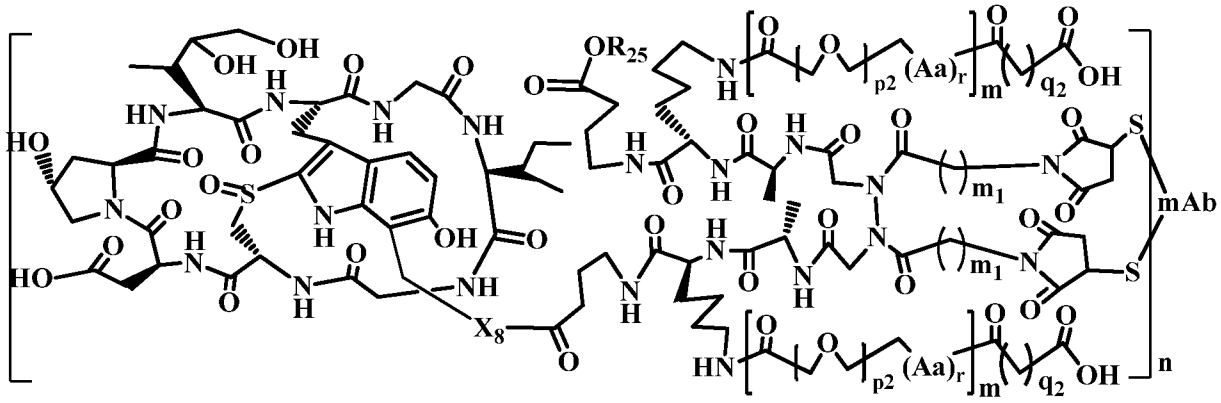
a155,



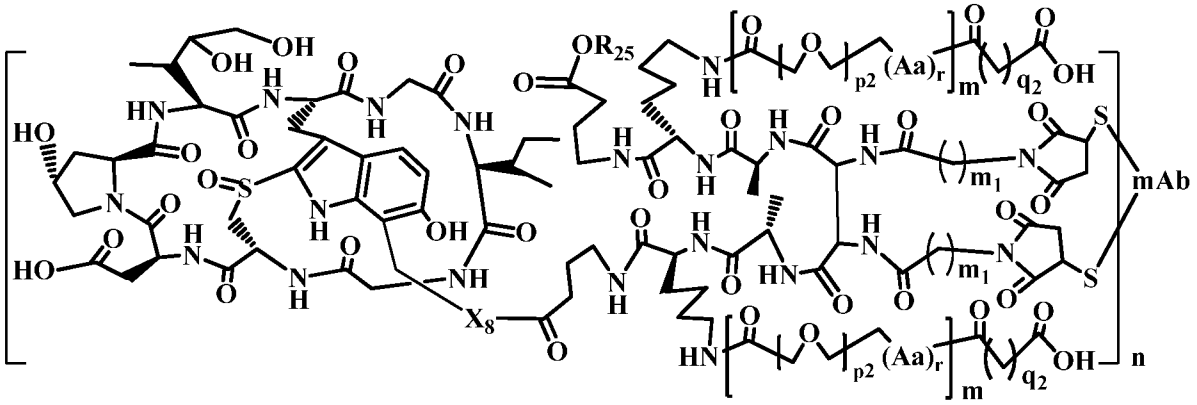
a156,



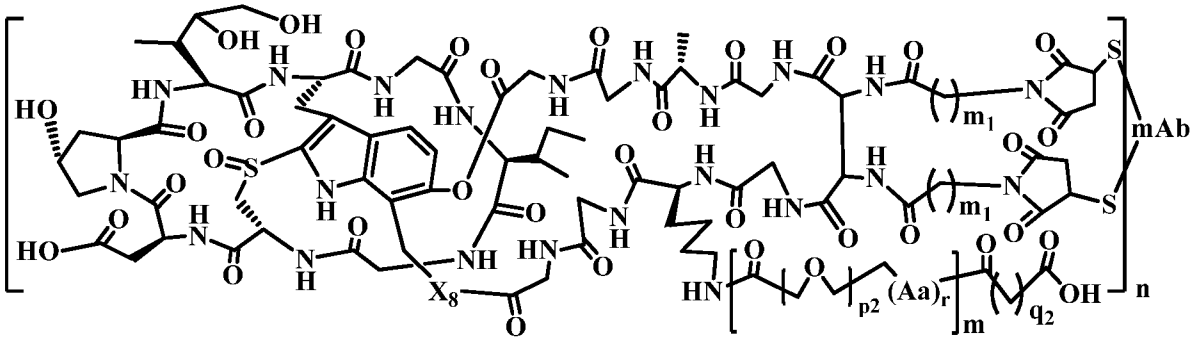
a157,



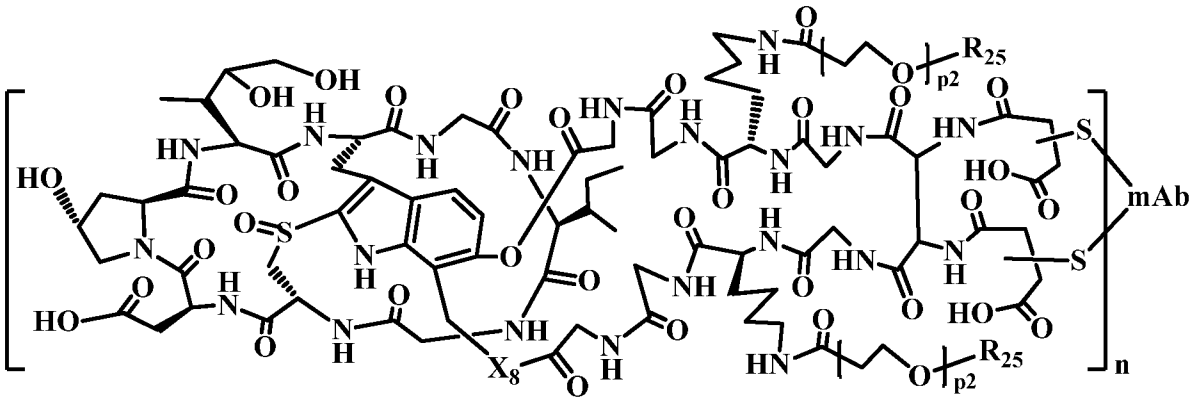
a158,



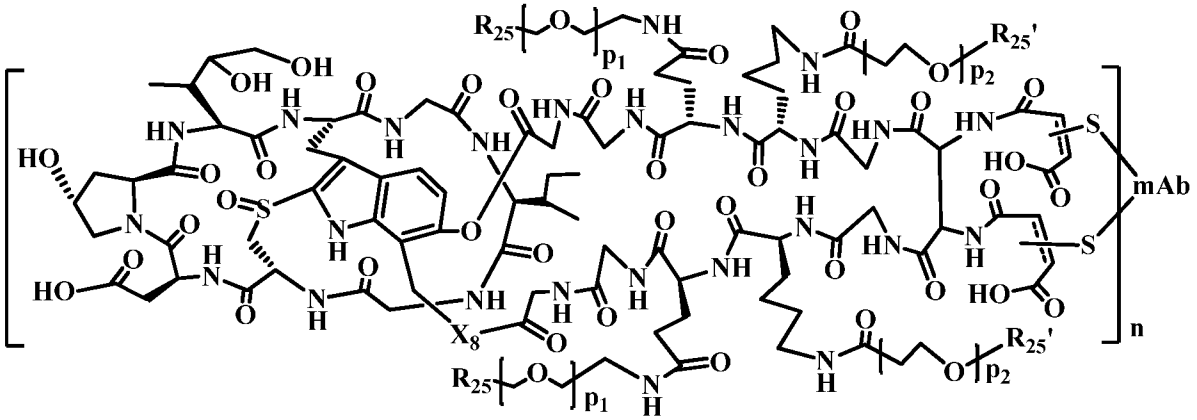
a159,



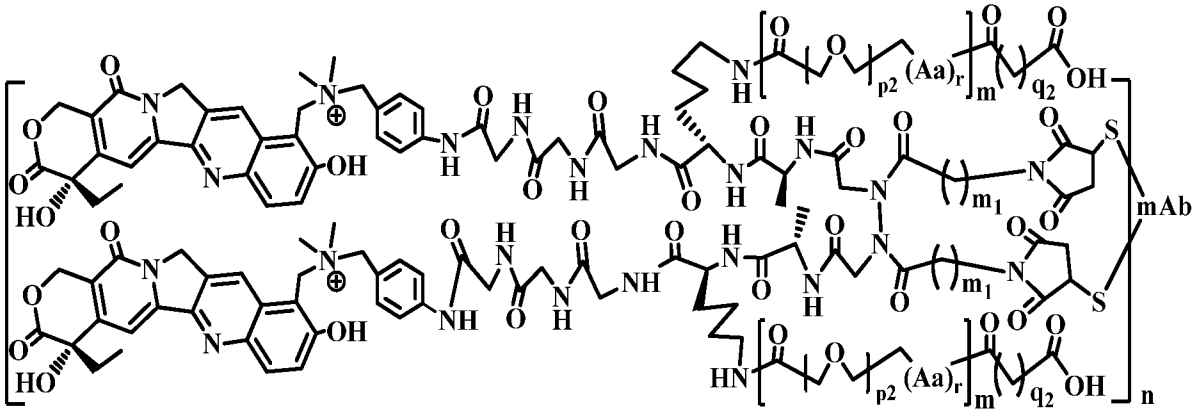
a160,



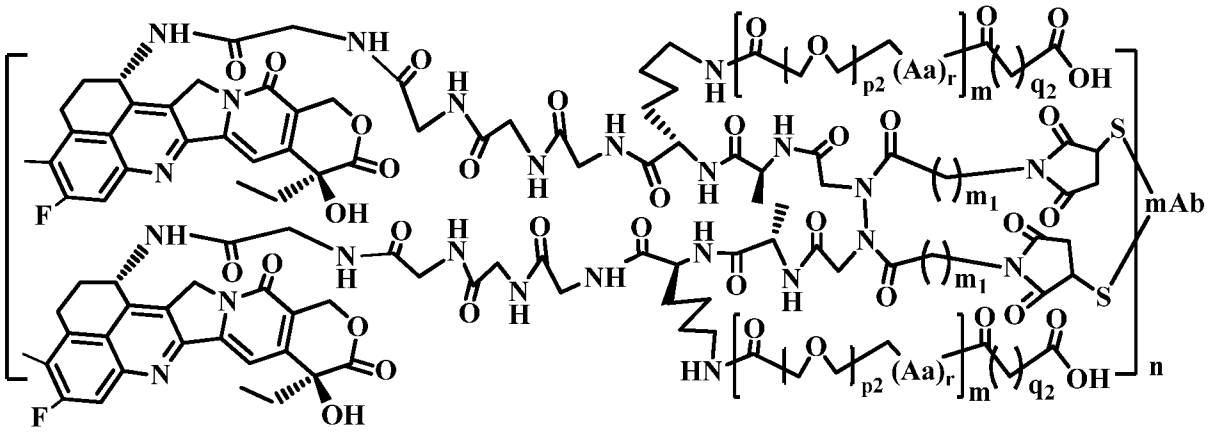
a161,



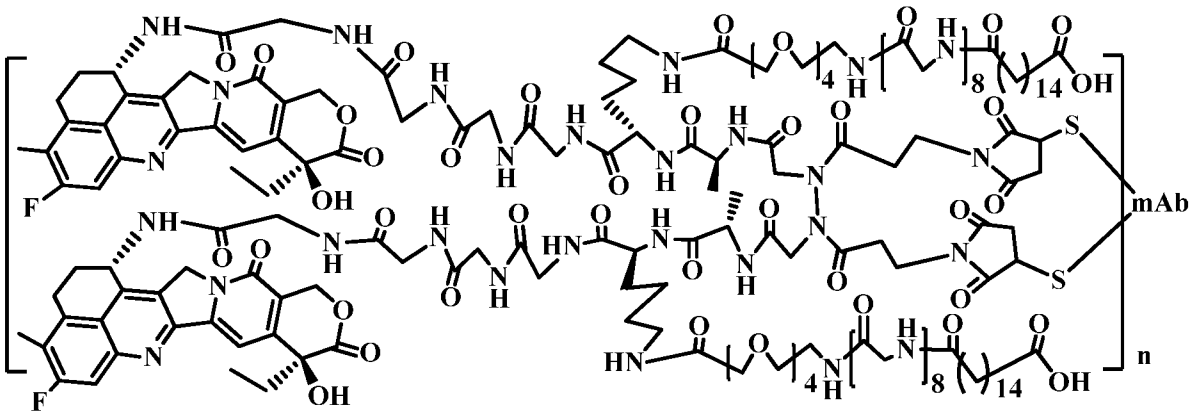
a162,



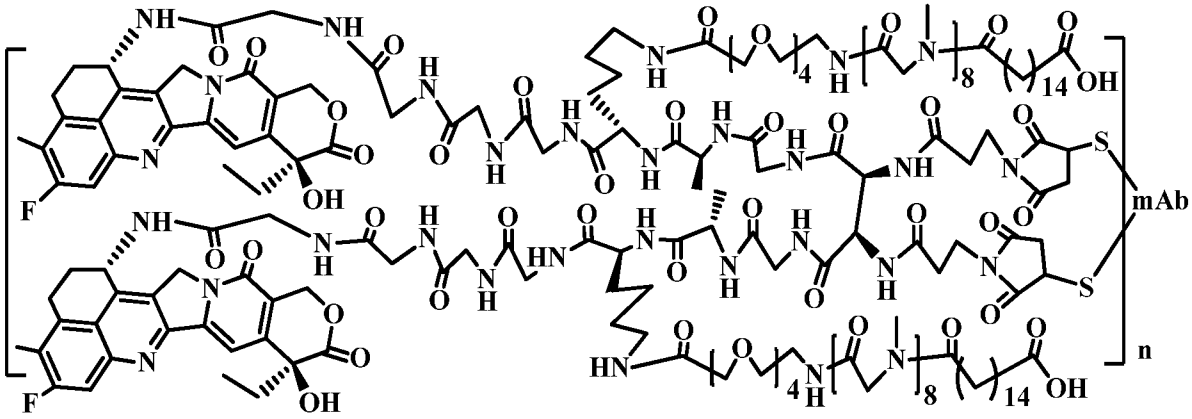
a163,



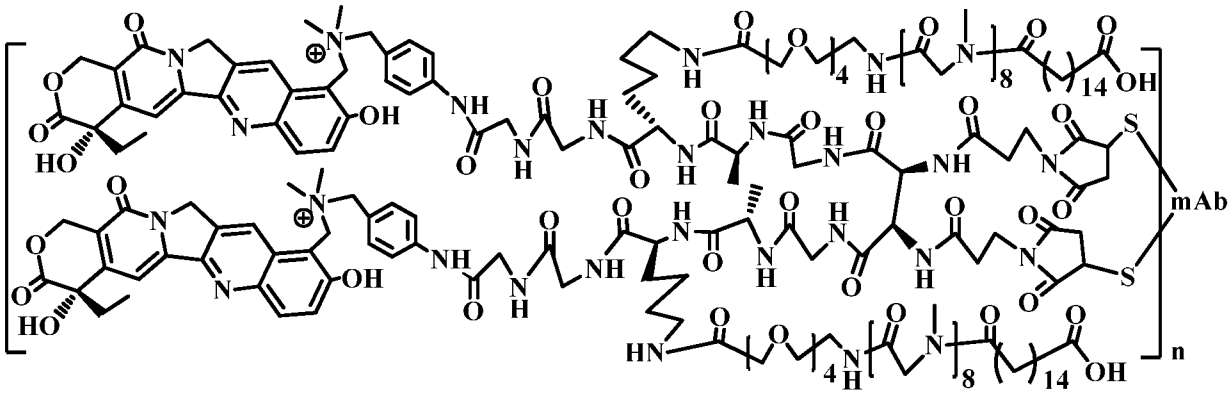
a164,



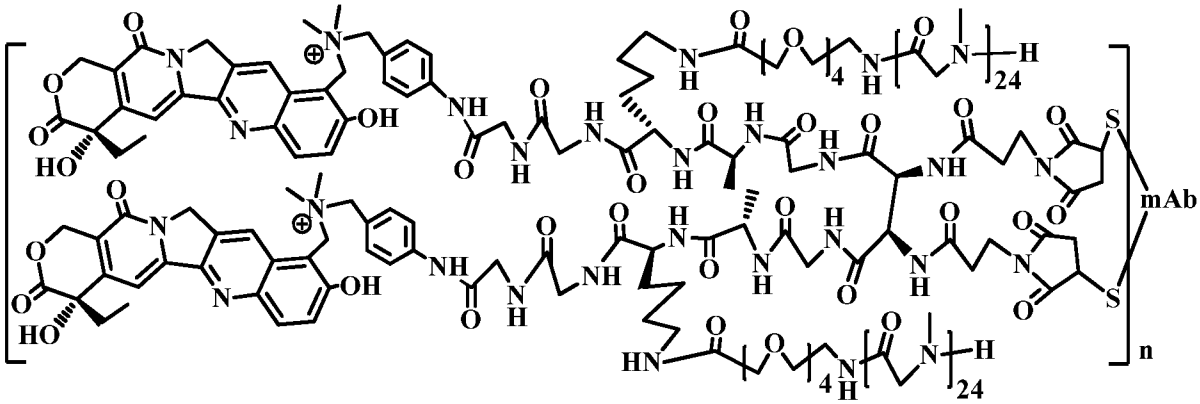
a165,



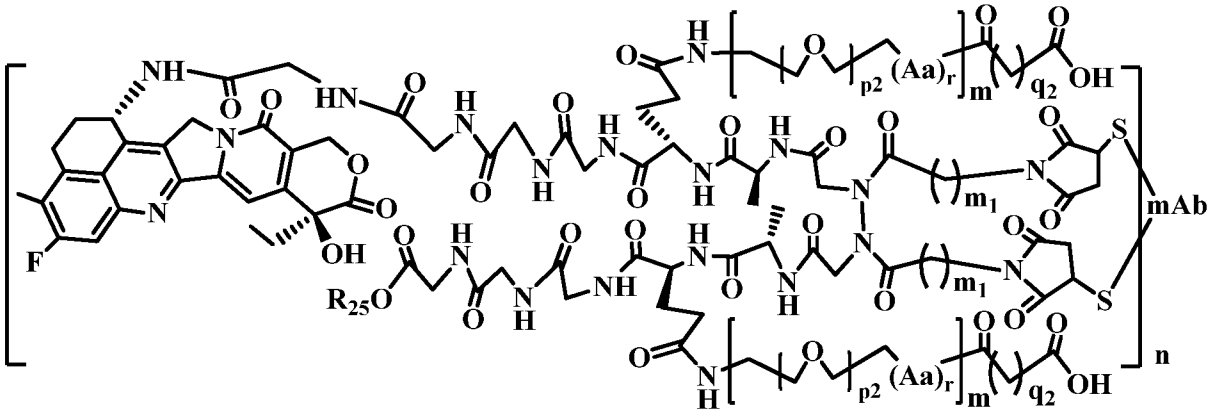
a166,



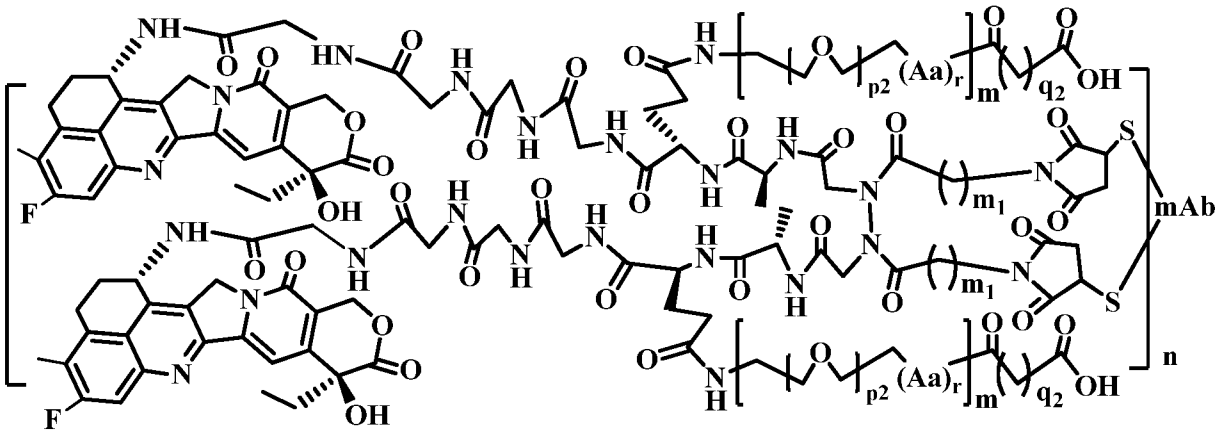
a167,



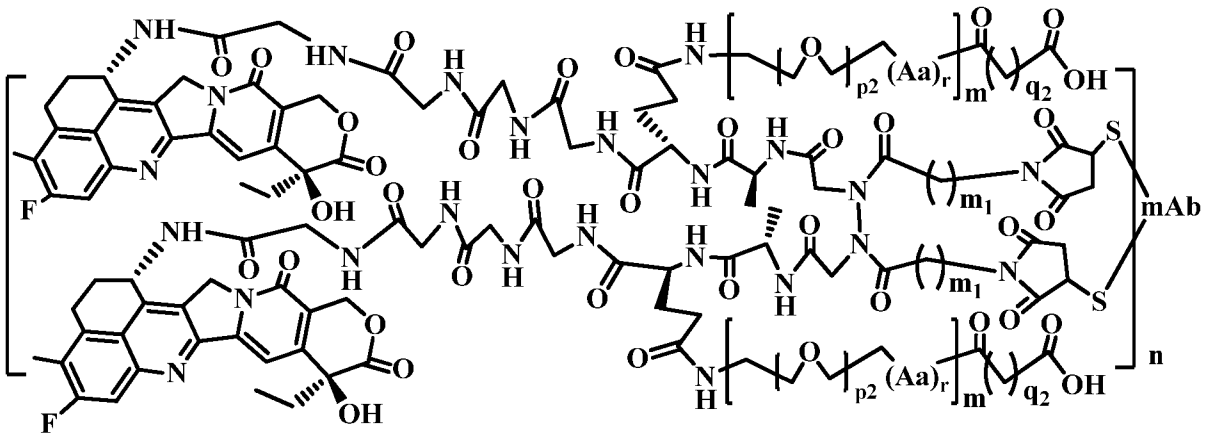
a168,



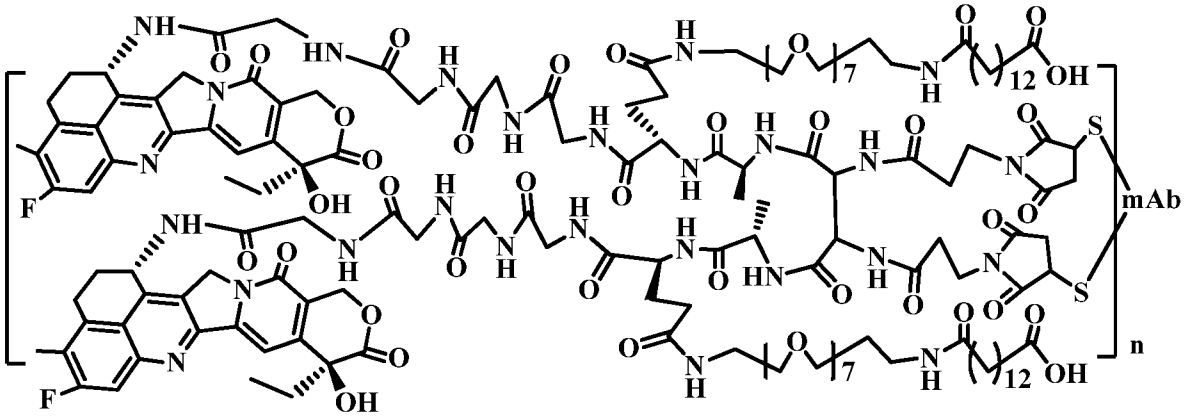
a169,



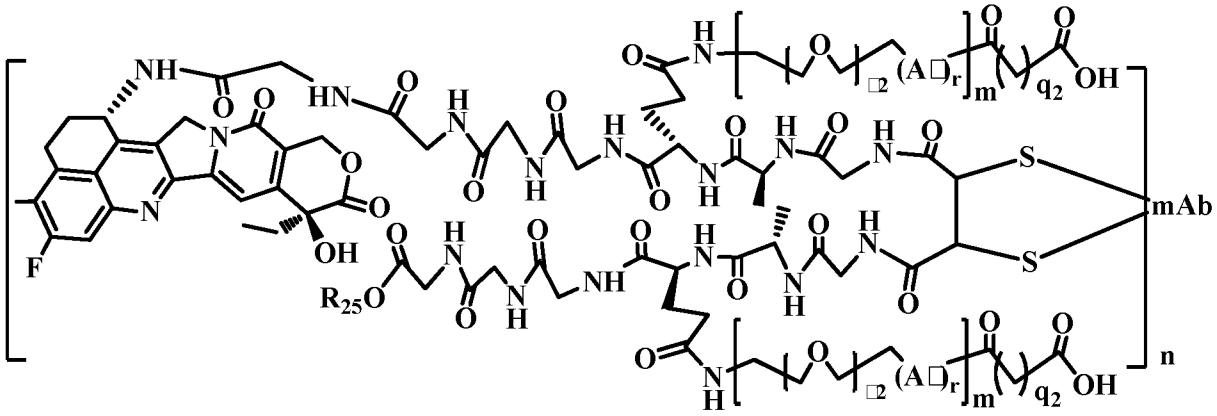
a170,



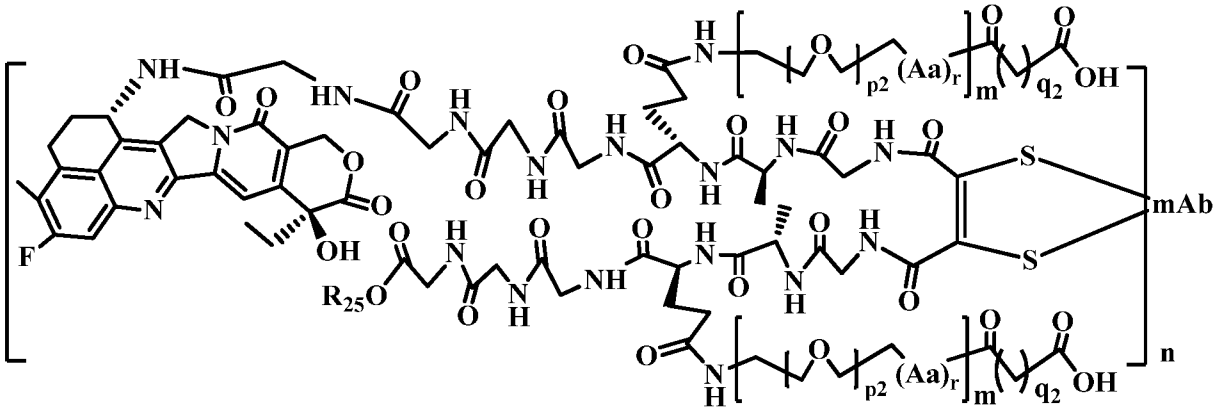
a171,



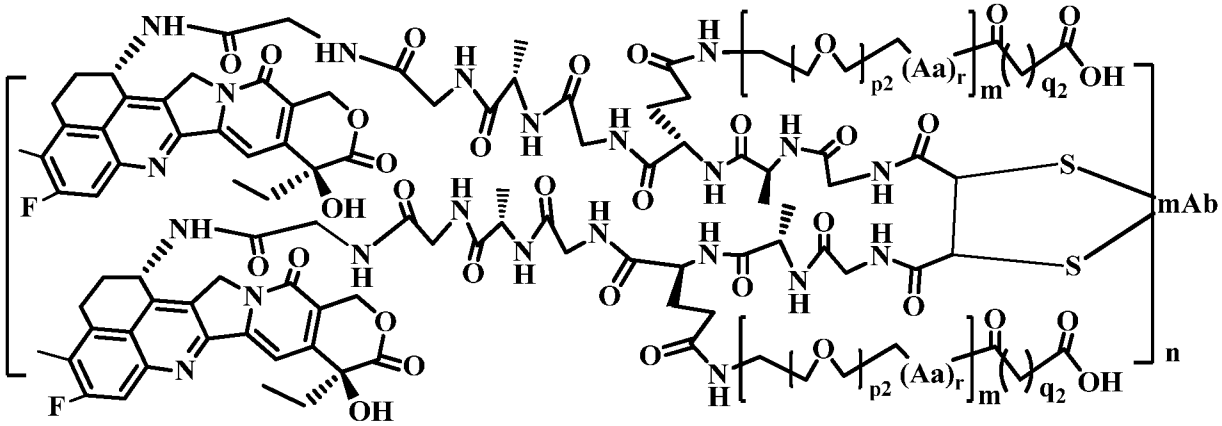
a172,



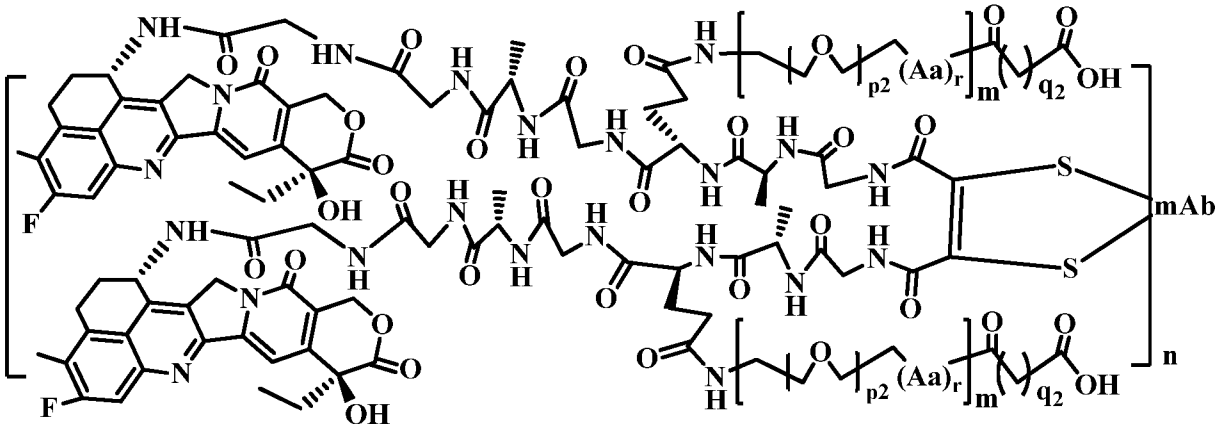
a173,



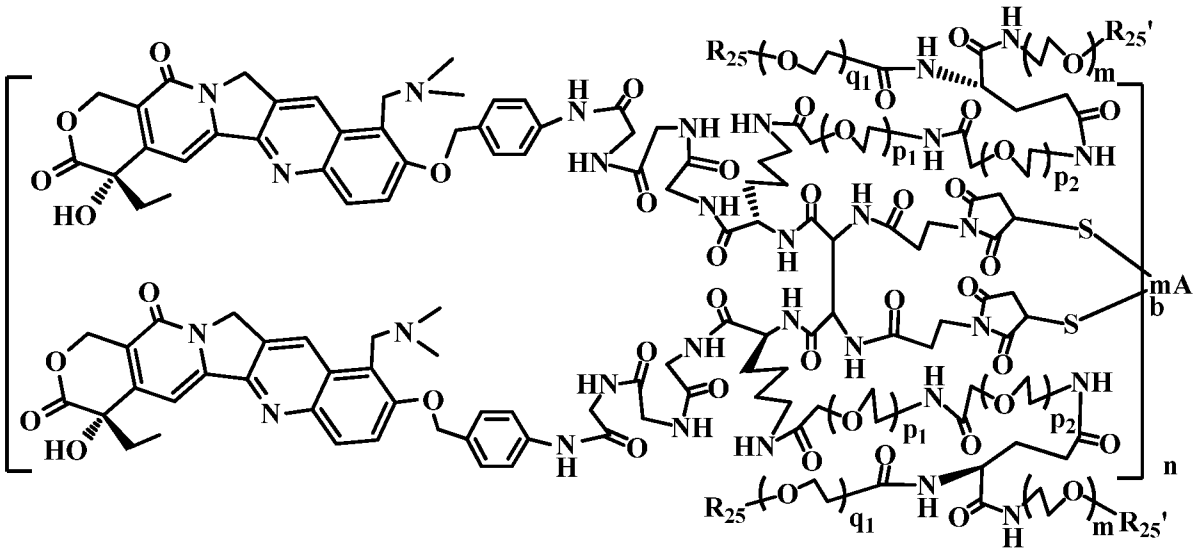
a174,



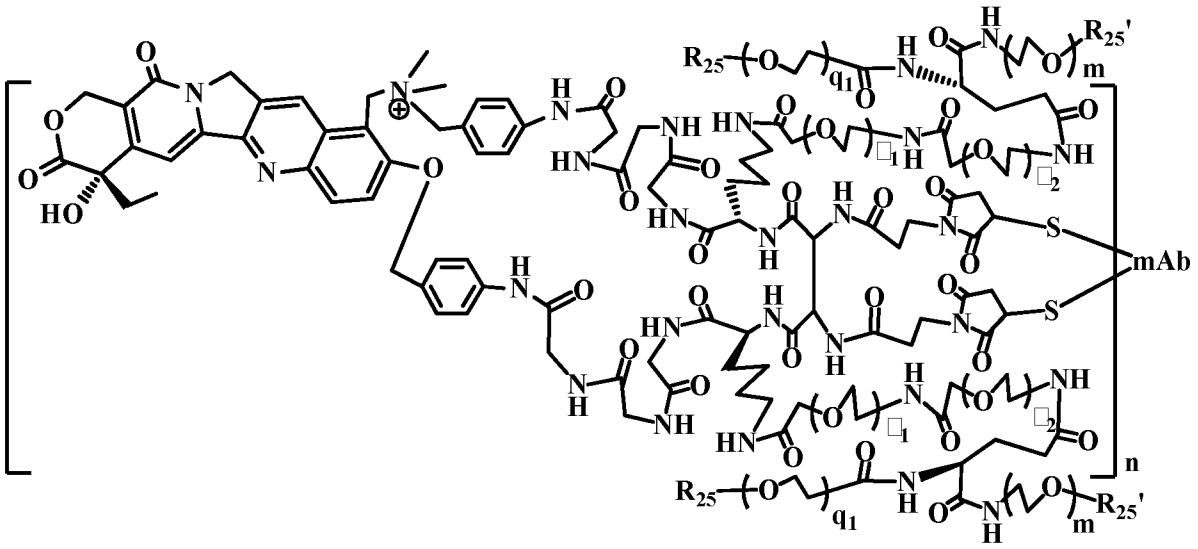
a175,



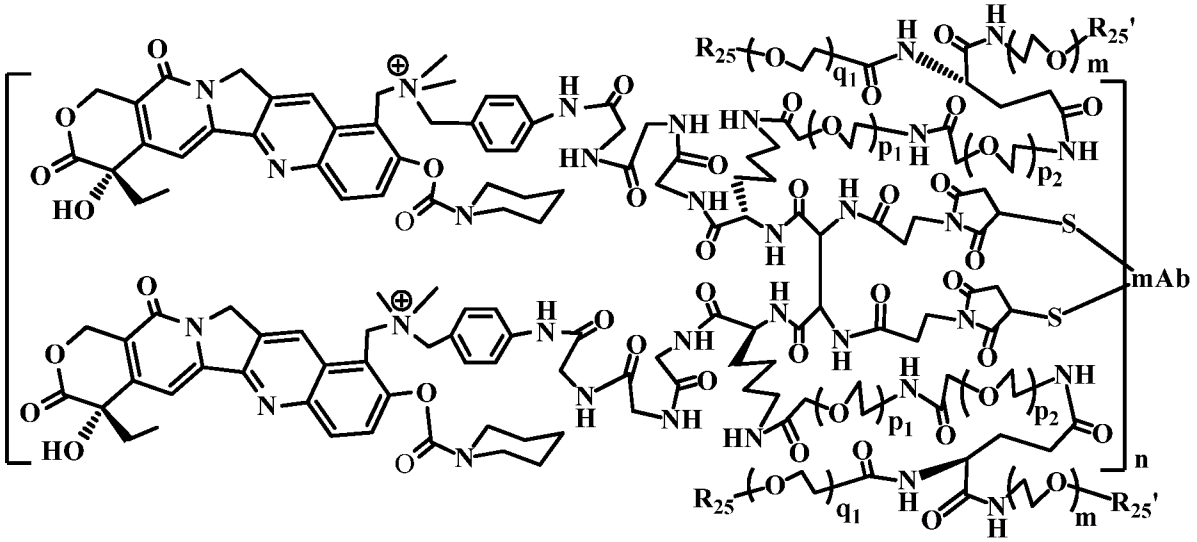
a176,



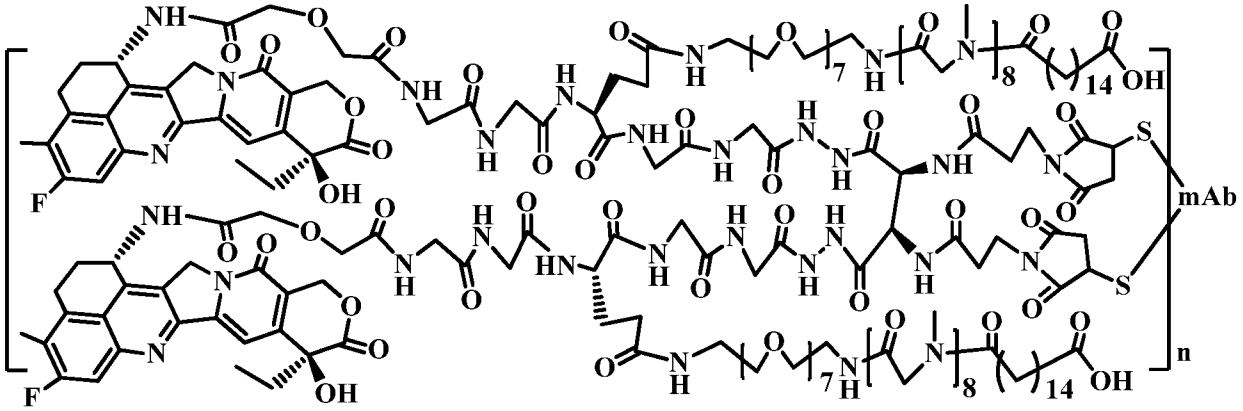
a177,



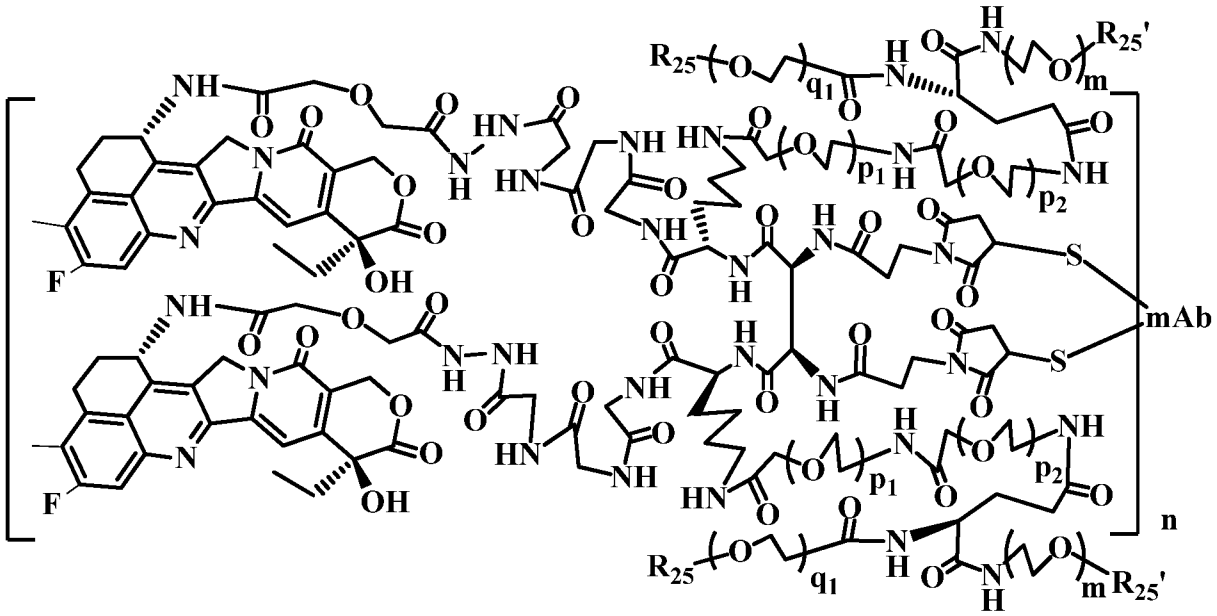
a178,



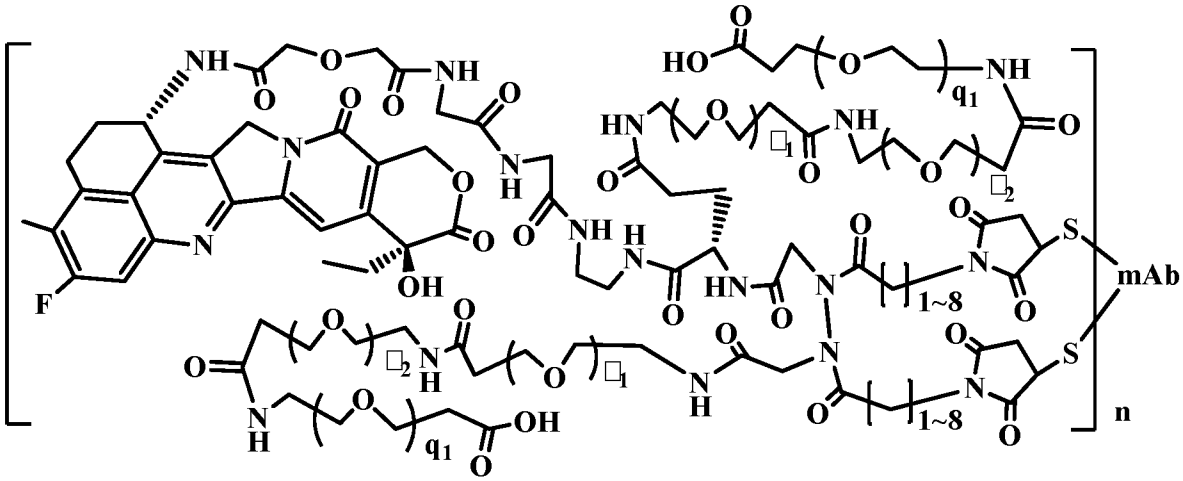
a179,



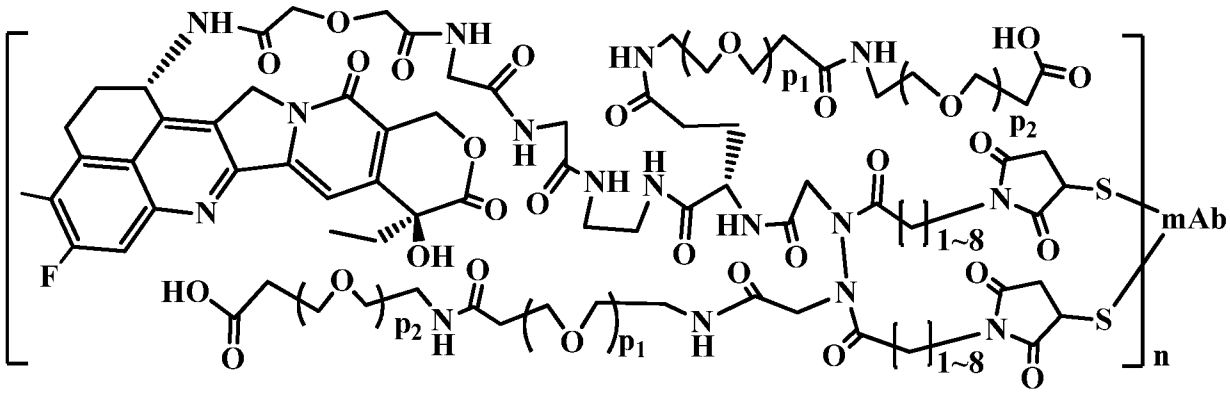
a180,



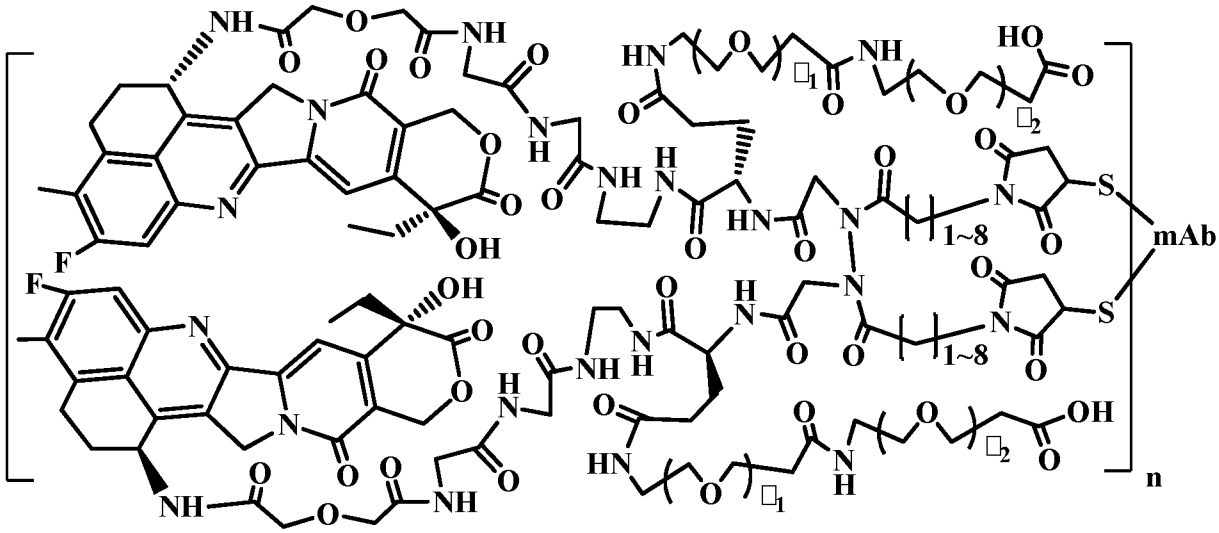
a181,



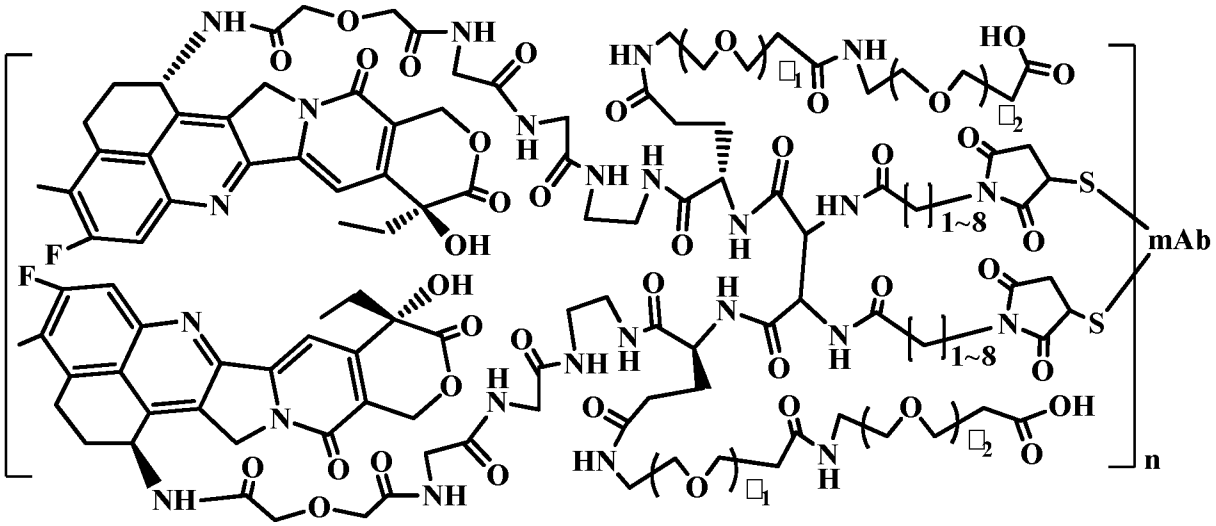
a182,



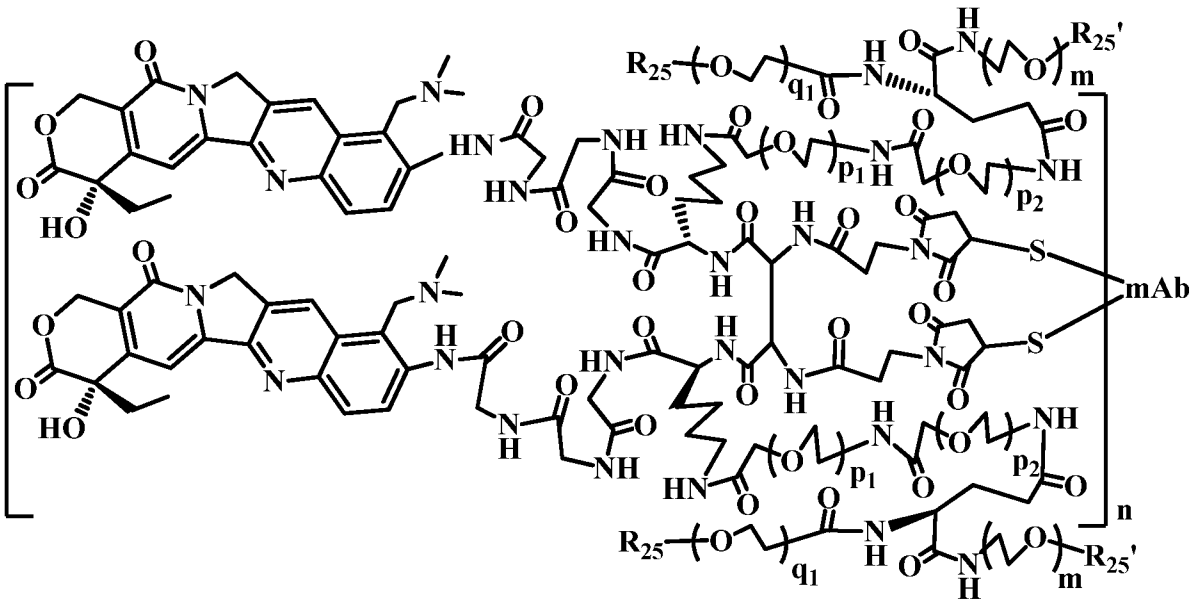
a183,



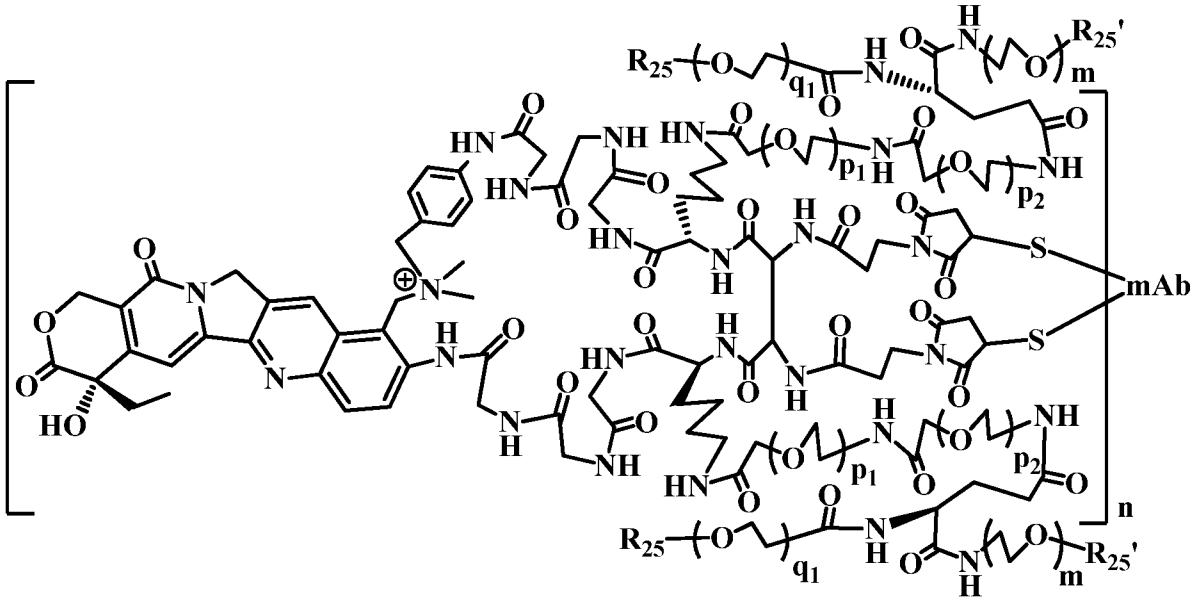
a184,



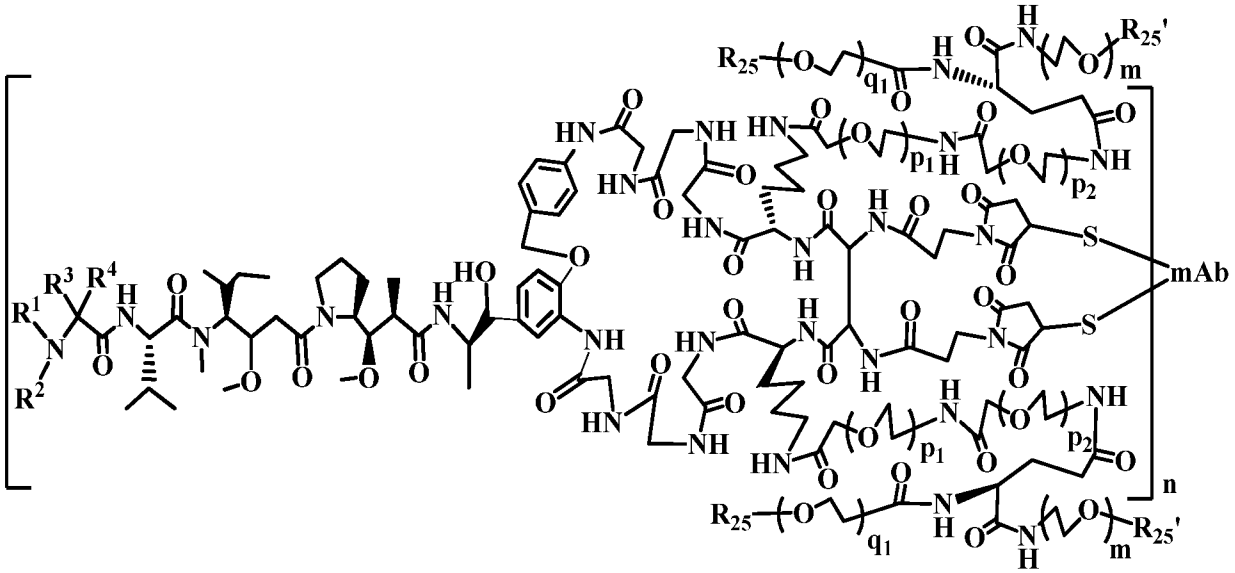
a185,



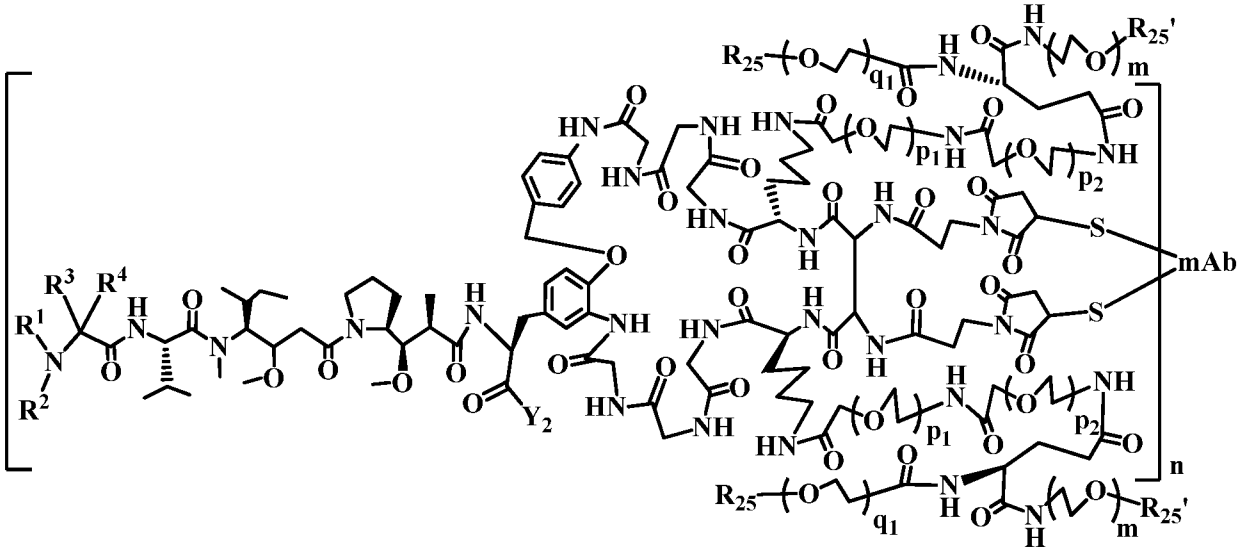
a186,



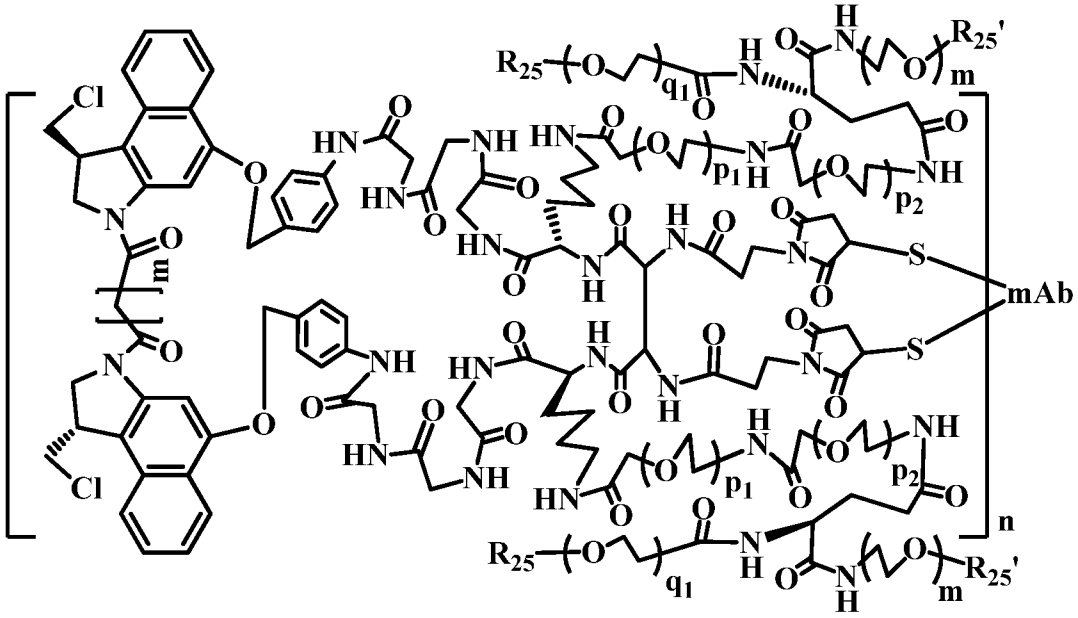
a187,



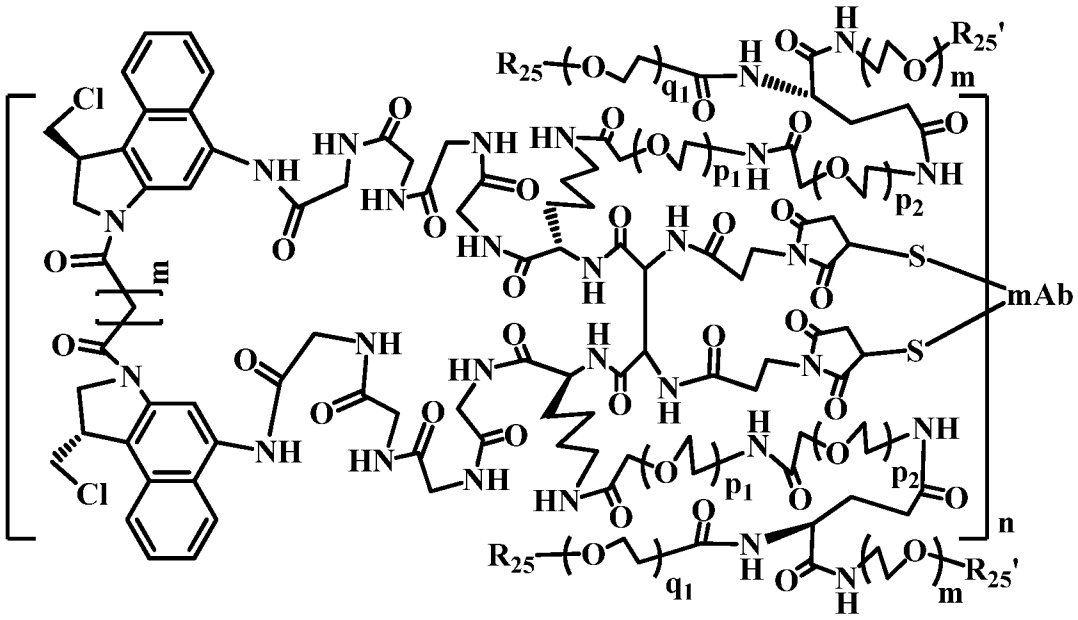
a188,



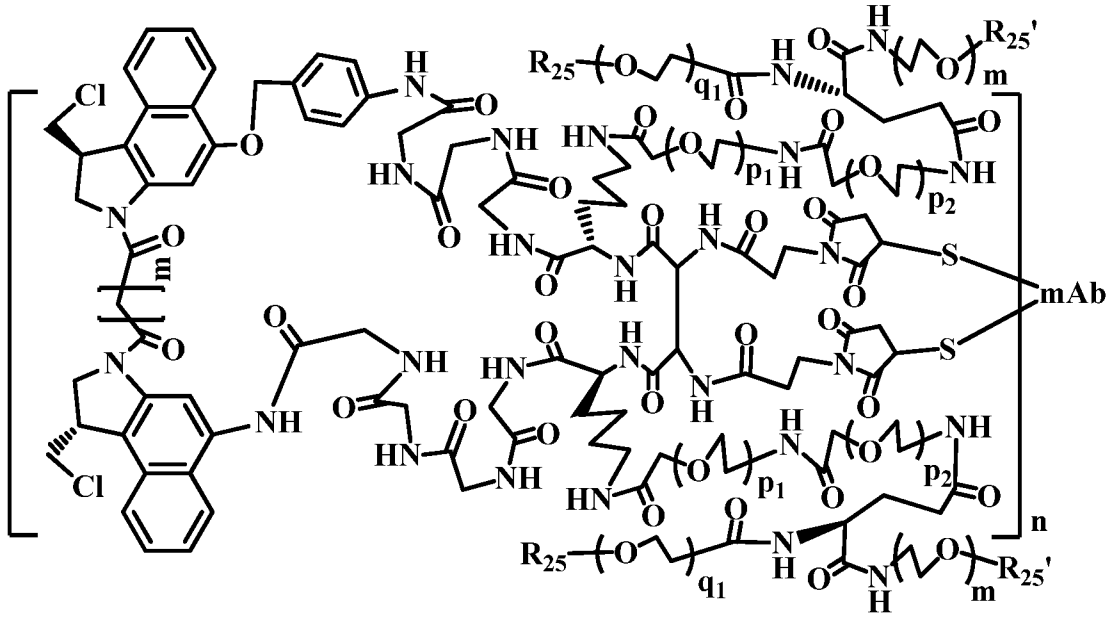
a189,



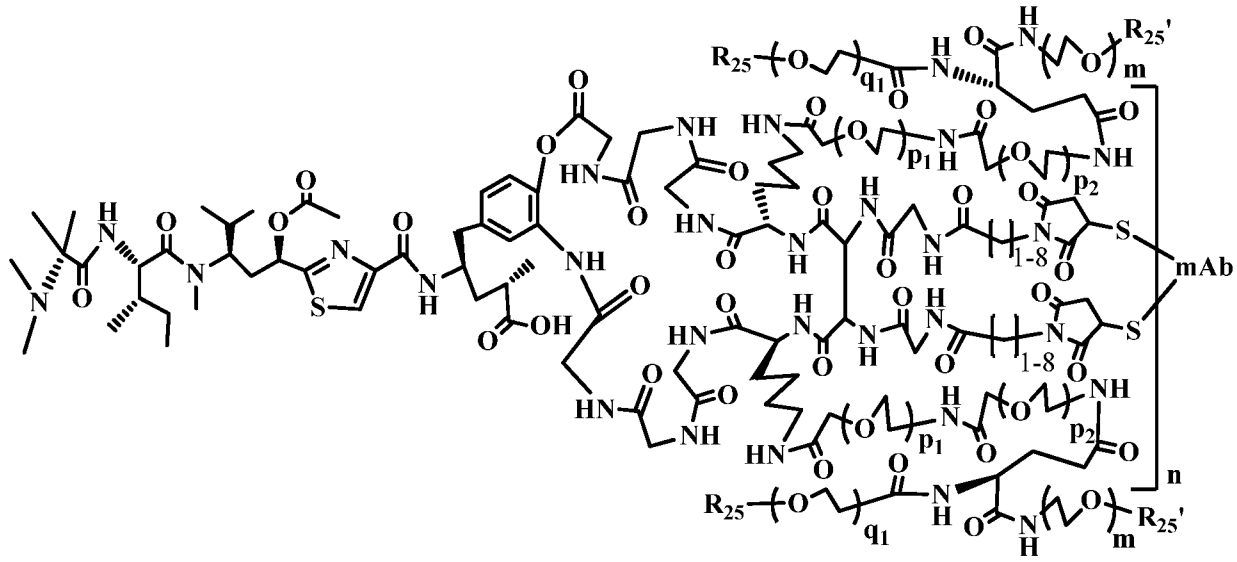
a190,



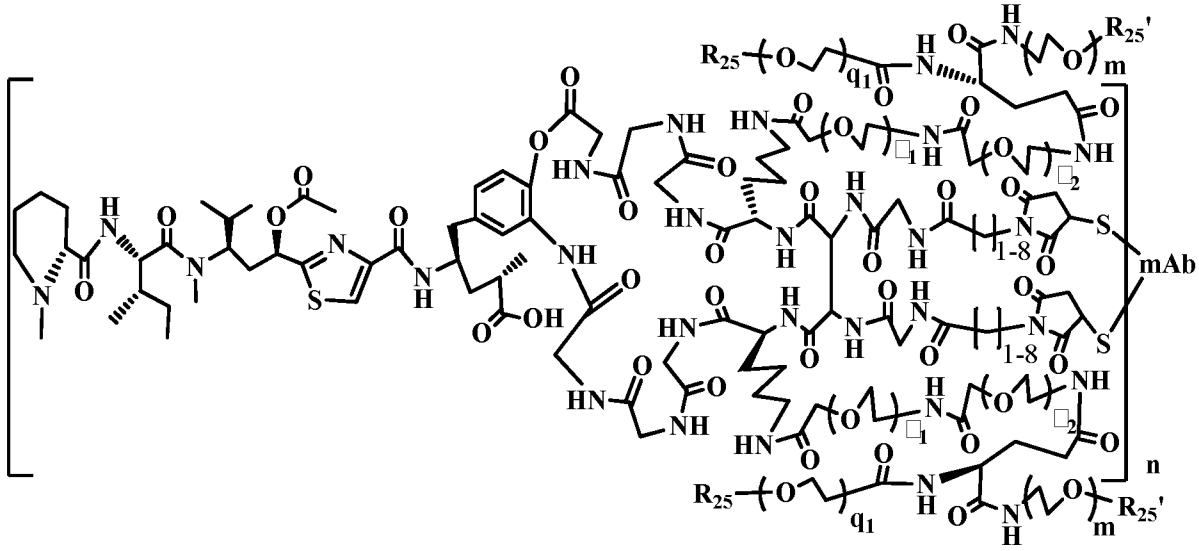
a191,



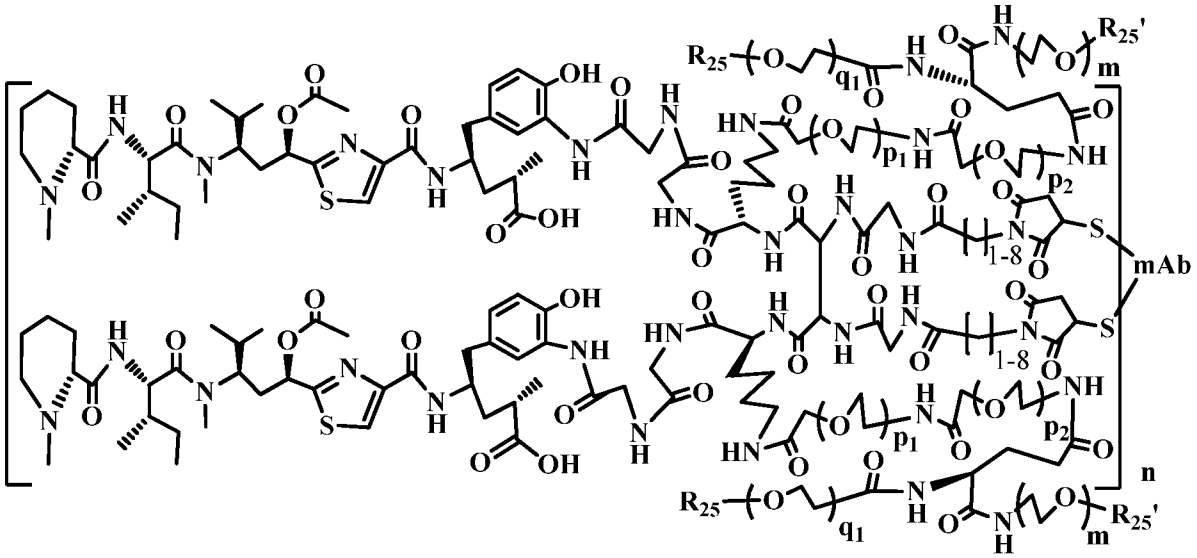
a192,



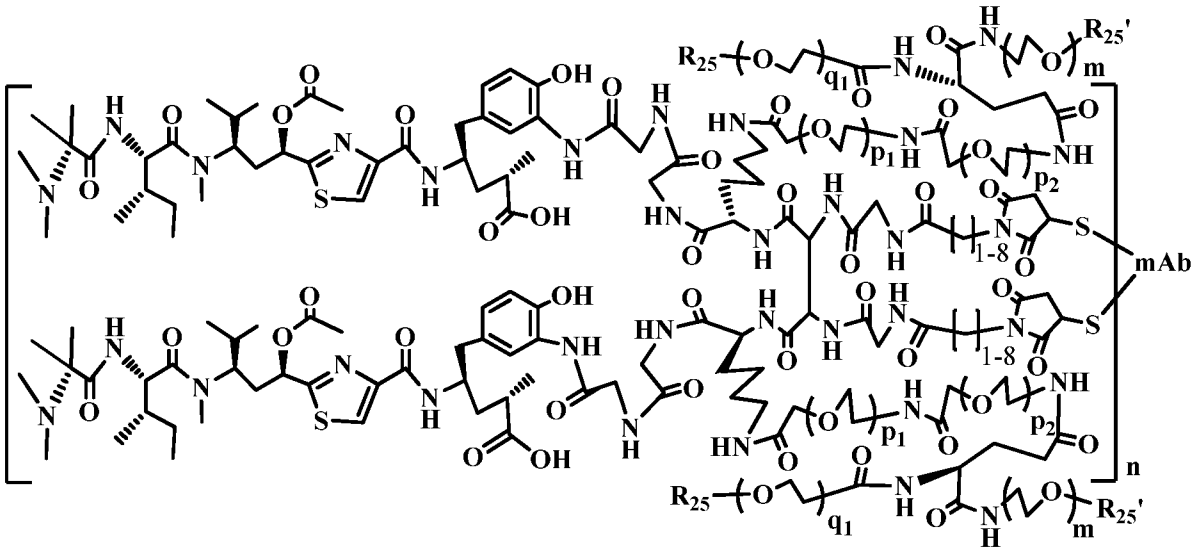
a193,



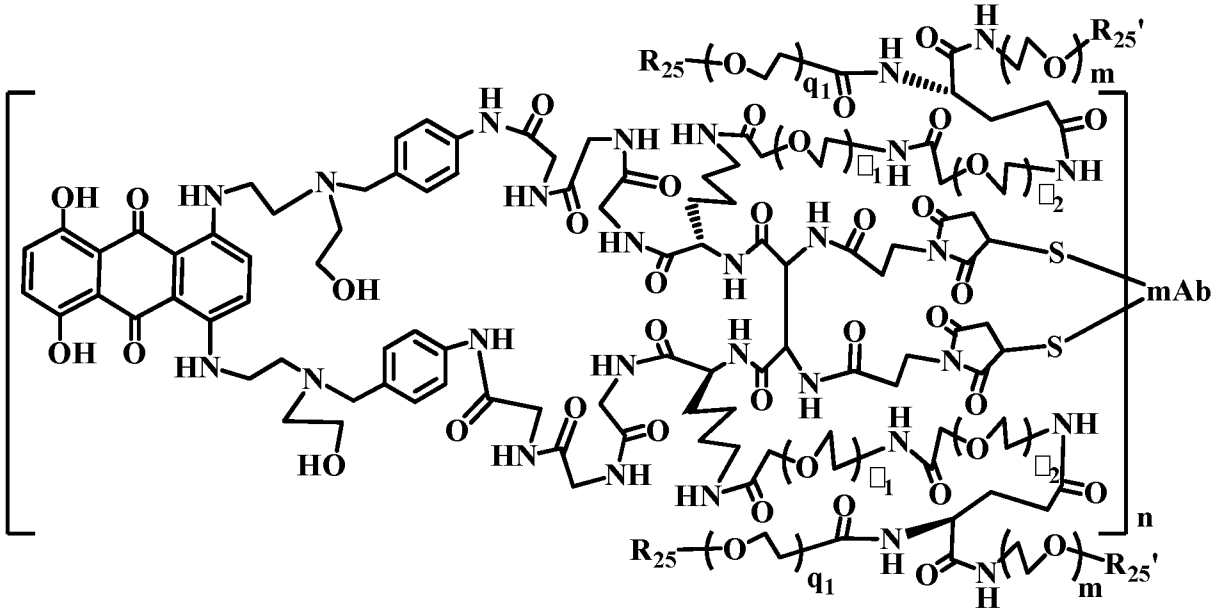
a194,



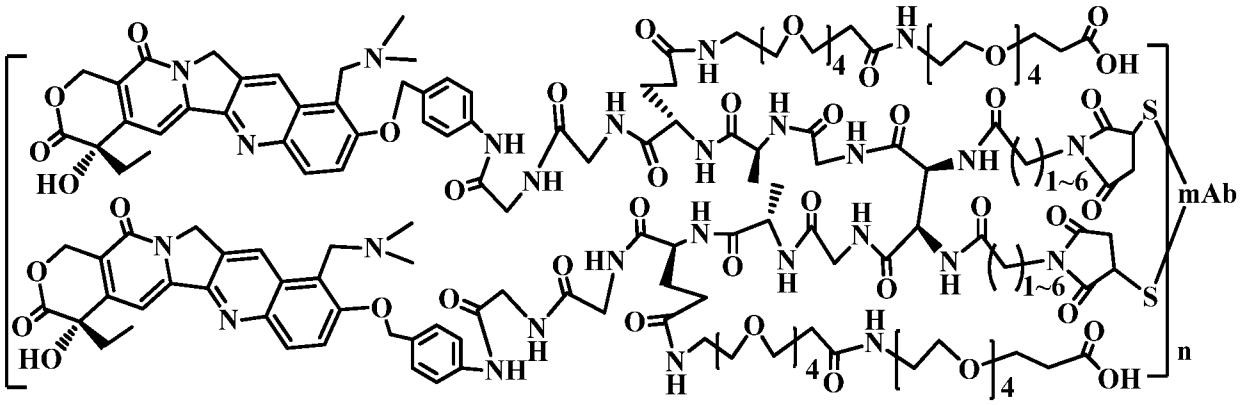
a195,



a196,



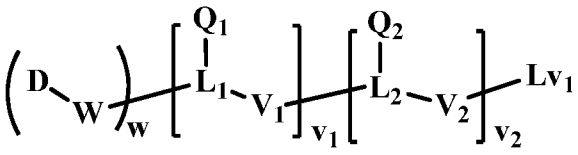
a197,



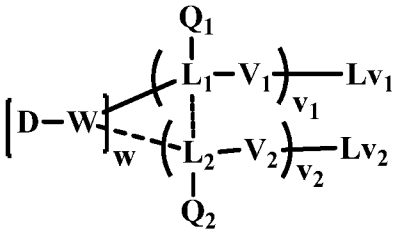
a198,

или один или более изотопов химических элементов, фармацевтически приемлемых солей, гидратов или гидратированных солей; или полиморфные кристаллические структуры этих соединений; или оптические изомеры, рацематы, диастереомеры или энантиомеры; где X_8 представляет собой O, S, NH, NHNH, NHR_{12}, SR_{12}, SSR_{12}, $SSCH(CH_3)R_{12}$, $SSC(CH_3)_2R_{12}$, or R_{12}; R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R_4, R_5, R_7, R_8, R_9, R_{10}, X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, X_6, Y_1, Y_2, Y_3, Y_5, R_{12}, $R_{12'}$, R_{13}, R_{13}', R_{25}, R_{25}', p_1, p_2, q_1, q_2, m, m_1, n, и mAb представляют собой как описано выше; Aa представляет собой природную или неприродную аминокислоту; r равно 0-12; (Aa)r представляет собой пептид, содержащий последовательность одинаковых или разных аминокислот, когда r> 2; r = 0 означает, что (Aa)r отсутствует.

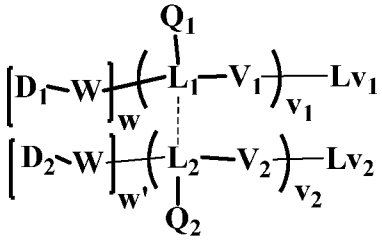
В другом аспекте настоящего изобретения соединение со связью на боковой цепи представлено Формулой (IV), (V) и (VI) и может легко вступать в реакцию со связывающейся с клеткой молекулой T или с модифицированной связывающейся с клеткой молекулой T с образованием конъюгата Формулы (I), (II) и (III), соответственно:



(IV),



(V),



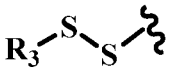
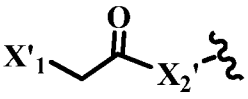
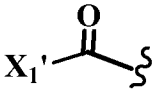
(VI),

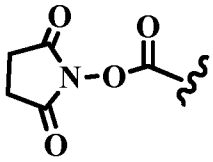
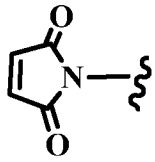
где D, D_1, D_2, W, w, w', L_1, L_2, Q_1, Q_2, V_1, V_2, v_1, v_2, ------ и n представляют собой как определено в Формуле (I) выше;

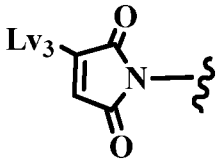
Lv_1 и Lv_2 независимо представляют собой реагирующую группу, которая может вступать в реакцию с тиоловой, амино, карбоксильной, селенольной, фенольной или гидроксильной группой на связывающейся с клеткой молекуле. Такими реагирующими группами являются, но не ограничиваются ими, галогенид (например, 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. Примерами реагентов конденсации являются: EDC (N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимид), DCC (дициклогексилкарбодиимид), N, N'-диизопропилкарбодиимид (DIC), N-циклогексил-N'-(2-морфолино-этил)карбодиимида мето 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

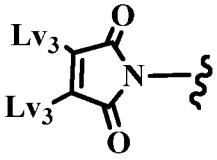
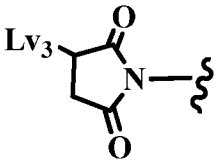
гексафторфосфат (HBPyU), N-бензил-N'-циклогексилкарбодиимид (связанный или не связанный с полимером), дипирролидино (N-сукцинимидилокси)карбений гексафторфосфат (HSPyU), хлордипирролидинокарбения гексафторфосфат (PyClU), 2-хлор-1,3-диметилимидазолидин тетрафторбират (CIB), (бензотриазол-1-илокси)дипиперидинокарбений 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;

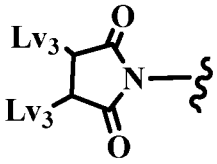
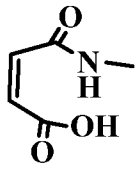
Предпочтительно, Lv_1 и Lv_2 независимо выбраны из галогенида (например, фторида, хлорида, бромида и йодида), метансульфонила (мезила), толуолсульфонила (тозила), трифторметилсульфонила (трифлата), трифторметилсульфоната, нитрофеноксила, N-сукцинимидилгидроксила (NHS) феноксила; динитрофеноксила; пентафторфеноксила, 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:

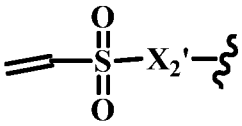

дисульфид; 
галогенацетил; 
ацилгалогенид (галогенангидрид);

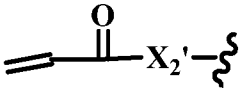
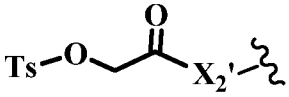

сложный эфир *N*-гидроксисукцинимида; 
малеимид;

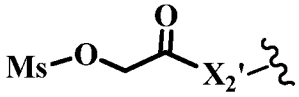
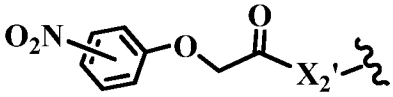
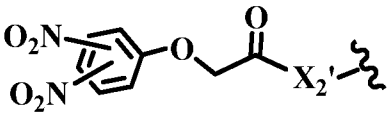


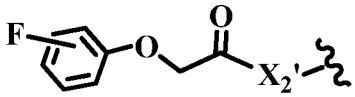
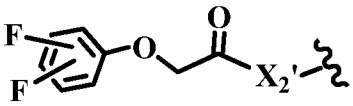
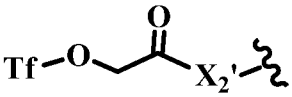
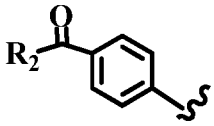
монозамещенный малеимид; 
дизамещенный малеимид; 

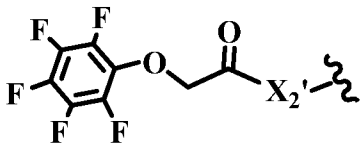
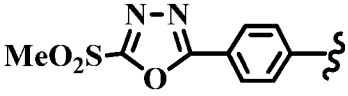
монозамещенный сукцинимид; 
дизамещенный сукцинимид; 

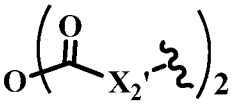
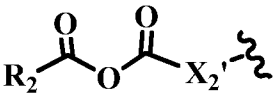
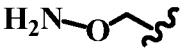
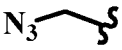
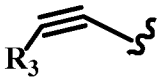
замещенная малеиновая кислота; -CHO альдегид; 
этенсульфонил;


акрил (акрилоил); 
2-(тозилокси)ацетил;

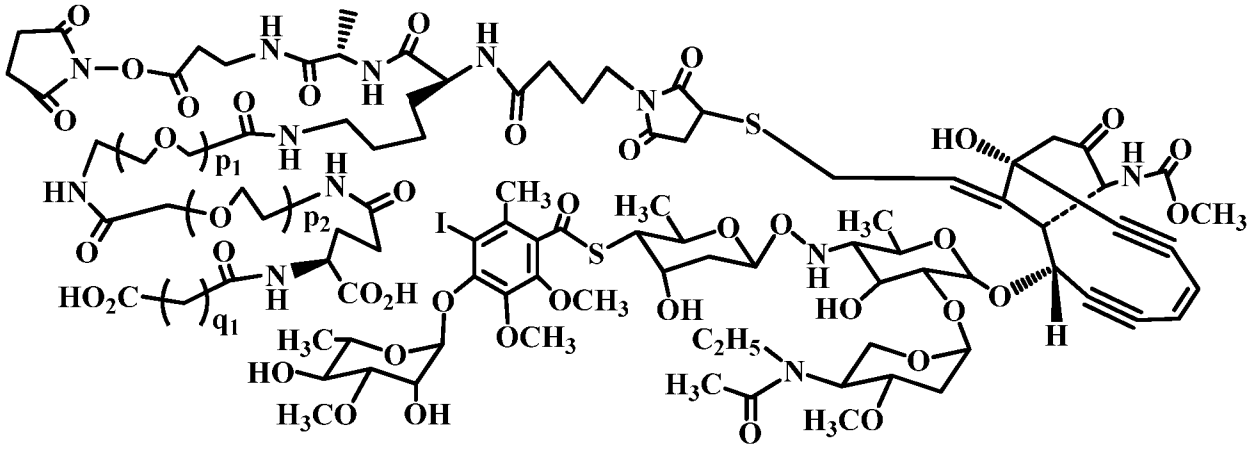

2-(мезилокси)ацетил; 
2-(нитрофенокси)ацетил; 
2-(динитрофенокси)ацетил;


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

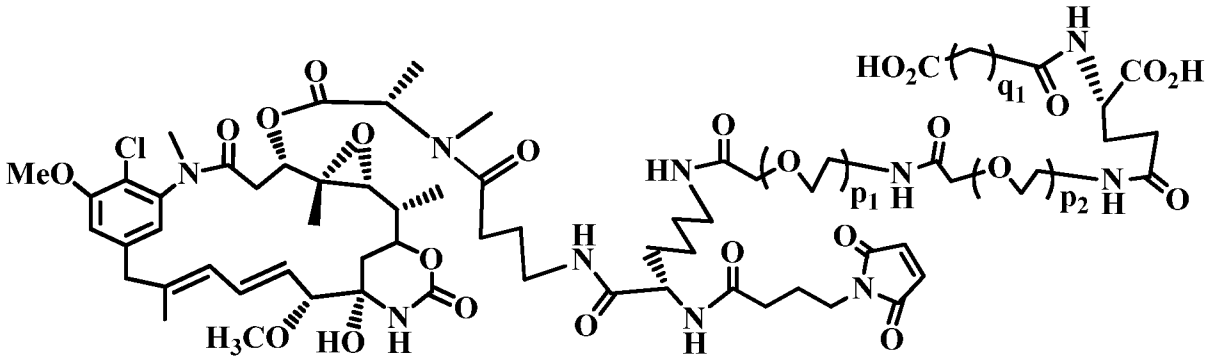

2-(пентафторфенокси)ацетил; 
,

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, простых и смешанных ангидридов, например, уксусного ангидрида, формил ангидрида; или молекулы промежуточного соединения, полученного с помощьюконденсирующего реагента для образования пептидной связи или для реакций Мицунобу.

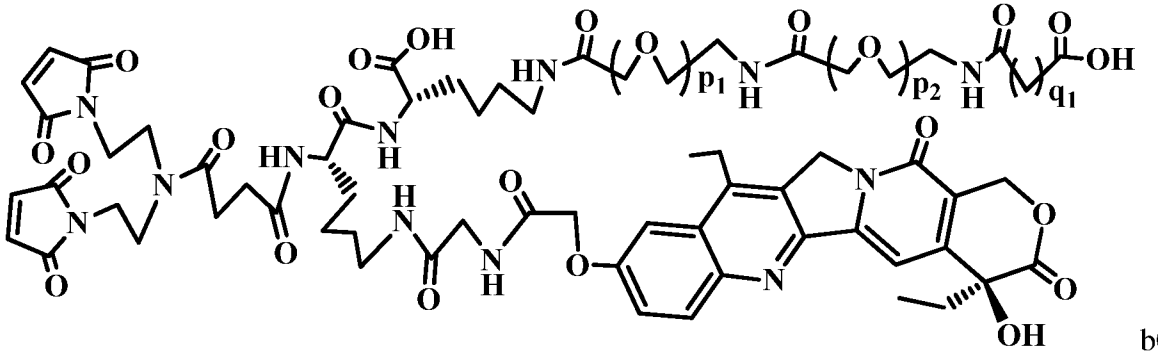
Ниже показаны примеры Формулы (IV), (V) и (VI):



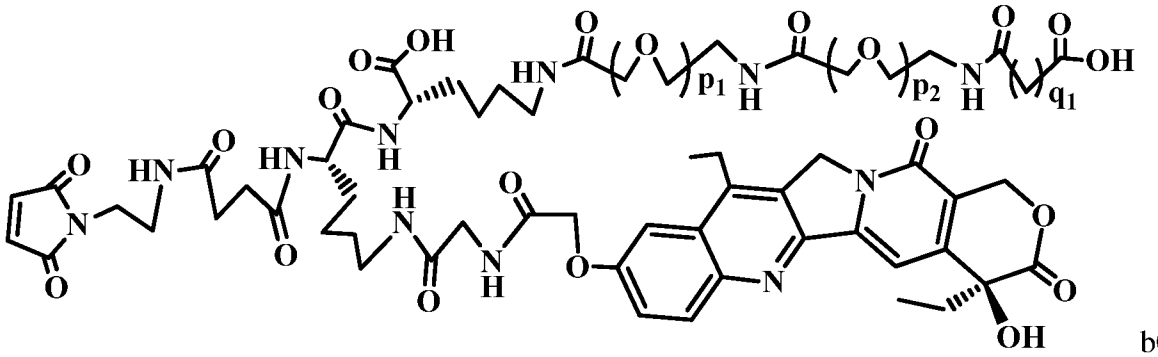
b001,



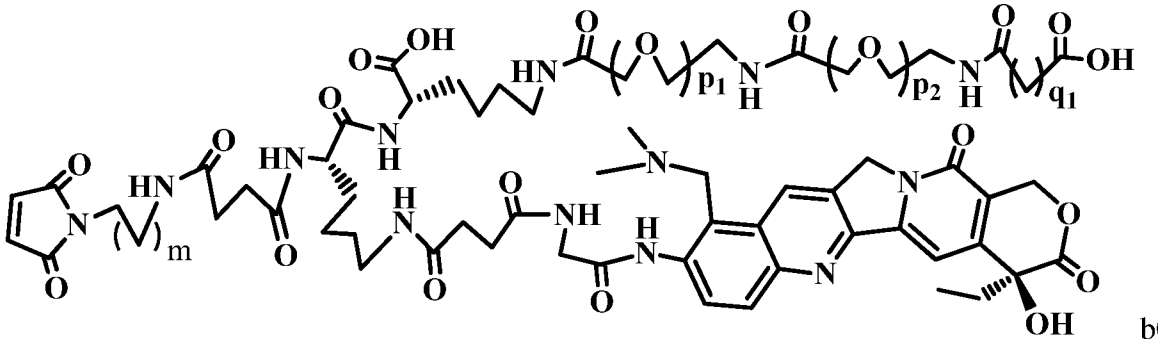
b002,



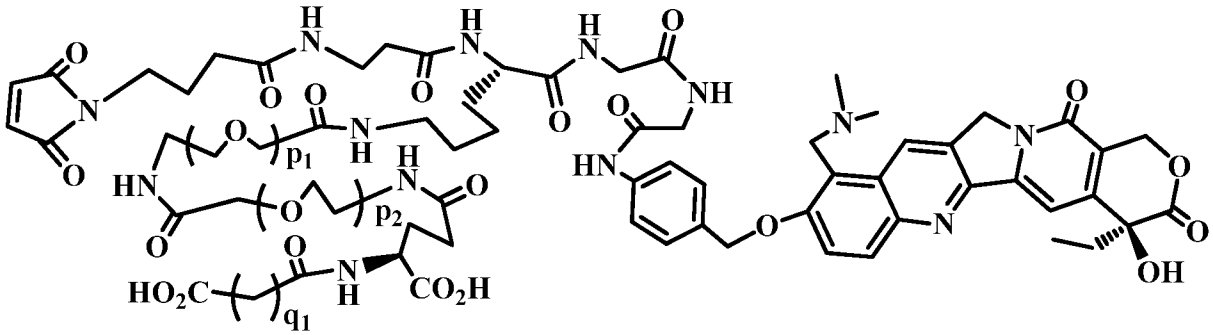
b003,



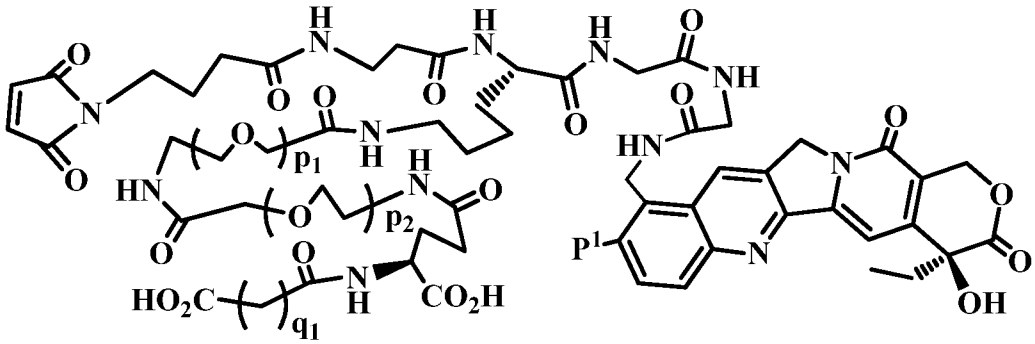
b004,



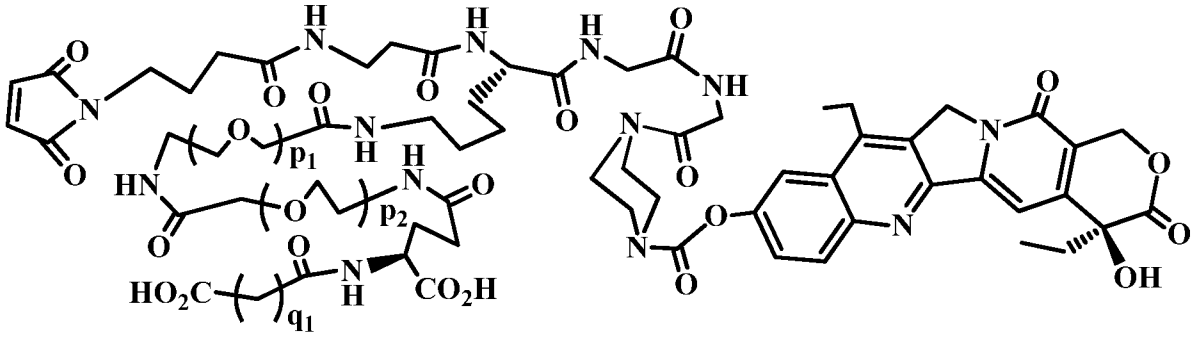
b005,



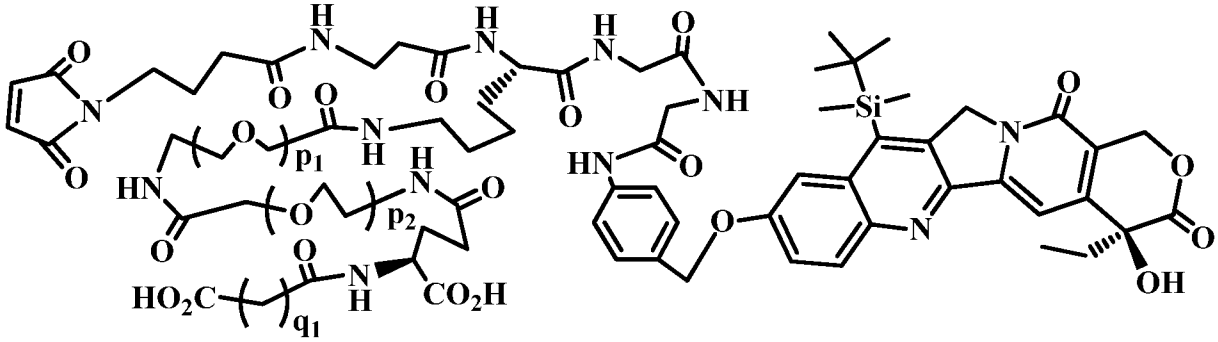
b006,



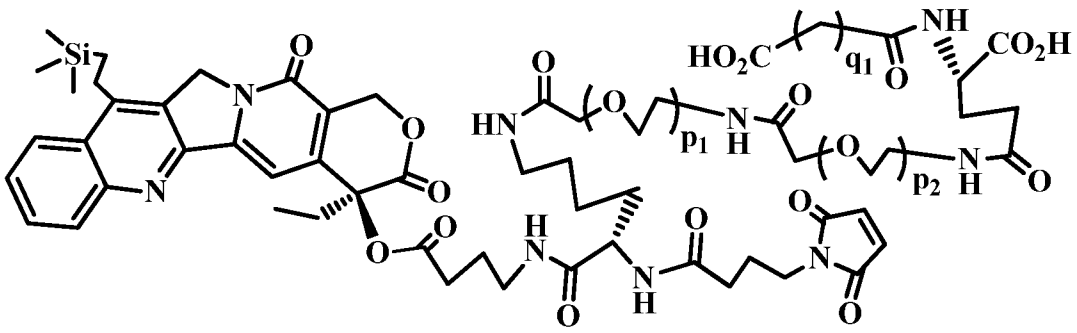
b007,



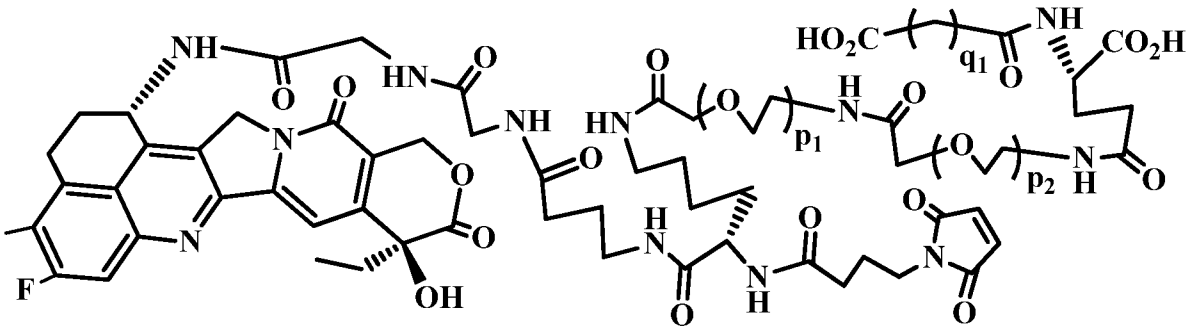
b008,



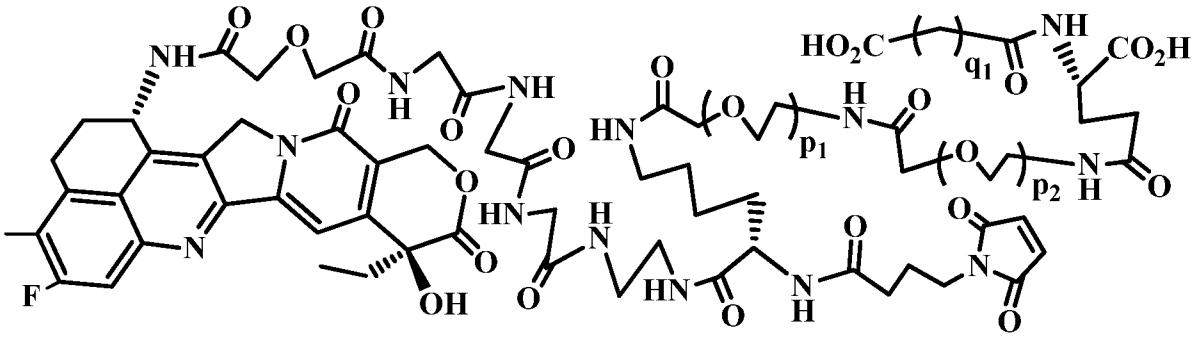
b009,



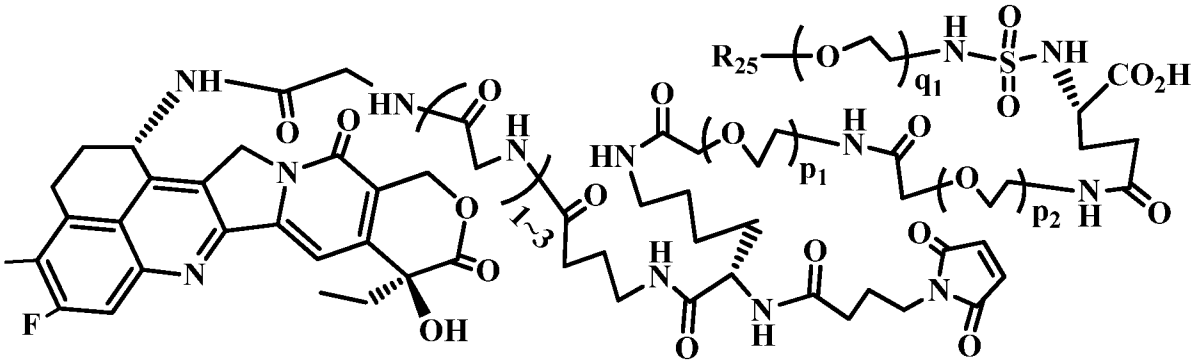
b010,



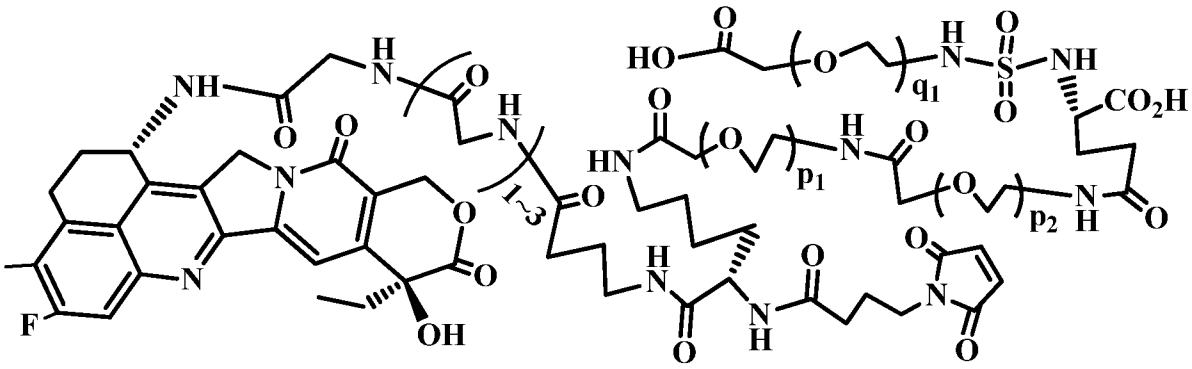
b011,



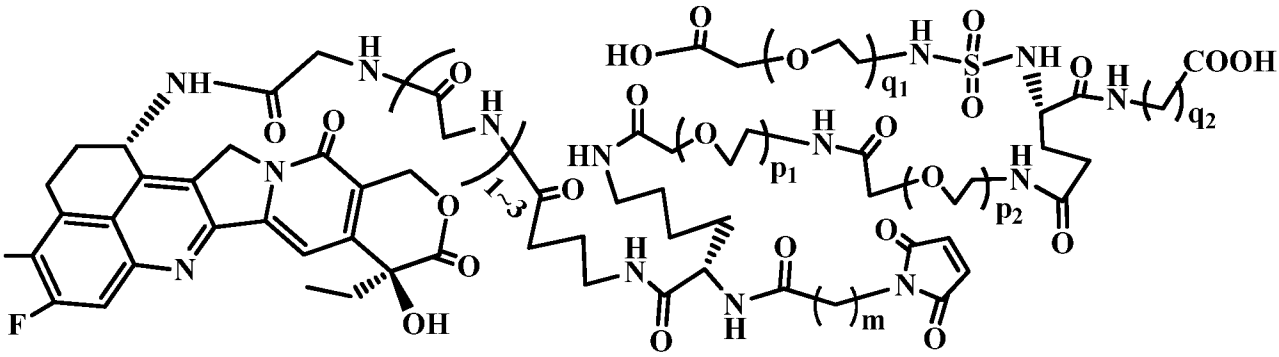
b012,



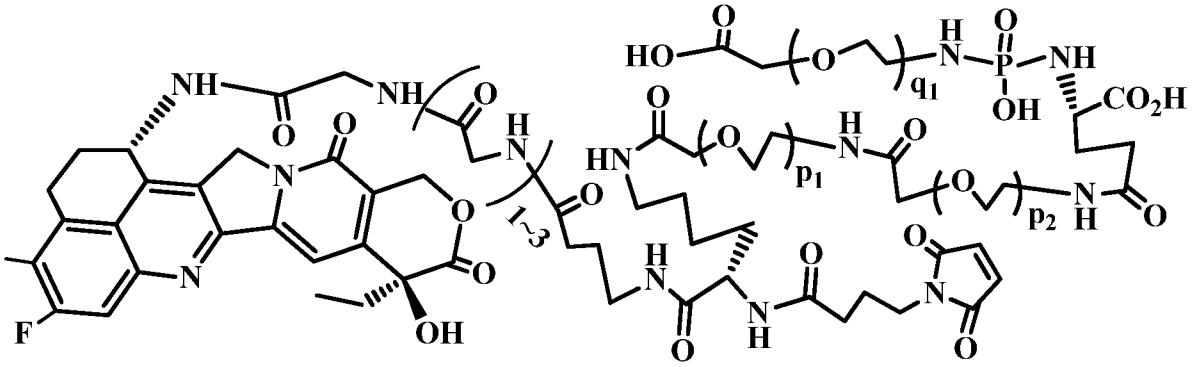
b013,



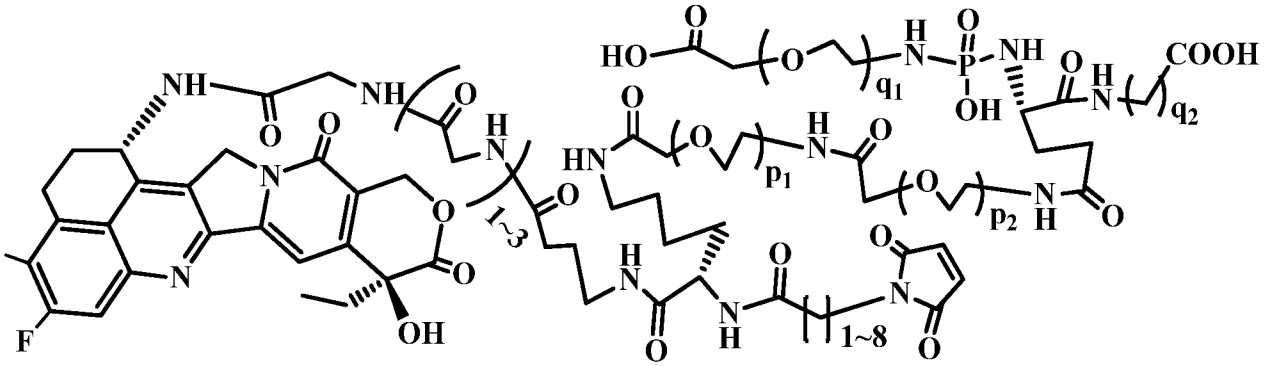
b014,



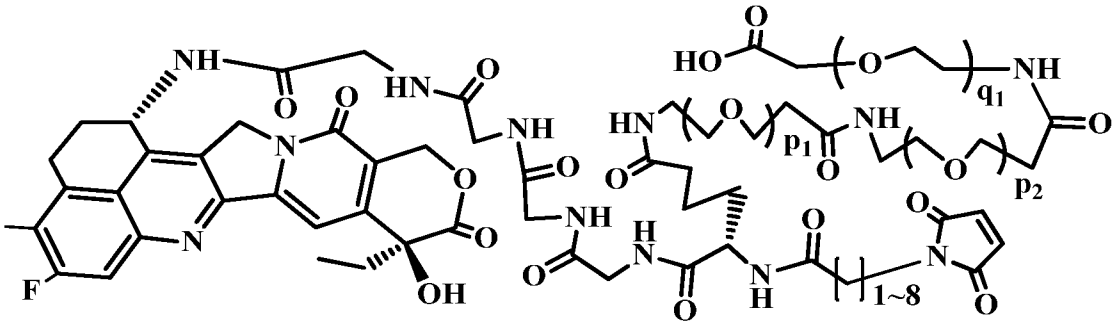
b015,



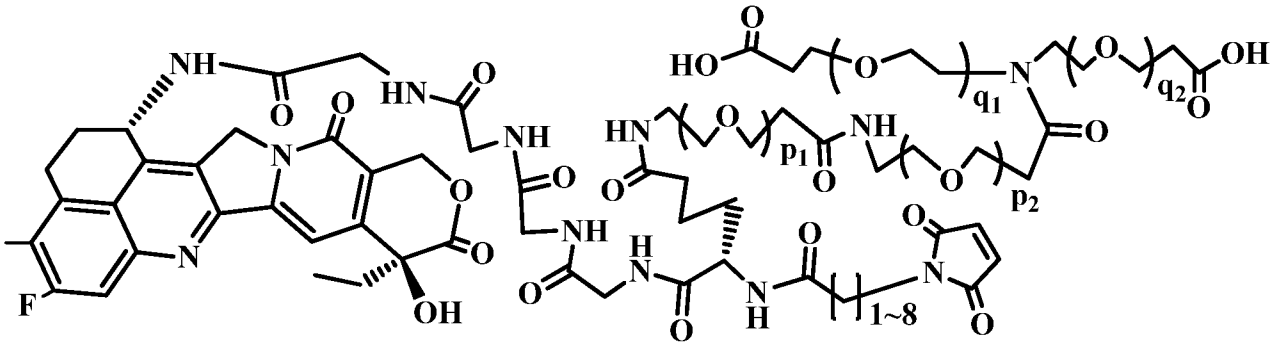
b016,



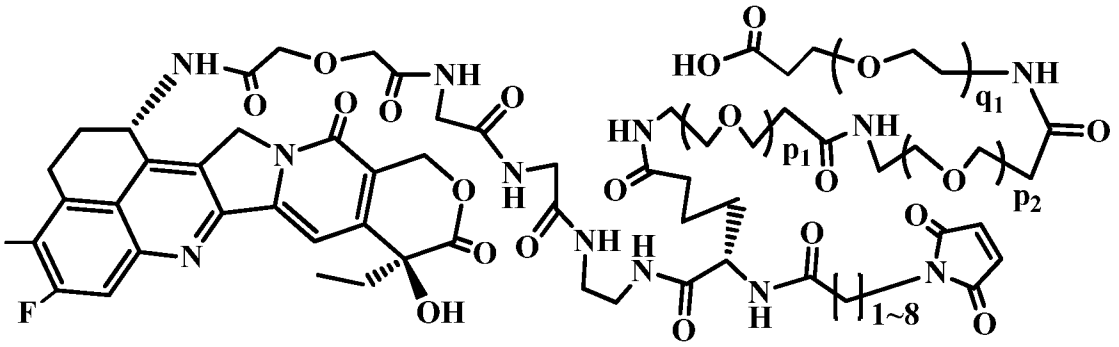
b017,



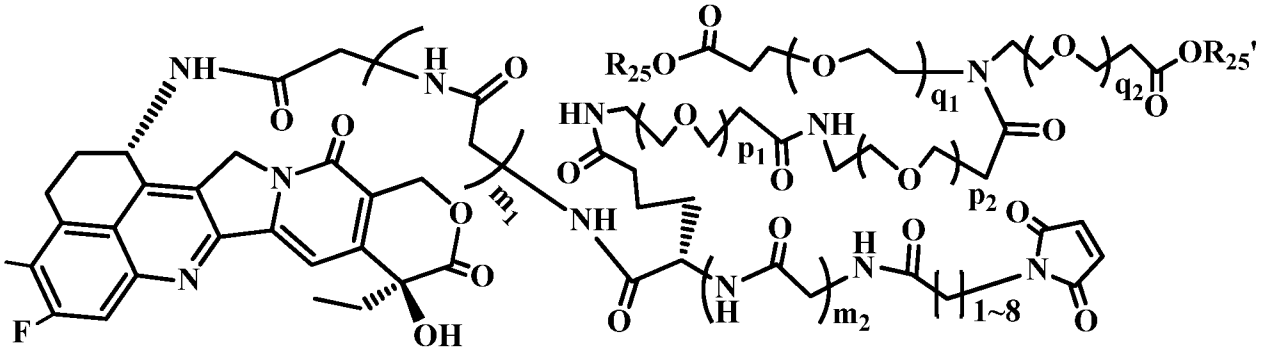
b018,



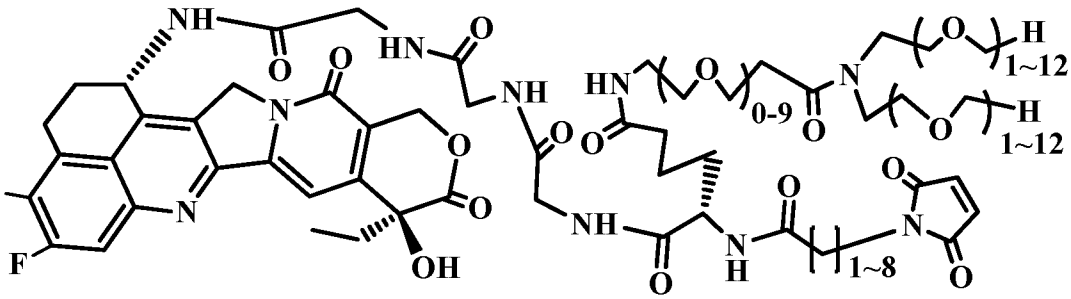
b019,



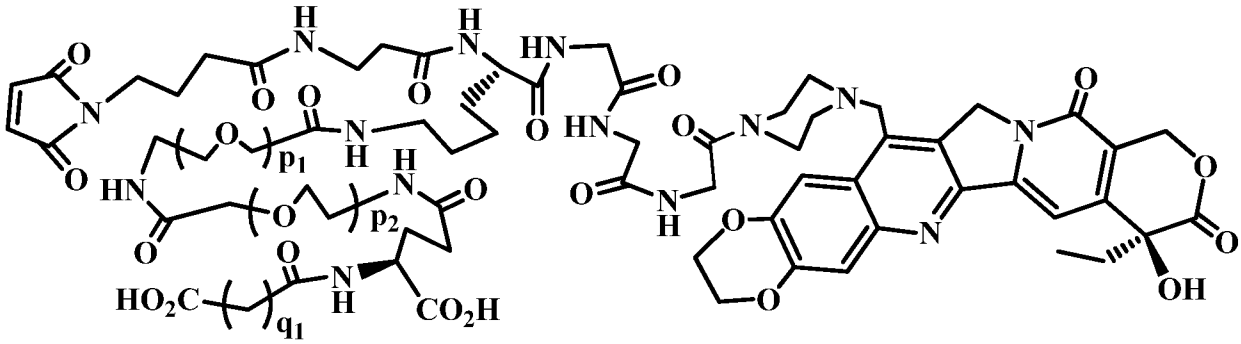
b020,



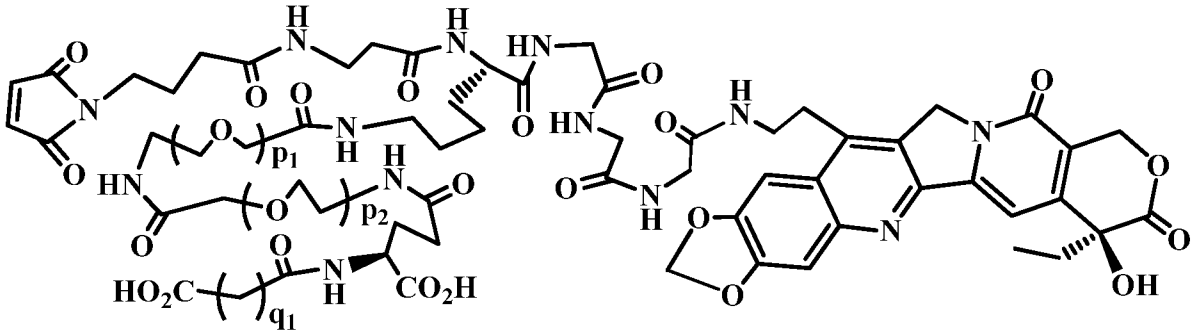
b021,



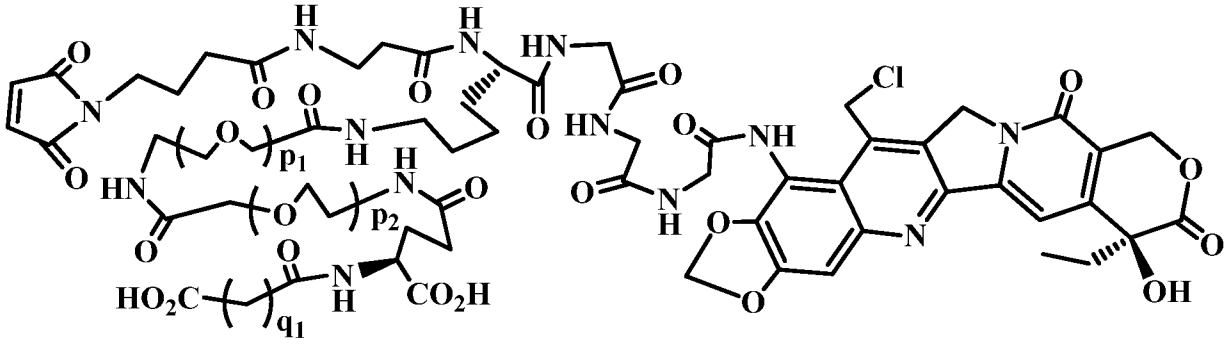
b022,



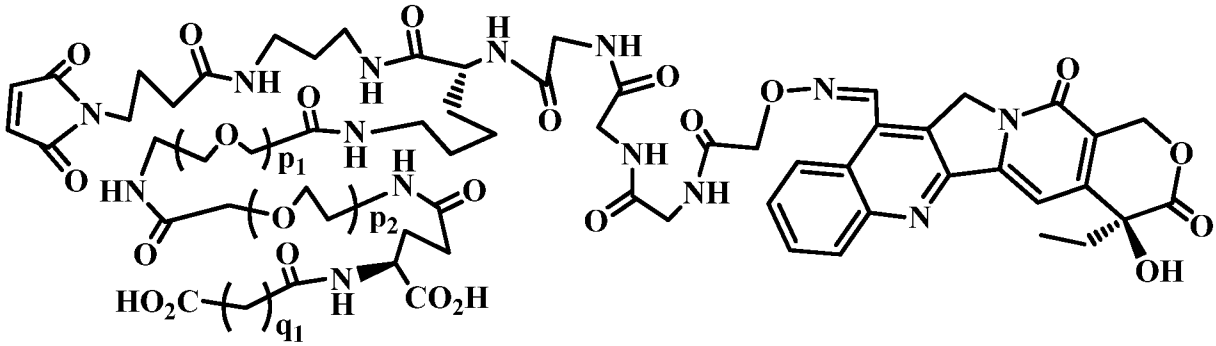
b023,



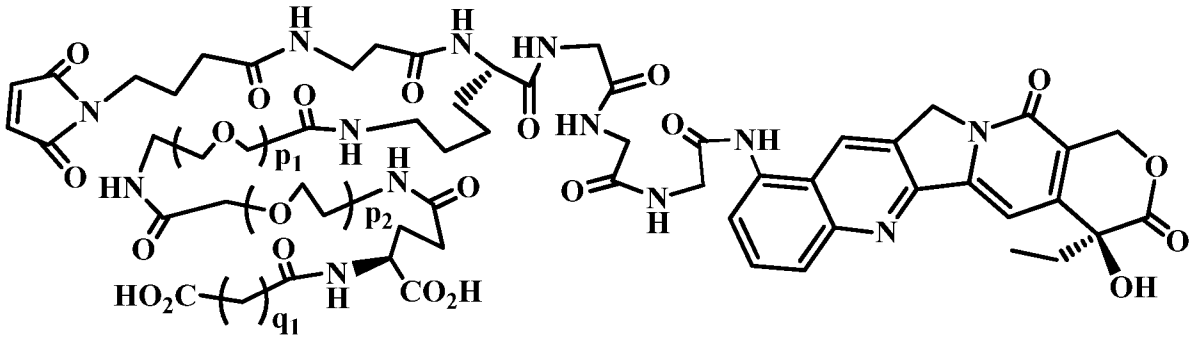
b024,



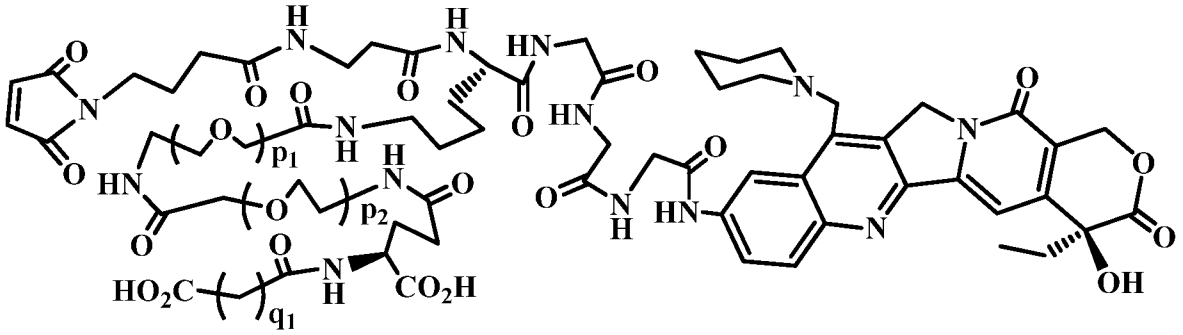
b025,



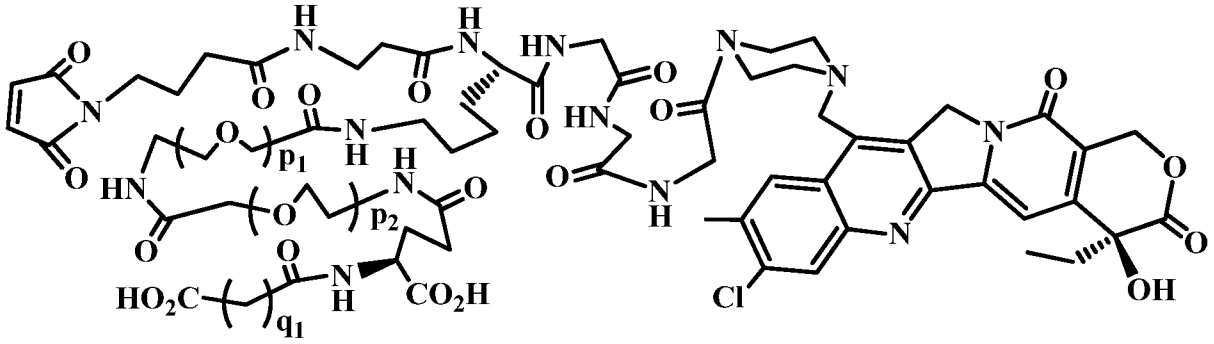
b026,



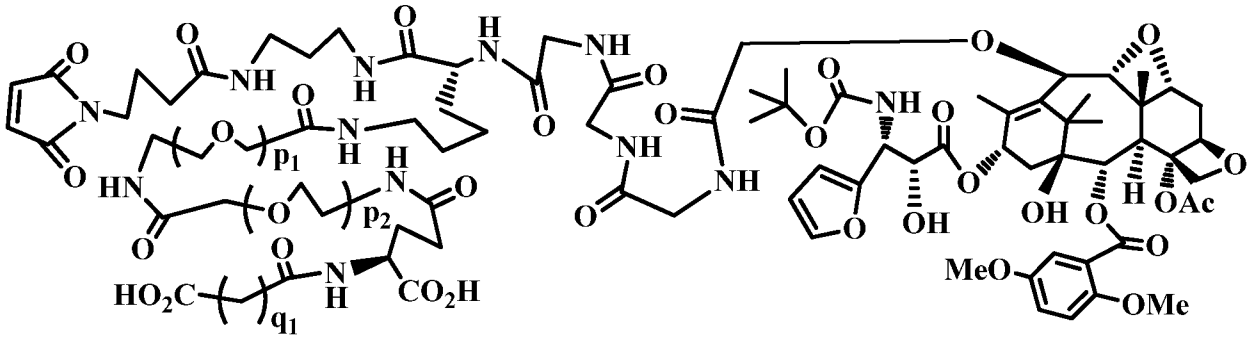
b027,



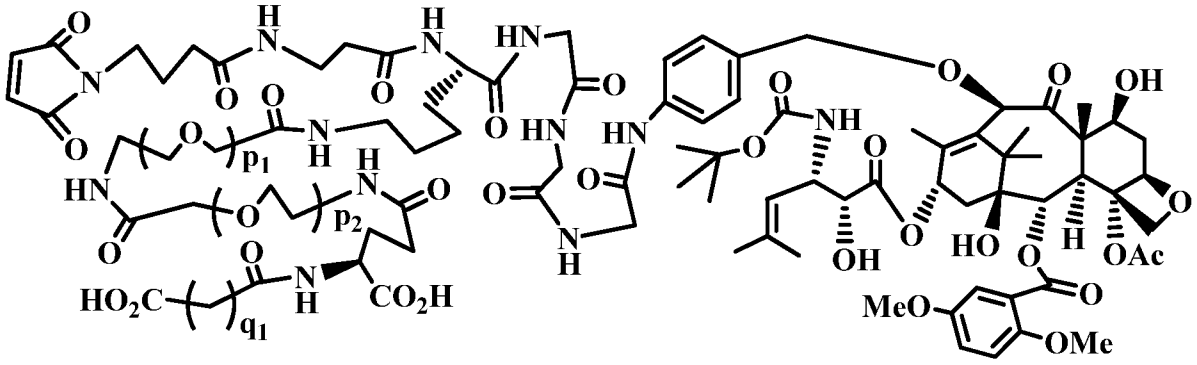
b028,



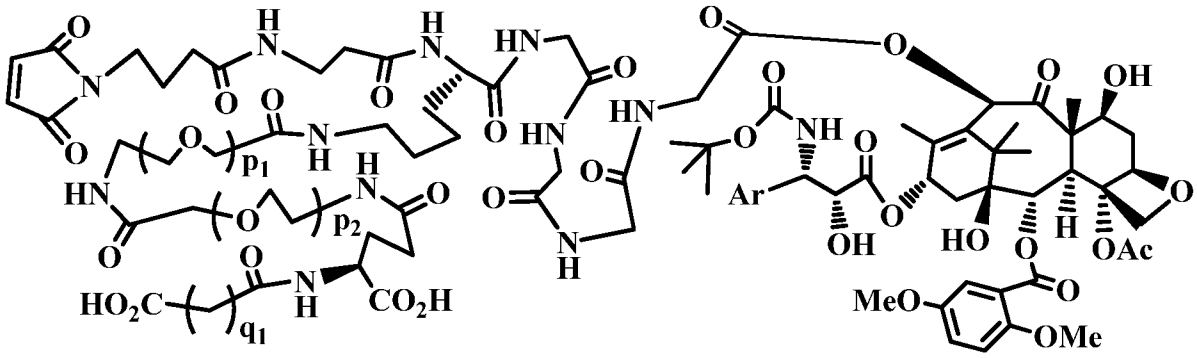
b029,



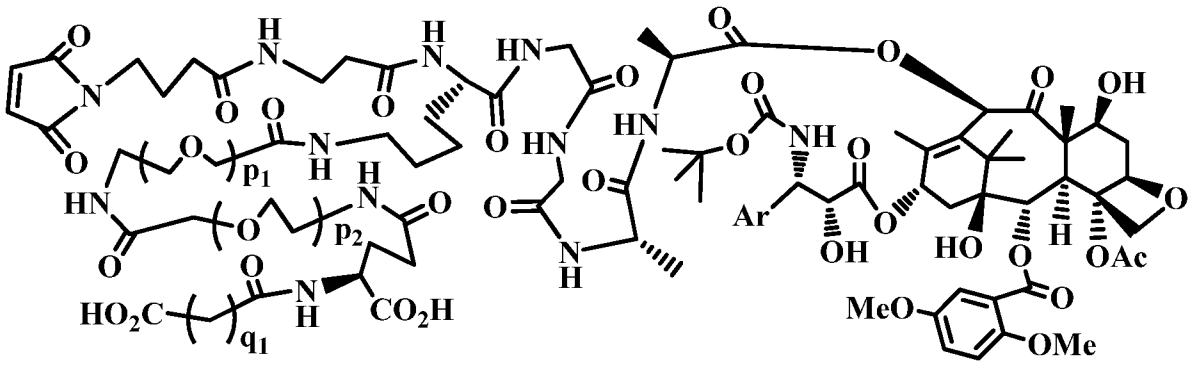
b030,



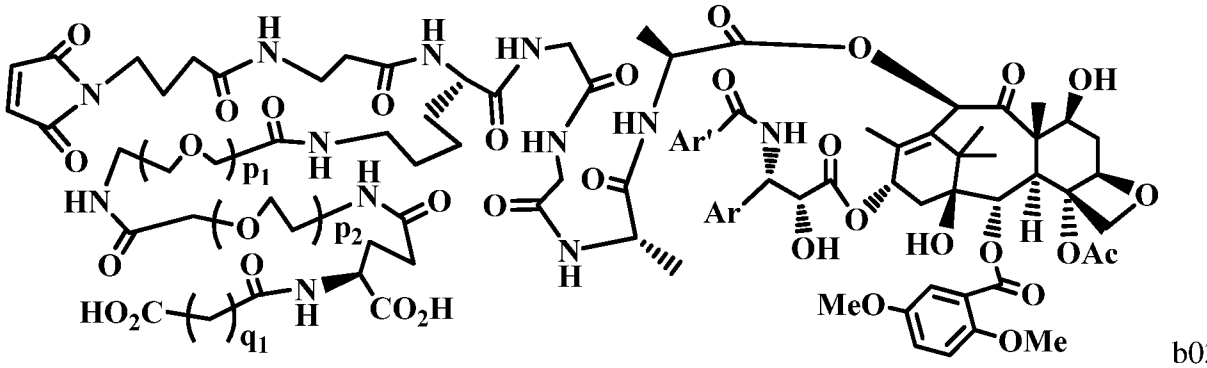
b031,



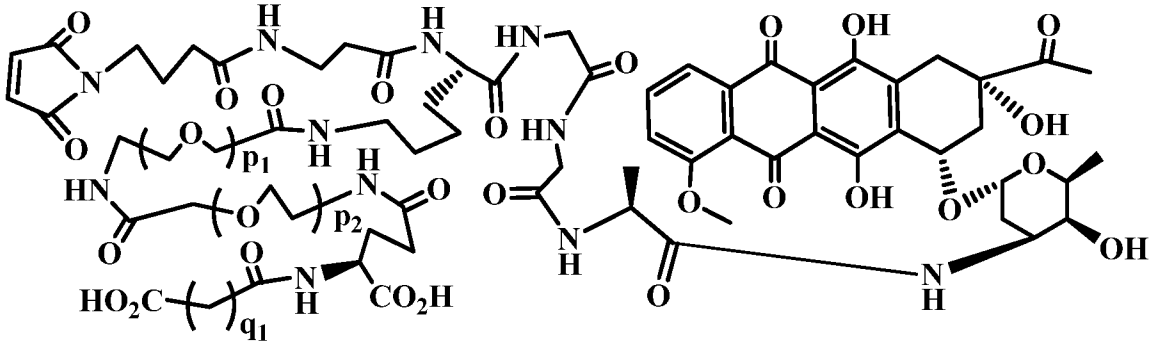
b032,



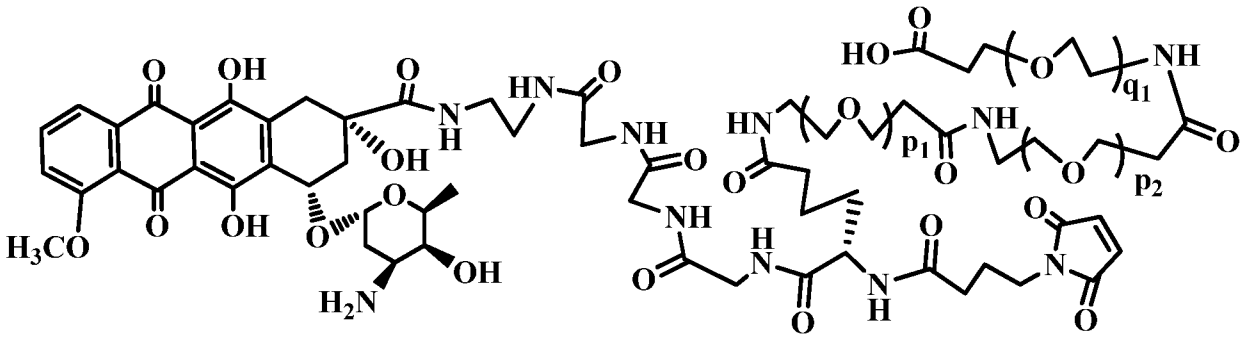
b033,



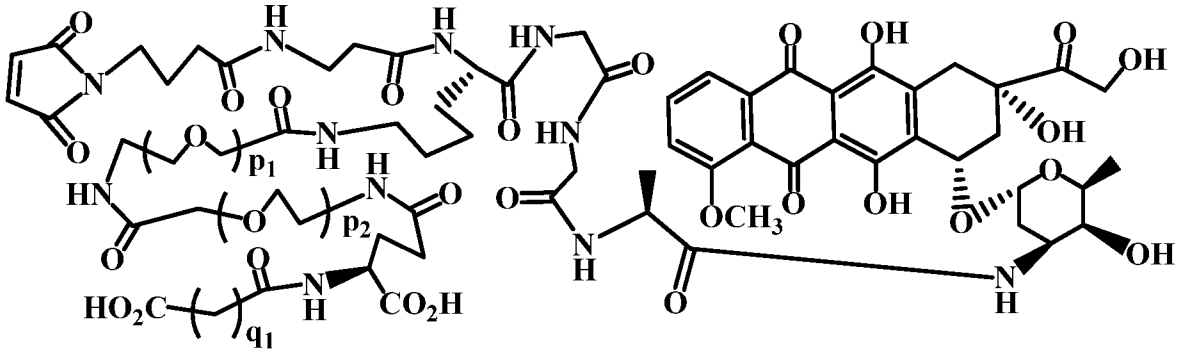
b034,



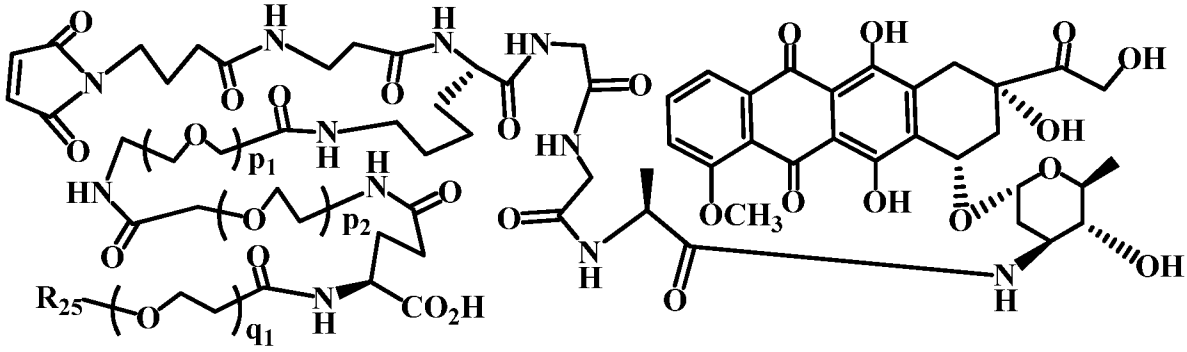
b035,



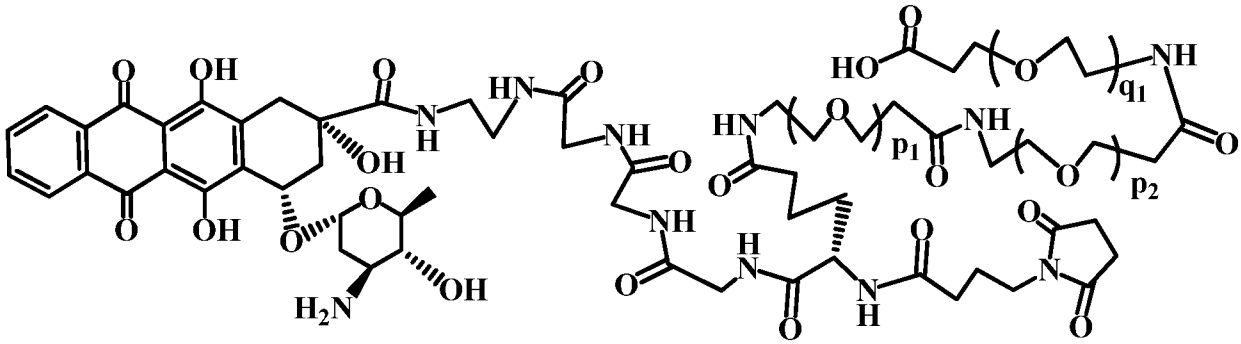
b036,



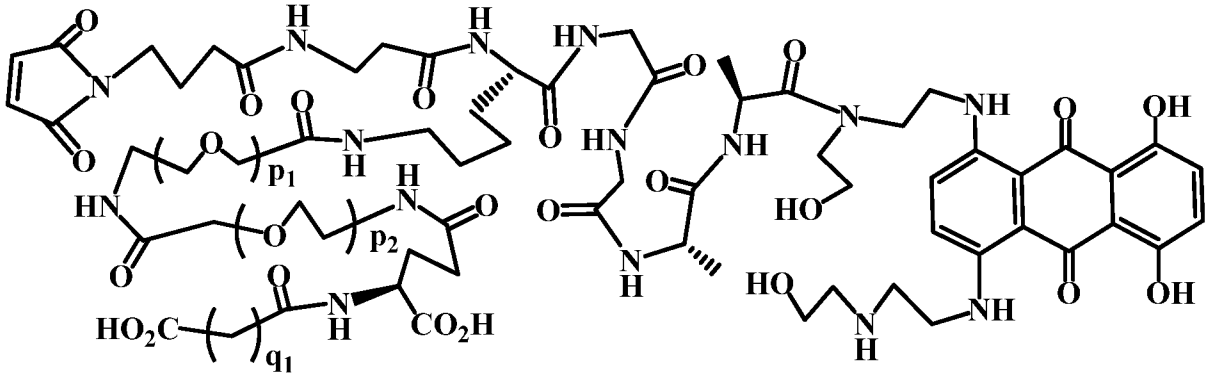
b037,



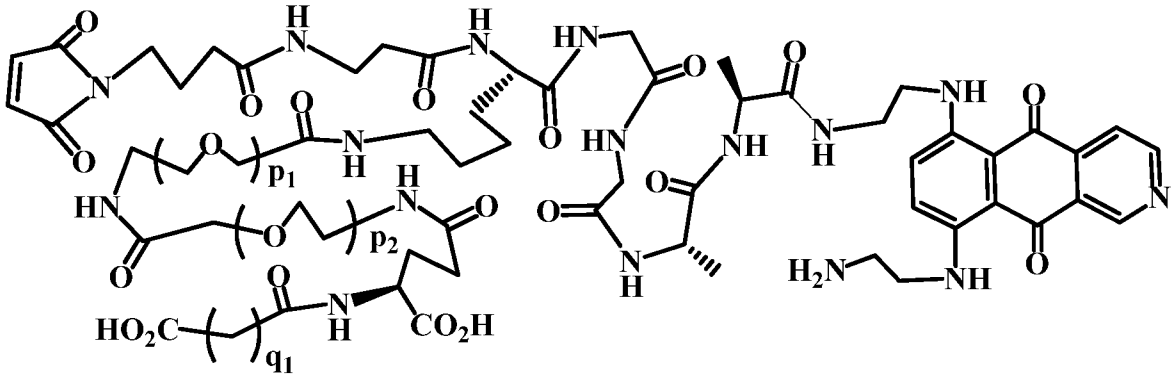
b038,



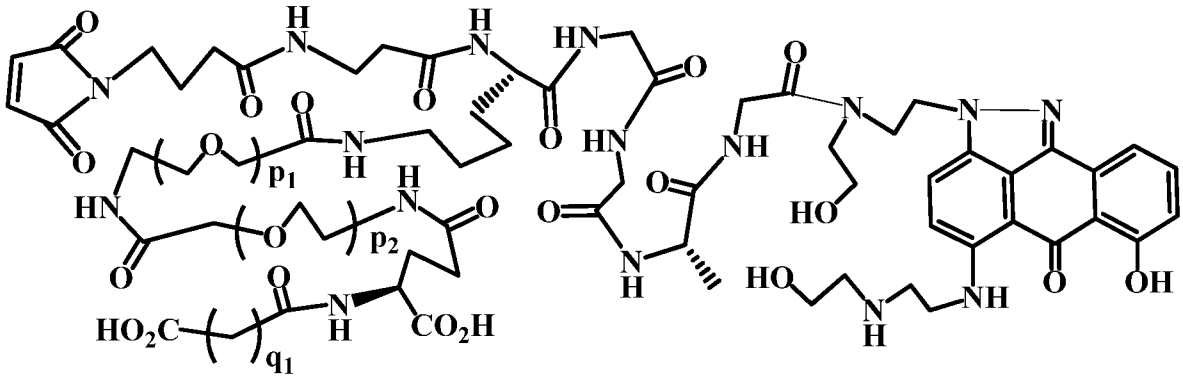
b039,



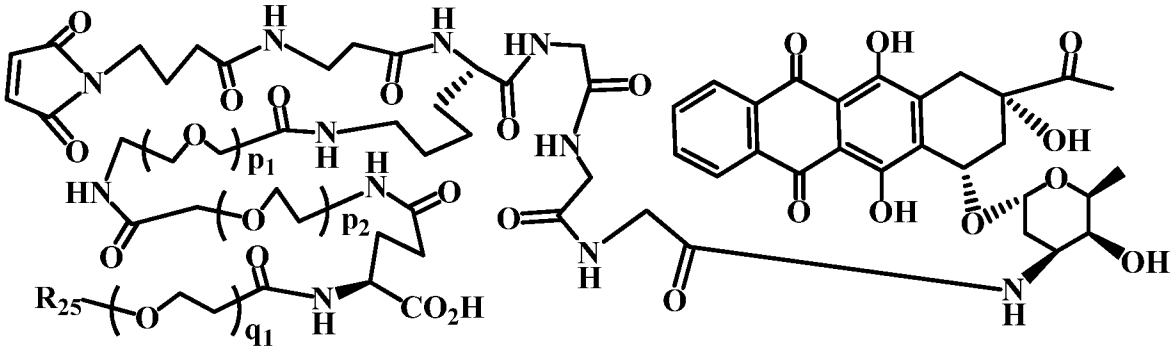
b040,



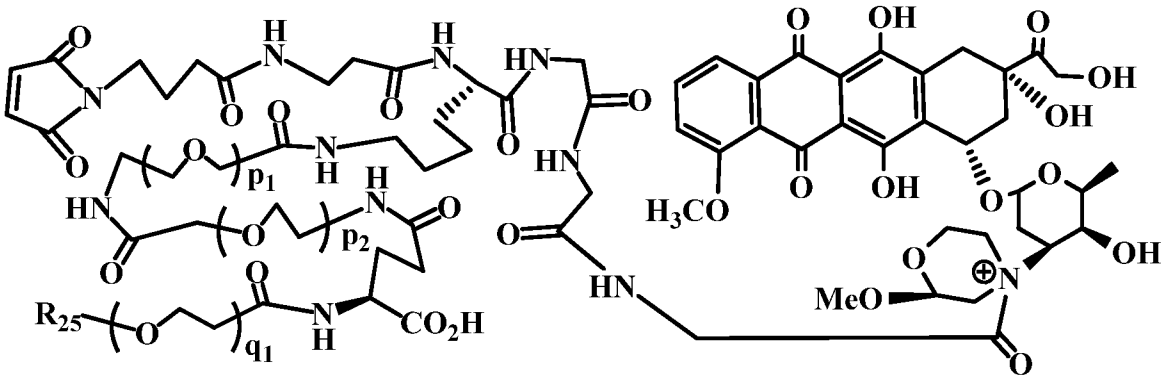
b041,



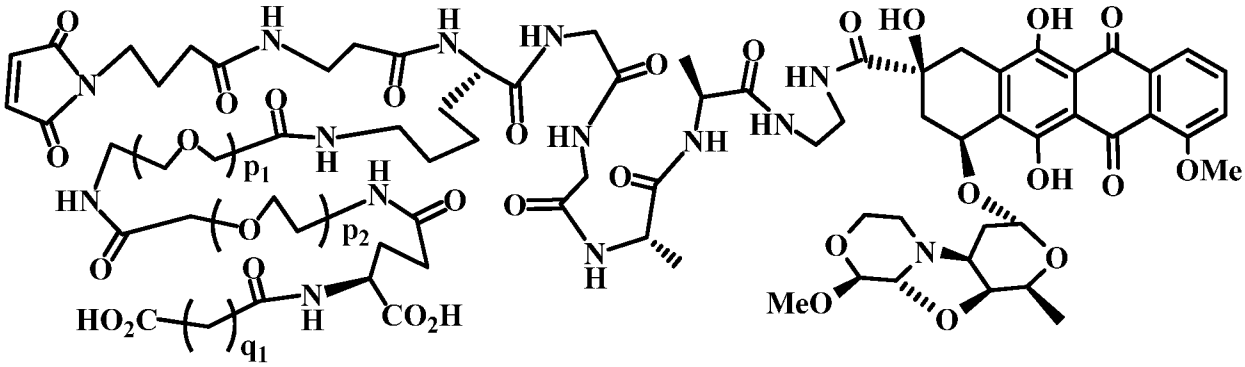
b042,



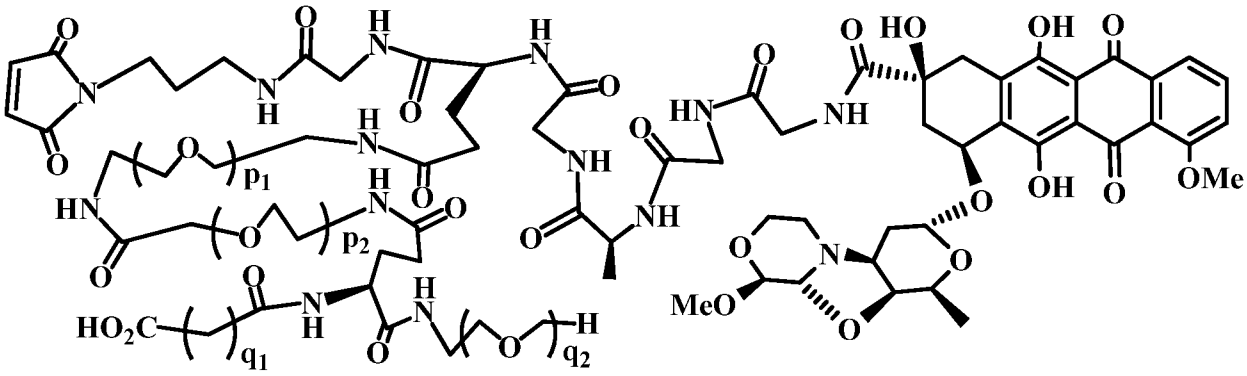
b043,



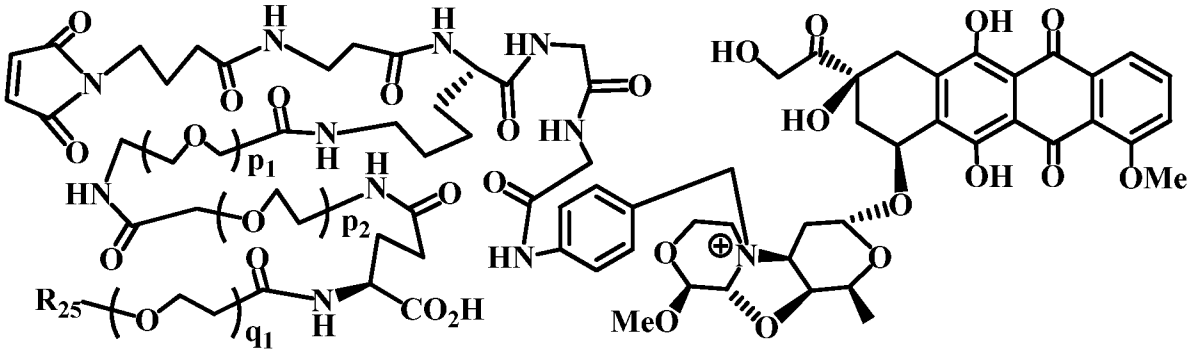
b044,



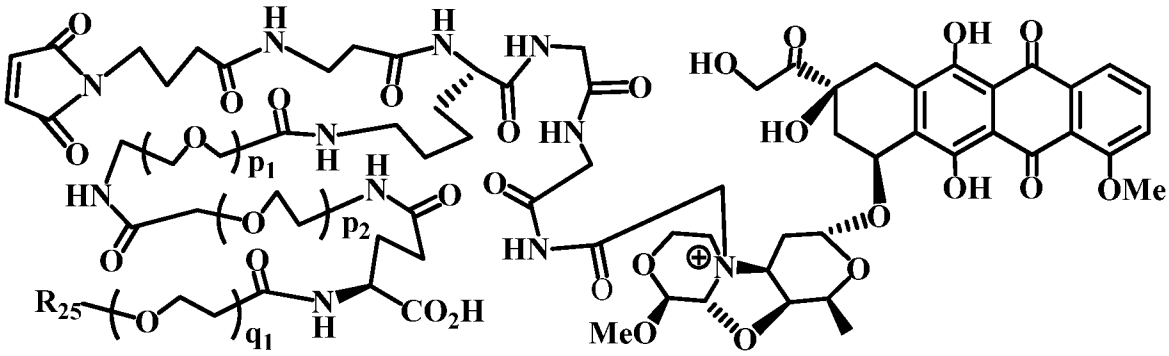
b045,



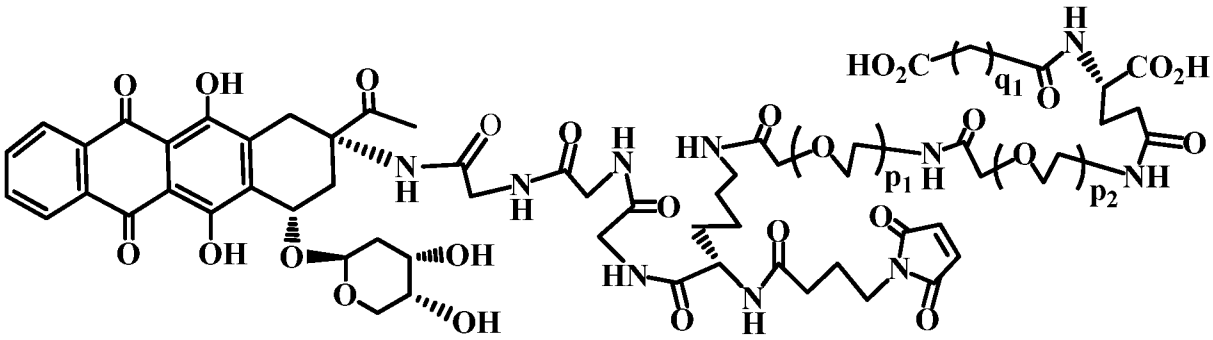
b046,



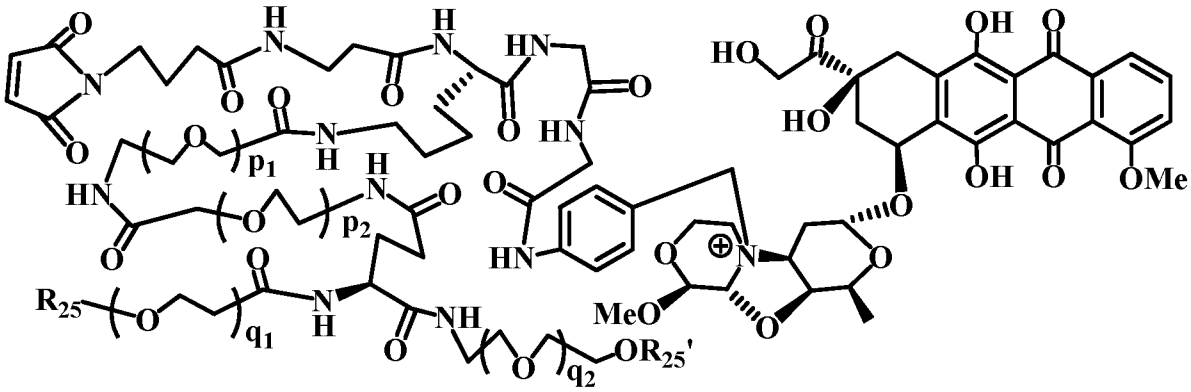
b047,



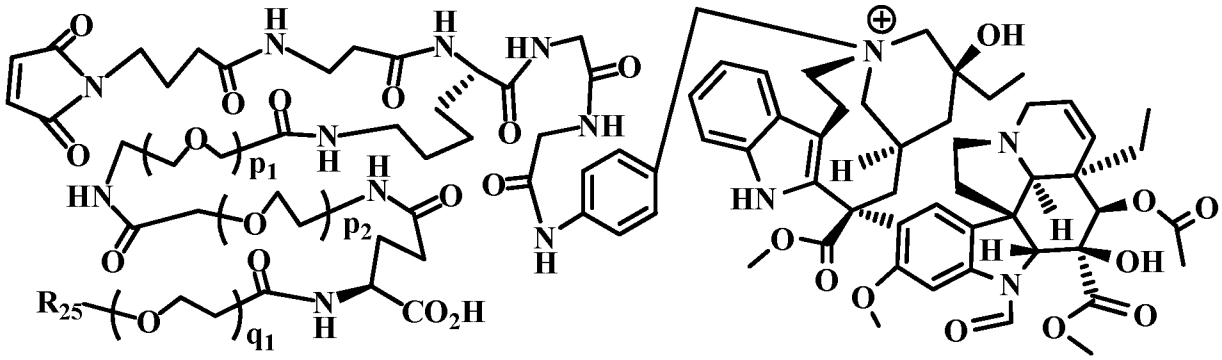
b048,



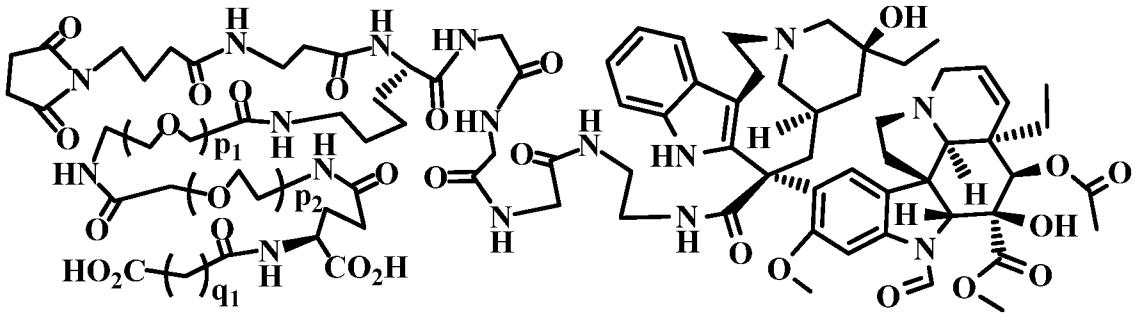
b049,



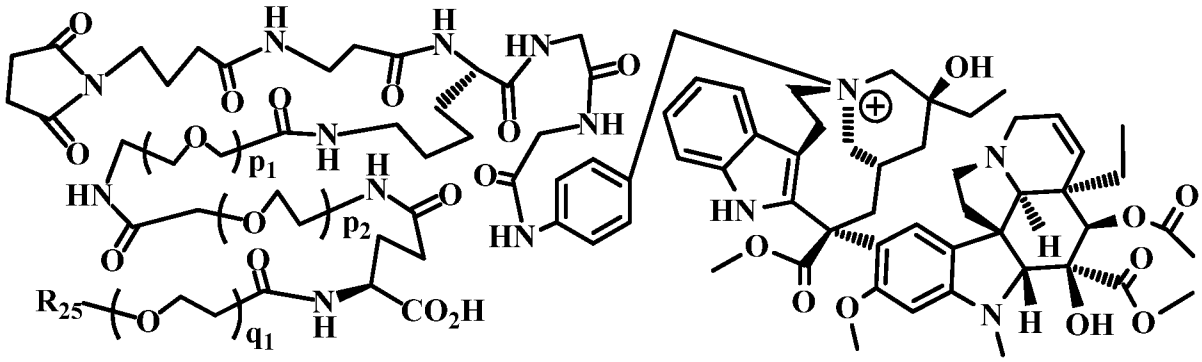
b050,



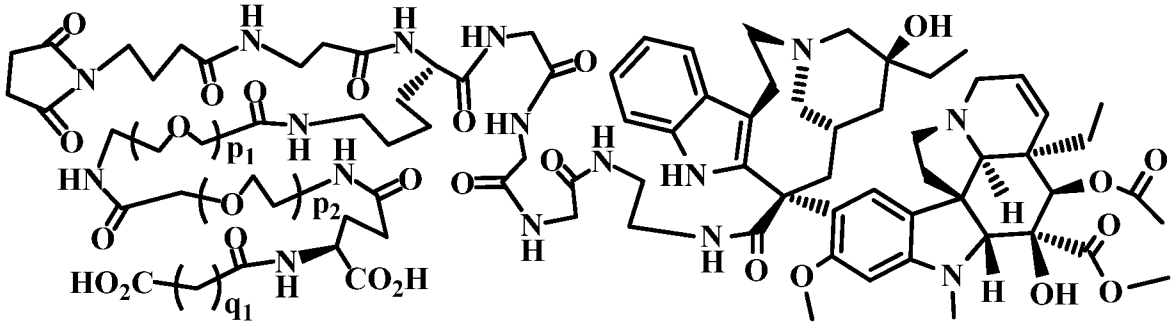
b051,



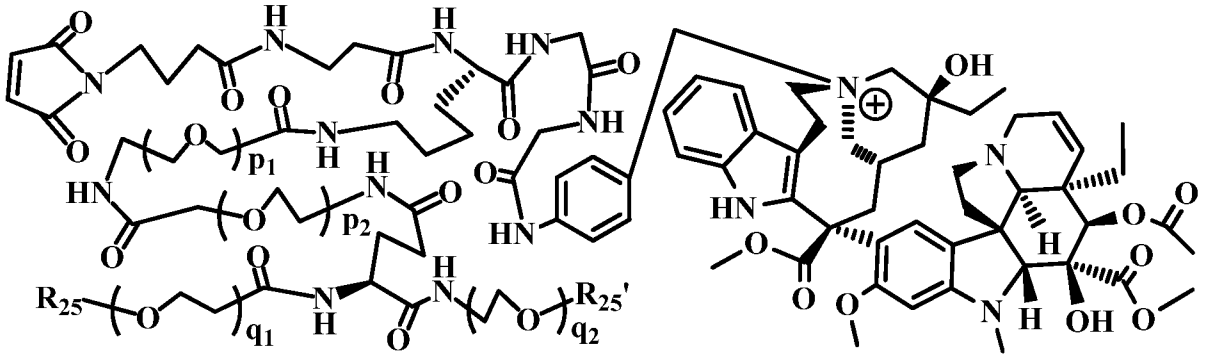
b052,



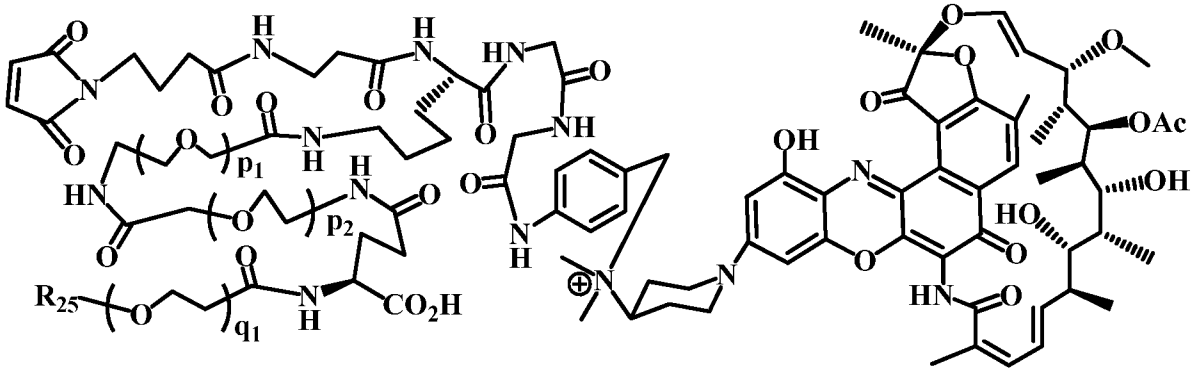
b053,



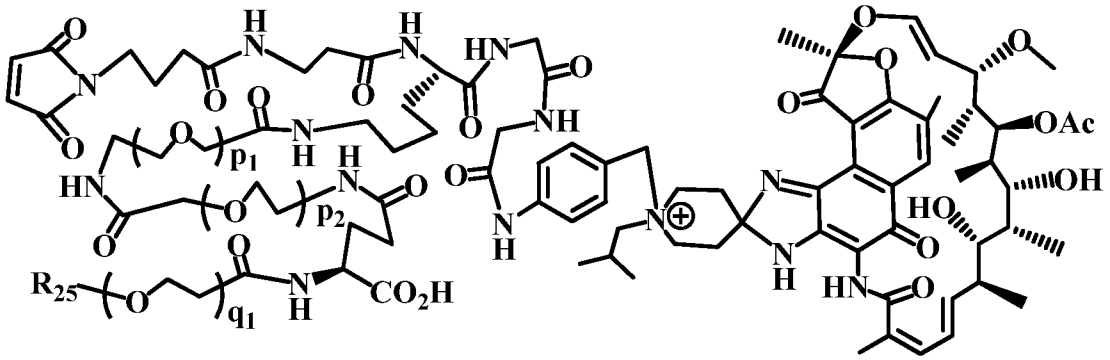
b054,



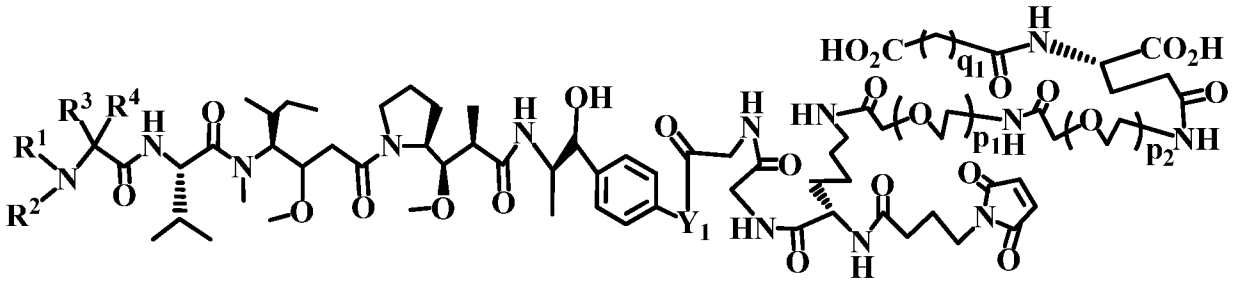
b055,



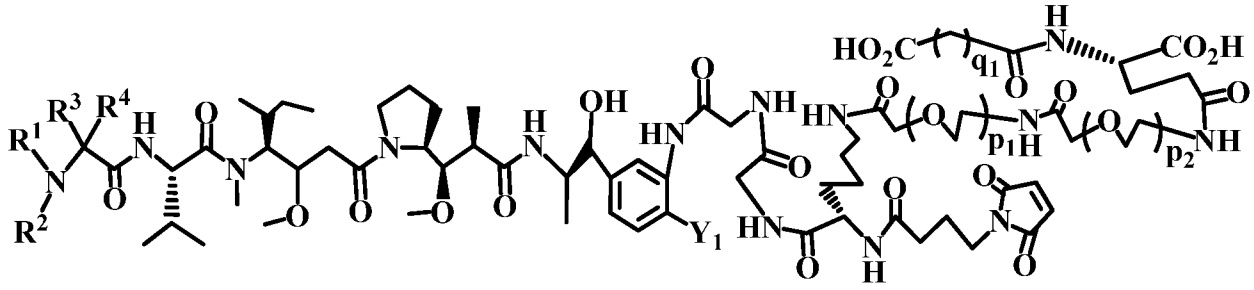
b056,



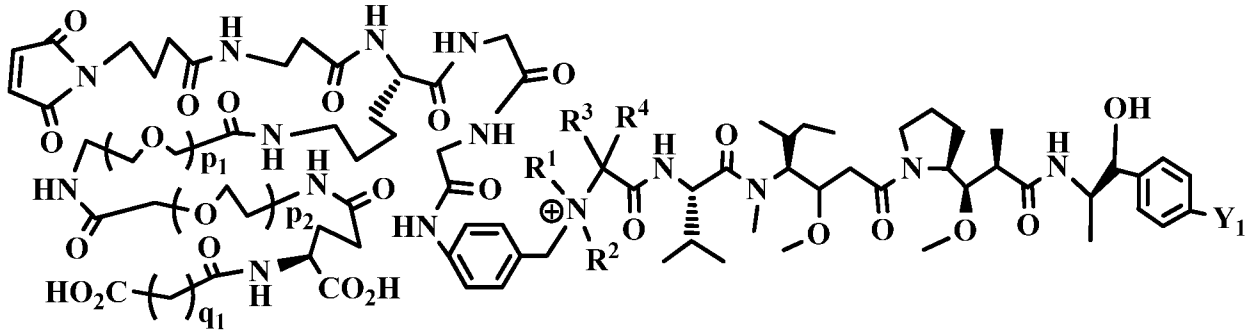
b057,



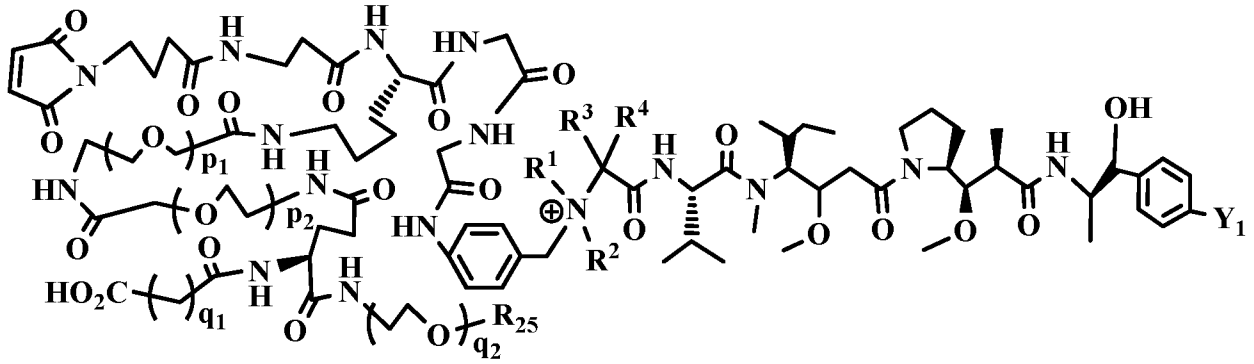
b058,



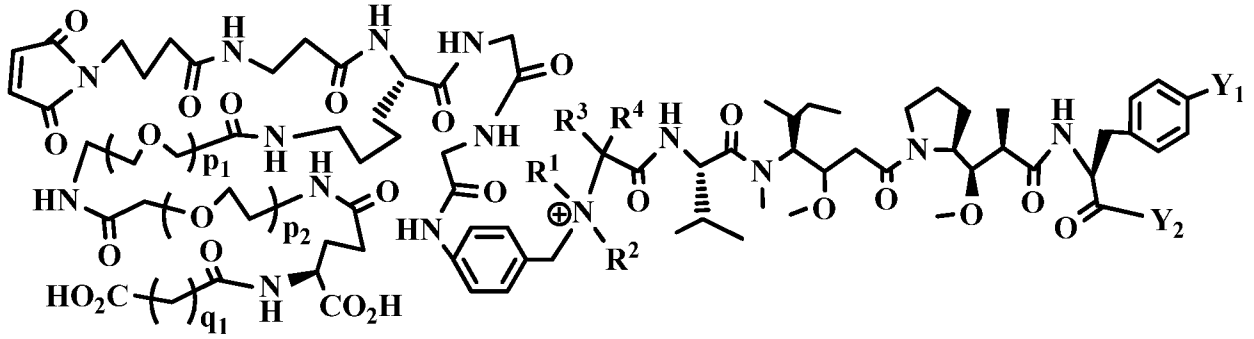
b059,



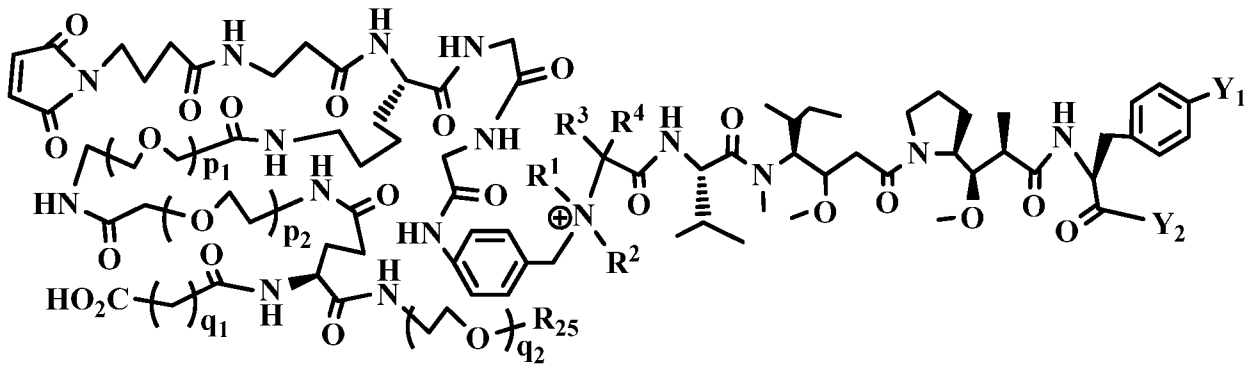
b060,



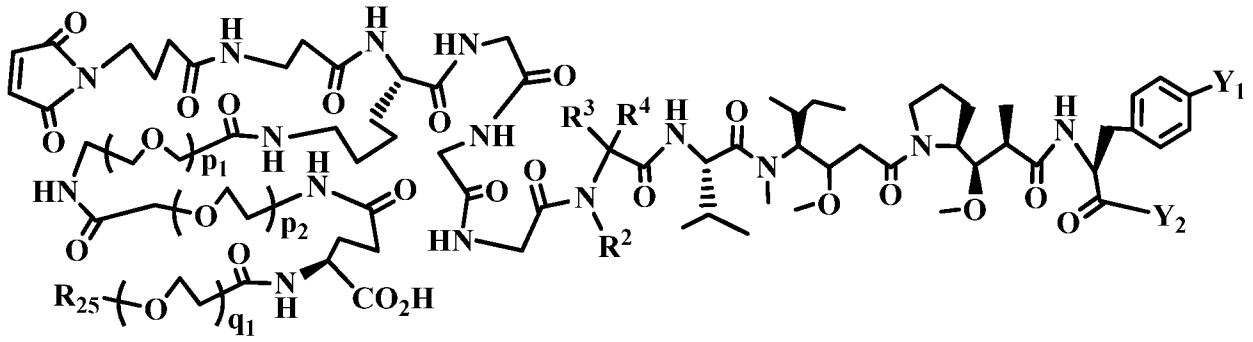
b061,



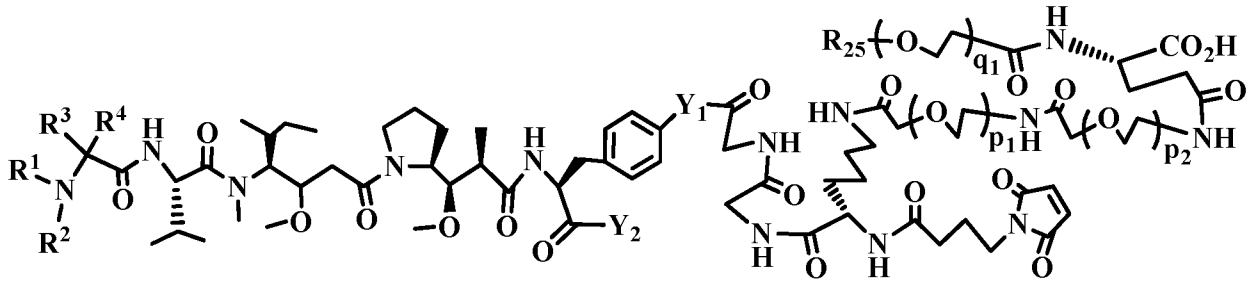
b062,



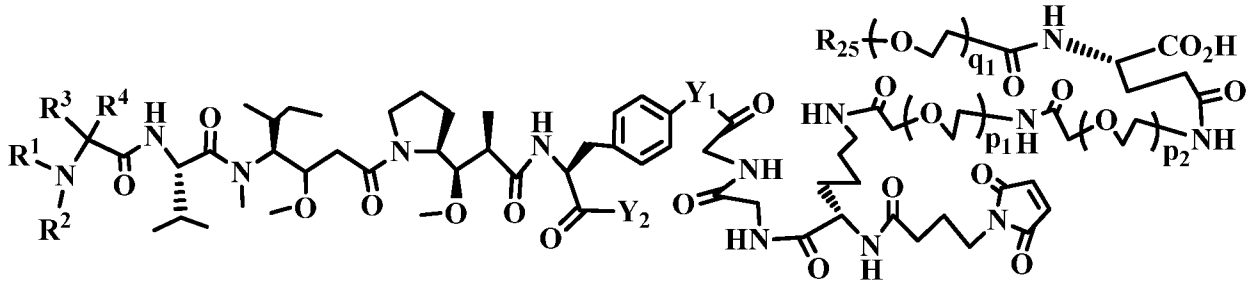
b063,



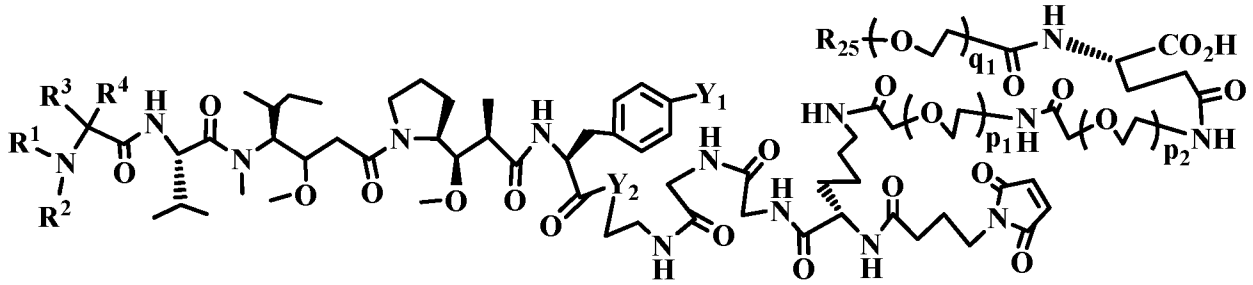
b064,



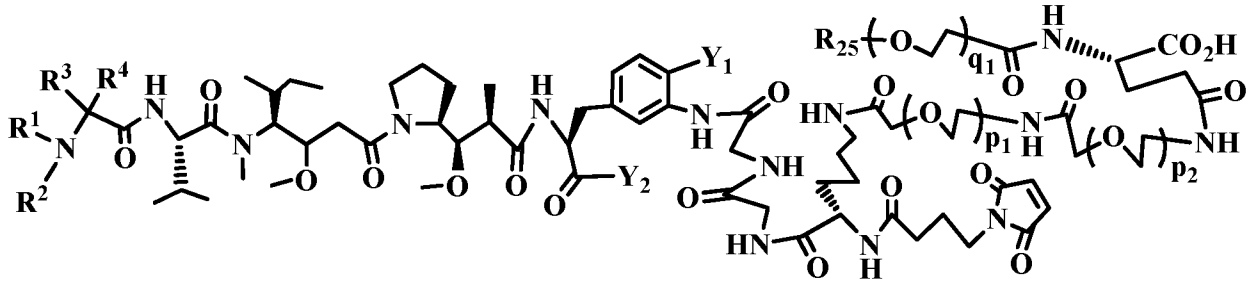
b065,



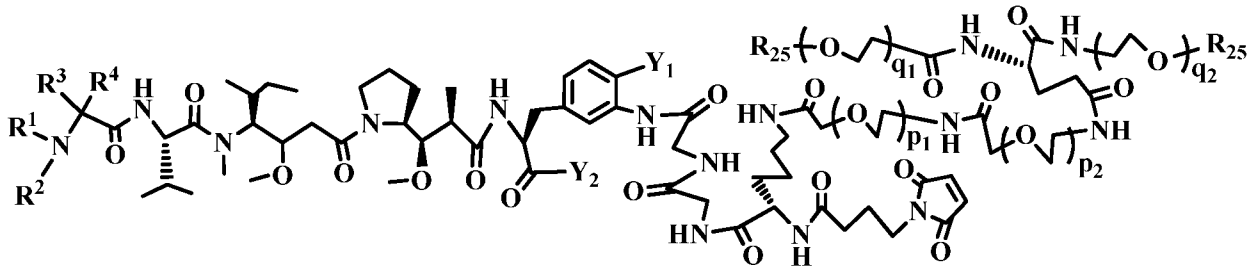
b066,



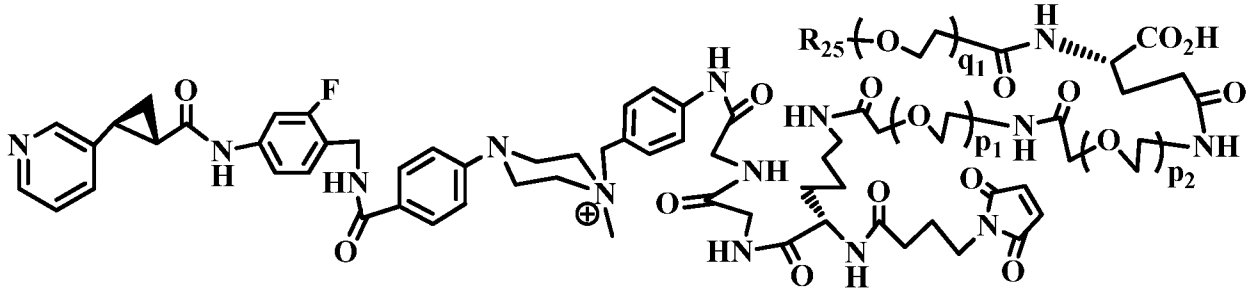
b067,



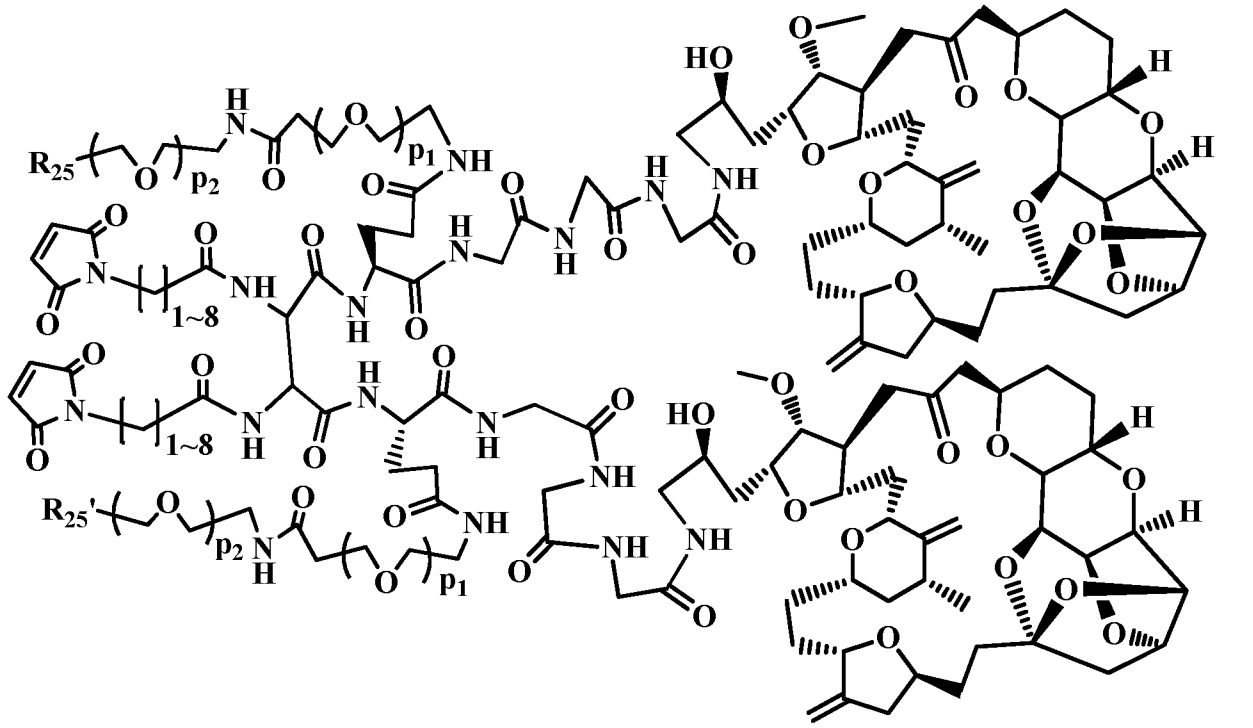
b068,



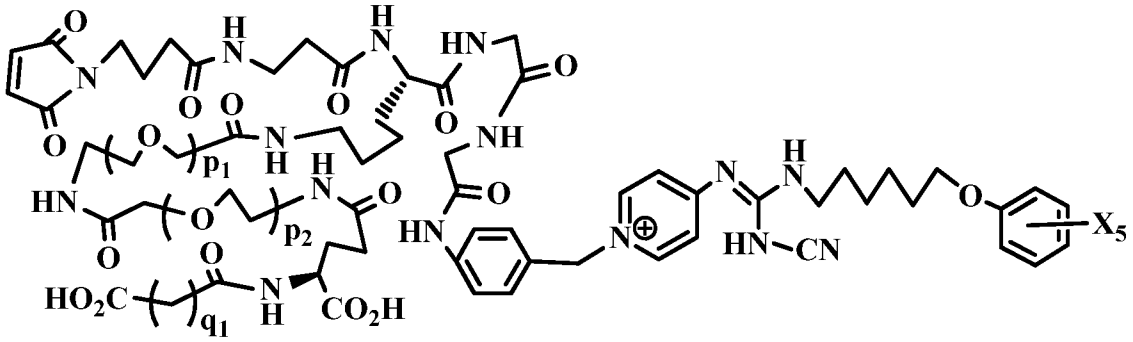
b069,



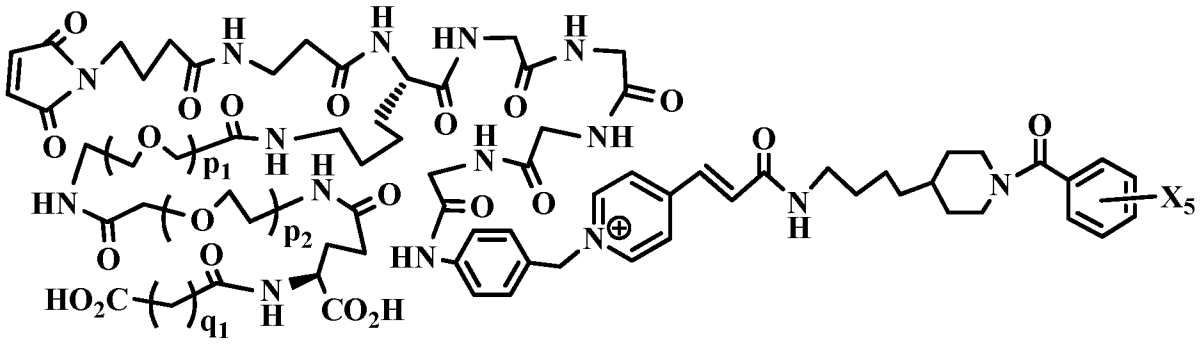
b070,



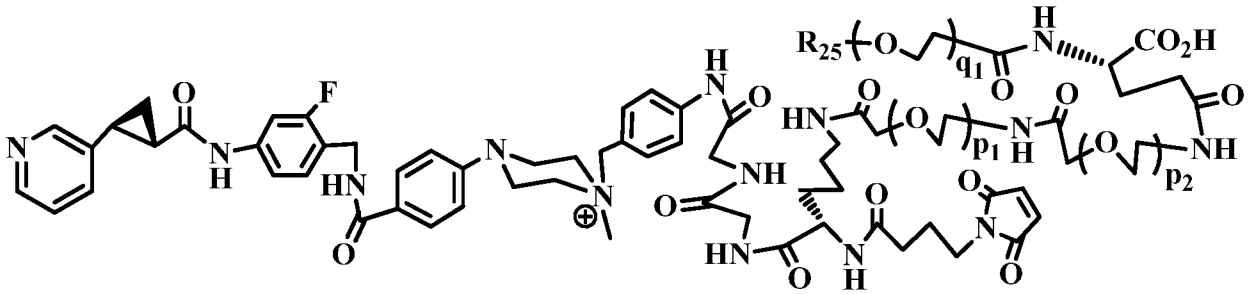
b071,



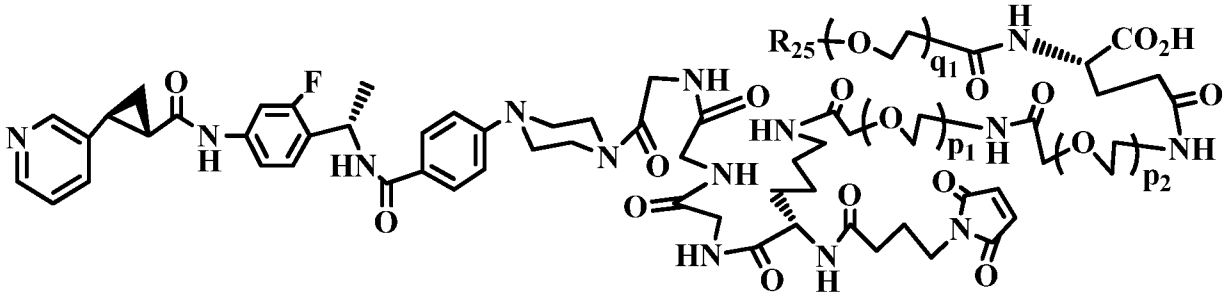
b072,



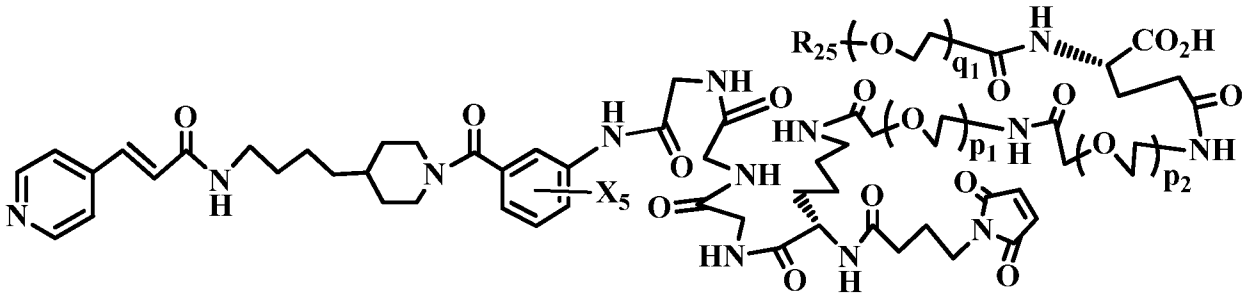
b073,



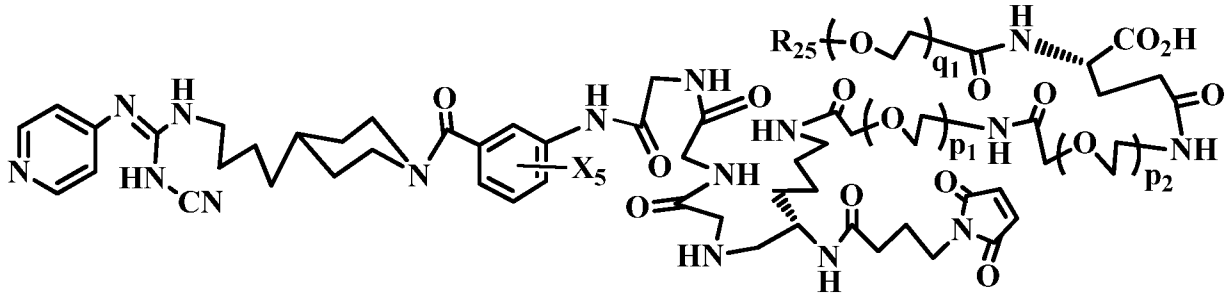
b074,



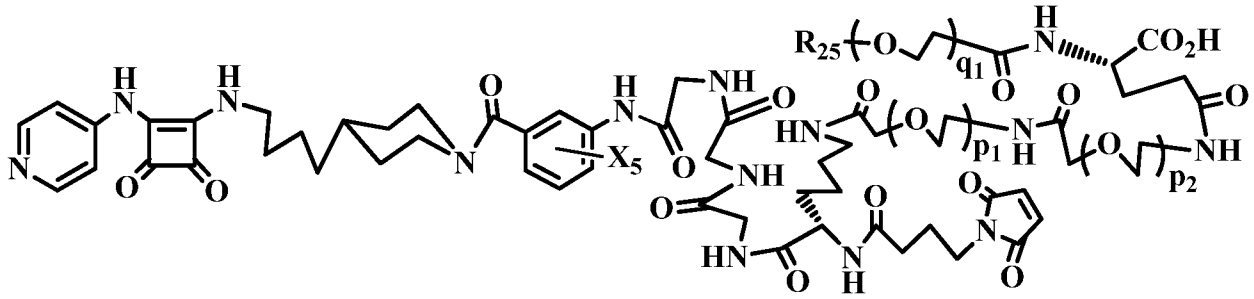
b075,



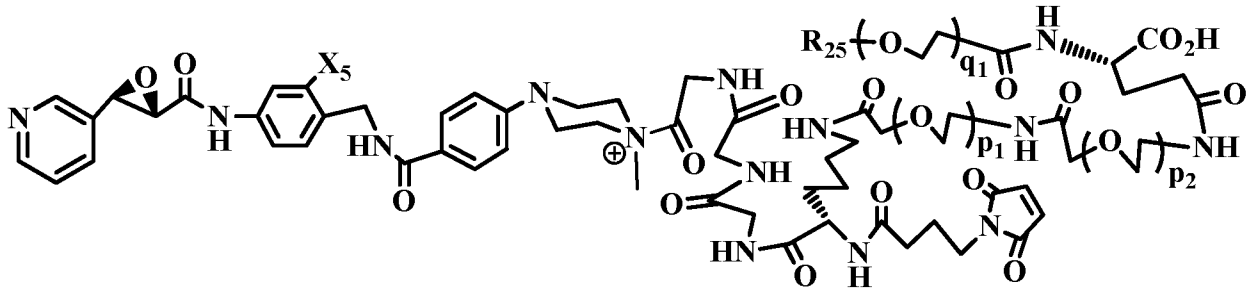
b076,



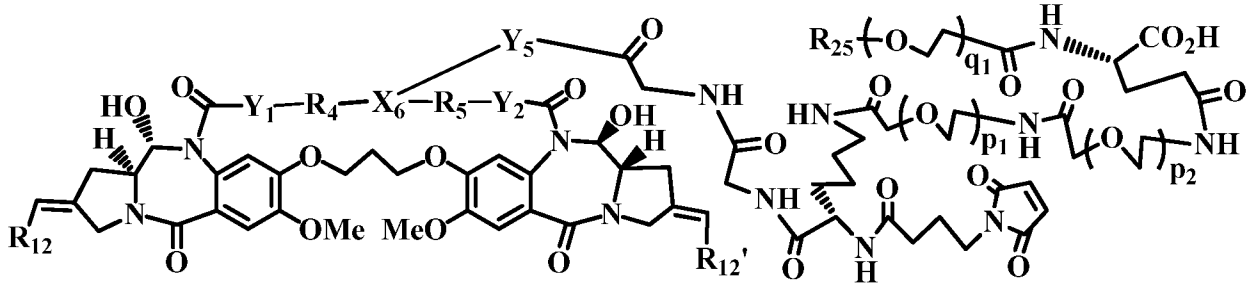
b077,



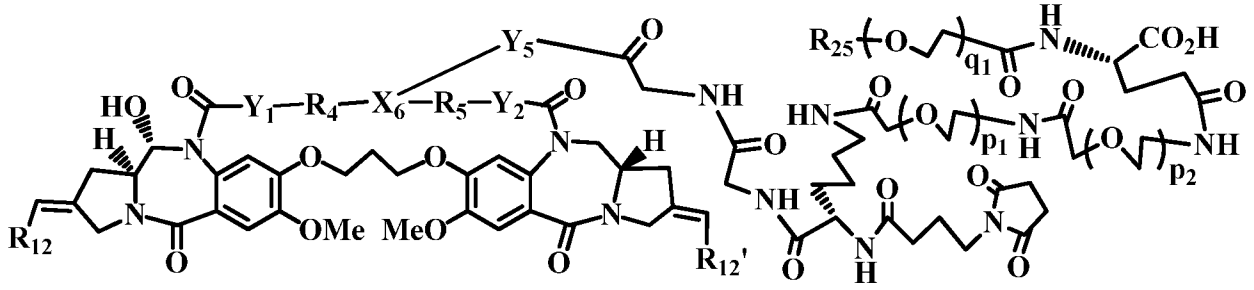
b078,



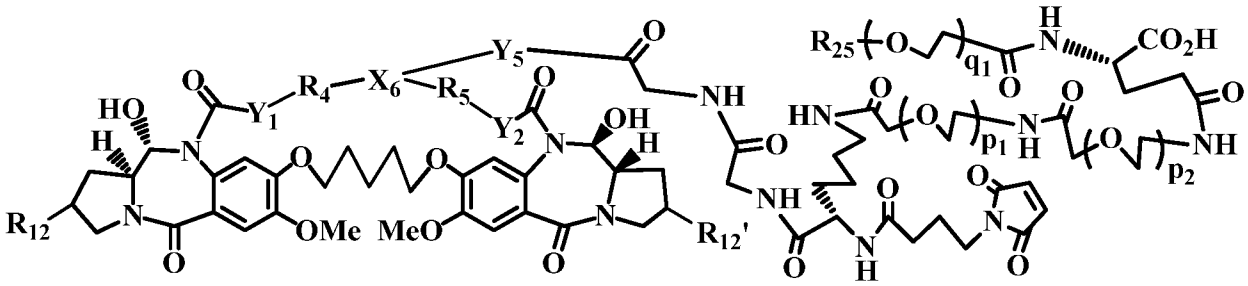
b079,



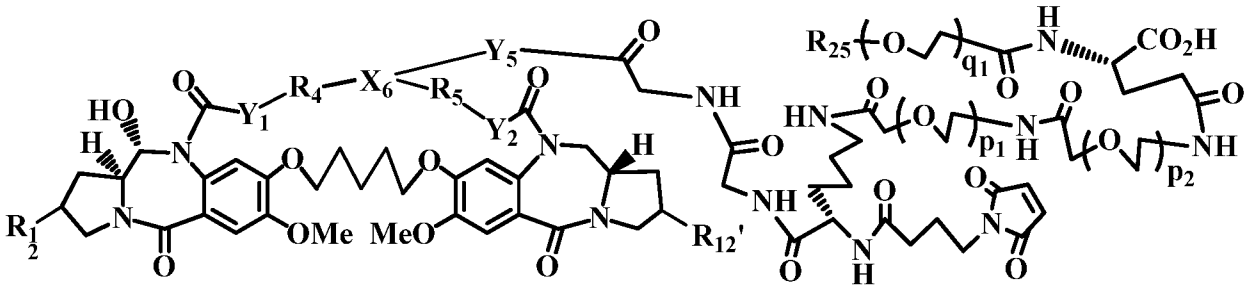
b080,



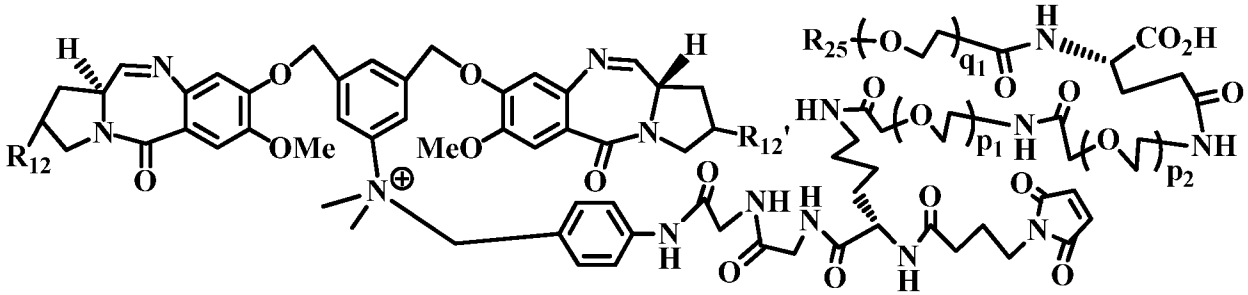
b081,



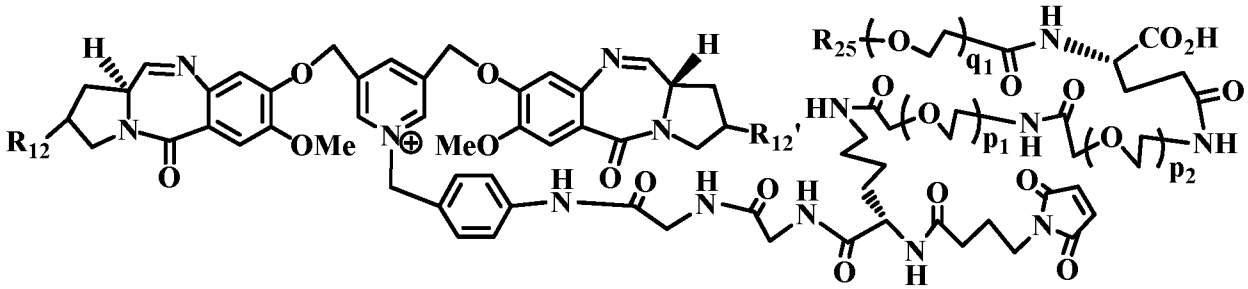
b082,



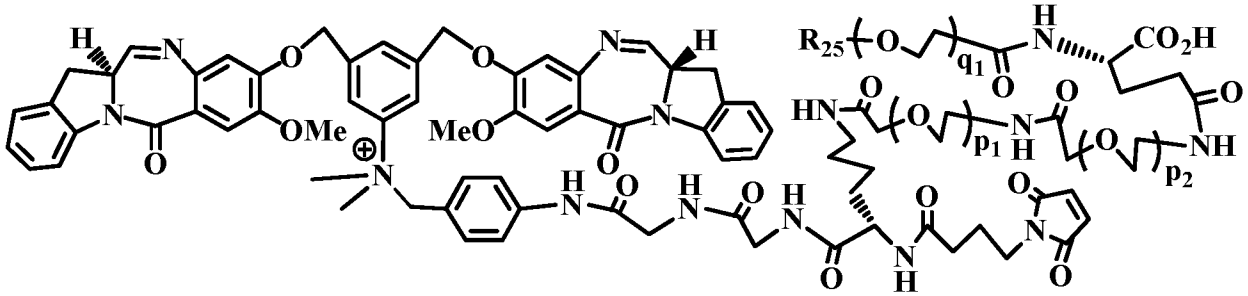
b083,



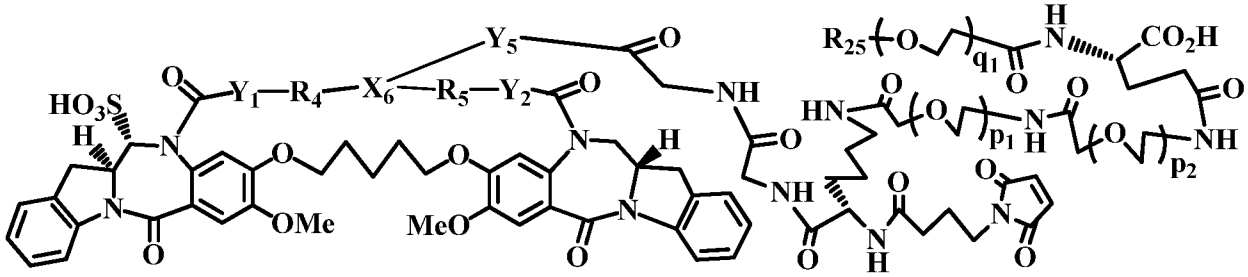
b084,



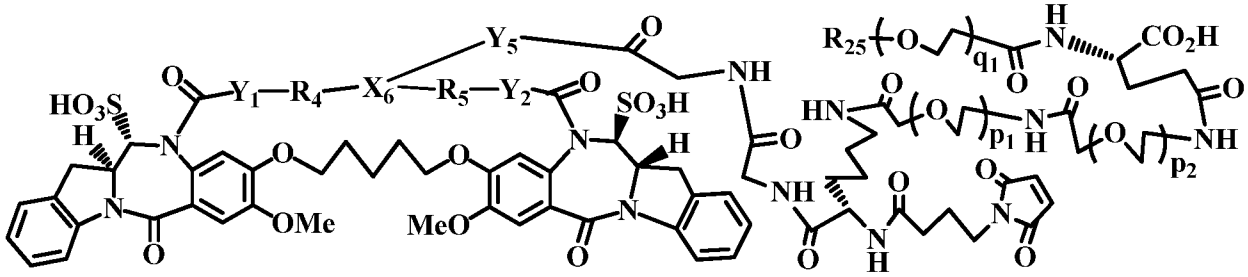
b085,



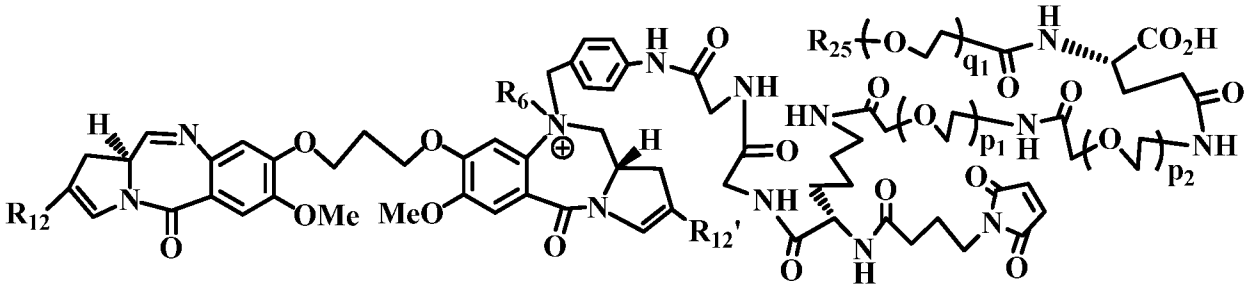
b086,



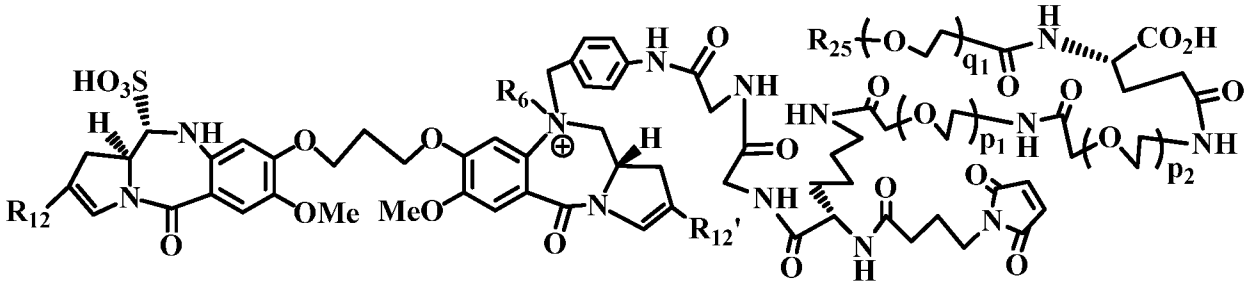
b087,



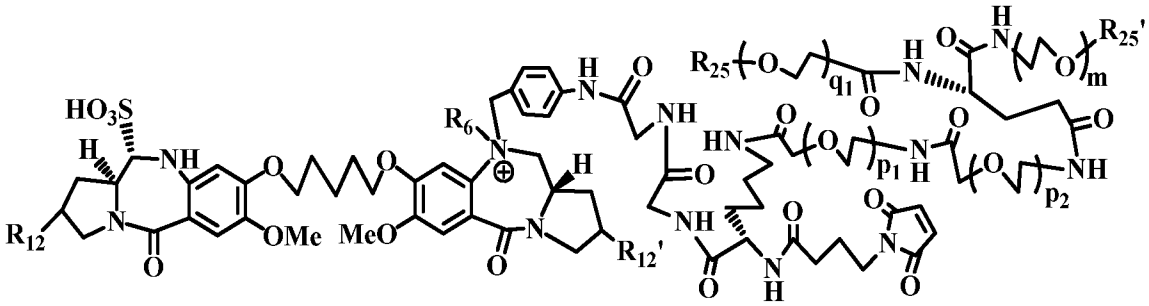
b088,



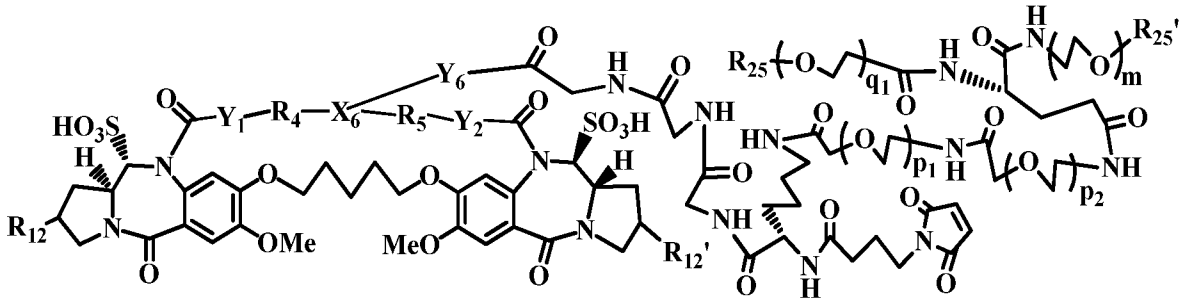
b089,



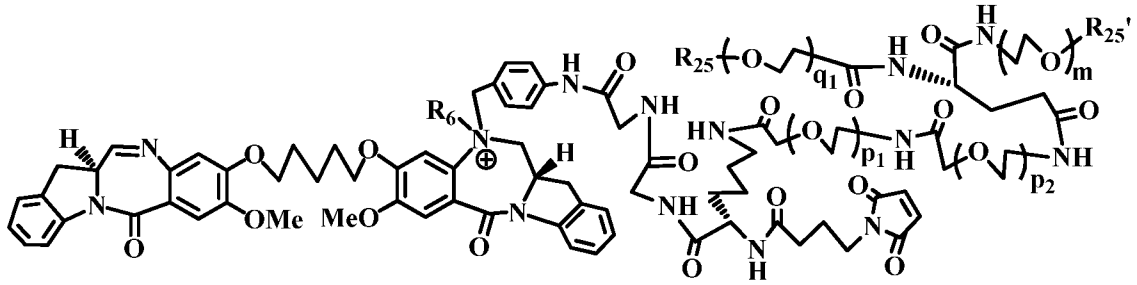
b090,



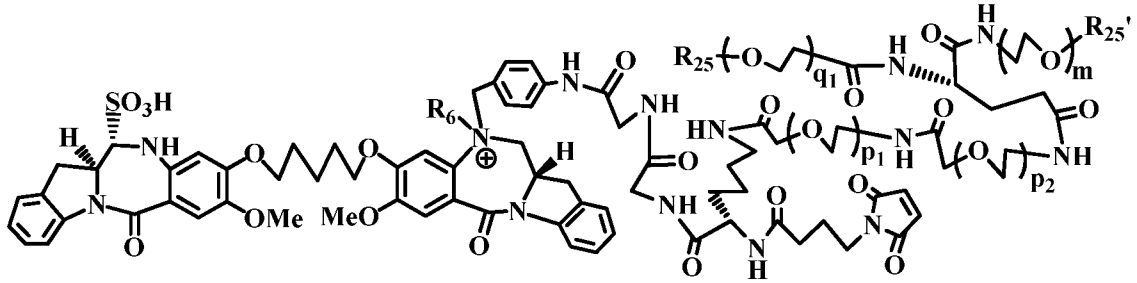
b091,



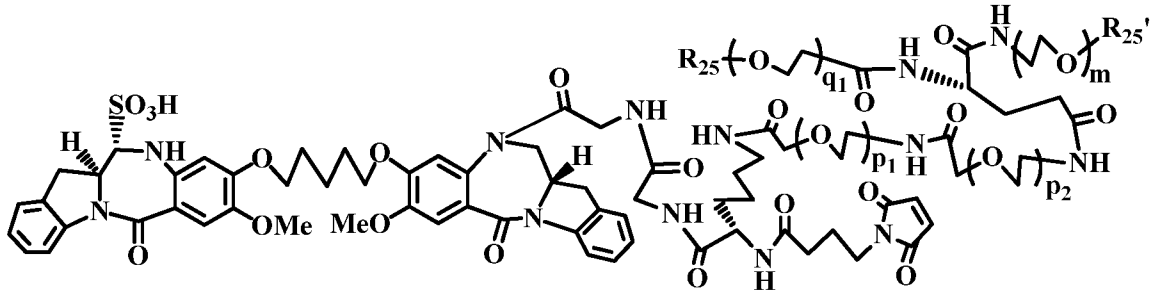
b092,



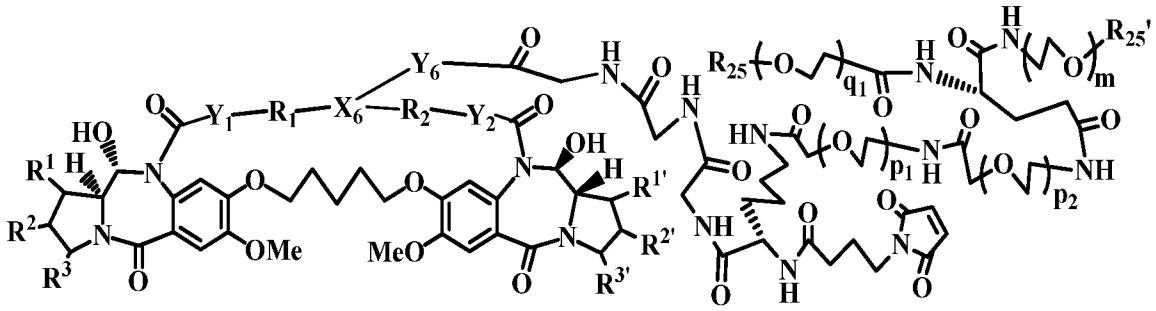
b093,



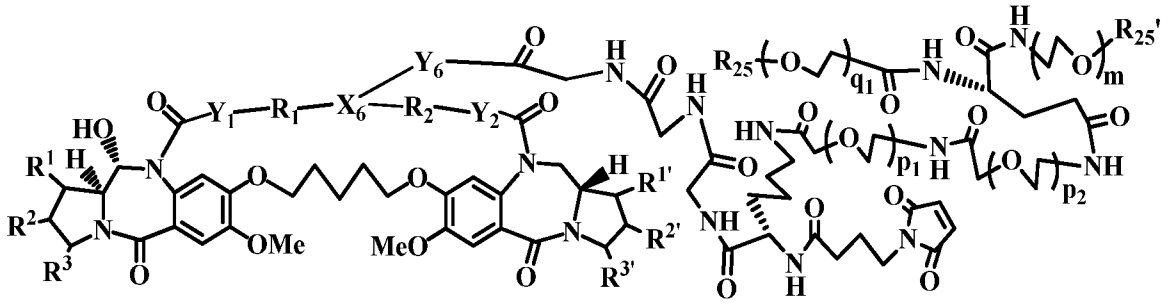
b094,



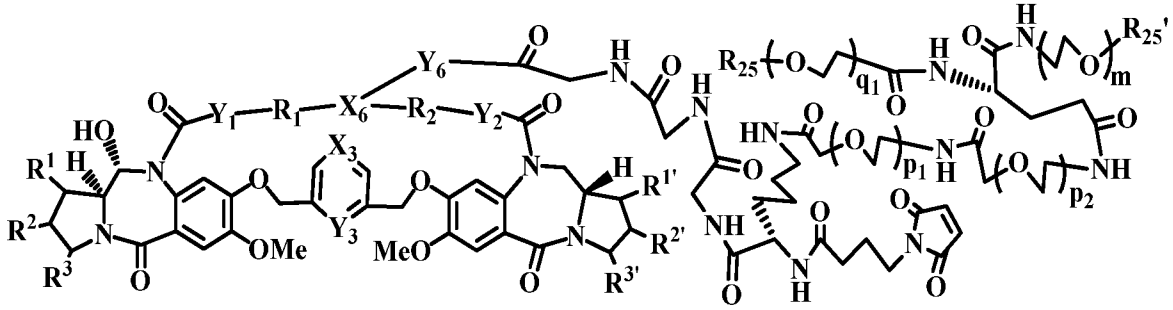
b095,



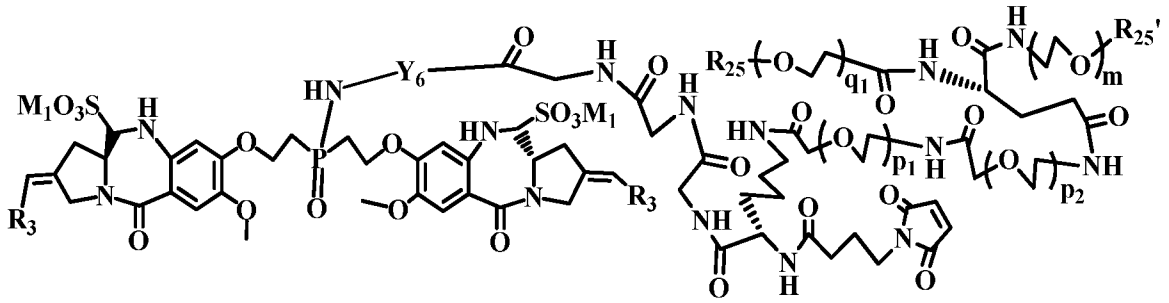
b096,



b097,

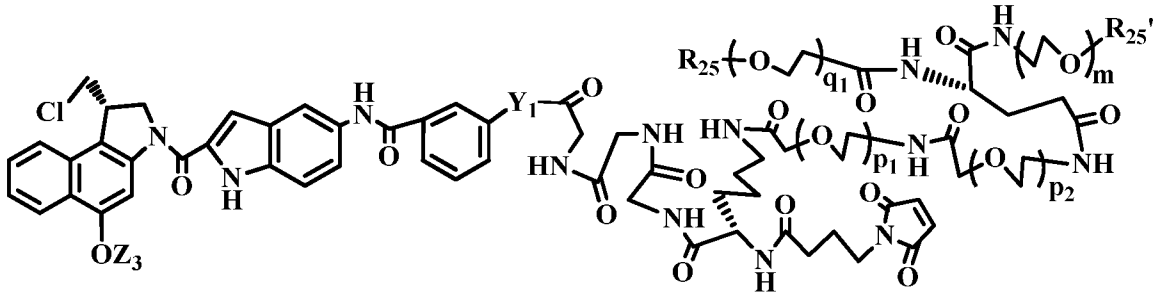


b098,

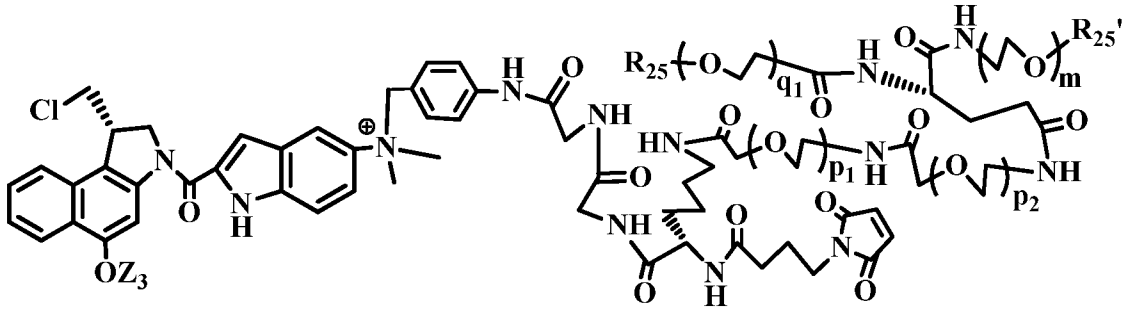


b099,

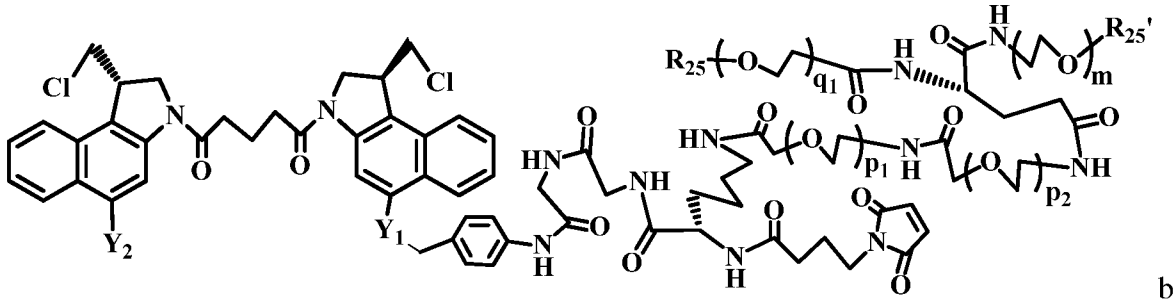
,



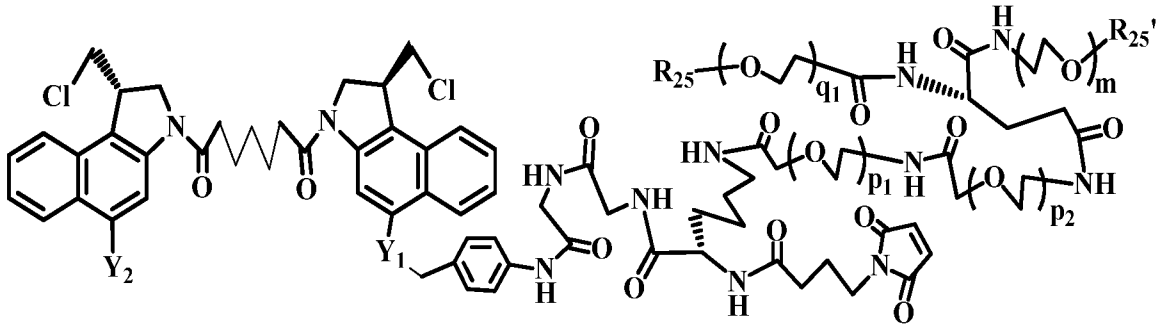
b100,



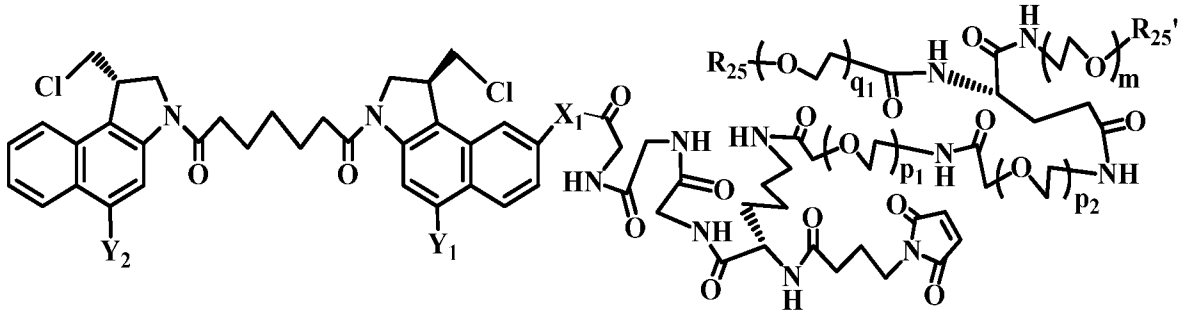
b101,



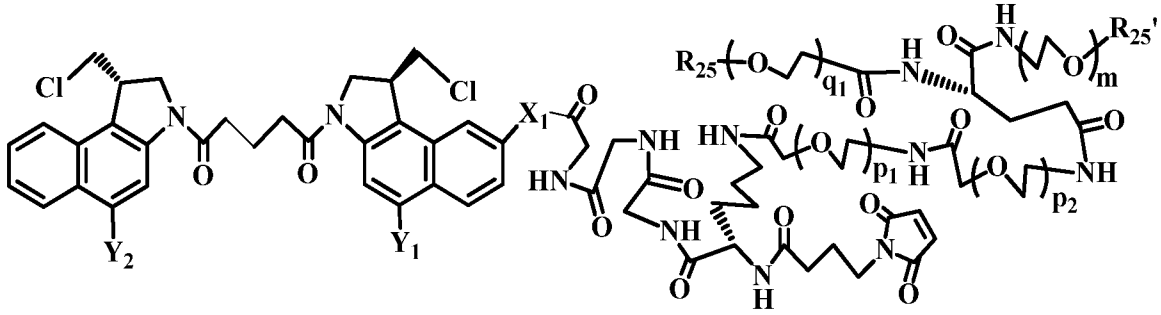
b102,



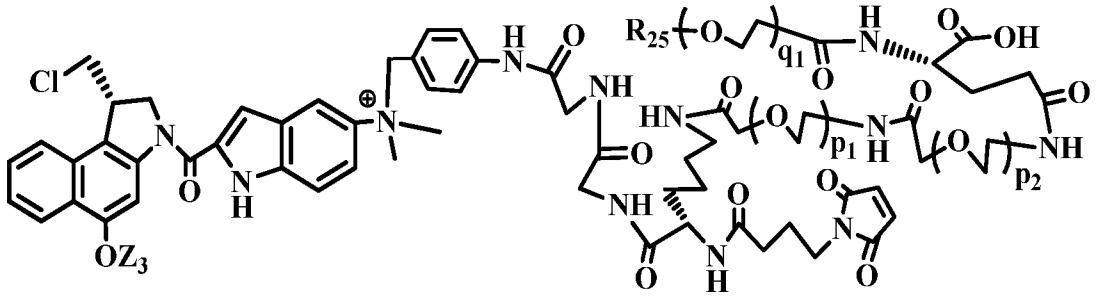
b103,



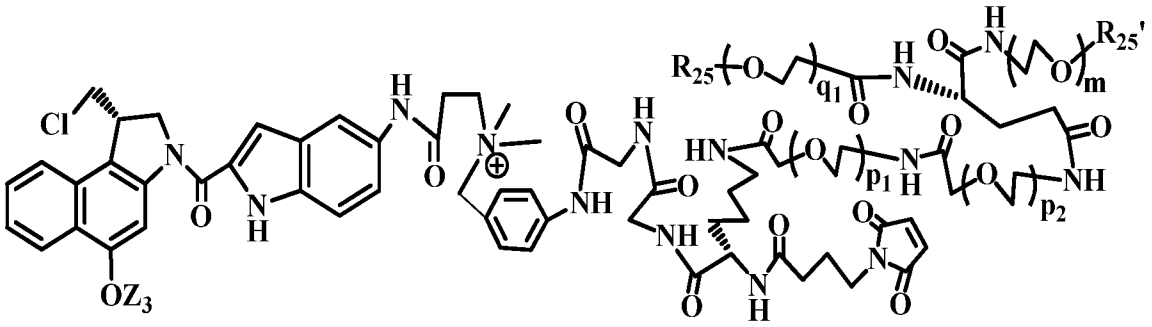
b104,



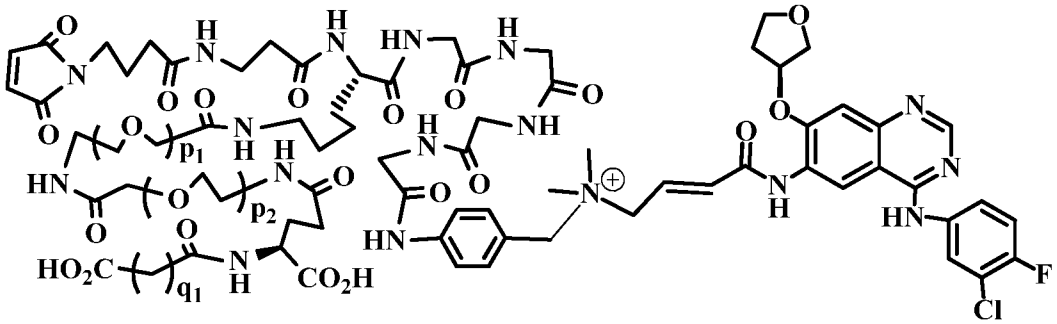
b105,



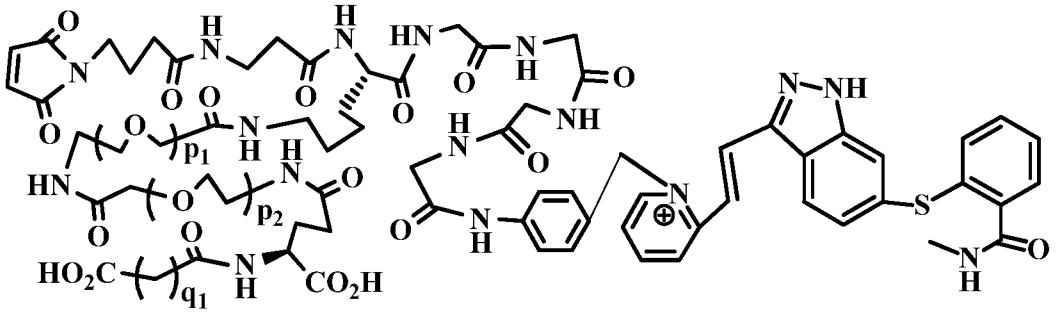
b106,



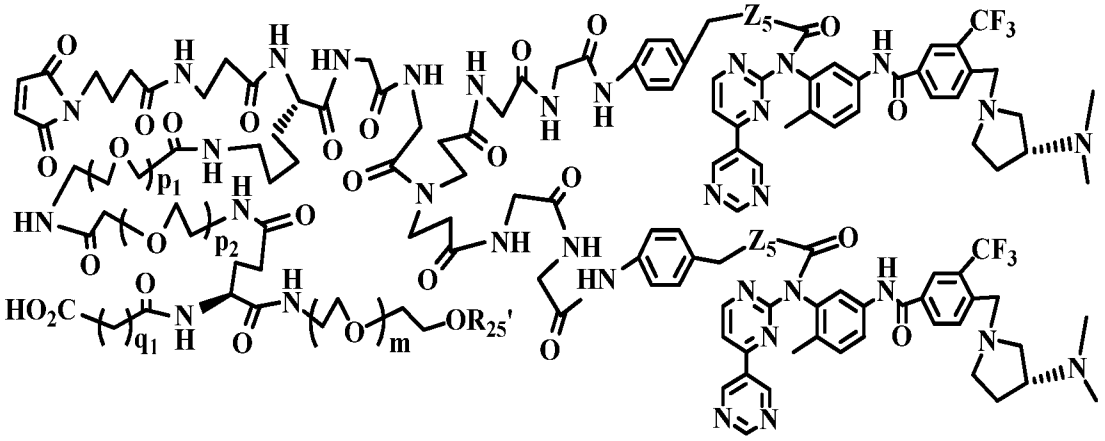
b107,



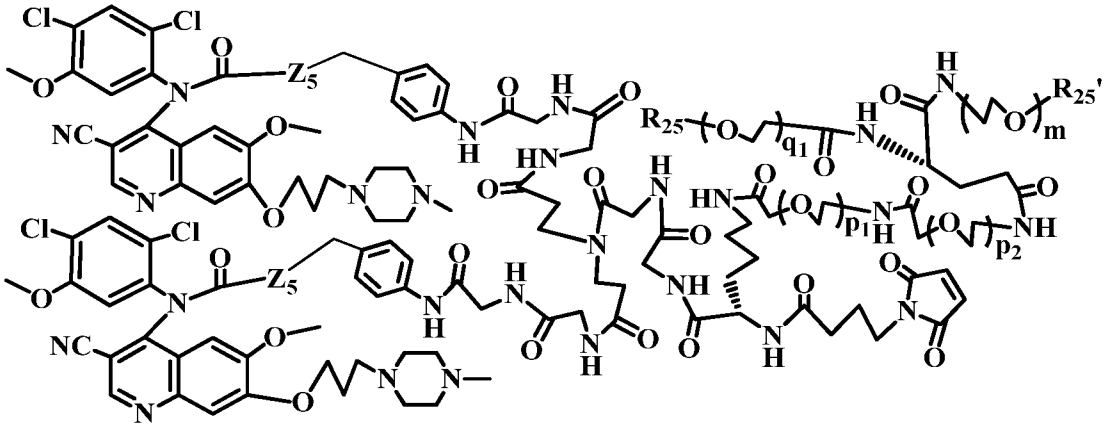
b108,



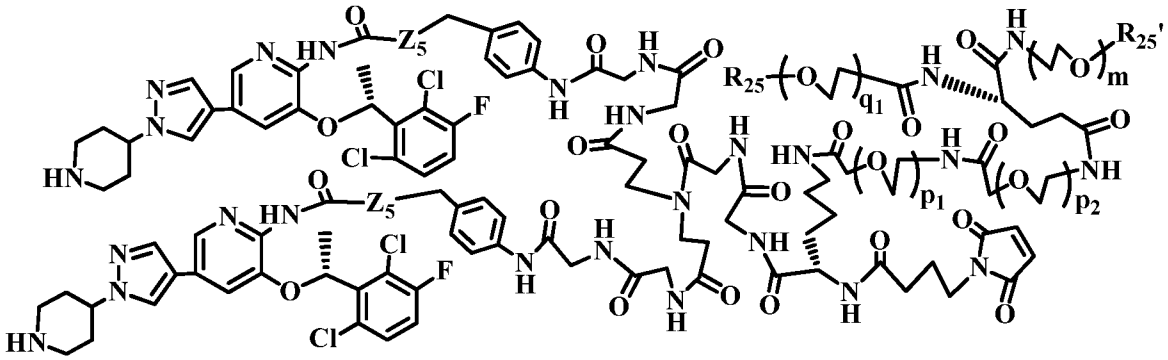
b109,



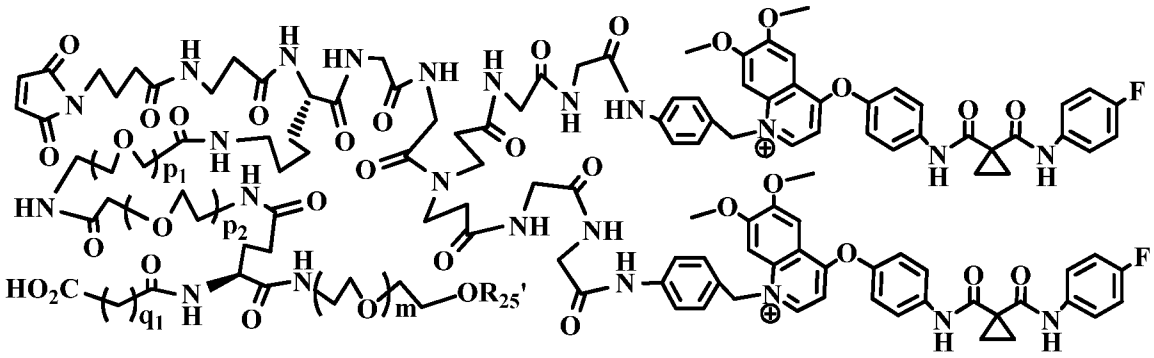
b110,



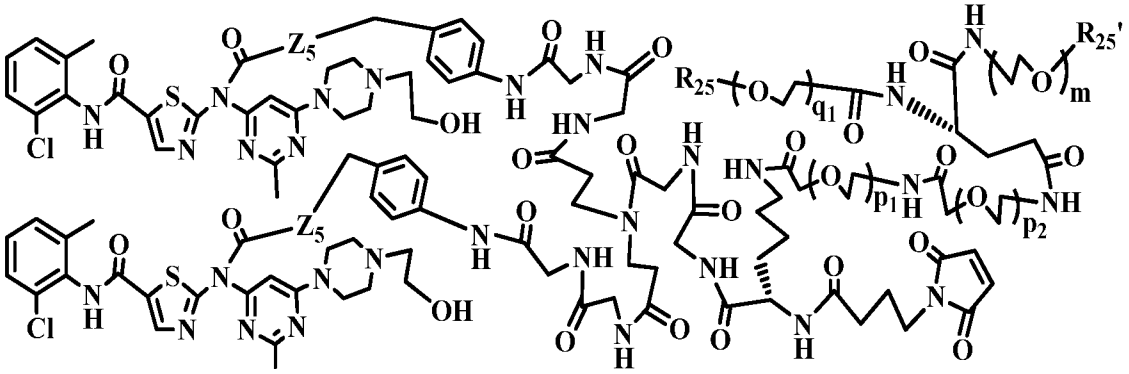
b111,



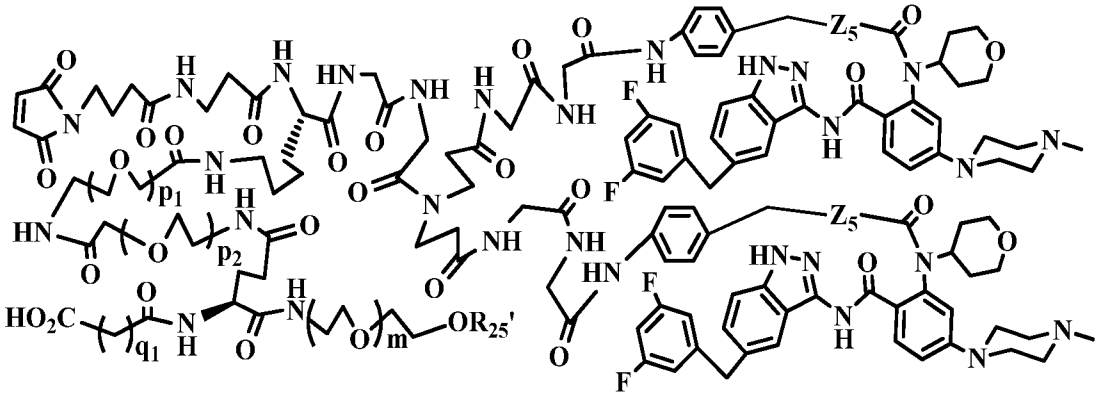
b112,



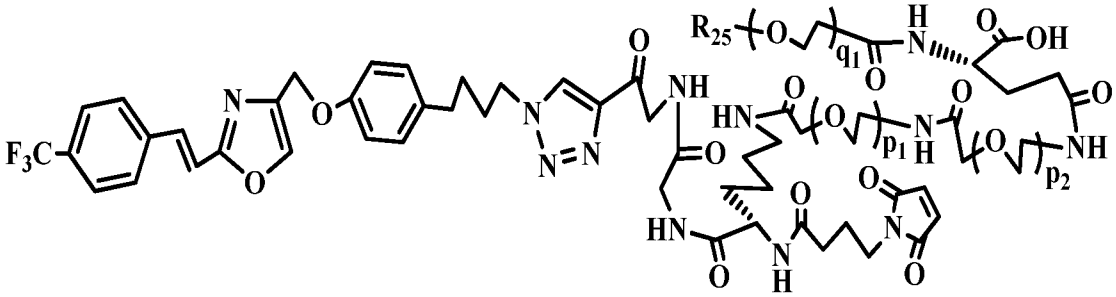
b113,



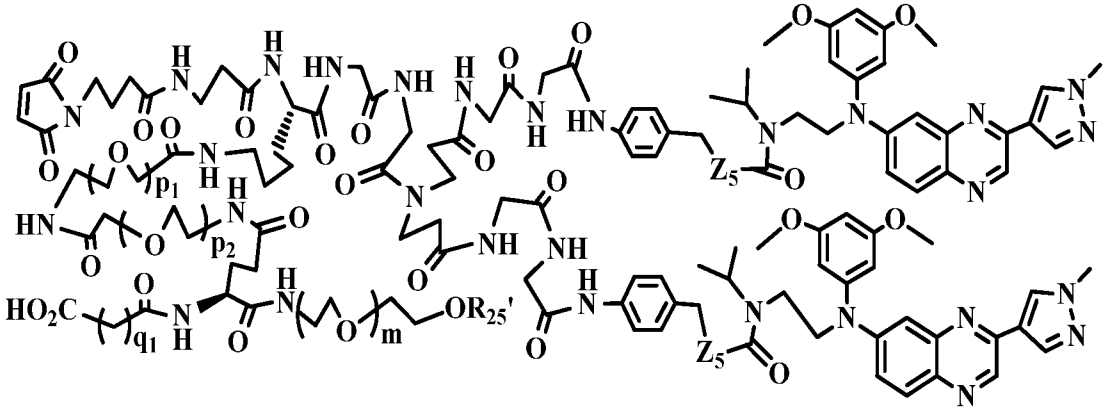
b114,



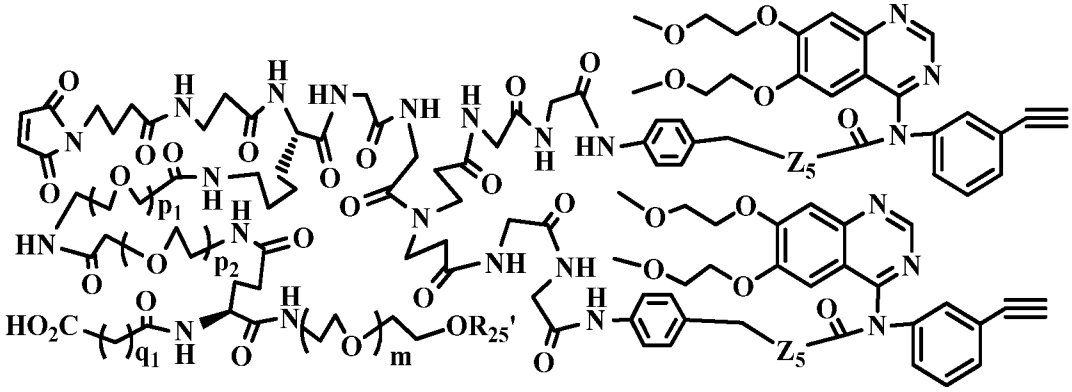
b115,



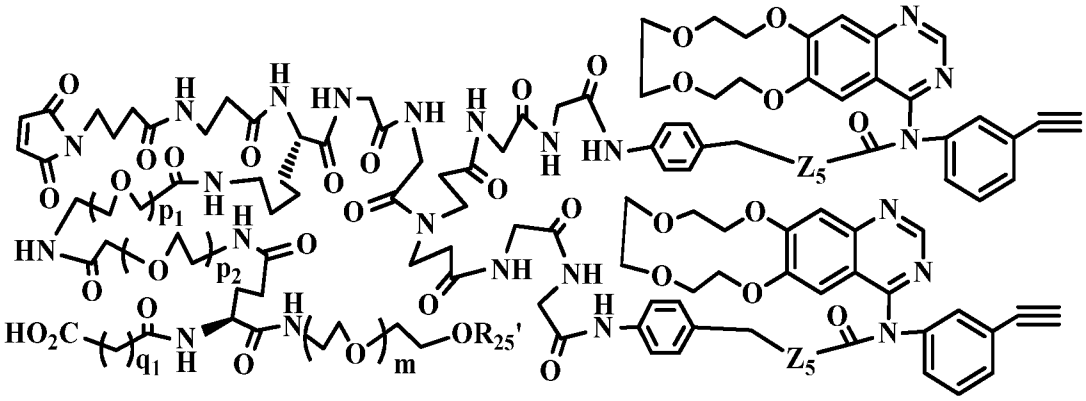
b116,



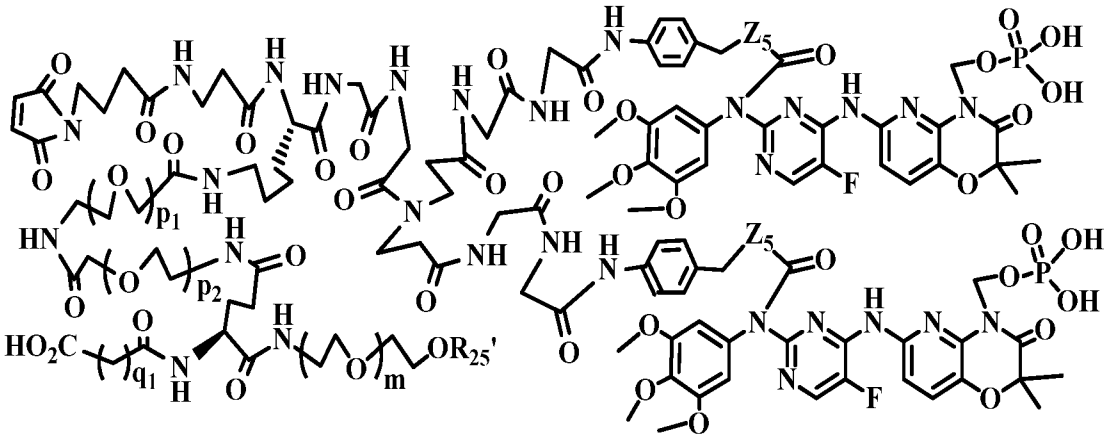
b117,



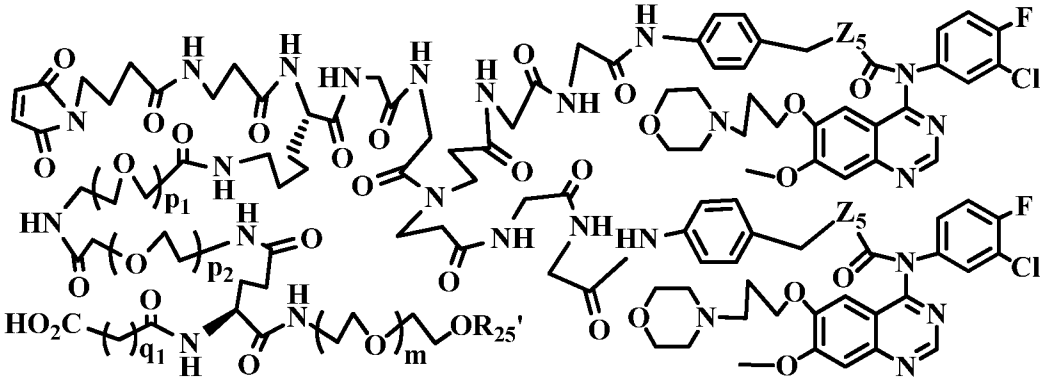
b118,



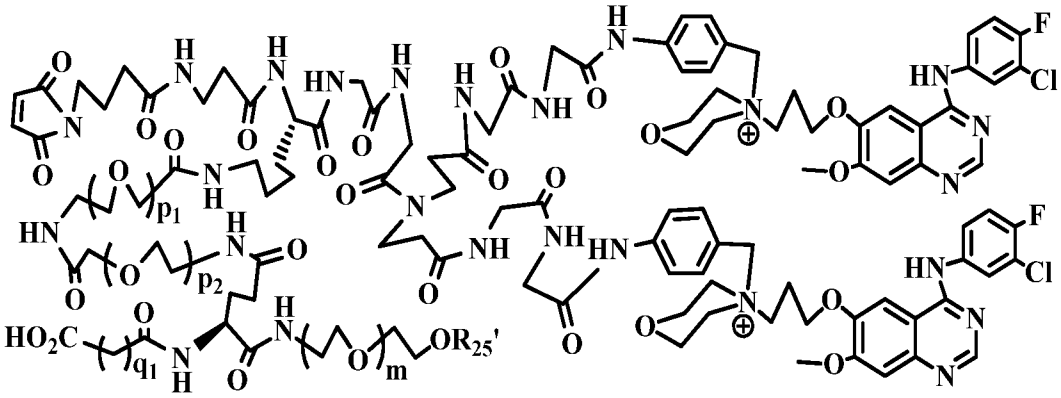
b119,



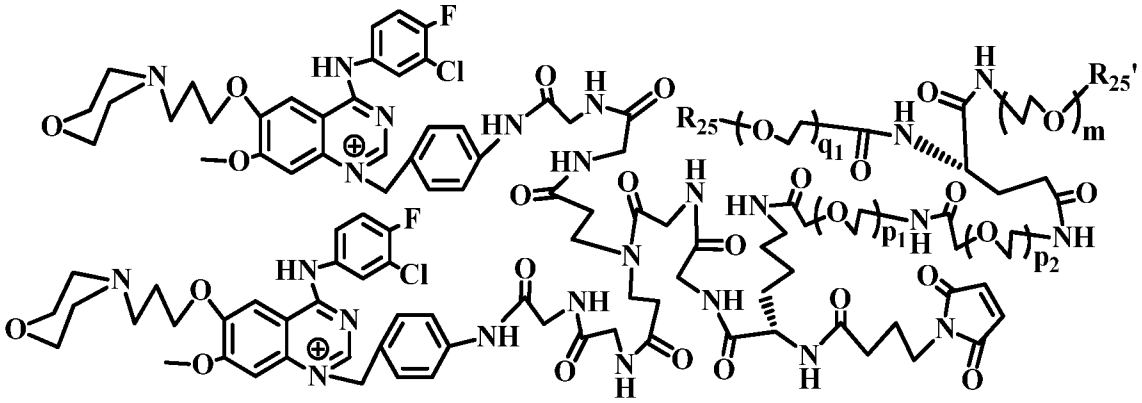
b120,



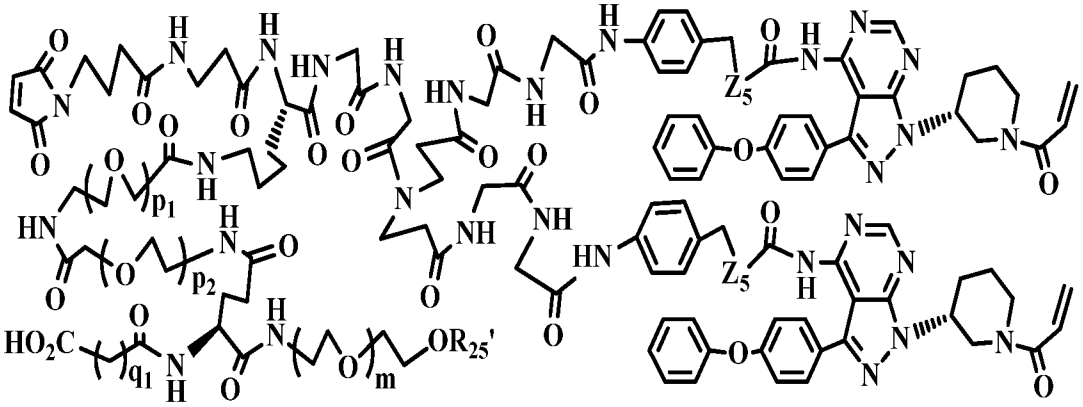
b121,



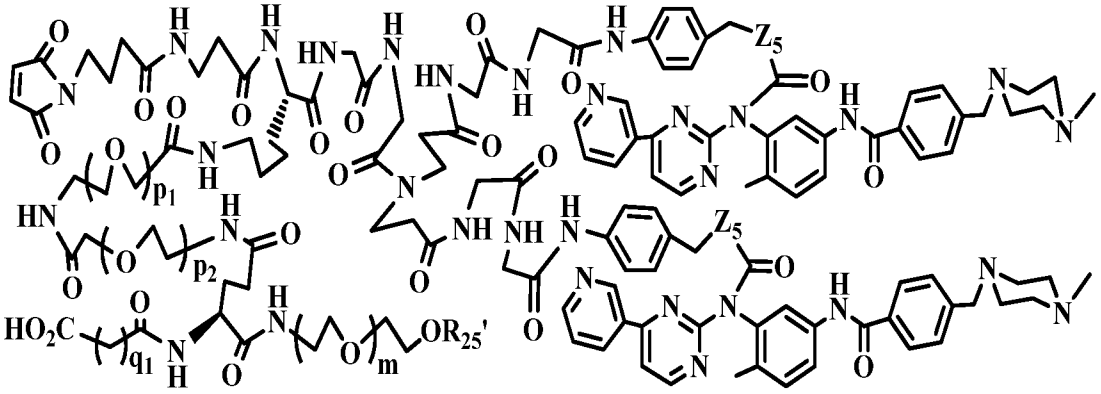
b122,



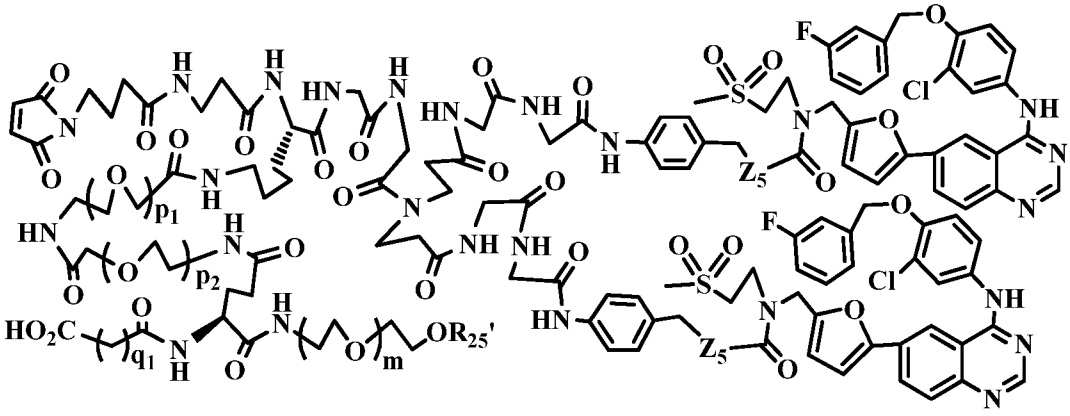
b123,



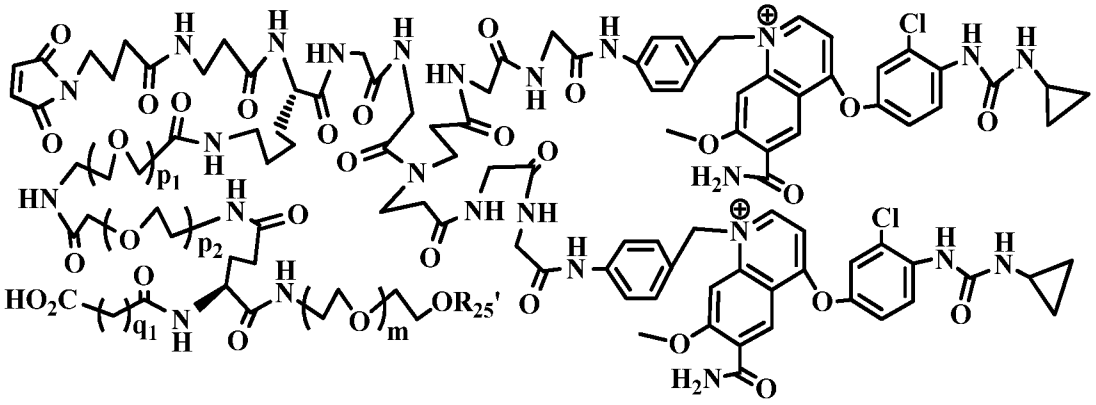
b124,



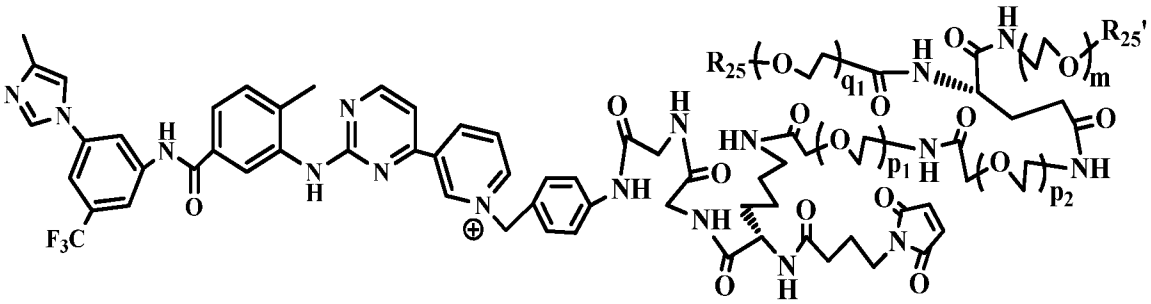
b125,



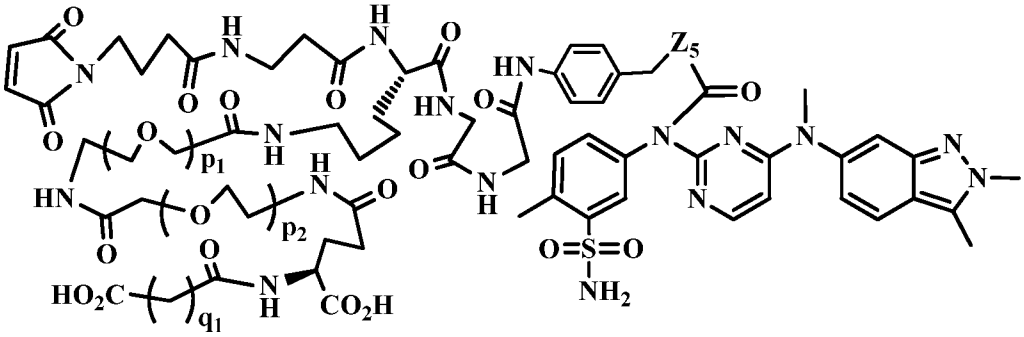
b126,



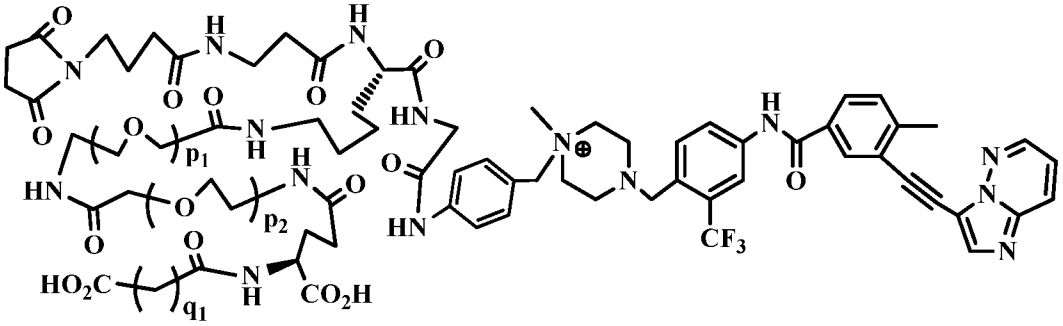
b127,



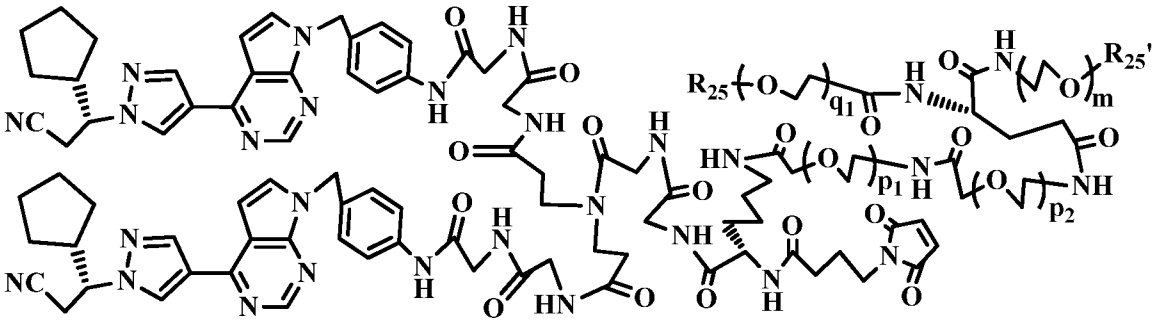
b128,



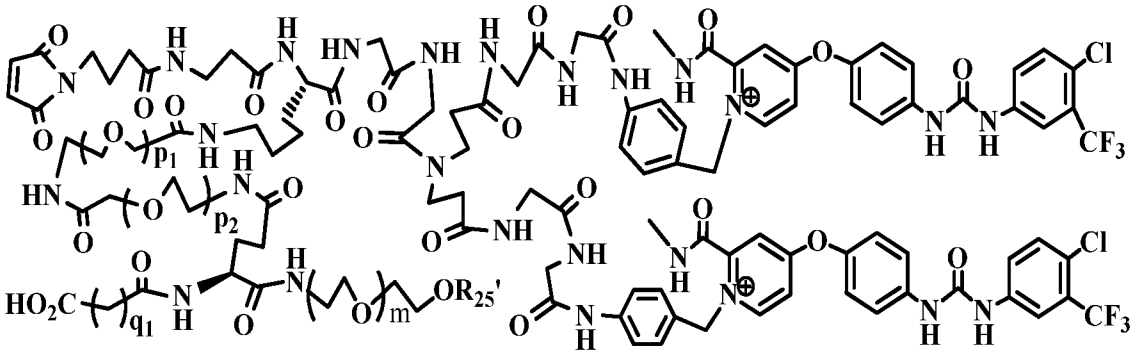
b129,



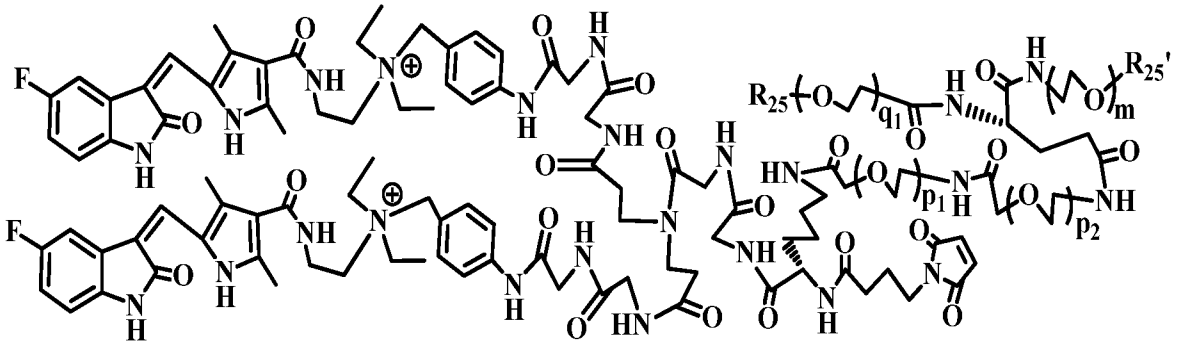
b130,



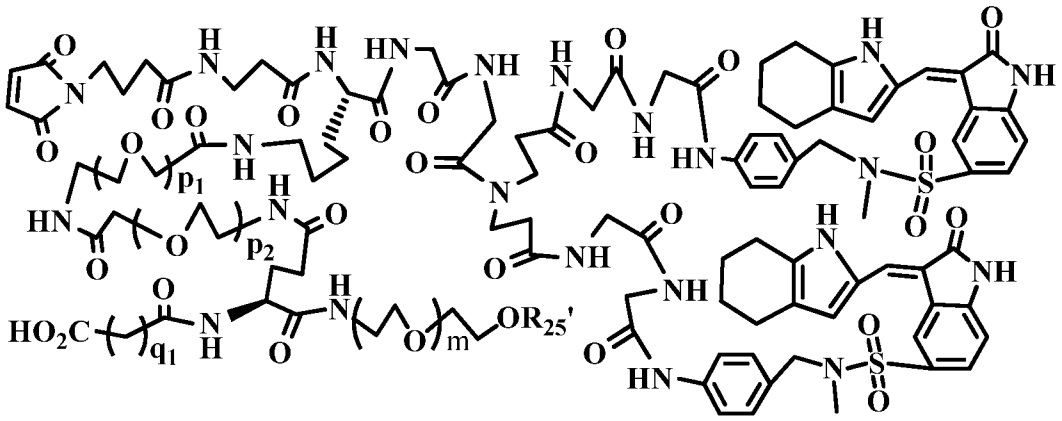
b131,



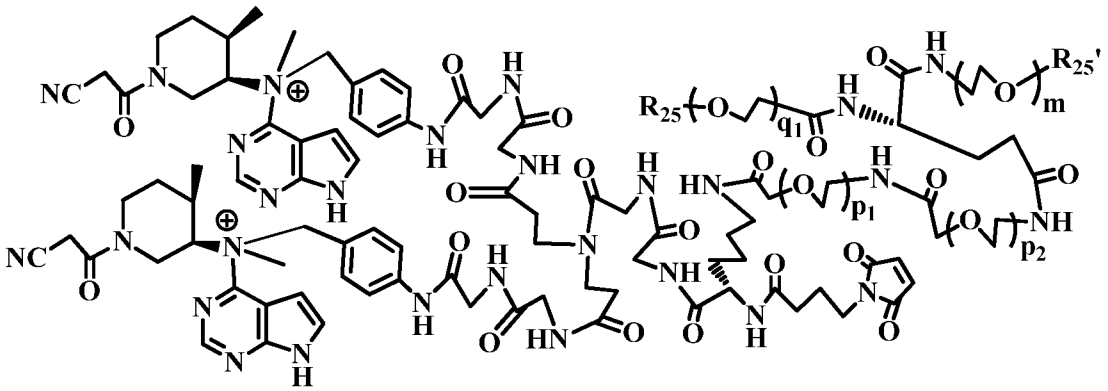
b132,



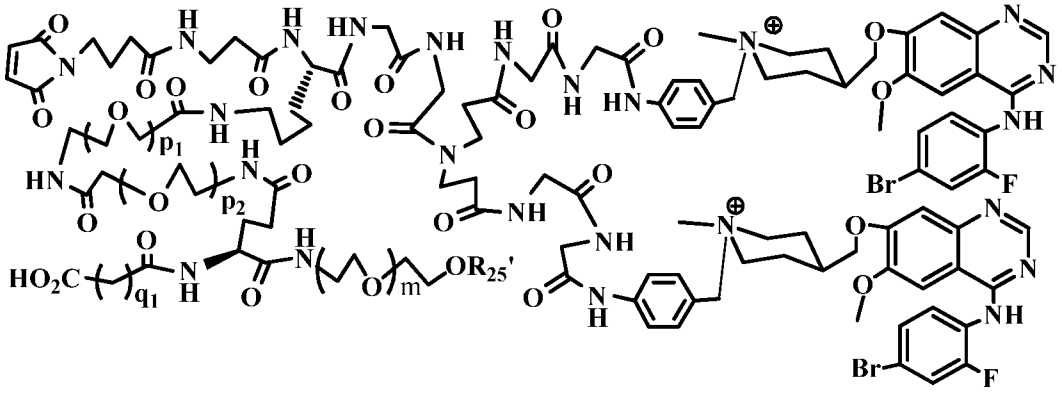
b133,



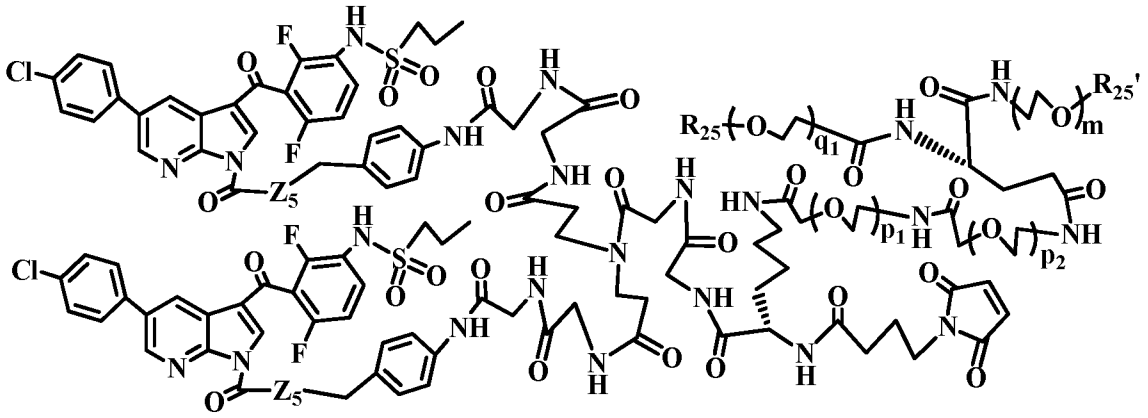
b134,



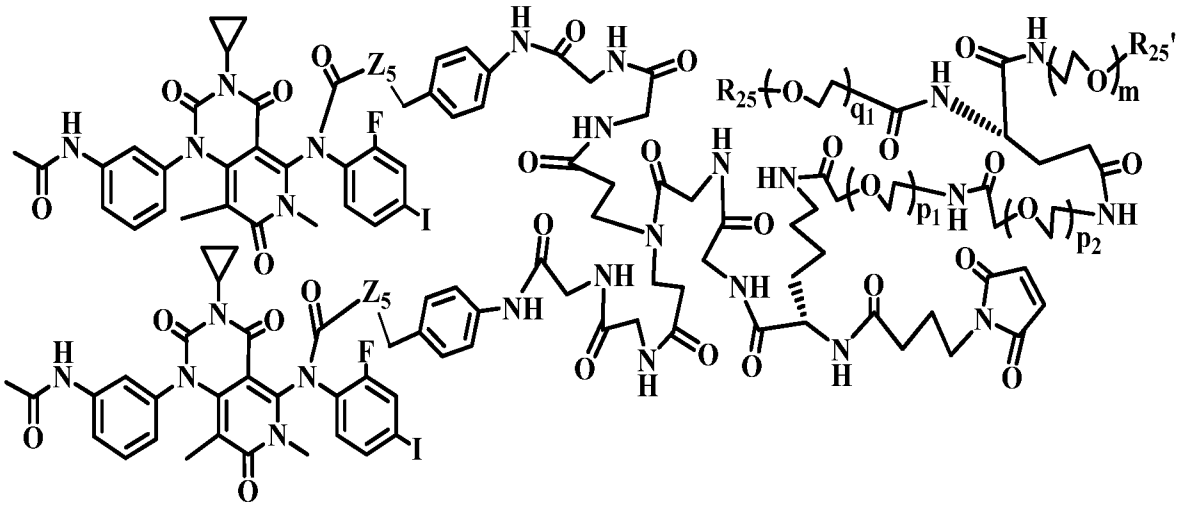
b135,



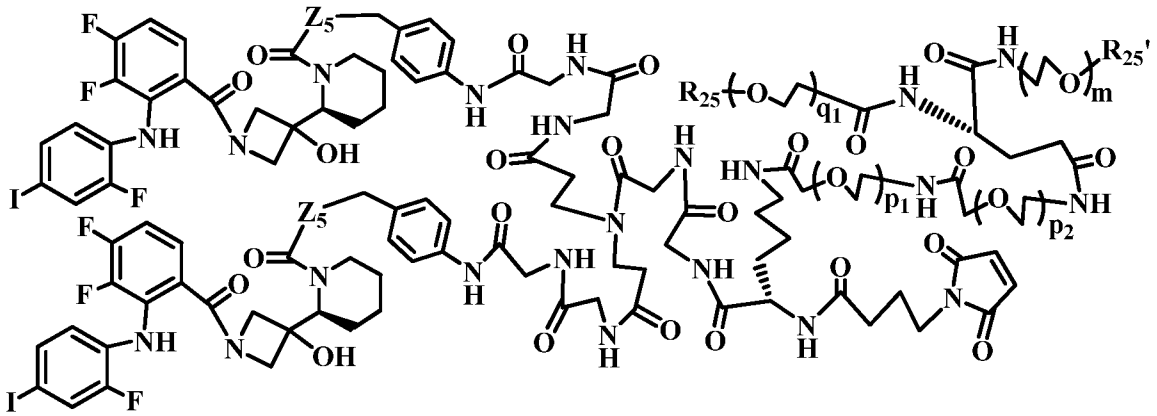
b136,



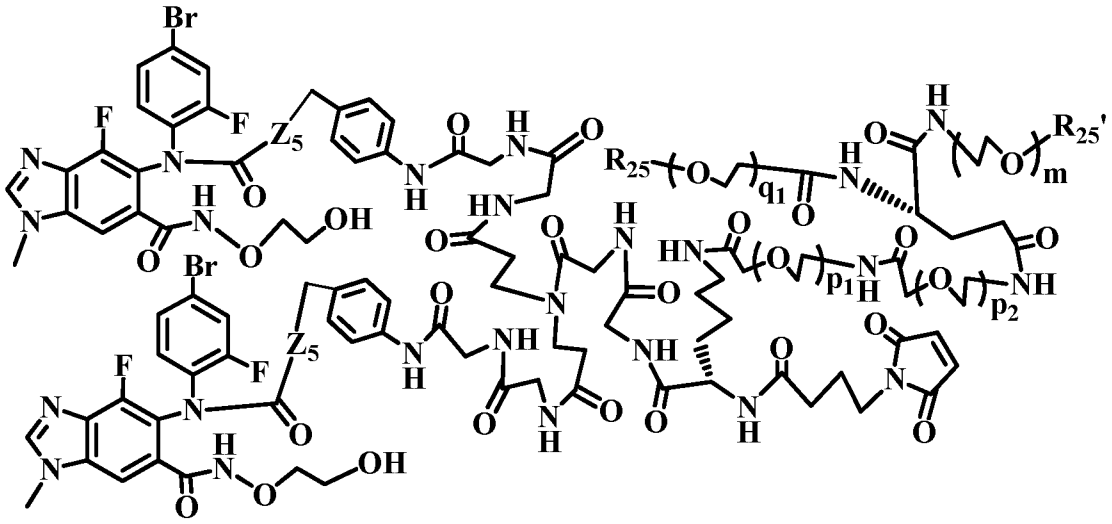
b137,



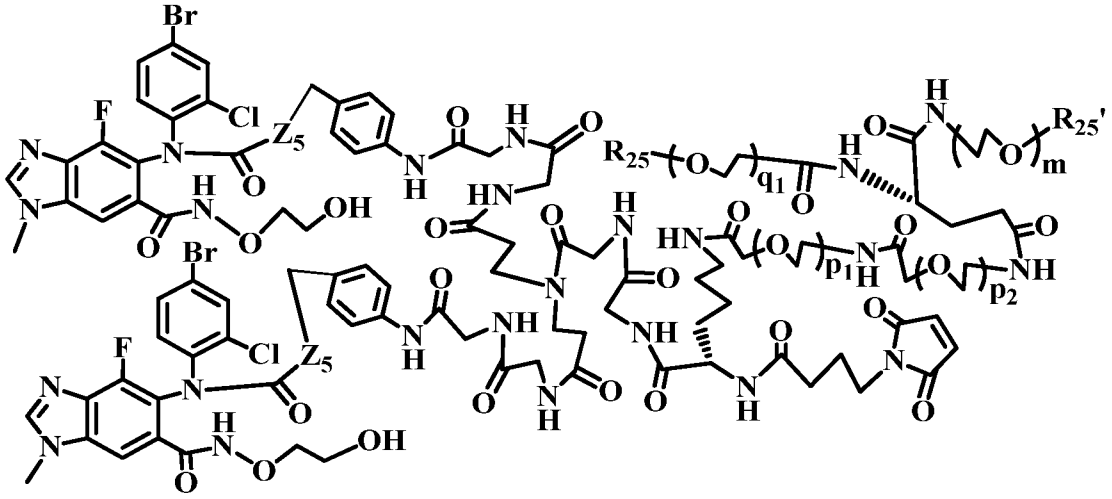
b138,



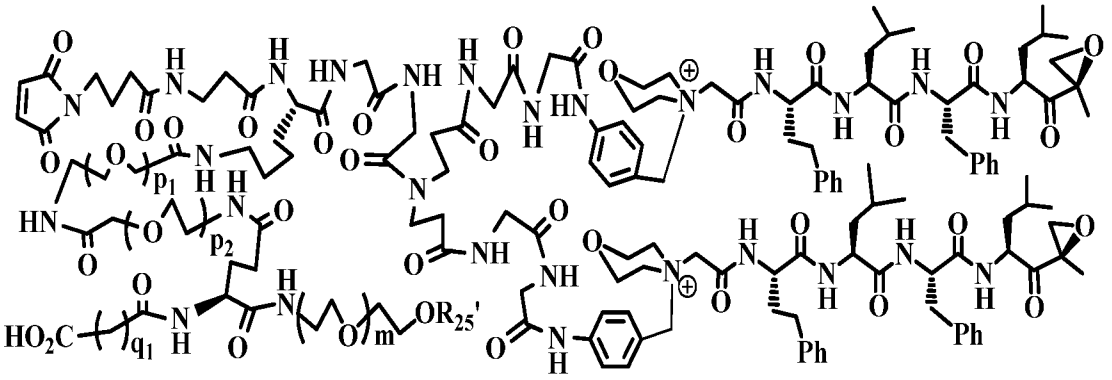
b139,



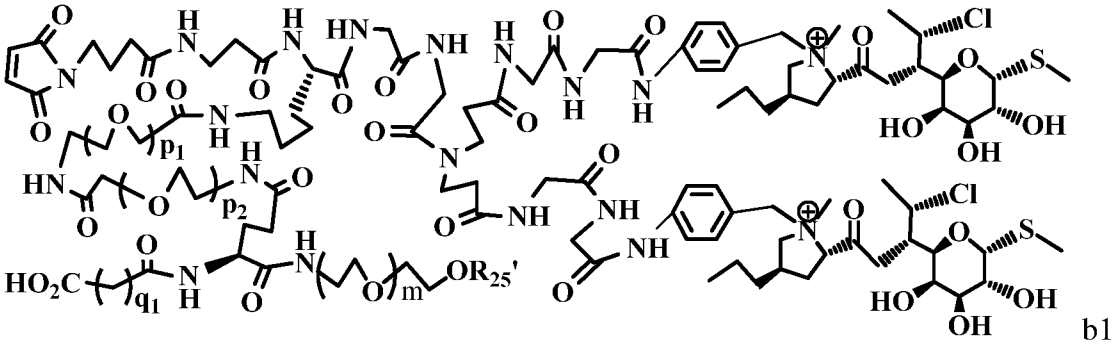
b140,



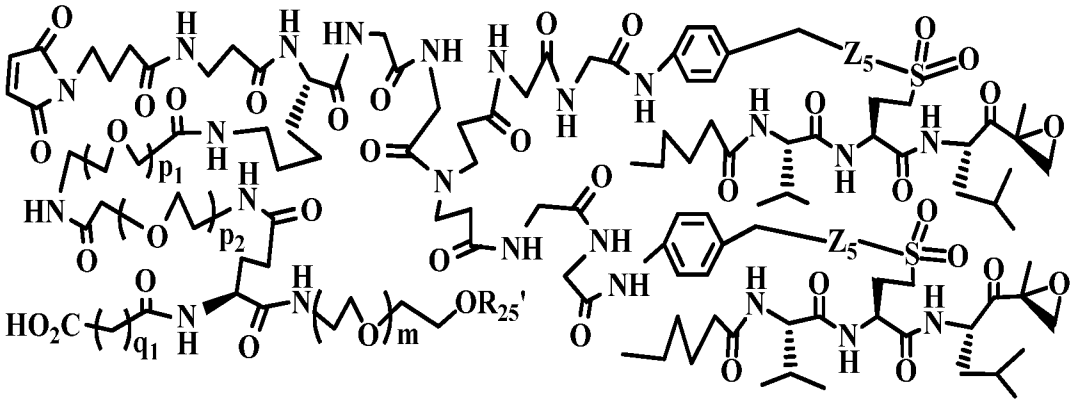
b141,



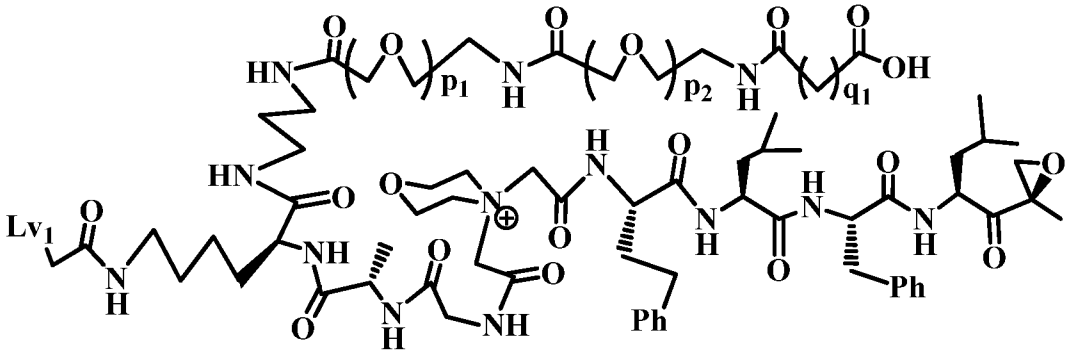
b142,



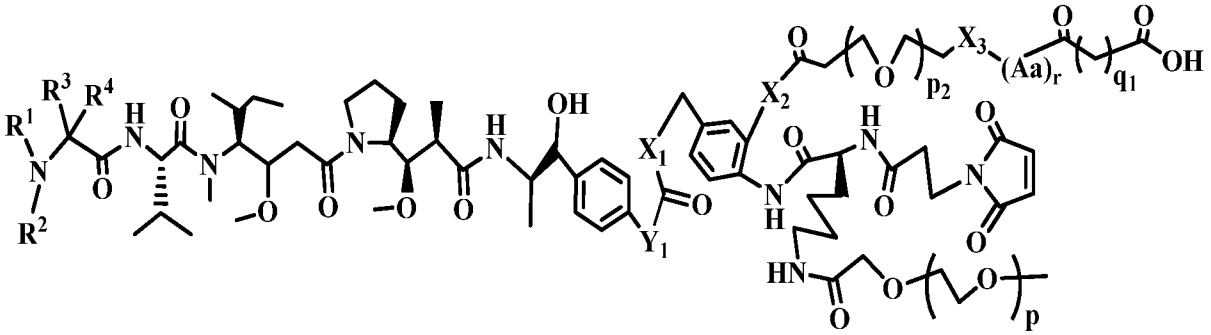
b143,



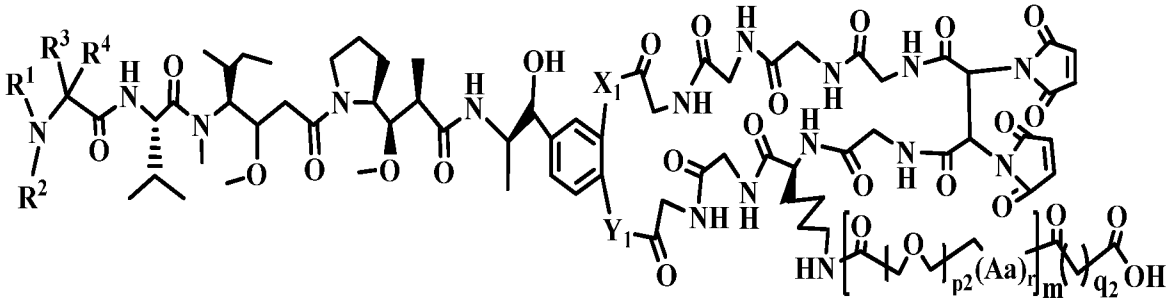
b144,



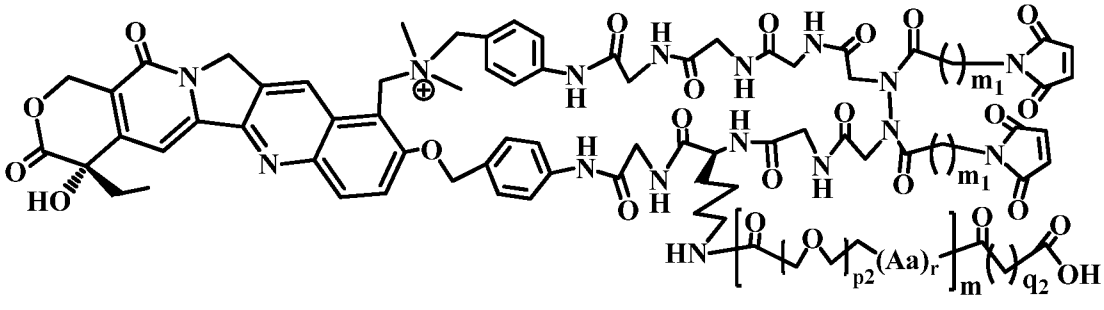
b145,



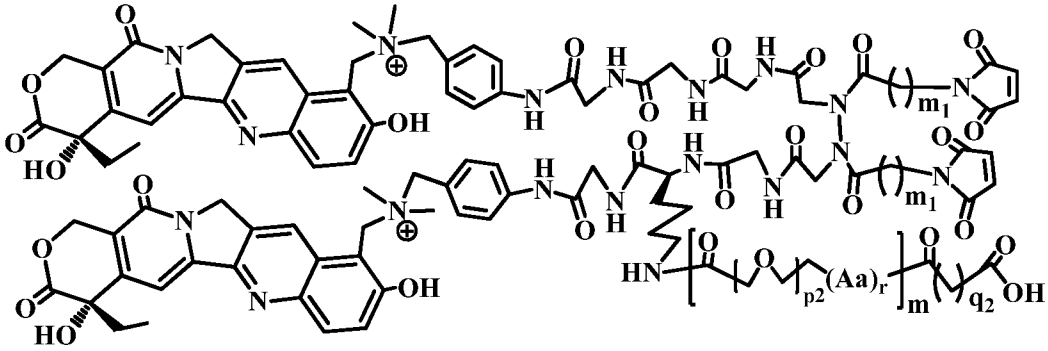
b146,



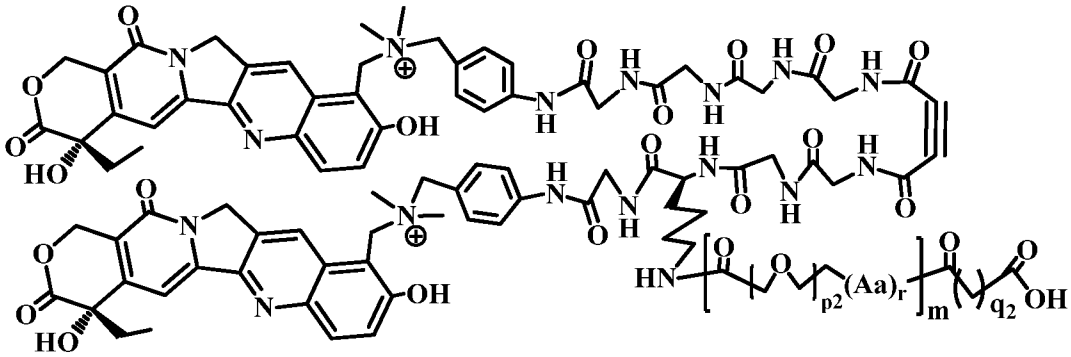
b147,



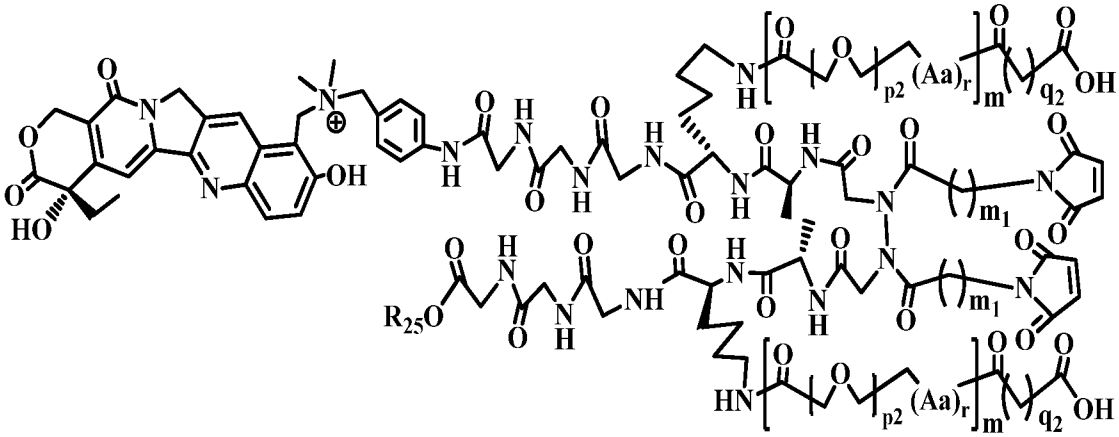
b148,



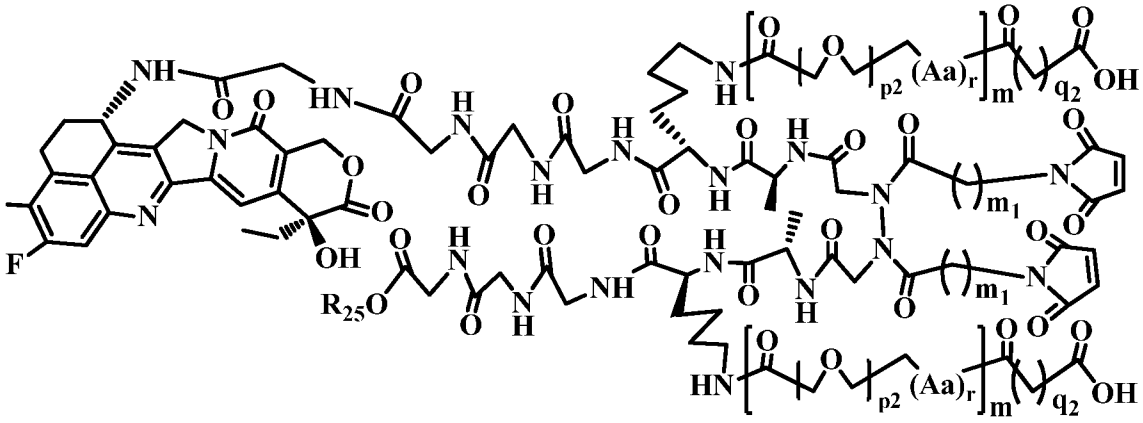
b149,



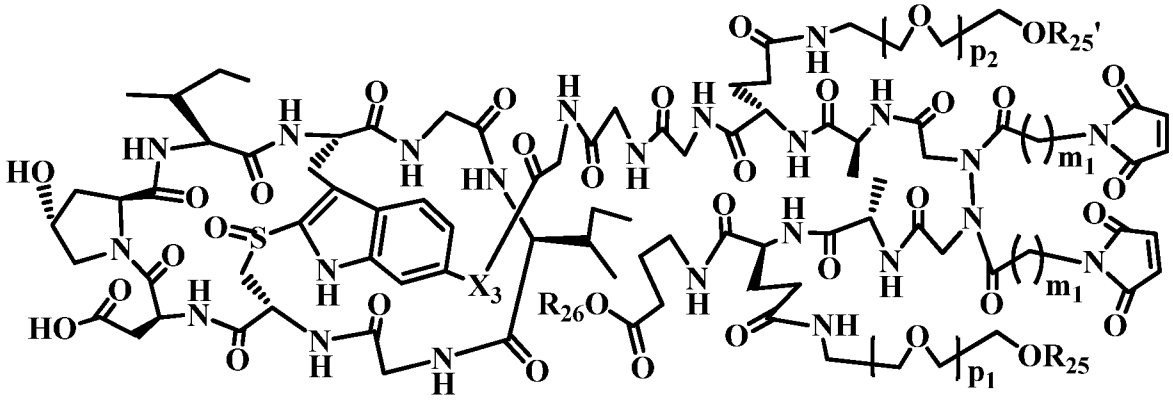
b150,



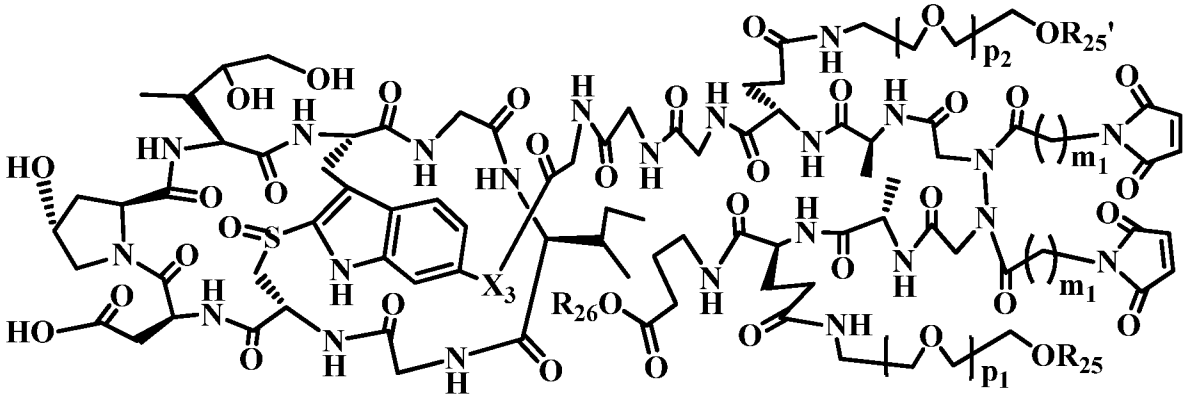
b151,



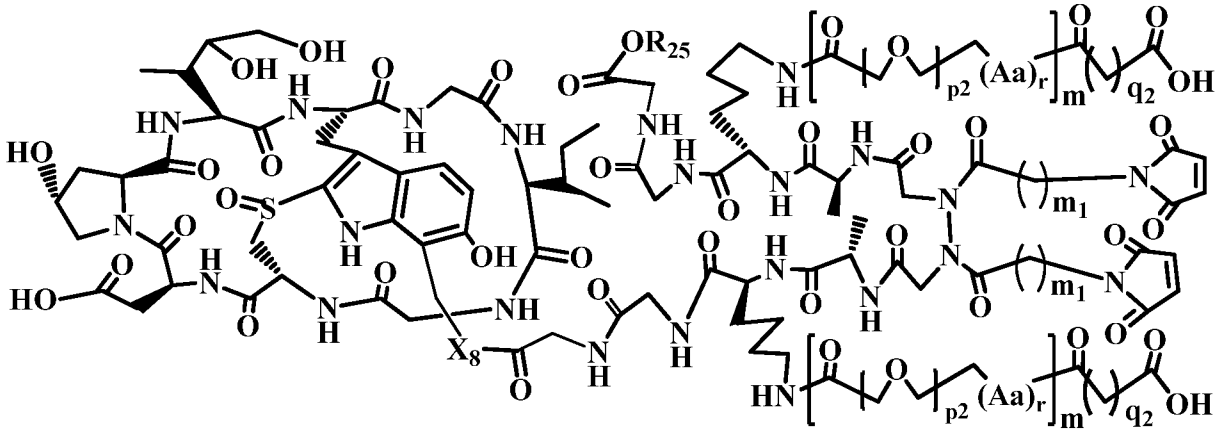
b152,



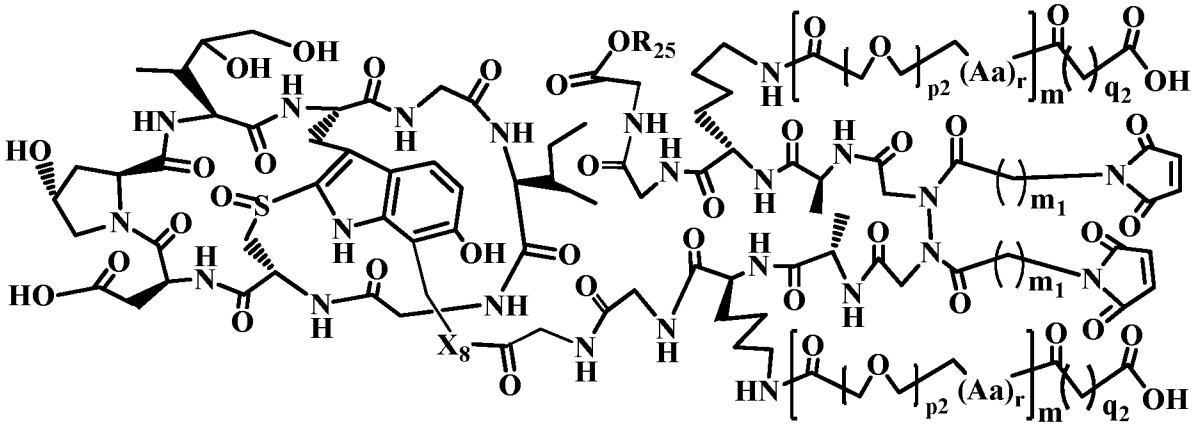
b153,



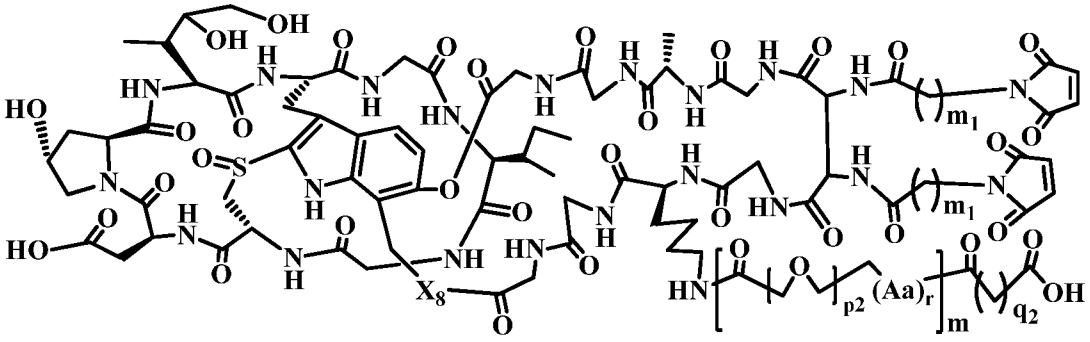
b154,



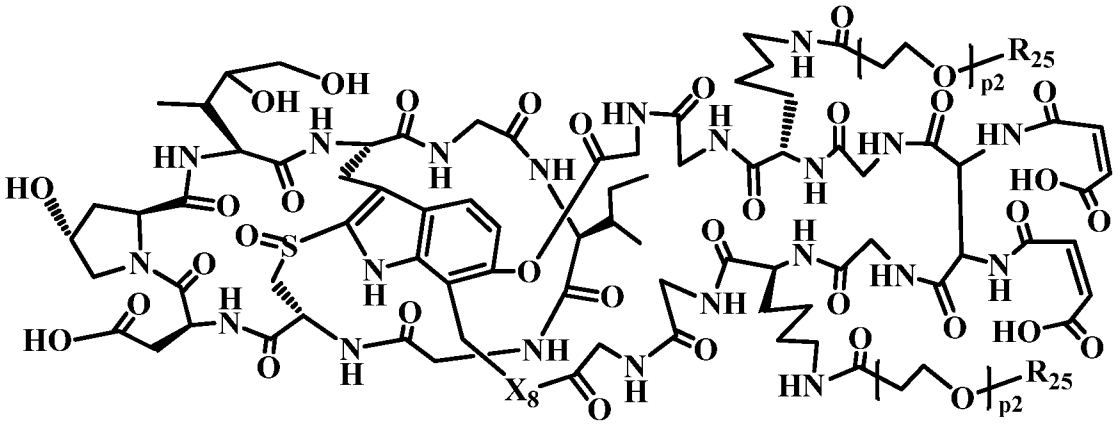
b155,



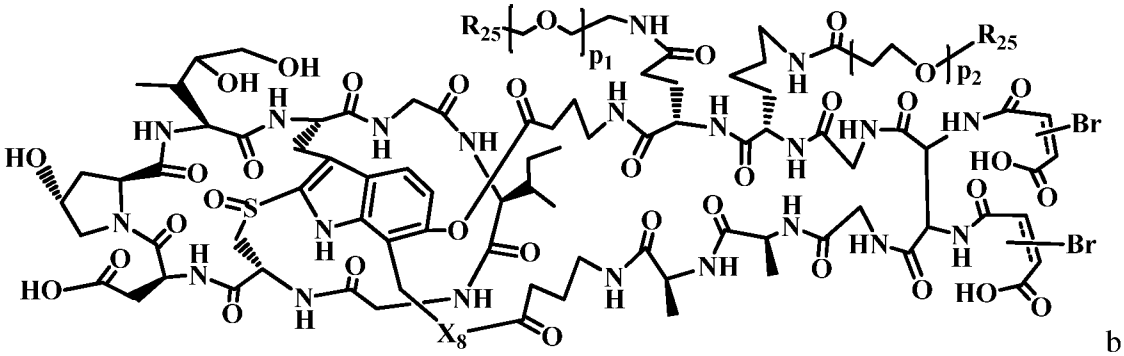
b156,



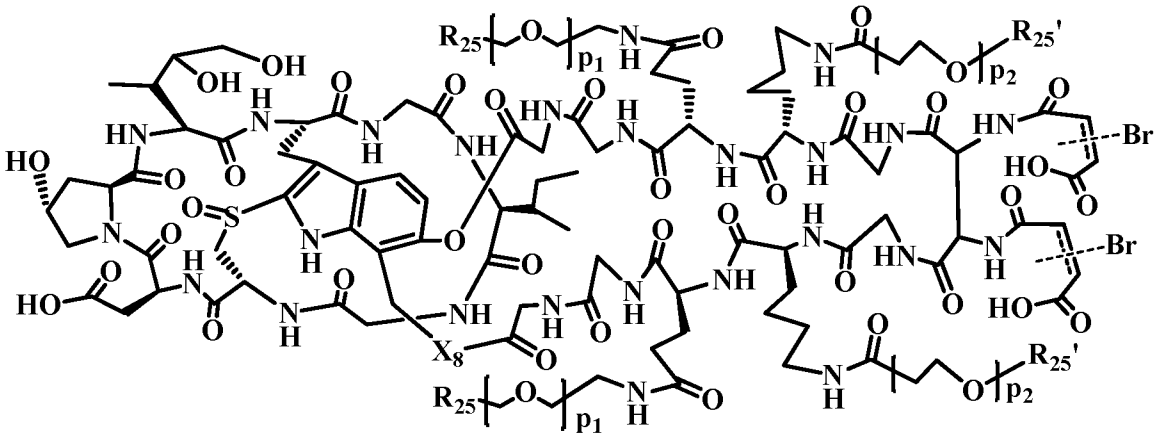
b157,



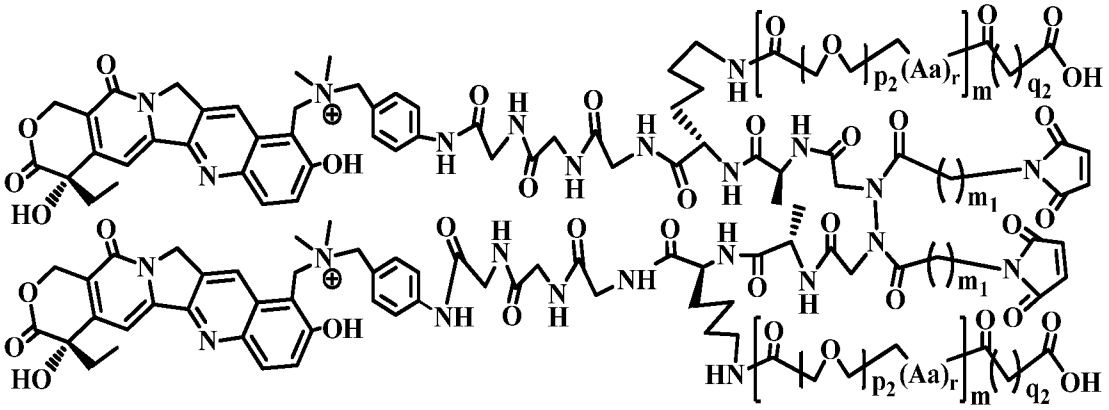
b158,



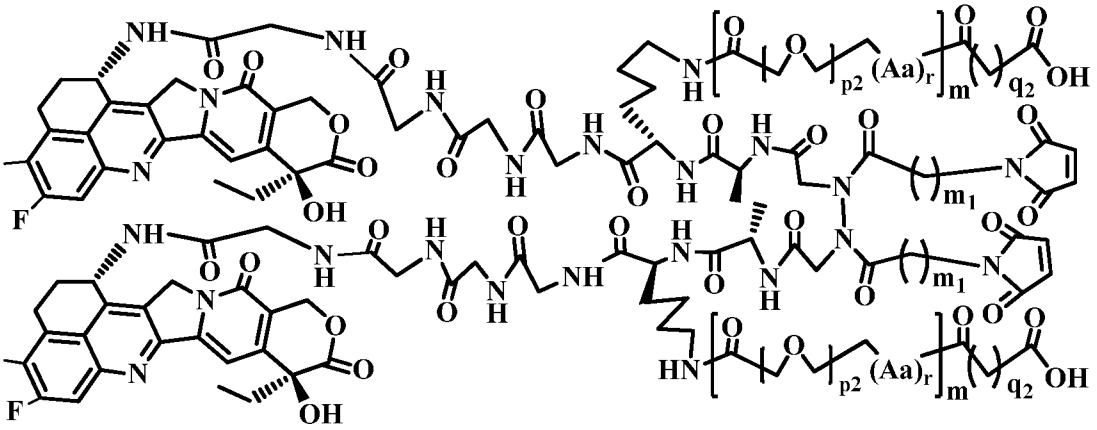
b159,



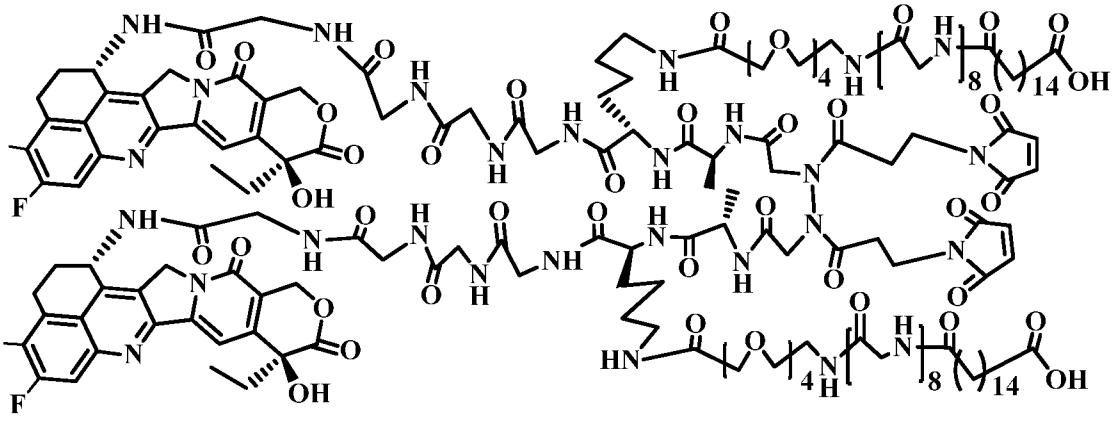
b160,



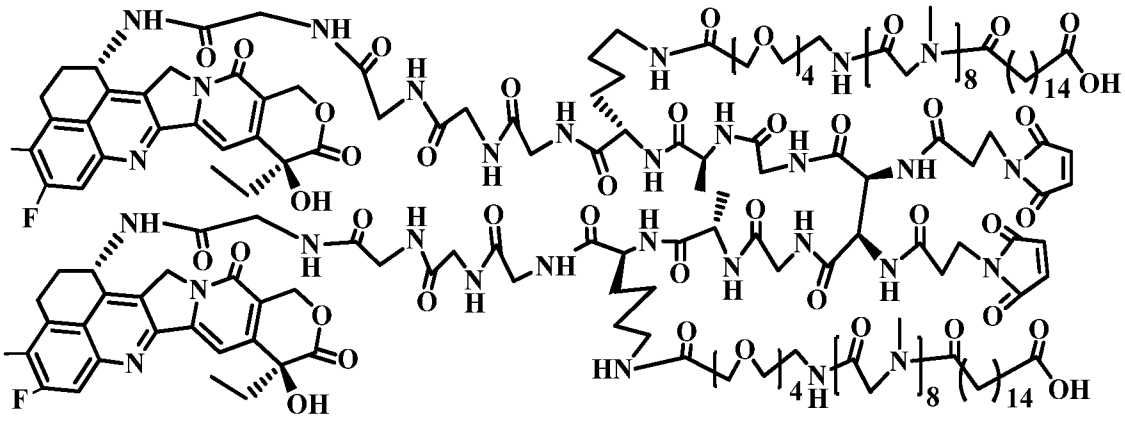
b161,



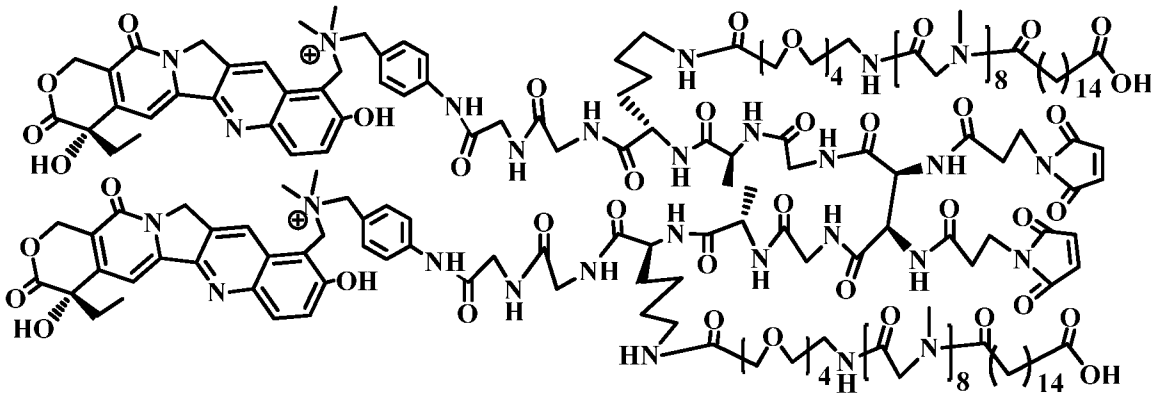
b162,



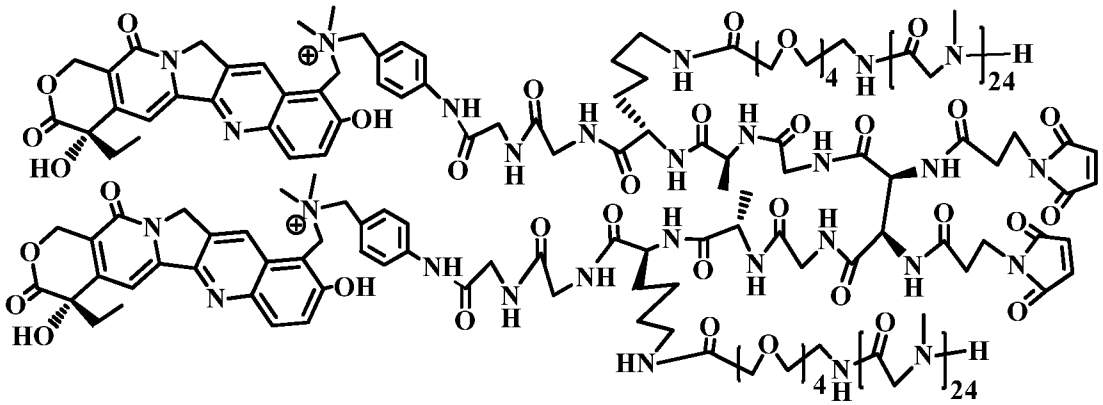
b163,



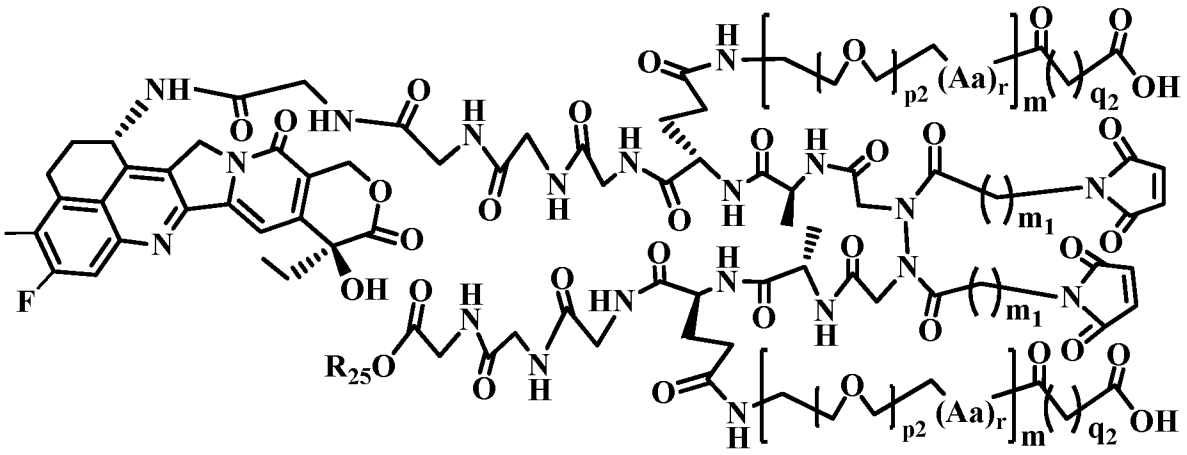
b164,



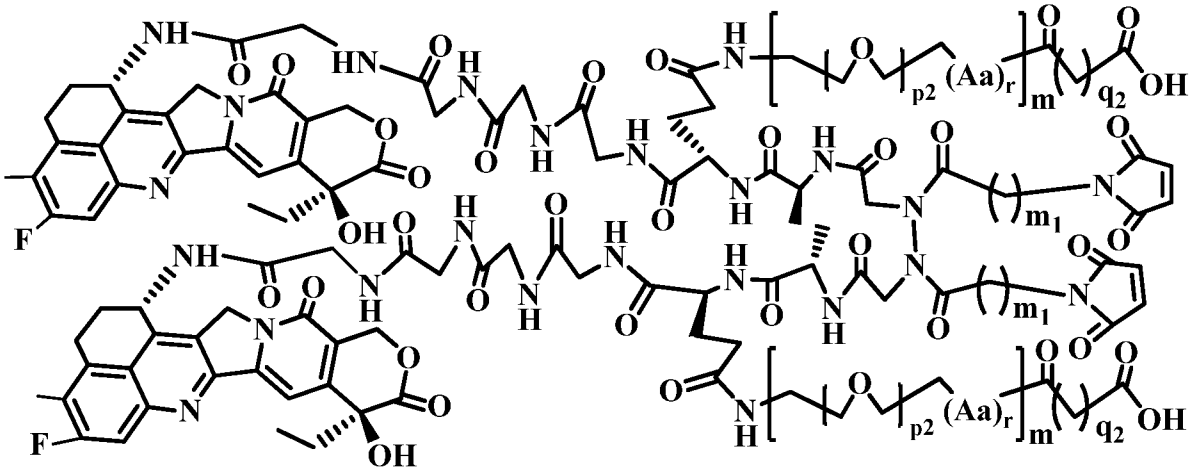
b165,



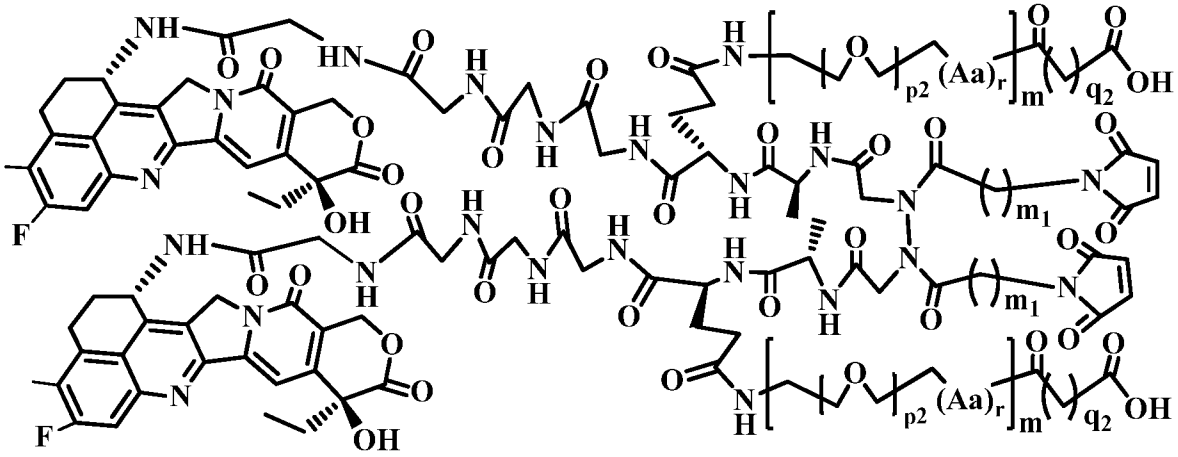
b166,



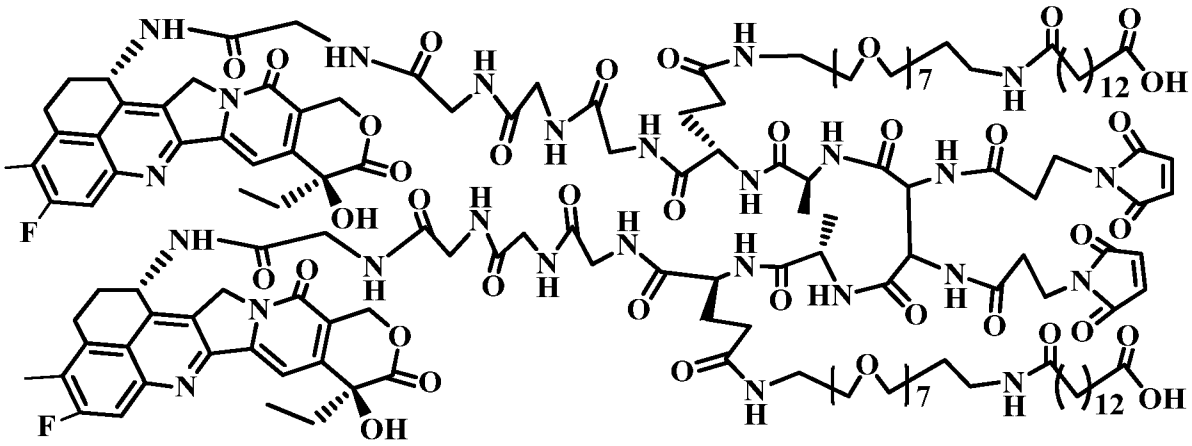
b167,



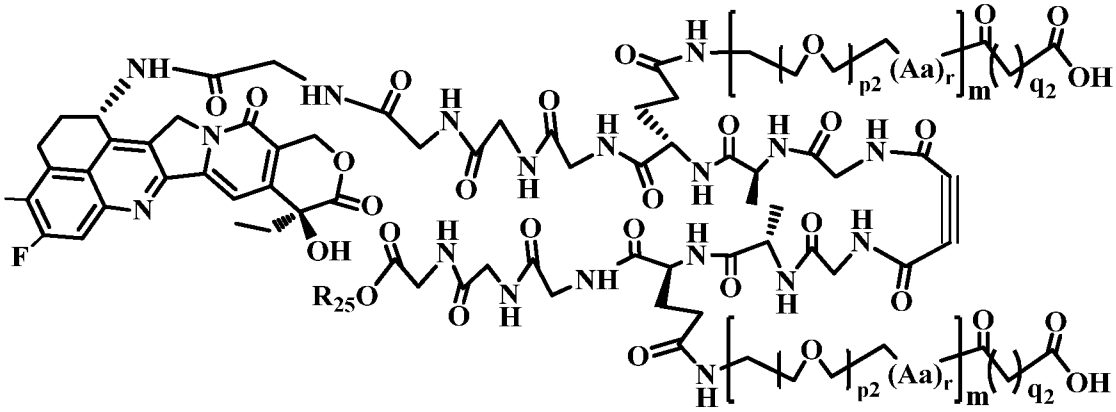
b168,



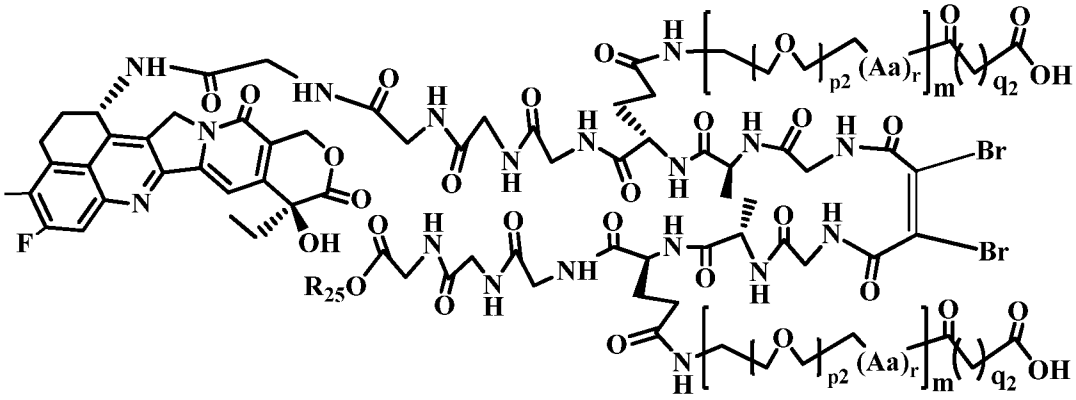
b169,



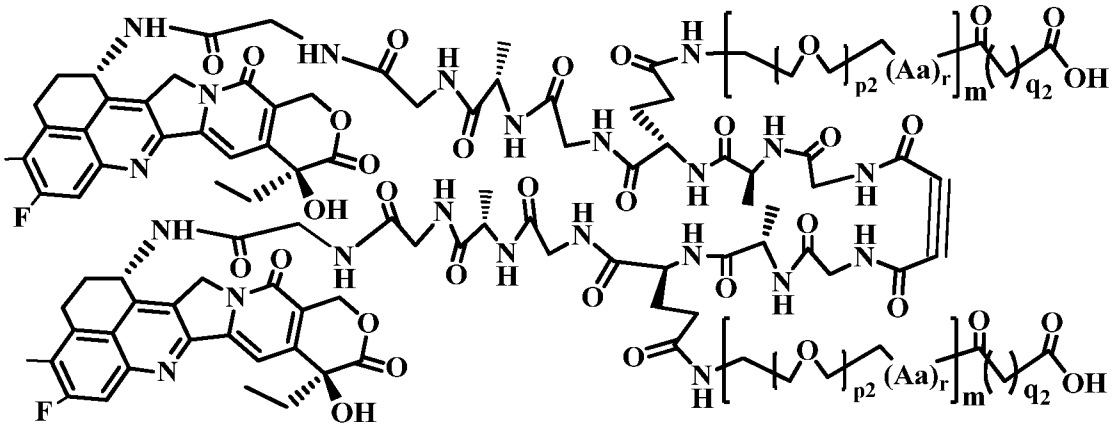
b170,



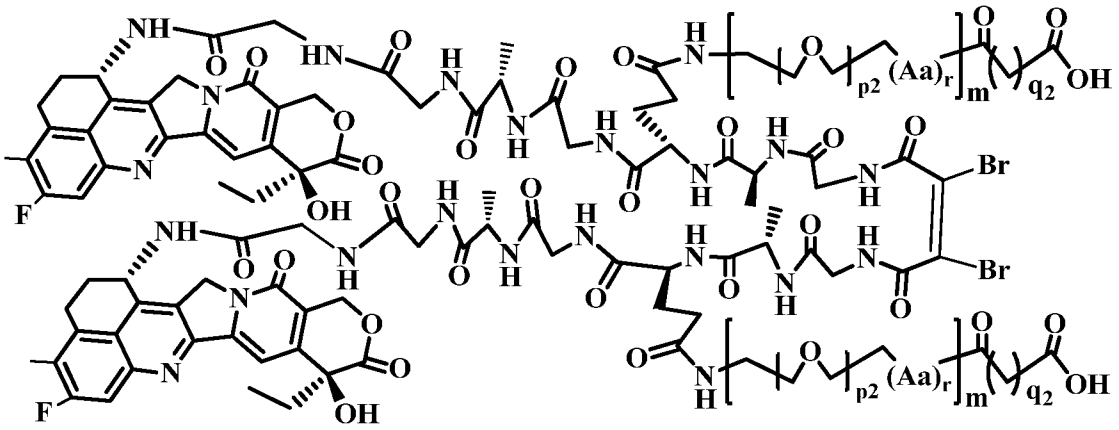
b171,



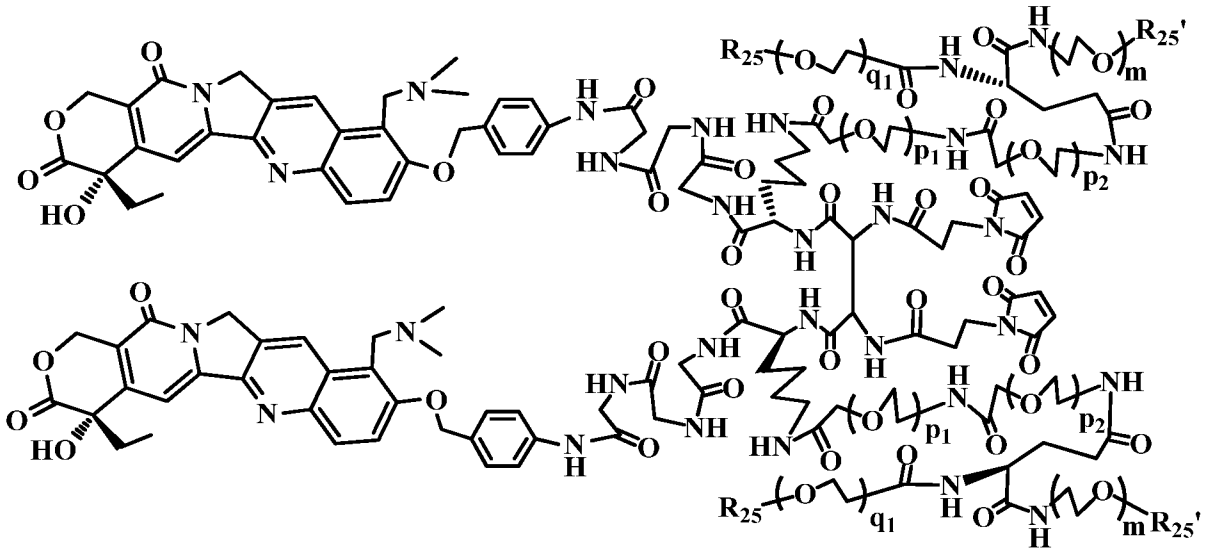
b172,



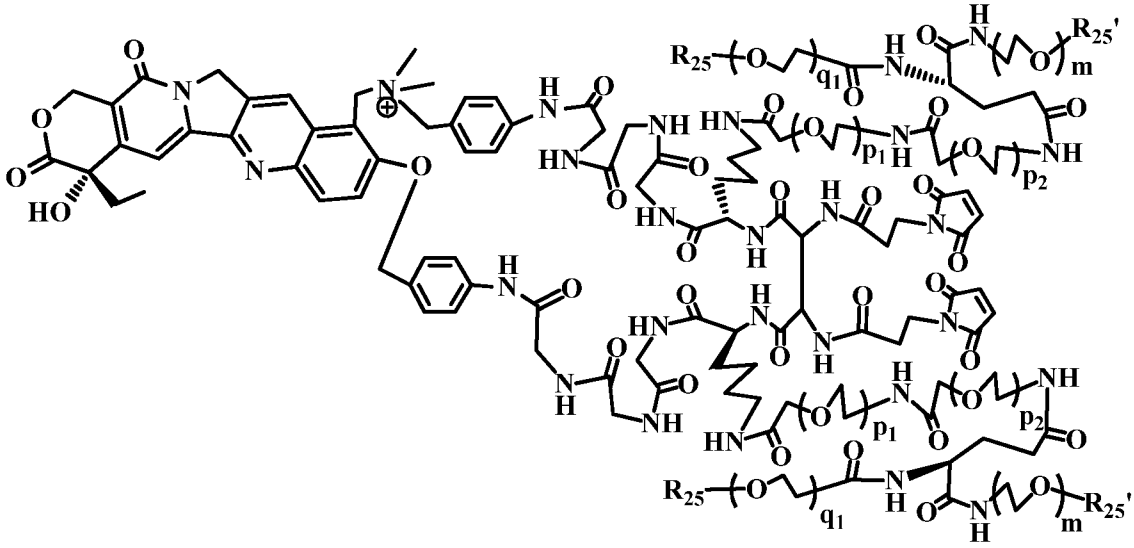
b173,



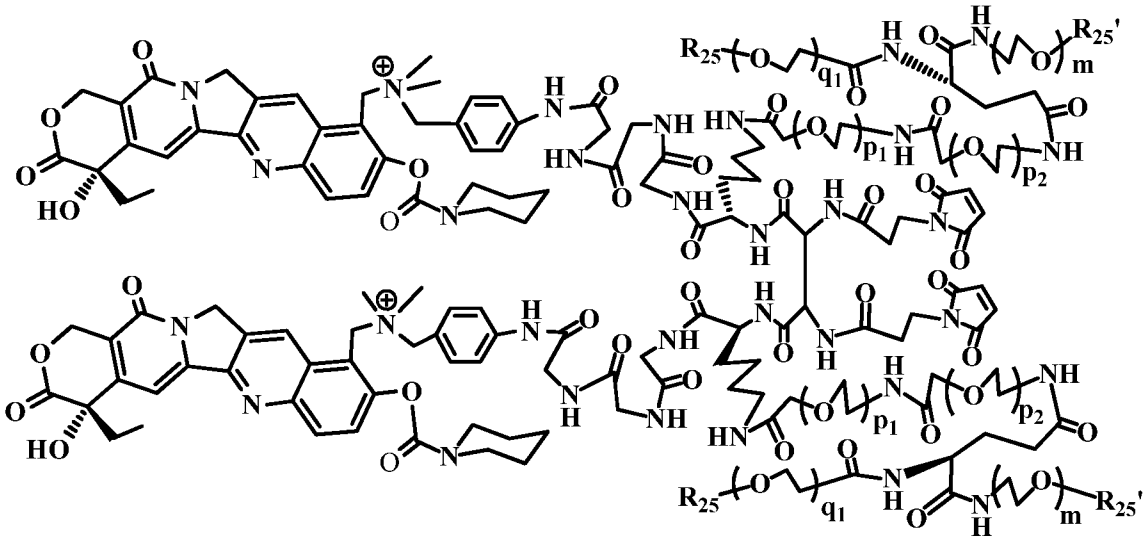
b174,



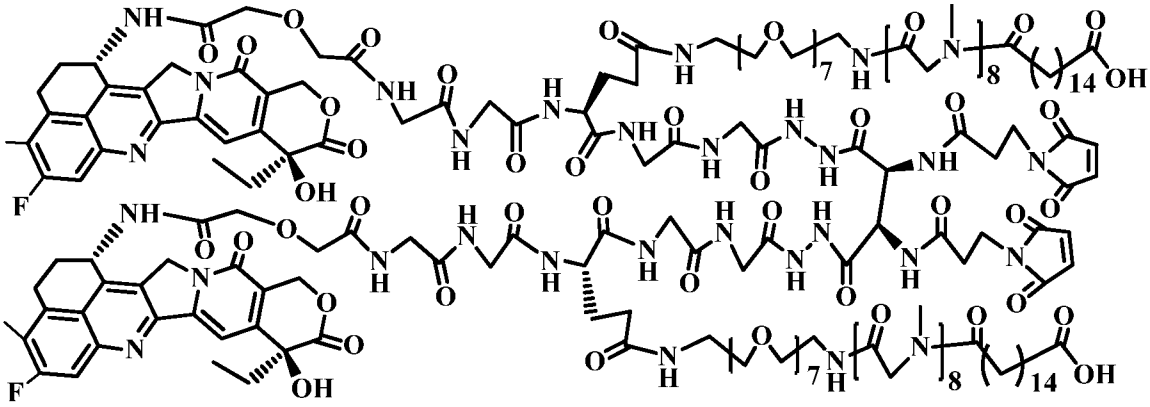
b175,



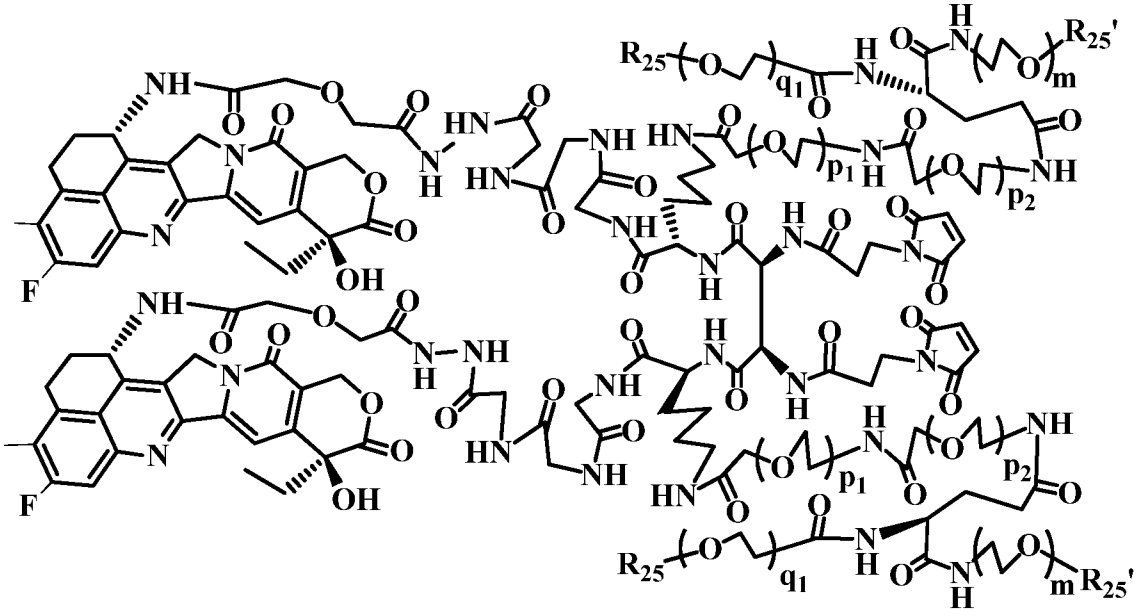
b176,



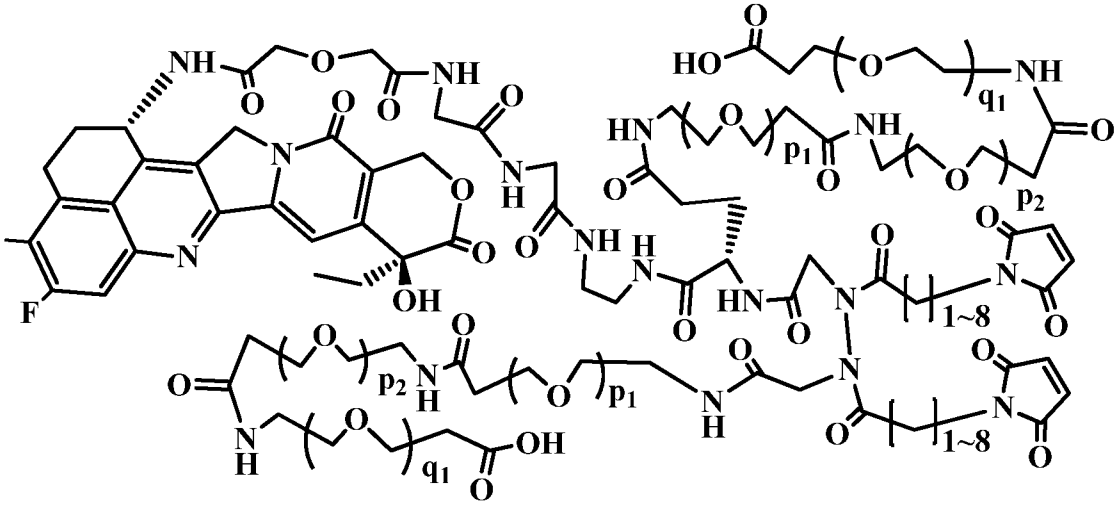
b177,



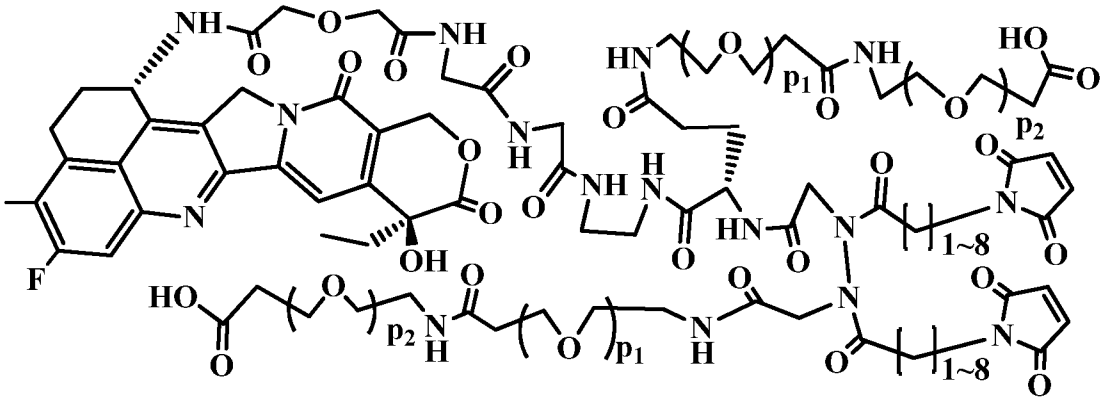
b178,



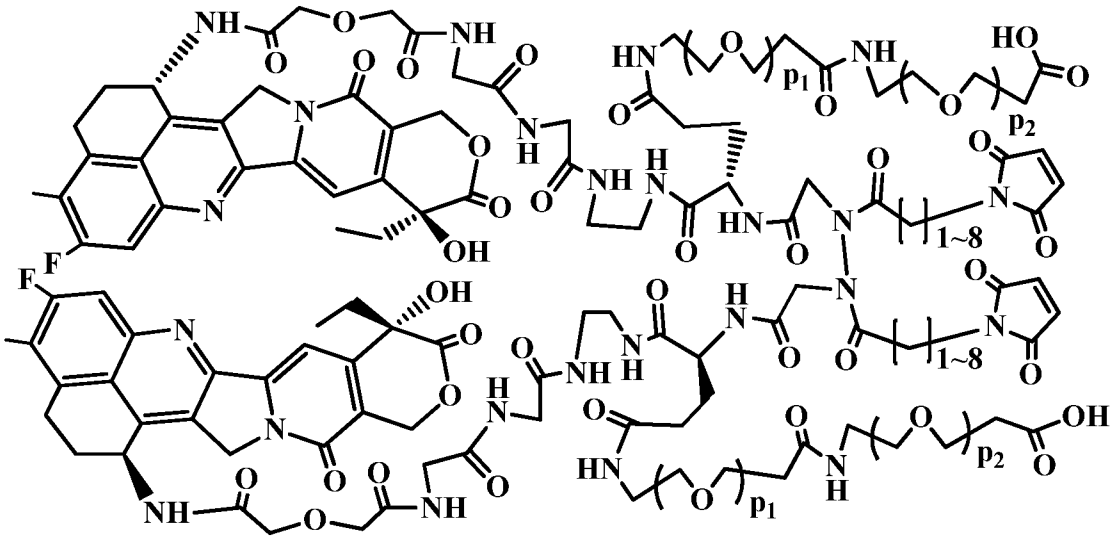
b179,



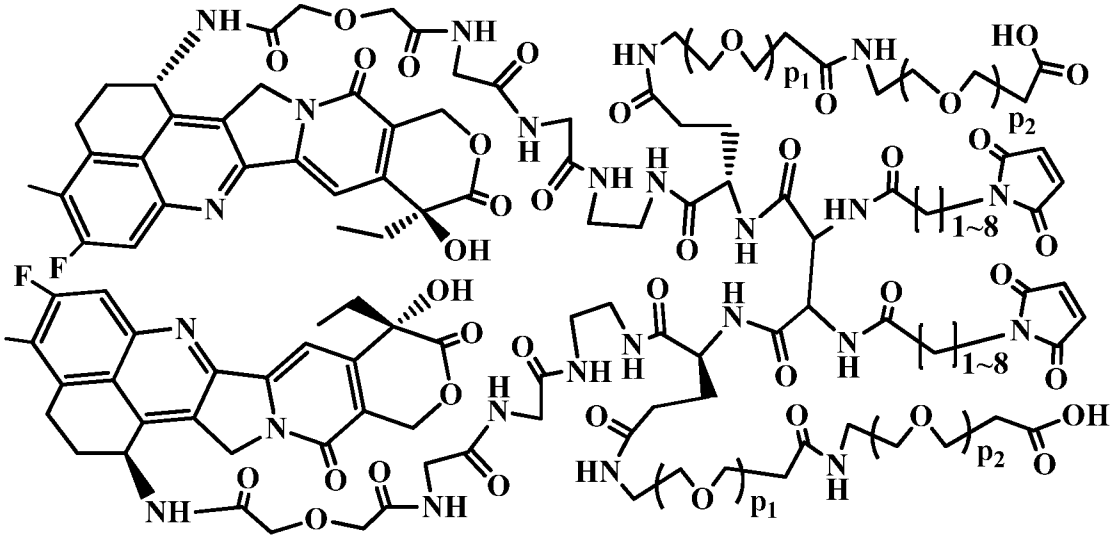
b180,



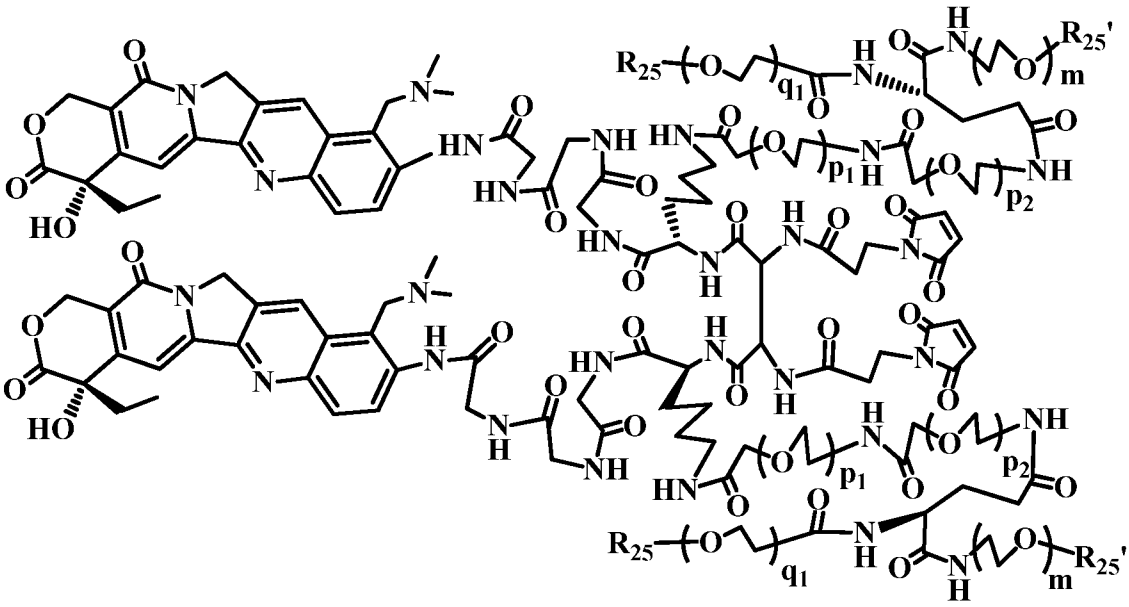
b181,



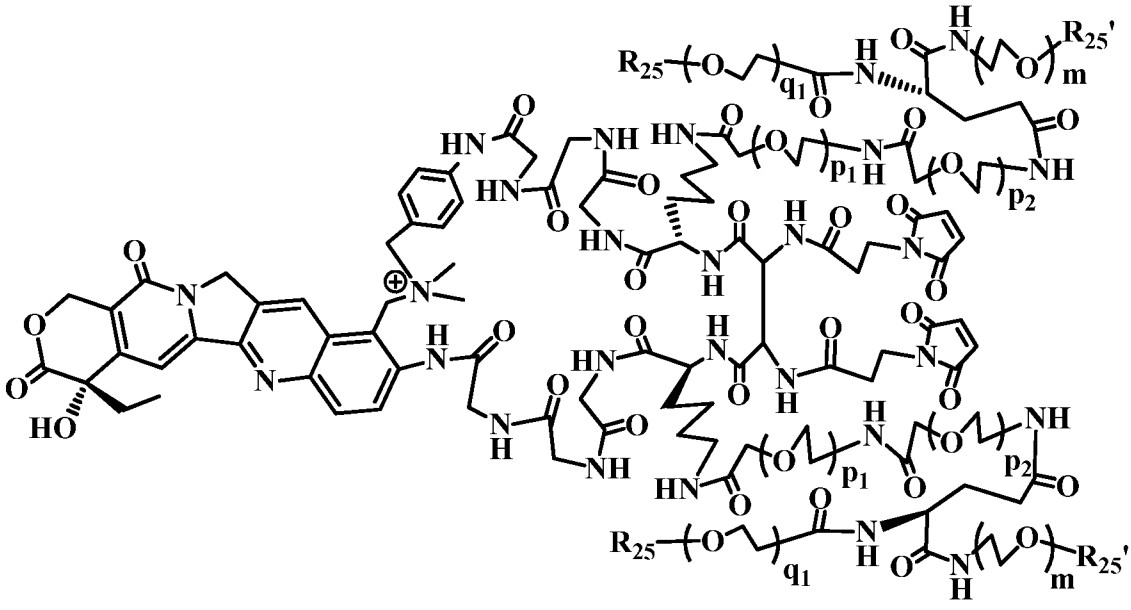
b182,



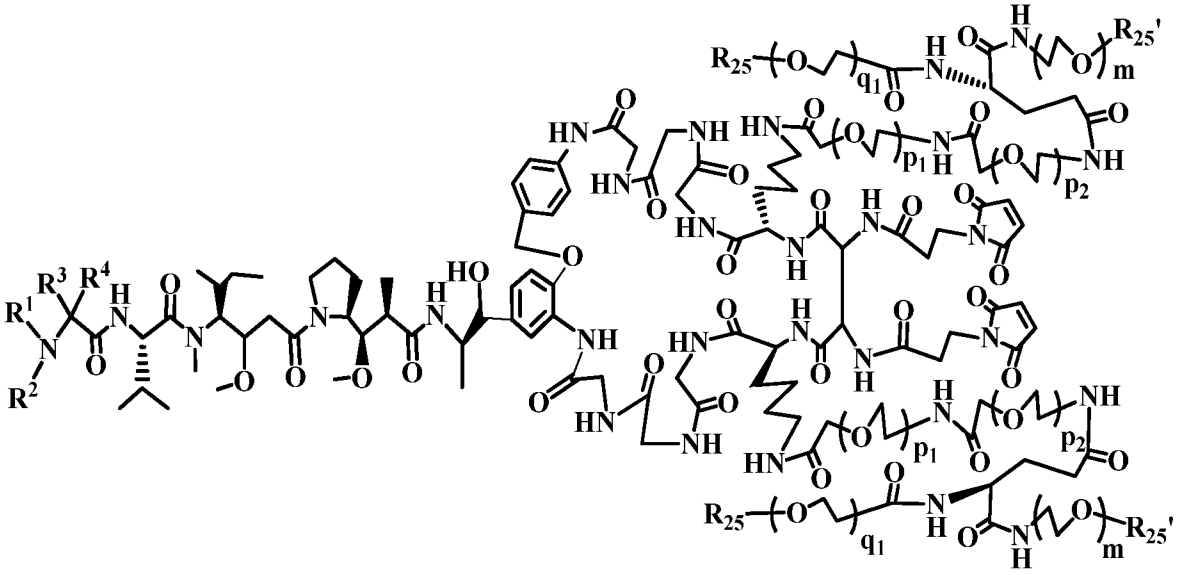
b183,



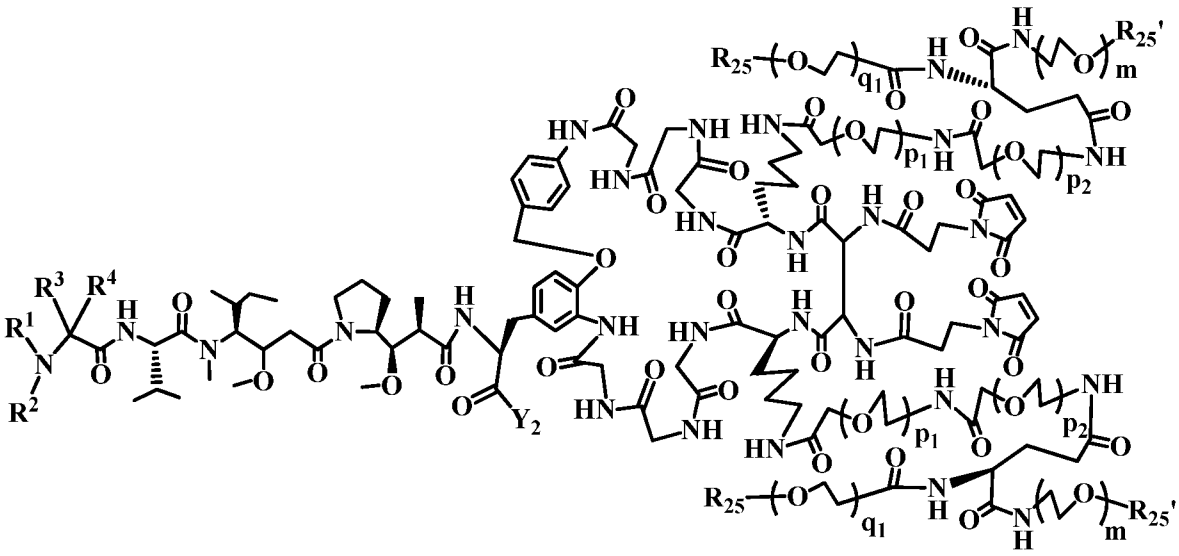
b184,



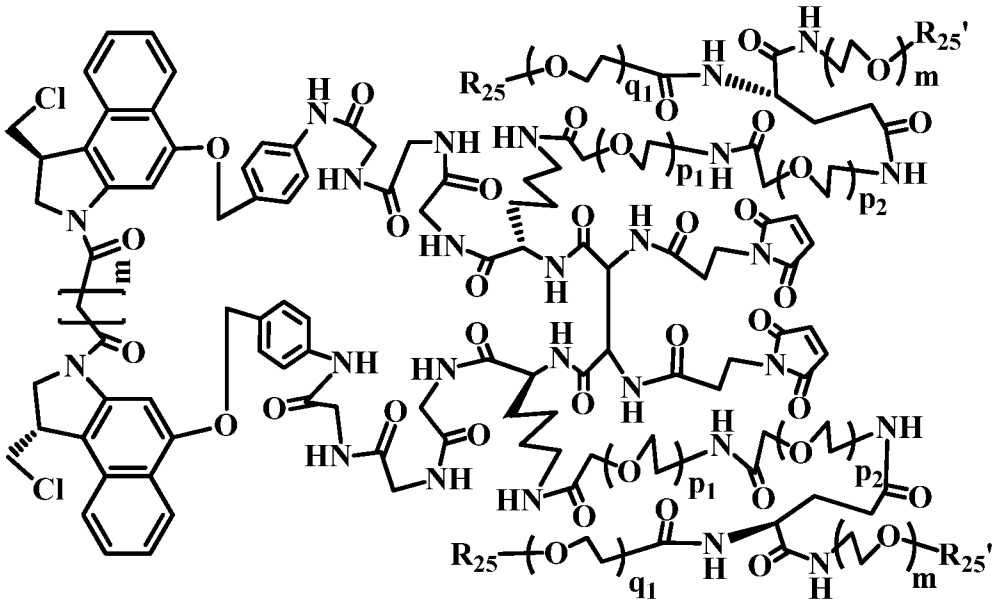
b185,



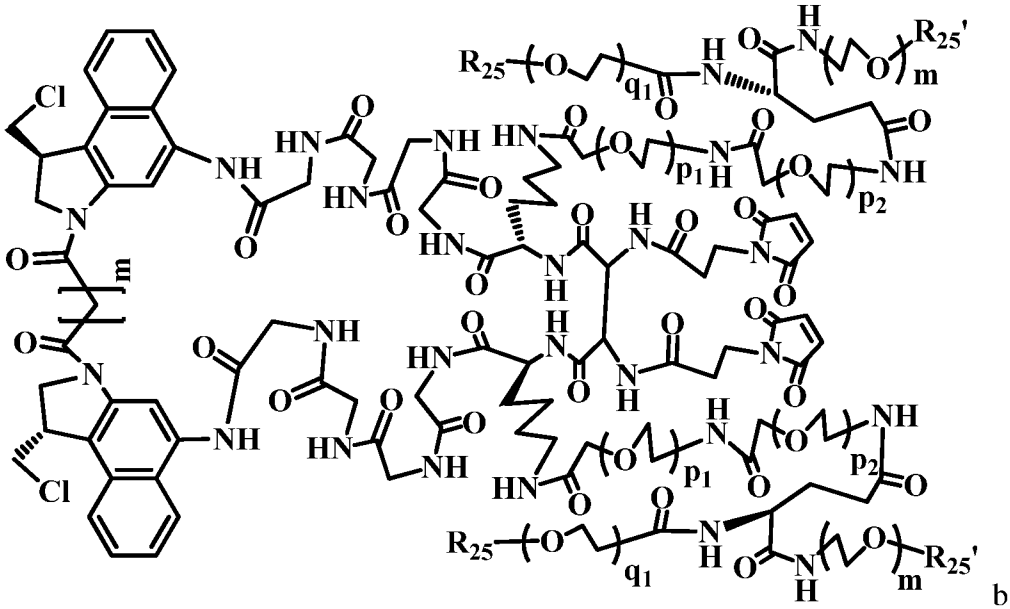
b186,



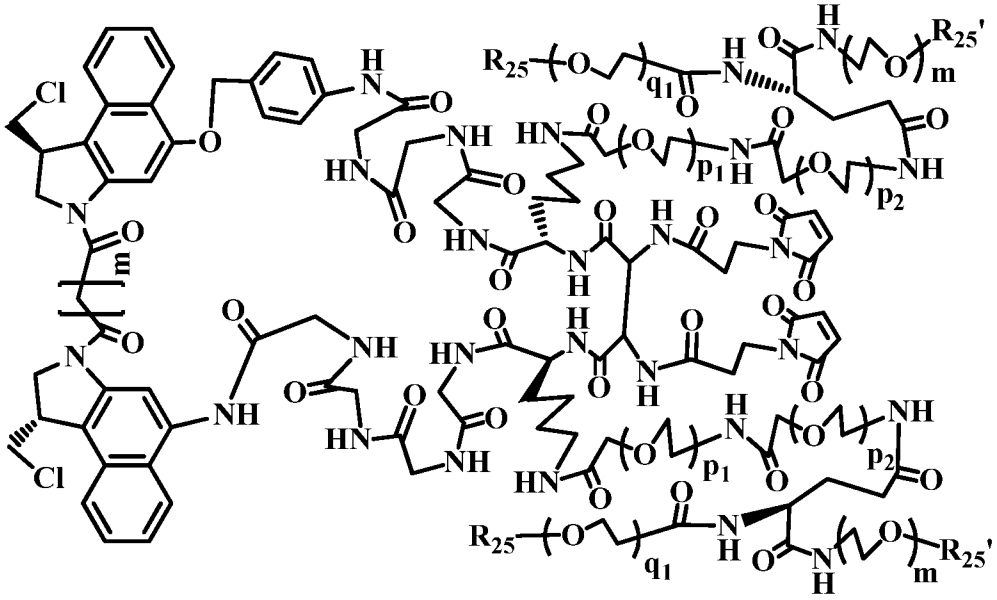
b187,



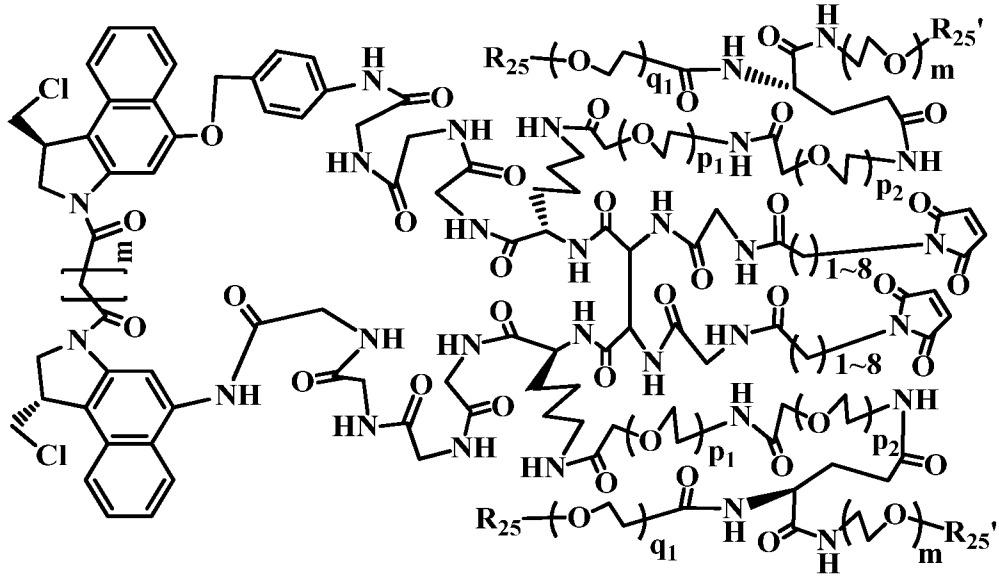
b188,



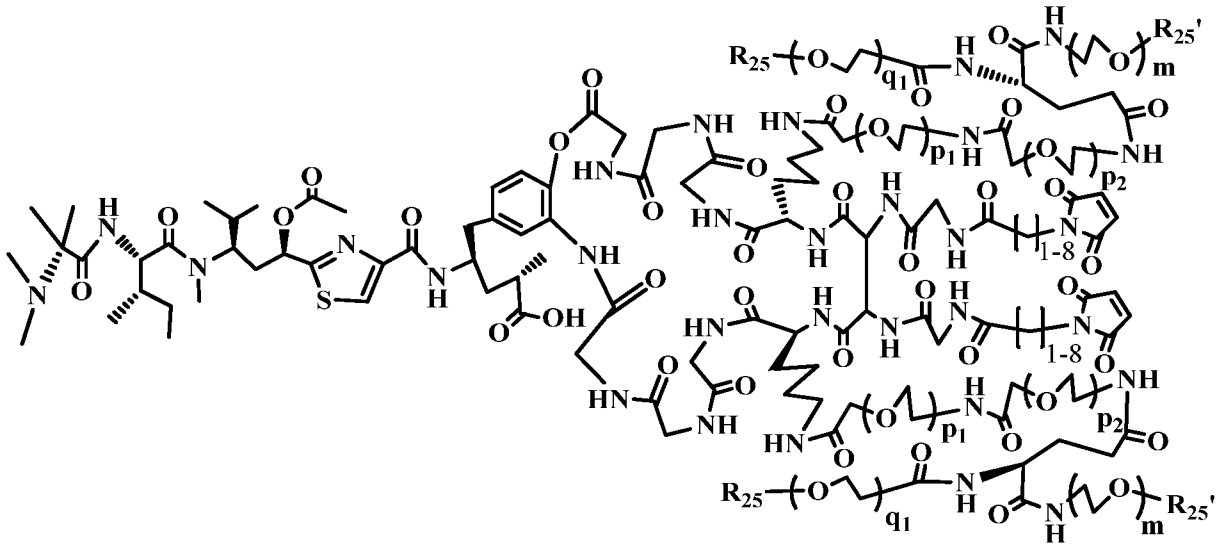
b189,



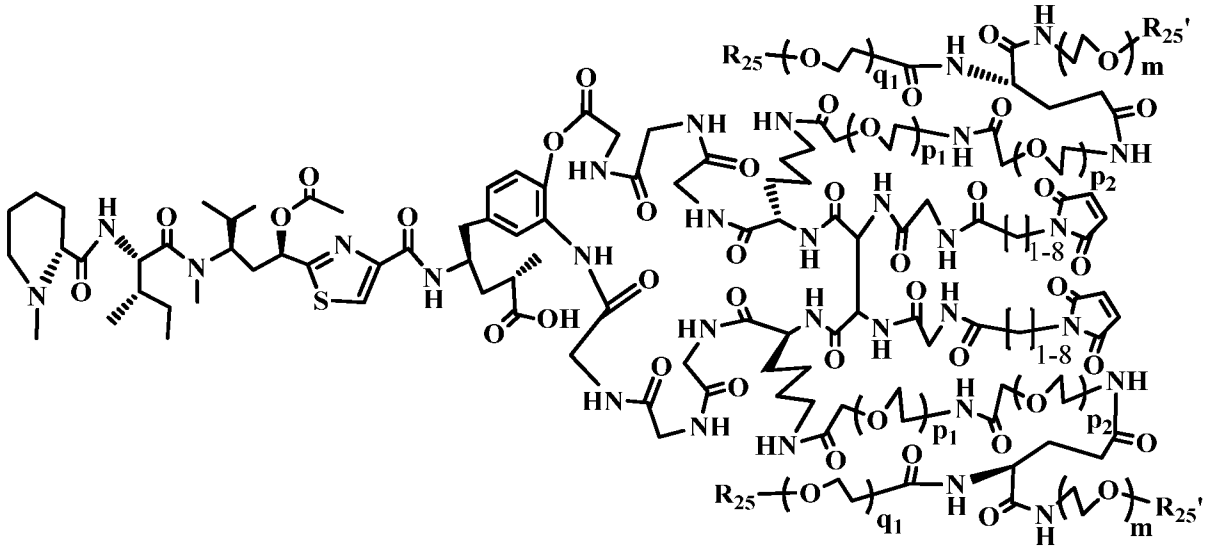
b190,



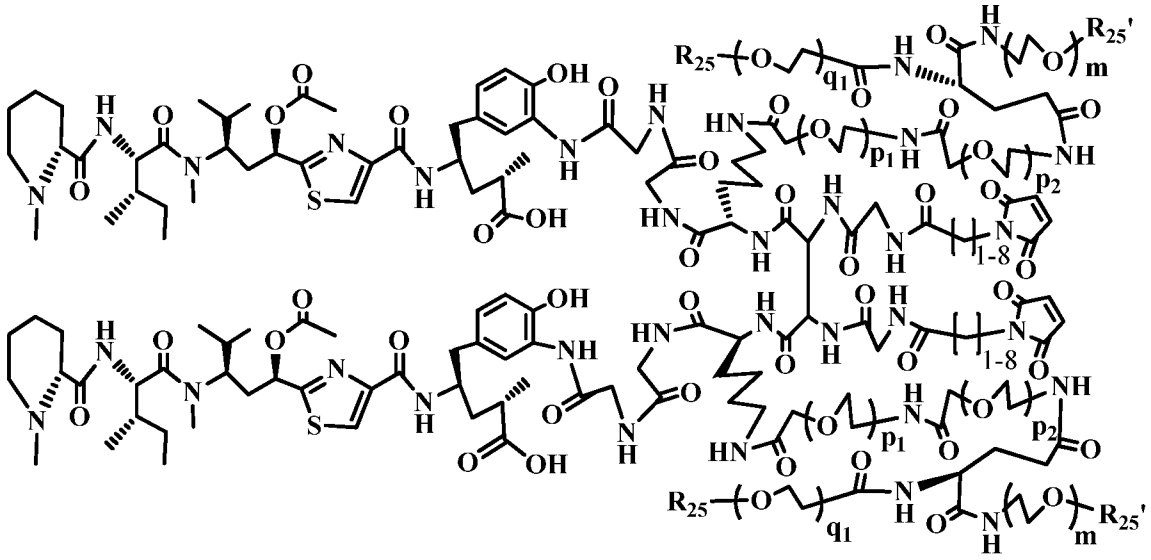
191,



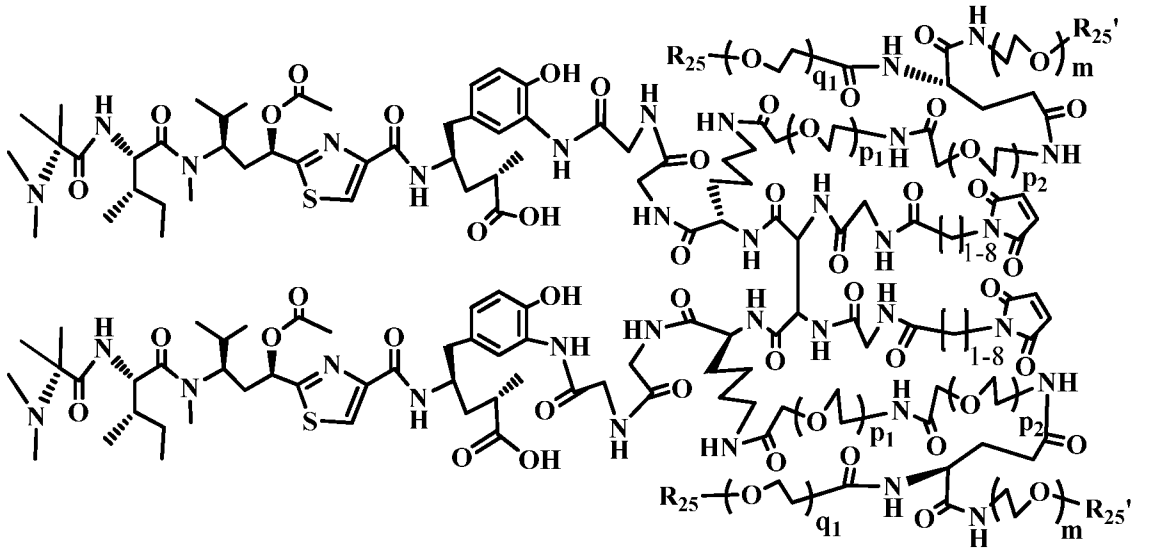
b192,



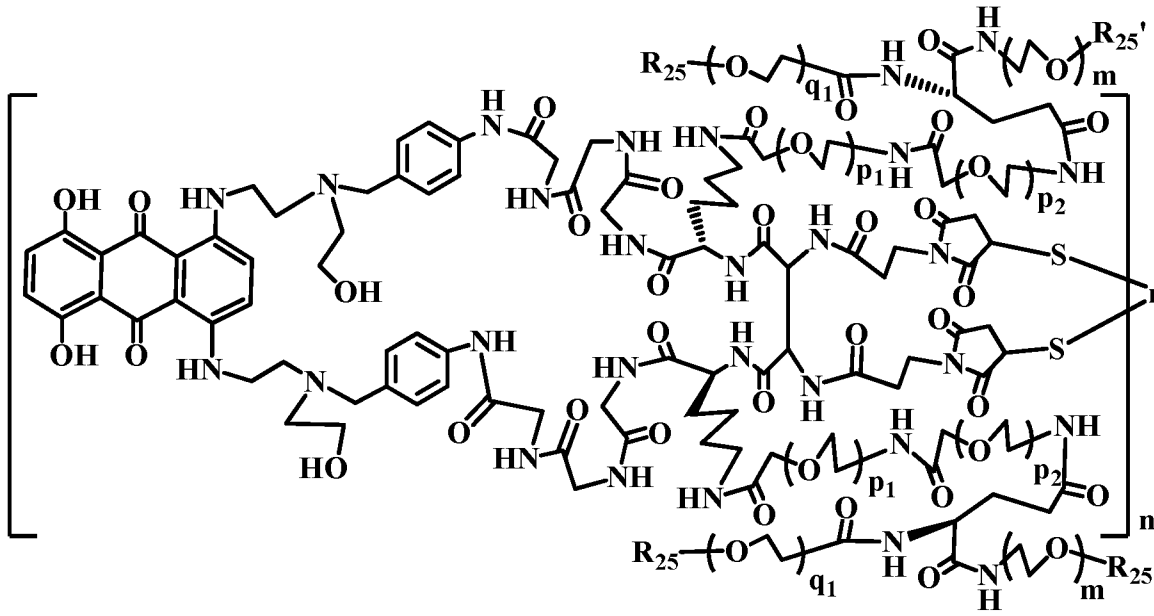
b193,



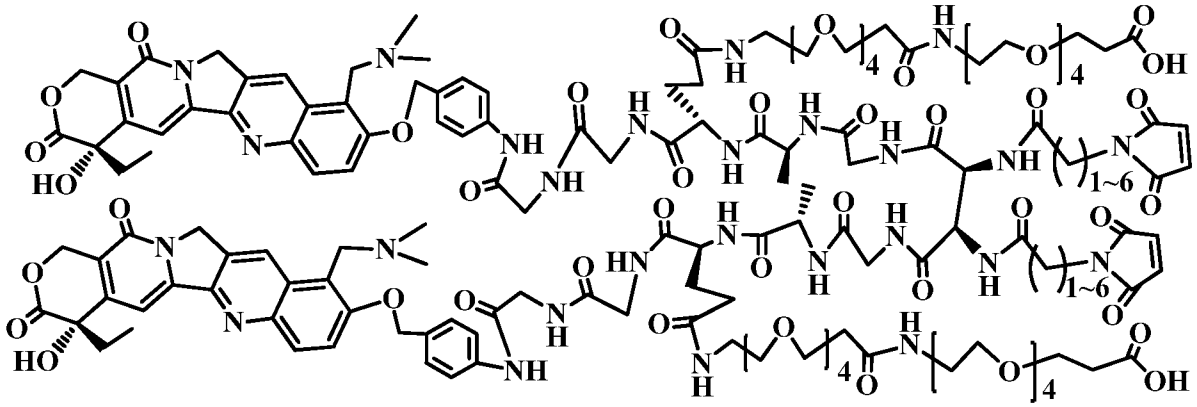
b194,



b195,



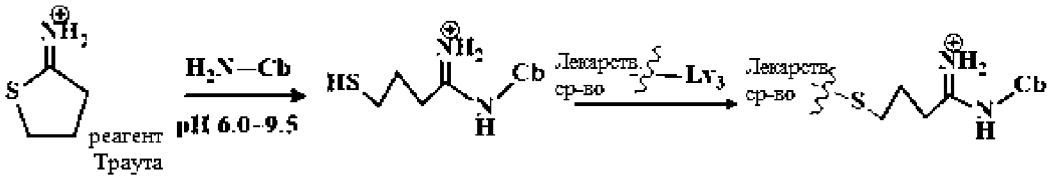
b196,

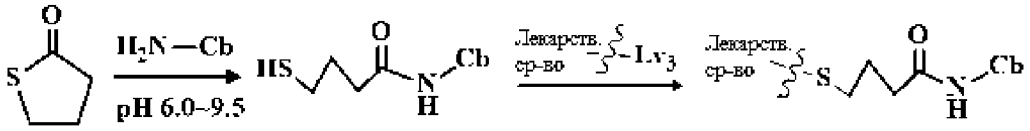


b197,

или один или более изотопов химических элементов, фармацевтически приемлемых солей, гидратов или гидратированных солей; или полиморфные кристаллические структуры этих соединений; или оптические изомеры, рацематы, диастереомеры или энантиомеры; где X_8 представляет собой O, S, NH, NHNH, NHR_{12}, SR_{12}, SSR_{12}, $SSCH(CH_3)R_{12}$, $SSC(CH_3)_2R_{12}$, или R_{12}; R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R_4, R_5, R_7, R_8, R_9, R_{10}, X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, X_6, Y_1, Y_2, Y_3, Y_5, R_{12}, $R_{12'}$, R_{13}, R_{13}', R_{25}, R_{25}', Z_2, Z_3, p. p_1, p_2, p_3, q_1, q_2, Lv_1, Lv_2, Lv_3, $Lv_{3'}$, m, m_1, n и mAb представляют собой как описано выше; Aa представляет собой природную или неприродную аминокислоту; r равно 0-12; (Aa)r представляет собой пептид, содержащий последовательность одинаковых или разных аминокислот, когда r> 2; r = 0 означает, что (Aa)r отсутствует.

Предпочтительно Lv_1, Lv_2, Lv_3 и $Lv_{3'}$ вступают в реакцию с парами тиолов связывающегося с клеткой агента/молекулы. Тиолы более предпочтительно представляют собой пары атомов серы восстановленных из дисульфидных связей внутренней цепи агента, связывающегося с клеткой посредством восстанавливающего агента, выбранного из дитиотреитола (DTT), дитиоэритритола (DTE), L-глютатиона (GSH), трис(2-карбоксиэтил)фосфина (TCEP), 2-меркаптоэтиламина (β-MEA), или/и бета-меркаптоэтанола (β-ME, 2-ME). Тиол клеточно-связывающего агента/молекулы также может быть получен с помощью реагента Траута или тиолактона, где реагент Траута или тиолактон реагируют с амином клеточно-связывающего агента/молекулы с образованием тиола, с последующей одновременной или последовательной реакцией с Lv_1, Lv_2, Lv_3 или $Lv_{3'}$.





Настоящее изобретение также относится к способу получения конъюгата связывающейся с клеткой молекулы и аналога аматоксина Формулы (I), (II) и (III), а также к применению конъюгатов Формулы (I), (II) и (III).

ПОЛУЧЕНИЕ КОНЪЮГАТОВ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА С КЛЕТОЧНО-СВЯЗЫВАЮЩЕЙ МОЛЕКУЛОЙ С ПОМОЩЬЮ СВЯЗИ НА БОКОВОЙ ЦЕПИ

Получение конъюгатов аналога аматоксина с клеточно-связывающимися молекулами по настоящему изобретению и пути синтеза для получения конъюгатов с помощью связи на боковой цепи представлены на Фиг. 1~19 и в экспериментальной части.

Конъюгаты Формулы (I), (II) и (III) могут быть получены через промежуточные соединения Формулы (IV), (V) и (VI), соответственно. В общем, соединения Формулы (IV), (V) и (VI) синтезируют так, чтобы они имели функциональные группы малеидо, Lv1 и Lv2, которые могут легко реагировать со связывающейся с клеткой молекулой или с модифицированной связывающейся с клеткой молекулой. Синтезы соединений Формулы (IV), (V) и (VI) некоторых соединений Формулы (I), (II) и (III) показаны структурно на Фиг. 1~19.

Для синтеза конъюгата формулы (I), в общем, функциональная группа Lv_1 формулы (IV) вступает в реакцию с одним, двумя или более остатками клеточно-связывающей молекулы при 0–60°C, pH 5~9, в водной среде с добавлением или без добавления 0~30% смешиваемых с водой (смешивающихся) органических растворителей, таких как ДМА, ДМФА, этанол, метанол, ацетон, ацетонитрил, ТГФ, изопропанол, диоксан, пропиленгликоль или этилендиол, с последующей диализом или хроматографической очисткой с образованием конъюгата соединения формулы (I). Часть остатка (реакционноспособная группа для конъюгации) связывающейся с клеткой молекулы может быть получена с помощью белковой инженерии.

Конъюгаты Формулы (II) и (III) также могут быть получены посредством реакции функциональной группы Lv_1 , и Lv_2 линкеров Формулы (V) и (VI) с двумя или более остатками клеточно-связывающей молекулы, предпочтительно с парой свободных тиолов, образующихся в результате восстановления дисульфидных связей связывающейся с клеткой молекулы при 0–60°C, pH 5~9, в водной среде с добавлением или без добавления 0~30% смешиваемых с водой (смешивающихся) органических растворителей с образованием молекулы конъюгата. 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 (DTT), 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 и Lv_2 Формулы (IV) (V) и (VI), которые могут быть независимо дисульфидом, тиолом, сложным тиоэфиром, малеимидо, гелоген-замещенными малеимидами, галогенацетилом, азидом, 1-ином, кетоном, альдегидом, алкоксиамино, трифлатом, карбонилимидазолом, тозилатом, мезилатом, 2-этил-5-фенилизоксазолий-3'-сульфонатом или сложными эфирами карбоновых кислот и нитрофенола, N-гидроксисукцинимидом (NHS), фенолом; динитрофенолом, пентафторфенолом, тетрафторфенолом, дифторфенолом, монофторфенолом, пентахлорфенолом, дихлорфенолом, тетрахлорфенолом, 1-гидроксибензотриазолом, ангидридами или гидразидами, или другими производными сложных эфиров кислоты, которые могут вступать в реакцию с одной, двумя или более группами на связывающейся с клеткой молекуле/агенте, одновременно или последовательно при 0–60°C, pH 4~9,5, в водной среде с добавлением или без добавления 0~30% смешиваемых с водой (смешивающихся) органических растворителей с получением конъюгата формулы (I), (II) и (III) после очистки на колонке или диализа. Реакционноспособные группы Lv_1 и Lv_2 Формулы (IV), (V) и Формулы (VI) вступают в реакцию со связывающейся с клеткой молекулой различными путями, соответственно. Например, связь, содержащая дисульфидные связи в конъюгате связывающегося с клеткой агента и аналога аматоксина Формулы (I), достигается посредством дисульфидного обмена между дисульфидной связью в модифицированном связывающемся с клеткой агенте и Lv_1 и Lv_2, содержащими свободную тиольную группу, или посредством дисульфидного обмена между свободной тиольной группой в модифицированном связывающемся с клеткой агенте и дисульфидной связью на Lv_1 и/или Lv_2. Чтобы ускорить реакцию дисульфидного обмена, дисульфидная группа обычно представляет собой группу дисульфанилпиридина, дисульфанилнитропиридина, дисульфанилнитробензола, дисульфанилнитробензойной кислоты или дисульфанилдинитробензола и т. п. Связь, содержащая тиоэфирные связи в конъюгате Формулы (I) (II) и (III) достигается посредством реакции малеимидо, или галогенацетила, или этилсульфонила на модифицированном связывающемся с клеткой агенте либо на соединении Формулы (IV), (V) и (VI) со свободной тиольной группой на соединении Формулы (IV), (V) и Формулы (VI) или на модифицированном связывающемся с клеткой

агенте, соответственно. Связь, содержащая кислотно-лабильную гидразоновую связь в конъюгатах, может быть получена посредством реакции карбонильной группы лекарственного средства Формулы (IV), (V) и (VI) или связывающейся с клеткой молекулы с гидразидным фрагментом на модифицированной связывающейся с клеткой молекуле или на лекарственном средстве Формулы (IV), (V) и (VI)) соответственно, способами известными в данной области техники (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 посредством реакции 1-иновой группы лекарственного средства Формулы (IV), (V) и (VI) или связывающейся с клеткой молекулы 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, связанных через оксим, достигается посредством реакции кето- или альдегидогруппы лекарственного средства Формулы (IV), (V) и (VI) или связывающейся с клеткой молекулы с группой оксиламина на другом аналоге, соответственно. Тиолсодержащая связывающаяся с клеткой молекула может вступать в реакцию с линкером молекулы лекарственного средства Формулы (IV), (V) и (VI) содержащим малеимидо, или галогенацетил, или этилсульфонильный заместитель при pH 5,5-9,0 в водном буфере, с образованием конъюгата Формулы (I), (II) и (III) с простотиоэфирной связью. Тиолсодержащая связывающаяся с клеткой молекула может подвергаться дисульфидному обмену с линкером лекарственного средства Формулы (IV), (V) и (VI) содержащим пиридилдитио-фрагмент, с образованием конъюгата, содержащего дисульфидную связь. Связывающаяся с клеткой молекула, содержащая гидроксильную группу или тиоловую группу, может вступать в реакцию с линкером лекарственного средства Формулы (IV), (V) и (VI), содержащим галоген, в частности альфа-галогенкарбоксилатом, в присутствии мягкого основания, например, pH 8,0–9,5, с получением модифицированного лекарственного средства, содержащего простоэфирную или простотиоэфирную связь. Гидроксильная или аминогруппа на связывающейся с клеткой молекуле может быть конденсирована с перекрестным линкером лекарственного средства Формулы (IV), (V) и (VI), содержащим карбоксильную группу, в присутствии дегидратирующего агента, такого как EDC или DCC, с получением сложноэфирной связи. Связывающаяся с клеткой молекула, содержащая 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; или 2-этил-5-фенилизоксазолий-3'-сульфоната на линкере лекарственного средства Формулы (IV), (V) и (VI) 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 молекулы, связывающейся с клеткой (например, фолиевая кислота, гормон, стимулирующий меланоциты, EGF и т. д.), конъюгирована с малыми молекулами-лекарственными средствами, и может быть очищена хроматографией, такой как ВЭЖХ, колоночной хроматографией среднего давления или ионообменной хроматографией.

Для достижения более высокого выхода реакции конъюгации соединения Формулы (I), (II) или (III) с парой свободных тиолов молекулы, связывающейся с клеткой, предпочтительно антитела, может потребоваться добавление к реакционной смеси небольшого процента смешивающихся с водой органических растворителей или агентов межфазного переноса. Сшивающий реагент (линкер) формулы (IV), (V) или (VI) 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 (ТГФ), 1,4-диоксан, диметилформамид (ДМФА), диметилацетамид (ДМА) или диметилсульфоксид (ДМСО) в высокой концентрации, например, 1–800 мМ. В то же время, молекулу, связывающуюся с клеткой, такую как антитело, растворенную в водном буфере с pH 4,0~9,5, предпочтительно pH 6,0~8,5, при концентрации 1~50 мг/мл обрабатывают 0,5~20 эквивалентами TCEP или DTT в течение 20 минут до 48 часов. После восстановления DTT можно удалить хроматографической очисткой SEC. TCEP может быть также необязательно удален с помощью SEC-хроматографии или может оставаться в реакционной смеси до следующей стадии реакции без дополнительной очистки, но предпочтительно TCEP нейтрализуют азидными соединениями, такими как 4-азидобензойная кислота, 4- (азидометил)бензойная кислота или азидо-полиэтиленгликолил (например, 2-(2-(2-(2-азидоэтокси) этокси)этокси)этанол). Кроме того, восстановление антител или других агентов, связывающихся с клеткой с помощью TCEP может быть выполнено вместе с существующей молекулой лекарственное средство-линкер Формулы (IV), (V) или (VI), для которой перекрестное конъюгирование молекул, связывающихся с клеткой может быть достигнуто одновременно с восстановлением TCEP.

Водные растворы для модификации агентов, связывающихся с клеткой, забуферены между pH 4 и 9, предпочтительно между 6,0 и 8,0, 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 лекарственное средство-линкера Формулы (IV), (V) или (VI) в раствор, содержащий восстановленные молекулы, связывающиеся с клеткой реакционную смесь инкубируют при температуре от 0 до 50 °C, предпочтительно при 15°C – 37,5 °C. За ходом реакции можно следить, измеряя уменьшение поглощения на определенной длине волны УФ-излучения, например, при 252 нм, или увеличение поглощения на определенной длине волны УФ-излучения, например, 280 нм, или другой подходящей длине волны. После завершения реакции выделение модифицированного агента, связывающегося с клеткой, можно проводить обычным способом, используя, например, гель-фильтрационную хроматографию, ионообменную хроматографию, адсорбционную хроматографию или колоночную хроматографию на силикагеле или алюминийоксиде, кристаллизацию, препаративную тонкослойную хроматографию, ионообменную хроматографию или ВЭЖХ.

Степень модификации может быть оценена путем измерения поглощения высвобождаемых нитропиридинтионовой, динитропиридиндитионовой, пиридинтионовой, карбоксиламидопиридиндитионовой и дикарбоксиламидопиридиндитионовой групп с помощью УФ-спектров. Для конъюгирования без хромофорной группы реакцию модификации или конъюгирования можно отслеживать с помощью ЖХМС, предпочтительно с помощью ВЭЖХ-МС/МС, СВЭЖХ с времяпролетной квадрупольной (QTOF) масс-спектрометрией или капиллярного электрофореза–масс-спектрометрии (КЭ-МС). Сшивающие линкеры боковой цепи, описанные в данном документе, имеют разнообразные функциональные группы, которые могут реагировать с любыми связывающимися с клеткой молекулами, в частности с модифицированной связывающейся с клеткой молекулой, которая владеет подходящим заместителем. Например, модифицированные связывающиеся с клеткой молекулы, содержащие амино- или гидроксильный заместитель, могут вступать в реакцию с лекарственными средствами, содержащими сложный эфир N-гидроксисукцинимида (NHS), модифицированные связывающиеся с клеткой молекулы, содержащие тиольный заместитель, могут вступать в реакцию с лекарственными средствами, содержащими малеимидную или

галогенацетильную группу. Кроме того, модифицированные связывающиеся с клеткой молекулы, содержащие карбонильный (кетоновый или альдегидный) заместитель, введенный посредством белковой инженерии, ферментативной реакции или химической модификации, могут вступать в реакцию с лекарственными средствами, содержащими гидразид или алкоксиамин. Специалист в данной области техники может легко определить, какой модифицированный линкер лекарственного средства использовать, основываясь на известной реакционной способности доступной функциональной группы на модифицированных связывающихся с клеткой молекулах.

СВЯЗЫВАЮЩИЕСЯ С КЛЕТКОЙ АГЕНТЫ

Связывающаяся с клеткой молекула, T или Cb, или mAb которая содержит конъюгаты и модифицированные связывающиеся с клеткой агенты по настоящему изобретению, может быть любого типа, известного в настоящее время, или который станет известным, молекула, которая связывается, образует комплексы или реагирует с фрагментом популяции клеток, который является терапевтически или иным образом биологически модифицированным. Клеточно-связывающие молекулы/агенты, включают, без ограничений, 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); 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, малые иммунные белки (SIP) 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 (такие как тип I, II, III); пептиды; лимфокины, такие как IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-6R, IL-10, IL-11, IL-16, IL-17, 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 (FGF); белки с меньшей молекулярной массой, полипептиды, пептиды и пептидные гормоны, такие как бомбезин, гастрин, гастрин-рилизинг пептид; полученные из тромбоцитов факторы роста; интерлейкин и цитокины, такие как интерлейкин-2 (IL-2), интерлейкин-6 (IL-6), факторы, ингибирующие лейкемию, колониестимулирующий фактор 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 клеточно-связывающие молекулы, или вещества, такие как биоактивные полимеры (Dhar, et al, Proc. Natl. Acad. Sci. 2008, 105, 17356-61); гибридные белки; ингибиторы киназы; нацеленные на гены агенты; биологически активные 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 при наличии подходящего моноклонального антитела оно является предпочтительным в качестве агента, связывающегося с поверхностным клеточным рецептором. 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 № No. 4,493,795 (to 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 публикации Antibodies--A Laboratory Manual, Harlow and Lane, eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (1988), которая включена в настоящий документ путем ссылки. В частности, моноклональные антитела получают иммунизацией мышей, крыс, хомяков или любого другого млекопитающего антигеном, представляющим интерес, таким как интактная клетка-мишень, антигены, выделенные из клетки-мишени, цельный вирус, аттенуированный цельный вирус и вирусные белки.

Спленоциты обычно сливают с клетками миеломы с использованием полиэтиленгликоля (ПЭГ) 6000. Слитые гибриды отбираются по их чувствительности к HAT (гипоксантин-аминоптерин-тимин). Гибридомы, продуцирующие моноклональное антитело, пригодное для применения в практике данного изобретения, идентифицируются по их способности иммунореактивно реагировать с указанными рецепторами или ингибировать активность рецептора на клетках-мишенях.

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

Среды, пригодные для приготовления данных композиций, хорошо известны в данной области техники и коммерчески доступны, и включают синтетические питательные среды. Типичной синтетической средой является минимальная необходимая среда Дульбекко (DMEM; Dulbecco et al., Virol. 8, 396 (1959)) с добавлением 4,5 гм/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 — Барр (EBV, также называемый герпесвирусом человека 4 (HHV-4)) или герпесвирус, связанный с саркомой Капоши (KSHV). См., патенты США № 4,341,761; 4,399,121; 4,427,783; 4,444,887; 4,451,570; 4,466,917; 4,472,500; 4,491,632; 4,493,890. Моноклональное антитело также может быть получено через антирецепторный пептид или пептиды, содержащие карбоксильный конец, что хорошо известно в данной области техники. См. публикацию Niman et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80: 4949-53 (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 человеческих антител к антигенам мыши при введении в организм человека. Среди наиболее распространенных методов гуманизации антител — трансплантация областей, определяющих комплементарность и повторная перекладка. Данные способы были подробно описаны, см., например, патент США № 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 путем ссылки. Полностью человеческие антитела также могут быть получены путем иммунизации иммуногена трансгенных мышей, кроликов, обезьян или других млекопитающих, несущих большие части тяжелых и легких цепей человеческого иммуноглобулина. Примерами таких мышей являются: Xenomouse. (Abgenix/Amgen), HuMAb-Mouse (Medarex/BMS), VelociMouse (Regeneron), см. также патенты США № 6,596,541, 6,207,418, 6,150,584, 6,111,166, 6,075,181, 5,922,545, 5,661,016, 5,545,806, 5,436,149 и 5,569,825. В терапии человека вариабельные области мыши и константные области человека также можно объединить для создания так называемых «химерных антител», которые являются значительно менее иммуногенными для человека, чем мышиные mAb (Kipriyanov et al, Mol Biotechnol. 26: 39-60 (2004); Houdebine, Curr Opin Biotechnol. 13: 625-9 (2002), каждая из которых включена в данный документ путем ссылки). Кроме того, сайт-направленный мутагенез в вариабельной области антитела может приводить к антителу с более высокой аффинностью и специфичностью к его антигену

(Brannigan et al, Nat Rev Mol Cell Biol. 3: 964-70, (2002)); Adams et al, J Immunol Methods. 231: 249-60 (1999)) и обмен константными областями mAb может улучшить его способность опосредовать эффекторные функции связывания и цитотоксичность.

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

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

Примеры антител, используемых для конъюгирования лекарственных средств через линкеры данного изобретения 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 рецептора

IL-2), бавитуксимаб (анти-фосфатидилсерин), бектумомаб (LymphoScan, анти-CD22), белимумаб (Benlysta, LymphoStat-B, анти-BAFF), бенрализумаб (анти-CD125), бертилимумаб (анти-CCL11 (эотаксин-1)), бесилесомаб (сцинтимун, анти-CEA связанный антиген), бевацизумаб (Авастин, анти-VEGF-A), бициромаб (FibriScint, анти-фибрин II бета-цепь), биватузумаб (анти-CD44 v6), блинатумомаб (BiTE, анти-CD19), брентуксимаб (cAC10, анти-CD30 TNFRSF8), бриакинумаб (анти-IL-12, IL-23), канакинумаб (Иларис, анти-IL-1), кантузумаб (C242, анти-CanAg), капромаб, катумаксомаб (ремоваб, анти-EpCAM, анти-CD3), CC49 (анти-TAG-72), цеделизумаб (анти-CD4), цертолизумаб пегол (Цимзия анти-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 (анти-гемаглютинин гриппа A), дацетузумаб (анти-CD40), даклизумаб (Зенапакс, анти-CD25 (α-цепь рецептора IL-2)), даратумумаб (анти-CD38 (гидролаза рыбозы циклического АДФ), деносумаб (Пролия, анти-RANKL), детумомаб (анти-клетки B-лимфомы), дорлимомаб, дорликсизумаб, экромексимаб (анти-GD3 ганглиозид), экулизумаб (Солирис, анти-C5), эдобакомаб (анти-эндотоксин), эдреколомаб (Панорекс, MAb17-1A, анти-EpCAM), эфализумаб (раптива, анти-LFA-1 (CD11a), эфунгумаб (микограб, анти-Hsp90), элотузумаб (анти-SLAMF7), эльсилимомаб (анти-IL-6), энлимомаб пегол (анти-ICAM-1 (CD54)), эпитумомаб (анти-эписиалин), эпратузумаб (анти-CD22), эрлизумаб (анти-ITGB2 (CD18)), эртумаксомаб (Рексомун, анти-HER2/neu, CD3), этарацизумаб (Абегрин, анти-интегрин $\alpha_v\beta_3$), эксбивирумаб (анти-поверхностный антиген гепатита B), фанолезомаб (НейтроСпек, анти-CD15), фаралимомаб (анти-рецептор интерферона), фарлетузумаб (антифолатный рецептор 1), фелвизумаб (анти-респираторный синцитиальный вирус), фезакинумаб (анти-IL-22), фигитумумаб (анти-IGF-1 рецептор), фонтолизумаб (анти-IFN-γ), форавирумаб (анти-гликопротеин вируса бешенства), фрезолимумаб (анти-TGF-β), галиксимаб (анти-CD80), гантенерумаб (анти-бета-амилоид), гавилимомаб (анти-CD147 (базигин)), гемтузумаб (анти-CD33), гирентуксимаб (анти-карбоангидраза 9), глембатумумаб (CR011, анти-GPN MB), голимумаб (Симпони, анти-TNF-α), гомиликсимаб (анти-CD23 (рецептор IgE)), ибализумаб (анти-CD4), ибритумомаб (анти-CD20), иговомаб (Индимасис-125, анти-CA-125), имциромаб (Миосцинт, анти-кардиальный миозин), инфликсимаб (Ремикейд, 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 (анти-антиген гепатита B), линтузумаб (анти-CD33), лукатумумаб (анти-CD40), люмиликсимаб (анти-CD23 (рецептор IgE), мапатумумаб (анти-TRAIL-R1), маслимомаб (анти-T-клеточный рецептор), матузумаб (анти-EGFR), меполизумаб (Босатрия, анти-IL-5), метелимумаб (анти-TGF бета 1), милатузумаб (анти-CD74), минретумомаб (анти-TAG-72), митумомаб (BEC-2, анти-GD3 ганглиозид), моролимумаб (анти-фактор резус), мотавизумаб (Нумакс, антиреспираторно-синцитиальный вирус), муромонаб-CD3 (Ортоклон OKT3, анти-CD3), наколомаб (анти-C242), наптумомаб (анти-5T4), натализумаб (Тисабри, анти-интегрин α_4), небацумаб (анти-эндотоксин), нецитумумаб (анти-EGFR), нерелимомаб (анти-TNF-α), нимотузумаб (Терацим, Тералок, анти-EGFR), нофетумомаб, окрелизумаб (анти-CD20), одулимомаб (Афолимомаб, анти-LFA-1 (CD11a)), Офатумумаб (Арзерра, анти-CD20), оларатумаб (анти-PDGF-R α), омализумаб (Ксолаир, анти-область Fc IgE), опортузумаб (анти-EpCAM), ореговомаб (ОваРекс, анти-CA-125), отеликсизумаб (анти-CD3), пагибаксимаб (анти-липотейхоевая кислота), паливизумаб (Синаджис, Аббосинаджис, антиреспираторный синцитиальный вирус), панитумумаб (Вектибикс, ABX-EGF, анти-EGFR), панобакумаб (анти-Pseudomonas aeruginosa), пасколизумаб (анти-IL-4), пемтумомаб (Терраджин, анти-MUC1), пертузумаб (Омнитарг, 2C4, анти-HER2/neu), пекселизумаб (анти-C5), пинтумомаб (анти-антиген аденокарциномы), приликсимаб (анти-CD4), притумумаб (анти-виментин), PRO 140 (анти-CCR5), ракотумомаб (1E10, анти-(N-гликолилнейраминовая кислота (NeuGc, NGNA)-ганглиозиды GM3)), рафивирумаб (анти-гликопротеин вируса бешенства), рамуцирумаб (анти-VEGFR2), ранибизумаб (луцентис, анти-VEGF-A), раксибакумаб (анти-токсин сибирской язвы, защитный антиген), регавирумаб (анти-цитомегаловирусный гликопротеин B), резлизумаб (анти-IL-5), рилотумумаб (анти-HGF), ритуксимаб (Мабтера, Ритуксанмаб, анти-CD20), робатумумаб (анти-IGF-1 рецептор), ронтализумаб (анти-IFN-α), ровелизумаб (Лейкрест, анти-CD11, CD18), руплизумаб (Антова, 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 (ЛейкоСкан, (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 (Аурексис, (анти-фактор слипания A), телимомаб, тенатумомаб (анти-тенасцин C), тенеликсимаб (анти-CD40), теплизумаб (анти-CD3), TGN1412 (анти-CD28), тицилимумаб (тремелимумаб, (анти-CTLA-4), тигатузумаб (анти-TRAIL-R2), TNX-650

(анти-IL-13), тоцилизумаб (Атлизумаб, Актемра, РоАктемра, (анти-рецептор IL-6), 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 (анти-Escherichia coli), устекинумаб (Стелара, 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 (Нувион, анти-CD3), витаксин (анти-сосудистый интегрин a_vb_3), волоциксимаб (анти-интегрин $\alpha5\beta1$), вотумумаб (ХьюмаСпект, анти-воопухолевый антиген CTAA16.88), залутумумаб (ХьюМакс-EGFr, (анти-EGFR), занолимумаб (ХьюМакс-CD4, анти-CD4), зиралимумаб (анти-CD147 (базигин)), золимомаб (анти-CD5), этанерцепт (Энбрел®), Алефасепт (Амевив®), Абатацепт (Orencia®), Рилонацепт (Аркалист), 14F7 [анти-IRP-2 (белок 2, регулирующий железо)], 14G2a (анти-GD2 ганглиозид, от Национального Института Рака для меланомы и солидных опухолей), J591 (анти-PSMA, Медицинская школа Weill Cornell для рака простаты), 225.28S [анти-HMW-MAA (антиген, связанный с высокомолекулярной меланомой), Sorin Radiofarmaci S.R.L. (Милан, Италия) для меланомы], COL-1 (антитело е CEACAM3, CGM1, от Нац. инст. онкологии США для лечения колоректального и желудочного рака), CYT-356 (Oncoltad®, для лечения рака простаты), HNK20 (OraVax Inc. для лечения респираторно-синцитиального вируса), иммуРАИТ (от Immunomedics для НХЛ), Lym-1 (антитело к HLA-DR10, Peregrine Pharm. для лечения онкологических заболеваний), MAK-195F [антитело к TNF (фактор некроза опухоли; TNFA, TNF-альфа; TNFSF2), от Abbott/Knoll для лечения септического токсического шока], MEDI-500 [T10B9, антитело к CD3, TR$\alpha\beta$ (Т-клеточный рецептор альфа/бета), комплексный, от MedImmune Inc для лечения реакции «трансплантат против хозяина», RING SCAN [антитело к TAG 72 (связанный с опухолью гликопротеин 72), от Neoprobe Corp. для лечения рака молочной железы, толстой кишки и прямой кишки], авицидин (антитело к EPCAM (молекула адгезии эпителиальных клеток), антитело к TACSTD1 (кальциевый сигнальный преобразователь 1, связанный с опухолью), антитело к GA733-2 (белок, ассоциированный с опухолью желудочно-кишечного тракта 2), антитело к EGP-2 (эпителиальный гликопротеин 2); антитело к KSA; KS1/4-антиген; M4S; опухолевый антиген 17-1A; CD326 от NeoRx Corp. для лечения рака толстой кишки, яичников, предстательной железы и НХЛ]; лимфоцид (Immunomedics, Нью Джерси), смарт ID10 (Protein Design Labs), онколим (Techniclone Inc, Калифорния), алломюн (BioTransplant, Калифорния), антитело кVEGF (Genentech, Калифорния); CEAcide (Immunomedics, Нью Джерси), IMC-1C11 (ImClone, Нью Джерси) и цетуксимаб (ImClone, Нью Джерси).

Другие антитела в качестве клеточно-связывающих молекул/лигандов, включают, без ограничений, 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 (дельта-подобный-3), DLL4 (дельта-подобный-4), EGFR (рецептор эпидермального фактора роста, различные виды рака), CTLA4 (меланома), CXCR4 (CD184, гемобластоз, 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, РА, 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), анти-трансферриновый рецептор (карциномы), p97 (меланома), MS4A1 (мембранного охвата 4-х доменный член 1 подсемейства А, неходжкинская В-клеточная лимфома, лейкоз), MUC1 или MUC1-KLH (рак молочной железы, яичников, шейки матки, бронхов и желудочно-кишечного тракта), MUC16 (CA125) (рак яичников), CEA (колоректальный рак), gp100 (меланома), MART1 (меланома), MPG (меланома), MS4A1 (мембранного охвата 4-х доменный член подсемейства А, 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, ОМЛ, 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, клеточно-связывающие агенты, могут быть любыми агентами/молекулами, способными связываться с любым из следующих антигенов или рецепторов: CD1, CD1a, CD1b, CD1c, CD1d, CD1e, CD2, CD3, CD3d, CD3e, CD3g, CD4, CD5, CD6, CD7, CD8, CD8a, CD8b, CD9, CD10, CD11a, CD11b, CD11c, CD11d, CD12w, CD14, CD15, CD16, CD16a, CD16b, CDw17, CD18, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD25, CD26, CD27, CD28, CD29, CD30, CD31, CD32, CD32a, CD32b, CD33, CD34, CD35, CD36, CD37, CD38, CD39, CD40, CD41, CD42, CD42a, CD42b, CD42c, CD42d, CD43, CD44,

CD45, CD46, CD47, CD48, CD49b, CD49c, CD49c, CD49d, CD49f, CD50, CD51, CD52, CD53, CD54, CD55, CD56, CD57, CD58, CD59, CD60, CD60a, CD60b, CD60c, CD61, CD62E, CD62L, CD62P, CD63, CD64, CD65, CD65s, CD66, CD66a, CD66b, CD66c, CD66d, CD66e, CD66f, CD67, CD68, CD69, CD70, CD71, CD72, CD73, CD74, CD75, CD75s, CD76, CD77, CD78, CD79, CD79a, CD79b, CD80, CD81, CD82, CD83, CD84, CD85, CD85a, CD85b, CD85c, CD85d, CD85e, CD85f, CD85g, CD85g, CD85i, CD85j, CD85k, CD85m, CD86, CD87, CD88, CD89, CD90, CD91, CD92, CD93, CD94, CD95, CD96, CD97, CD98, CD99, CD100, CD101, CD102, CD103, CD104, CD105, CD106, CD107, CD107a, CD107b, CD108, CD109, CD110, CD111, CD112, CD113, CD114, CD115, CD116, CD117, CD118, CD119, CD120, CD120a, CD120b, CD121, CD121a, CD121b, CD122, CD123, CD123a, CD124, CD125, CD126, CD127, CD128, CD129, CD130, CD131, CD132, CD133, CD134, CD135, CD136, CD137, CD138, CD139, CD140, CD140a, CD140b, CD141, CD142, CD143, CD144, CD145, CDw145, CD146, CD147, CD148, CD149, CD150, CD151, CD152, CD153, CD154, CD155, CD156, CD156a, CD156b, CD156c, CD156d, CD157, CD158, CD158a, CD158b1, CD158b2, CD158c, CD158d, CD158e1, CD158e2, CD158f2, CD158g, CD158h, CD158i, CD158j, CD158k, CD159, CD159a, CD159b, CD159c, CD160, CD161, CD162, CD163, CD164, CD165, CD166, CD167, CD167a, CD167b, CD168, CD169, CD170, CD171, CD172, CD172a, CD172b, CD172g, CD173, CD174, CD175, CD175s, CD176, CD177, CD178, CD179, CD179a, CD179b, CD180, CD181, CD182, CD183, CD184, CD185, CD186, CDw186, CD187, CD188, CD189, CD190, CD191, CD192, CD193, CD194, CD195, CD196, CD197, CD198, CD199, CDw198, CDw199, CD200, CD201, CD202, CD202(a, b), CD203, CD203c, CD204, CD205, CD206, CD207, CD208, CD209, CD210, CDw210a, CDw210b, CD211, CD212, CD213, CD213a1, CD213a2, CD214, CD215, CD216, CD217, CD218, CD218a, CD218, CD21b9, CD220, CD221, CD222, CD223, CD224, CD225, CD226, CD227, CD228, CD229, CD230, CD231, CD232, CD233, CD234, CD235, CD235a, CD235b, CD236, CD237, CD238, CD239, CD240, CD240ce, CD240d, CD241, CD242, CD243, CD244, CD245, CD246, CD247, CD248, CD249, CD250, CD251, CD252, CD253, CD254, CD255, CD256, CD257, CD258, CD259, CD260, CD261, CD262, CD263, CD264, CD265, CD266, CD267, CD268, CD269, CD270, CD271, CD272, CD273, CD274, CD275, CD276, CD277, CD278, CD279, CD281, CD282, CD283, CD284, CD285, CD286, CD287, CD288, CD289, CD290, CD291, CD292, CD293, CD294, CD295, CD296, CD297, CD298, CD299, CD300, CD300a, CD300b, CD300c, CD301, CD302, CD303, CD304, CD305, CD306, CD307, CD307a, CD307b, CD307c, CD307d, CD307e, CD307f, CD308, CD309, CD310, CD311, CD312, CD313, CD314, CD315, CD316, CD317, CD318, CD319, CD320, CD321, CD322, CD323, CD324, CD325, CD326, CD327, CD328, CD329, CD330, CD331, CD332, CD333,

CD334, CD335, CD336, CD337, CD338, CD339, CD340, CD341, CD342, CD343, CD344, CD345, CD346, CD347, CD348, CD349, CD350, CD351, CD352, CD353, CD354, CD355, CD356, CD357, CD358, CD359, CD360, CD361, CD362, CD363, CD364, CD365, CD366, CD367, CD368, CD369, CD370, CD371, CD372, CD373, CD374, CD375, CD376, CD377, CD378, CD379, CD381, CD382, CD383, CD384, CD385, CD386, CD387, CD388, CD389, CRIPTO, CR, CR1, CRGF, CRIPTO, CXCR5, LY64, TDGF1, 4-1BB, APO2, ASLG659, BMPR1B, 4-1BB, 5AC, 5T4 (гликопротеин трофобласта, TPBG, 5T4, Wnt-активированный ингибирующий фактор 1 или WAIF1), аденокарциномантиген, AGS-5, AGS-22M6, киназа 1, подобная рецептору активина, AFP, AKAP-4, ALK, альфа-интергрин, альфа v бетта6, амино-пептидаза N, бета-амилоид, рецептор андрогенов, ангиопоэтин 2, ангиопоэтин 3, аннексин A1, защитный антиген от сибирской язвы, анти-трансферриновый рецептор, 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 (хемокин с мотивом C-C 11), CCR4 (хемокиновый рецептор C-C типа 4, CD194), CCR5, CD3E (эпсилон), CEA (карциноэмбриональный антиген), CEACAM3, CEACAM5 (карциноэмбриональный антиген) CFD (фактор D), Ch4D5, холецистокинин 2 (CCK2R), CLDN18 (клаудин-18), фактор слипания A, CRIPTO, FCSF1R (рецептор колониестимулирующего фактора 1, CD115), CSF2 (колониестимулирующий фактор 2, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF)), CTLA4 (цитотоксический T-лимфоцит-ассоциированный белок 4), опухолевый антиген CTAA16.88, CXCR4 (CD184), хемокиновый рецептор C-X-C типа 4, гидролаза циклического рыбозо АДФ, циклин B1, CYP1B1, цитомегаловирус, гликопротеин B цитомегаловируса, дабигатран, DLL3 (дельта-подобный лиганд 3), DLL4 (дельта-подобный лиганд 4), DPP4 (дипептидил-пептидаза 4), DR5 (рецептор смерти 5), E. coli shiga токсин тип-1, E. coli shiga токсин тип -2, ED-B, EGFL7 (EGF-подобный домен, содержащий белок 7), EGFR, EGFRII, EGFRvIII, эндолгин (CD105), рецептор эндотелина B, эндотоксин, EpCAM (молекула адгезии эпителиальных клеток), EphA2, эписиалин, ERBB2 (рецептор эпидермального фактора роста 2), ERBB3, ERG (ген слияния 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 (антиген клеточной

поверхности гливолипид), идиотип GD3, GloboH, глипикан 3, N-гликолилнейраминовая кислота, GM3, α-цепь рецептора GMCSF, фактор дифференцировки роста 8, GP100, GPNMB (трансмембранный гликопротеин NMB), GUCY2C (гуанилатциклаза 2C, гуанилатциклаза C (GC-C), гуанилатциклаза кишечника, рецептор гуанилатциклазы-C, рецептор термостабильного энтеротоксина (hSTAR)), белки теплового шока, гемагглютин, 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, гистоновый комплекс, HLA-DR (лейкоцитарный антиген человека), 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, гемаглютинин гриппа, IgE, область Fc, IGHE, IL-1, рецептор IL-2 (рецептор интерлейкина 2), IL-4, IL-5, IL-6, IL-6R (рецептор интерлейкина 6), IL-9, IL- 10, IL-12, IL-13, IL-16, IL-17, IL-17A, IL-20, IL-22, IL-23, IL31RA, ILGF2 (инсулиноподобный фактор роста 2), интегрины (α4, $\alpha_{IIb}\beta_3$, αvβ3, $\alpha_4\beta_7$, α5β1, α6β4, α7β7, αllβ3, α5β5, αvβ5), гамма-индуцированный белок интерферона, ITGA2, ITGB2, KIR2D, LCK, Le, легумаин, антиген Lewis-Y, LFA-1 (антиген ассоциированный с функцией лимфоцитов 1, 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 фактор ингибирования гликозилирования (GIF)), MS4A1 (член 1 подсемейства A с 4-мембранными доменами), MSLN (мезотелин), MUC1 (Муцин 1, ассоциированный с клеточной поверхностью (MUC1) или полиморфный эпителиальный муцин (PEM)), MUC1-KLH, MUC16 (CA125), MCP1 (хемотаксический белок моноцитов 1), MelanA/MART1, ML-IAP, MPG, MS4A1 (проникающий через мембрану подсемейства A с 4-мембранными доменами), 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, белок запрограммированной гибели клеток 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, Pseudomonas aeruginosa, PSMA, PSA, PSCA, гликопротеин вируса бешенства, RHD (полипептид Rh 1 (RhPI), CD240), резус-фактор, RANKL, RhoC, мутант Ras, RGS5, ROBO4, респираторно-синцитиальный вирус, RON, точки разрыва транслокации при саркоме, 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 (шеститрансмембранный эпителиальный антиген простаты 1), STEAP2, STn, TAG-72 (связанный с опухолью гликопротеин 72), сурвивин, Т-клеточный рецептор, трансмембранный белок Т-клеток, TEM1 (маркер эндотелия опухоли 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 опухолей 10B), TNFRSF13B (член суперсемейства рецепторов фактора некроза опухолей 13B), TPBG (гликопротеин трофобласта), TRAIL-R1 (рецептор индуцирующего апоптоз лиганда, связанного с фактором некроза опухоли 1), TRAILR2 (Рецептор смерти 5 (DR5)), ассоциированный с опухолью преобразователь сигнала кальция 2, опухоль-специфическое гликозилирование MUC1, рецептор TWEAK, TYRP1 (гликопротеин 75), TROP-2, TRP-2, тирозиназа, VCAM-1 (CD106), VEGF, VEG F-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 связывающаяся с клеткой молекула может представлять собой лиганд или агонист рецептора, выбранный из: производных фолата (связывающих 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); соматостатина (также известного как гормон, ингибирующий гормон роста (GHIH) или фактор, ингибирующий высвобождение соматотропина (SRIF)), или гормон, ингибирующий высвобождение соматотропина) и его аналога, такого как октреотид (сандостатин) и ланреотид (соматулин) (особенно для нейроэндокринных опухолей, GH-продуцирующей аденома гипофиза, параганглиомы, нефункциональной аденомы гипофиза, феохромоцитомы) (Ginj, M., et al, 2006, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 103, 16436-41); подтипов

рецепторов соматостатина (sst1, sst2, sst3, sst4, и sst5) при GH-секретирующих гипофизеаденомах (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), астроэнтеропанкреатических опухолях (Reubi J. C., et al, 1987 J Clin Endocrinol Metab 65: 1127–34; Reubi, J. C, et al, 1990 Cancer Res 50: 5969–77), феохромоцитомах (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), нейробластомах (Prevost G, 1996 Neuroendocrinology 63:188–197; Moertel, C. L, et al 1994 Am J Clin Path 102:752–756), медуллярном раке щитовидной железы (Reubi, J. C, et al 1991 Lab Invest 64:567–573), мелкоклеточном раке легких (Sagman U, et al, 1990 Cancer 66:2129–2133), менингиомах, медуллобластомах или глиомах (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), карциномах 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), лимфомах (Reubi J. C., et al 1992, Int J Cancer50: 895–900), почечно-клеточном раке (Reubi J. C., et al 1992, Cancer Res 52: 6074–6078), мезенхимальных опухолях (Reubi J. C., et al 1996 Cancer Res 56: 1922–31), раке 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), гепатоцеллюлярном раке (Kouroumalis E, et al 1998 Gut 42: 442–7; Reubi J. C., et al 1999 Gut 45: 66–774) и назофарингеальном раке (Loh K. S, et al, 2002 Virchows Arch 441: 444-8); ароматических сульфонамидов, (специфичных для карбоангидразы IX) (маркер гипоксии и почечно-клеточного рака) (Neri, D., et al, Nat. Rev. Drug Discov. 2011, 10, 767-7); пептидов, активирующих аденилатциклазу гипофиза (PACAP) (PAC1) для феохромоцитом и параганглиом; вазоактивных кишечных пептидов (VIP) и их рецепторных подтипов (VPAC1, VPAC2); рецепторов α-меланоцит-стимулирующего гормона (α-MSH); холецистокининовых (CCK)/гастриновых рецепторов и их рецепторных подтипов (CCK1 (ранее CCK-A) и CCK2; бомбезина (Pyr-Gln-Arg-Leu-Gly-Asn-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH_2)/гастрин-высвобождающего пептида (GRP) и их рецепторных подтипов (BB1, GRP рецепторный подтип (BB2), BB3 и BB4) (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); рецепторов нейротензина и его рецепторных подтипов (NTR1, NTR2, NTR3);

рецепторов вещества P и его рецепторных подтипов (таких как рецептор NK1 для глиальных опухолей, Hennig I. M., et al 1995 Int. J. Cancer 61, 786–792); рецепторов нейропептида Y (NPY) и его рецепторных подтипов (Y1–Y6); хоминг-пептидов, включая RGD (Arg-Gly-Asp), NGR (Asn-Gly-Arg), димерные и мультимерные циклические пептиды RGD (например, cRGDfV) (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); пептидов, проникающих в клетки (CPP) (Nakase I, et al, 2012, J. Control Release. 159(2),181–188); пептидных гормонов, таких как агонисты и антагонисты рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LHRH) и агонист гонадотропин-рилизинг-гормона (GnRH), которые воздействуют на выработку фолликулостимулирующего гормона (FSH) и выработку лютеинизирующего гормона (LH), а также 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-NH_2), 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-хлорPhe-D-3-(3-пиридил)Ala-Ser-4-аминоPhe(L-гидрооротил)-D-4-аминоPhe(карбамоил)-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)-гомоArg-Leu-(N9, N10-диэтил)-гомоArg-Pro-D-Ala-NH_2) (Thundimadathil, J., J. Amino Acids, 2012, 967347, doi:10.1155/2012/967347; Boccon-Gibod, L.; et al, 2011, Therapeutic Advances in Urology 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 рецепторов распознавания патернов (PRR), таких как Toll-подобные рецепторы (TLR), лектины C-типа

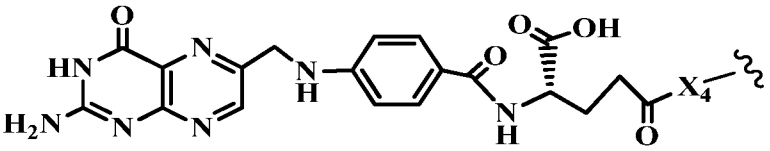
и Nod-подобные-рецепторы (NLRs) (Fukata, M., et al, 2009, Semin. Immunol. 21, 242–253; Maisonneuve, C., et al, 2014, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 111, 1–6; Botos, I., et al, 2011, Structure 19, 447–459; Means, T. K., et al, 2000, Life Sci. 68, 241–258), которые варьируются по размеру от малых молекул (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. Cancer Res. 13, 7119–25); рецепторов 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 рецепторов интегрина и его рецепторных подтипов (таких 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/молекулы, связывающиеся с клеткой или агонисты клеточных рецепторов могут представлять собой белковые каркасные молекулы на основе Ig и не на основе Ig. Каркасы на основе Ig могут быть выбраны, но не ограничены, из нанотела (производного VHH (Ig верблюдовых)) (Muyldermans S., 2013 Annu Rev Biochem. 82, 775–97); доменных антител (dAb, производное домена VH или VL) (Holt, L. J, et al, 2003, Trends Biotechnol. 21, 484–90); биспецифического рекрутера Т-клеток (BiTE, биспецифическое диатело) (Baeuerle, P. A, et al, 2009, Curr. Opin. Mol. Ther. 11, 22–30); переориентирующегося антитела с двойной аффинностью (DART, биспецифическое диатело) (Moore P. A. P, et al. 2011, Blood 117(17), 4542–51); четырехвалентных тандемных антителах (TandAb, димеризованное биспецифичное диатело) (Cochlovius, B, et al. 2000, Cancer Res. 60(16):4336–4341). Каркасы не на основе Ig могут быть выбраны, без ограничений, из антикалина (производного липокалинов) (Skerra A. 2008, FEBS J., 275 (11): 2677–83; Beste G, et al, 1999 Proc. Nat. Acad. USA. 96(5):1898–903; Skerra, A. 2000 Biochim Biophys Acta, 1482(1-2): 337–50; Skerra, A.

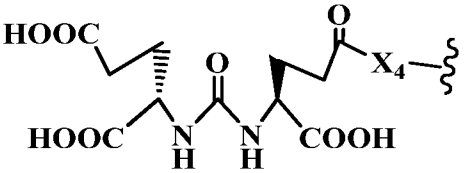
2007, Curr Opin Biotechnol. 18(4): 295–304; Skerra, A. 2008, FEBS J. 275(11):2677–83); аднектинов (10й FN3 (фибронектин)) (Koide, A, et al, 1998 J. Mol. Biol., 284(4):1141–51; Batori V, 2002, Protein Eng. 15(12): 1015–20; Tolcher, A. W, 2011, Clin. Cancer Res. 17(2): 363–71; Hackel, B. J, 2010, Protein Eng. Des. Sel. 23(4): 211–19); разработанных белков с анкириновым повтором (DARPin) (производные белков с анкириновым повтором (AR)) (Boersma, Y.L, et al, 2011 Curr Opin Biotechnol. 22(6): 849–57), например, DARPin C9, DARPin Ec4 и DARPin E69_LZ3_E01 (Winkler J, et al, 2009 Mol Cancer Ther. 8(9), 2674–83; Patricia M-K. M., et al, Clin Cancer Res. 2011; 17(1):100–10; Boersma Y. L, et al, 2011 J. Biol. Chem. 286 (48), 41273–85); авимеров (домен 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).

Примерами низкомолекулярных структур связывающихся с клетками молекул/лигандов или агонистов клеточных рецепторов в данной патентной заявке являются: LB01 (фолат), LB02 (лиганд PMSA), LB03 (лиганд PMSA), LB04 (лиганд PMSA), LB05 (соматостатин), LB06 (соматостатин), LB07 (октреотид, аналог соматостатина), LB08 (ланреотид, аналог соматостатина), LB09 (вапреотид (санвар), аналог соматостатина), LB10 (лиганд CAIX), LB11 (лиганд CAIX), LB12 (рецептор гастрин-рилизинг пептида (GRPr), MBA) LB13 (лиганд рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) и GnRH), LB14 (лиганд рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) и GnRH-лиганд), LB15 (антагонист GnRH, абареликс), LB16 (кобаламин, аналог витамина B12), LB17 (кобаламин, аналог витамина B12), LB18 (циклический пентапептид RGD для рецептора интегрина $\alpha_v\beta_3$), LB19 (гетеро-двухвалентный пептидный лиганд рецептора VEGF), LB20 (нейромедина B), LB21 (бомбезин для рецептора, сопряженного с G-белком), LB22 (TLR_2 для Toll-подобного рецептора), LB23 (для рецептора андрогена), LB24 (циленгитид/цикло(-RGDfV-) для рецептора интергрина α_v), LB23 (флудрокортизон), LB25 (аналог рифабутина), LB26 (аналог рифабутина), LB27 (аналог рифабутина), LB28 (флудрокортизон), LB29 (дексаметазон), LB30 (флутиказона пропионат), LB31 (беклометазона дипропионат), LB32 (триамцинолона ацетонид), LB33 (преднизон), LB34 (преднизолон), LB35 (метилпреднизолон), LB36 (бетаметазон), LB37 (аналог иринотекана), LB38 (аналог кризотиниба), LB39 (аналог бортезомиба), LB40 (аналог карфилзомиба), LB41 (аналог карфилзомиба), LB42 (аналог лейпролида), LB43 (аналог трипторелина), LB44 (клиндамицин), LB45 (аналог лираглутида), LB46 (аналог семаглутида), LB47 (аналог ретапамулина), LB48 (аналог инбулина), LB49 (аналог винбластина), LB50 (аналог ликсисенатида), LB51 (аналог осимертиниба), LB52 (аналог неуклеозида), LB53 (аналог

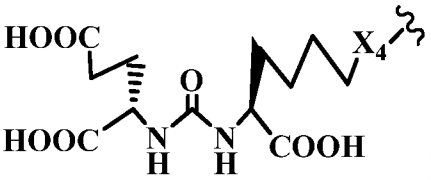
эрлотиниба) и LB54 (аналог лапатиниба), которые представлены следующими структурами:



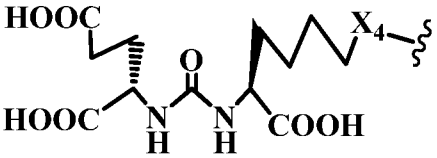
LB01 (конъюгат с фолатом),



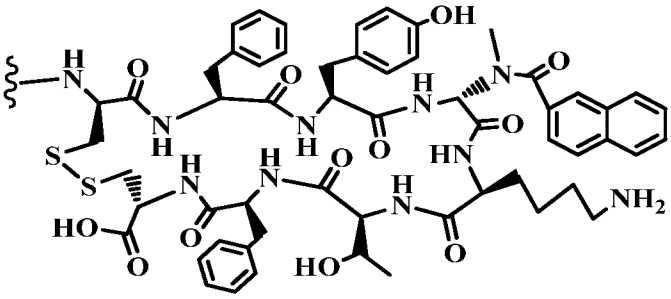
LB02 (конъюгат с лигандом PMSA),



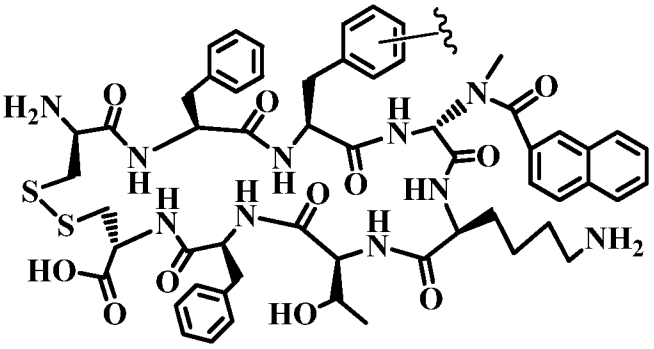
LB03 (конъюгат с лигандом PMSA),



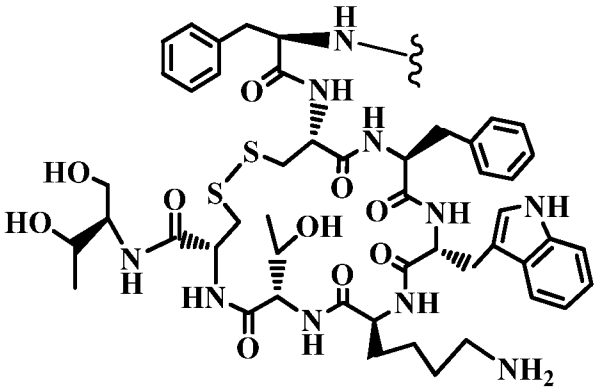
LB04 (лиганд PMSA),



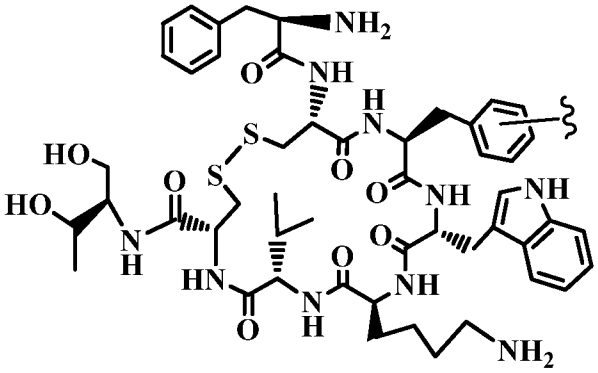
LB05 (соматостатин),



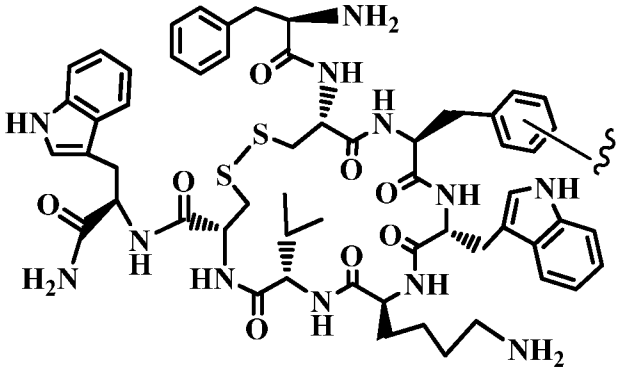
LB06 (соматостатин),



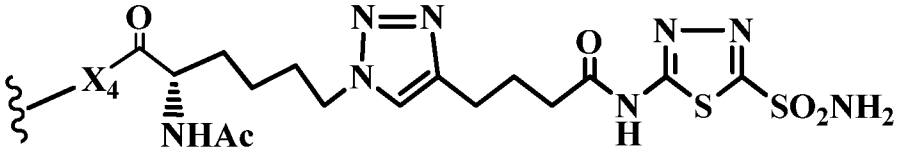
LB07 (октреотид, аналог соматостатина),



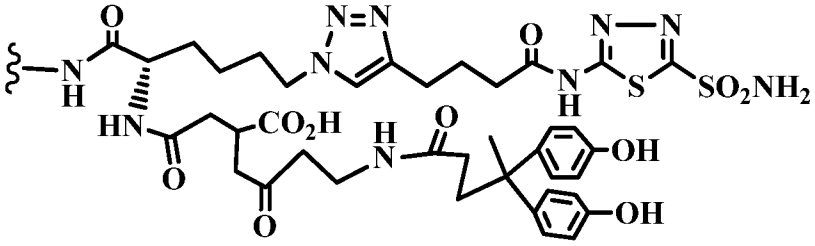
LB08 (ланреотид, аналог соматостатина),



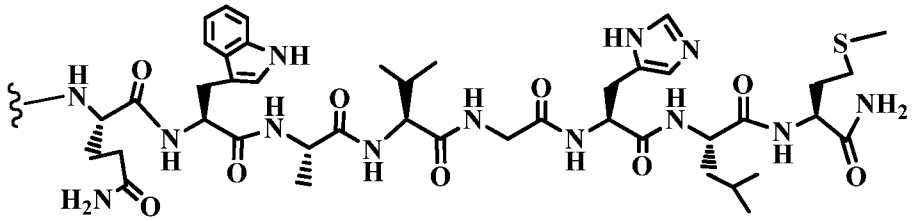
LB09 (вапреотид (санвар), аналог соматостатина),



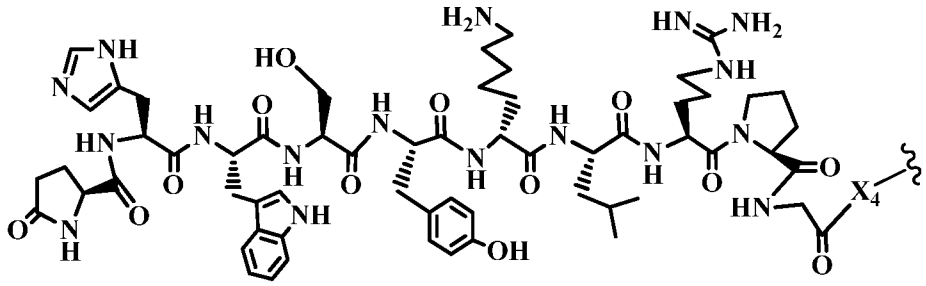
LB10 (лиганд CAIX),



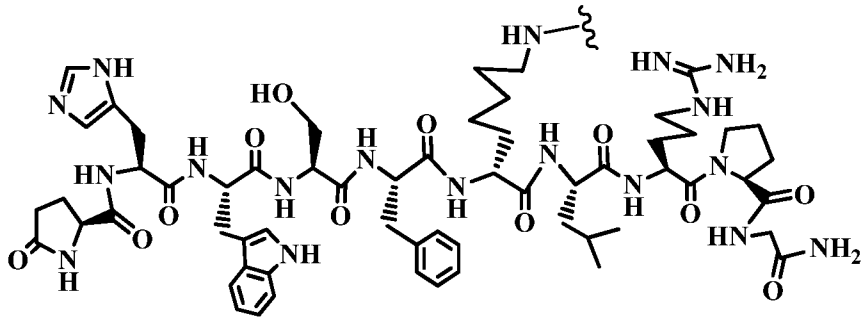
LB11 (лиганд CAIX),



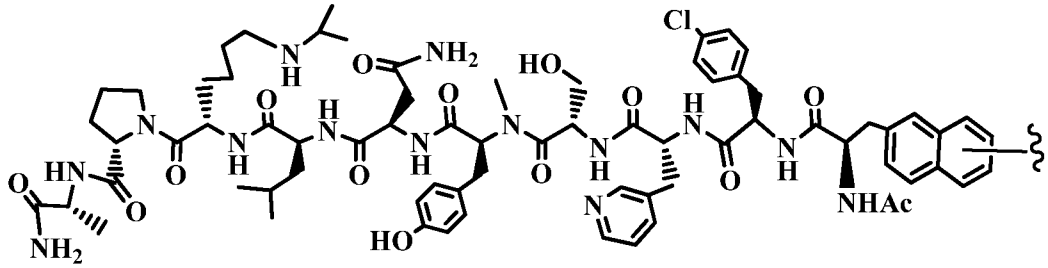
LB12 (рецептор гастрин-рилизинг пептида (GRPr), MBA),



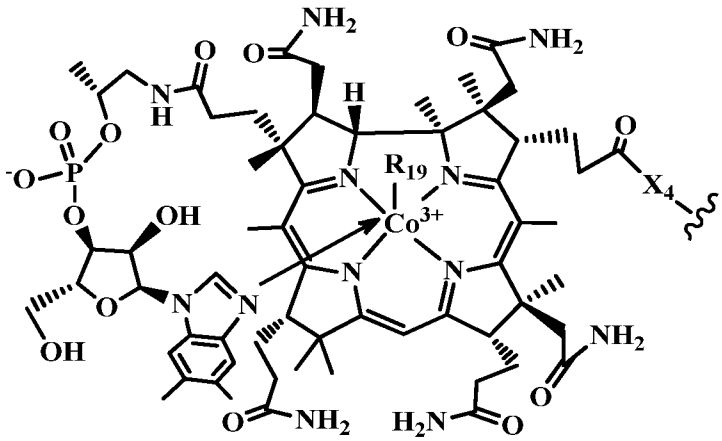
LB13 (лиганд рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) и GnRH),



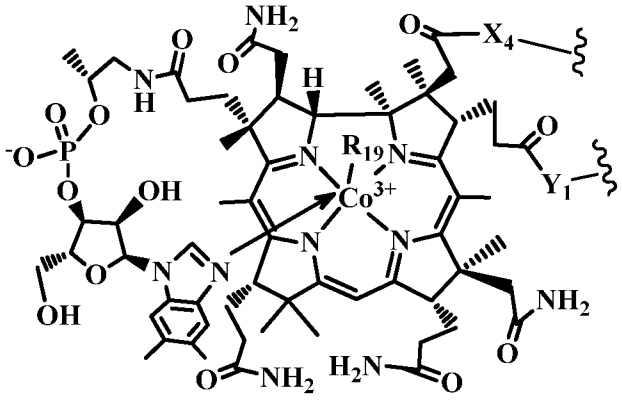
LB14 (лиганд рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) и GnRH),



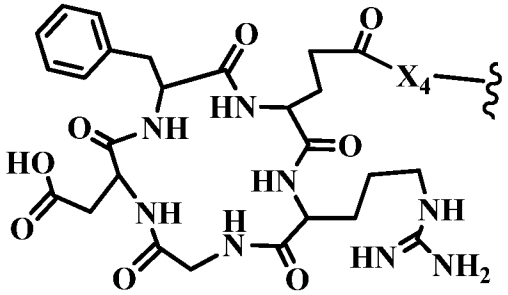
LB15 (GnRH антагонист, абареликс),



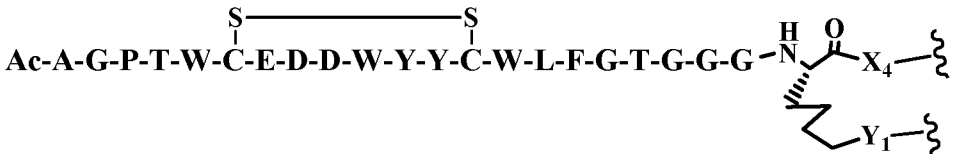
R_{19} представляет собой 5'-дезоксиаденозил, Me, OH, CN; LB16 (кобаламин, аналог витамина B12),



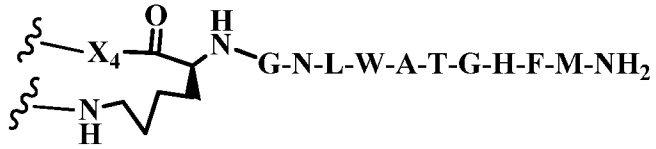
R_{19} представляет собой 5'-дезоксиаденозил, Me, OH, CN; LB17 (кобаламин, аналог витамина B12),



LB18 (рецептор интегрина $\alpha_v\beta_3$, циклический пентапептид RGD),

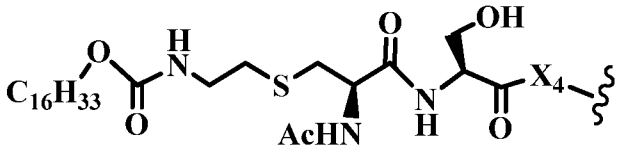


LB19 (конъюгат гетеро-двухвалентного пептидного лиганда рецептора VEGF),

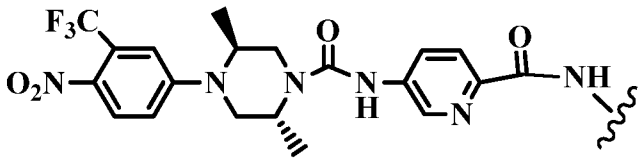


LB20 (нейромедин B),

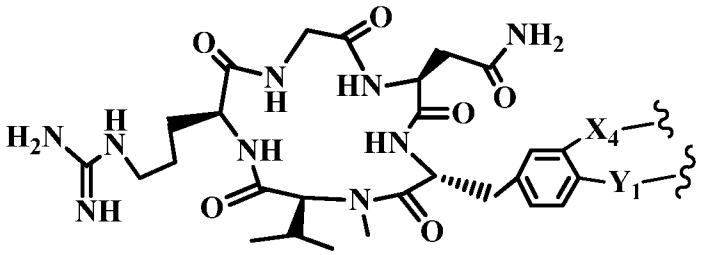
LB21 (конъюгат бомбезина для рецептора, сопряженного с G-белком),



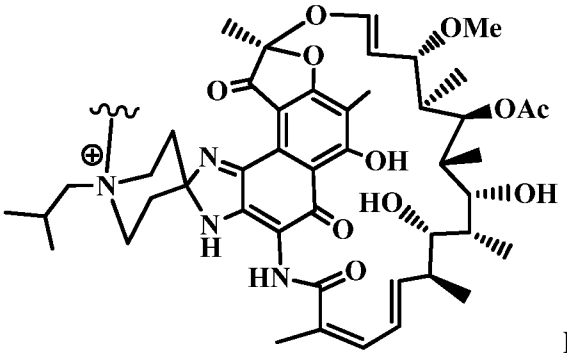
LB22 (конъюгат TLR_2 для Toll-подобного рецептора),



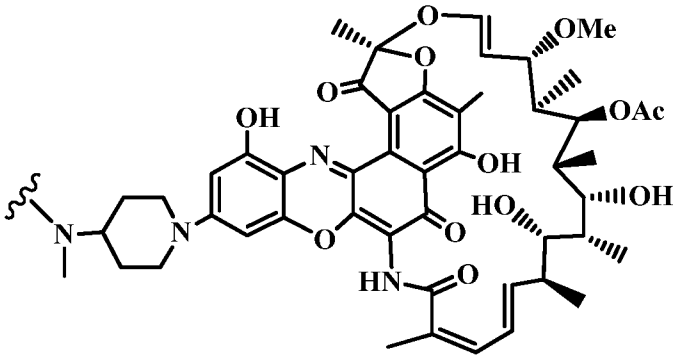
LB23 (рецептор андрогена),



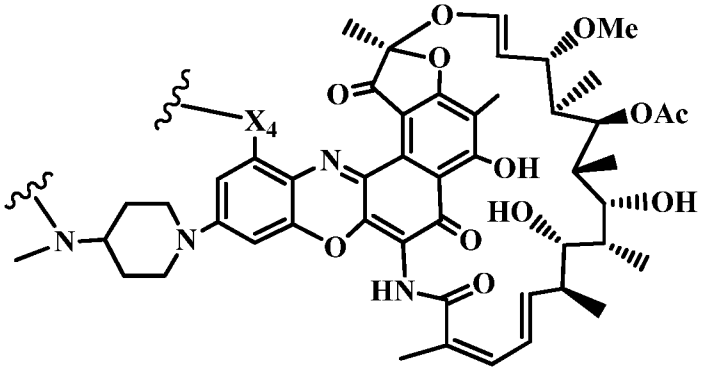
LB24 (циленгитид/цикло(-RGDfV-) конъюгат для рецептора интергрина α_v)



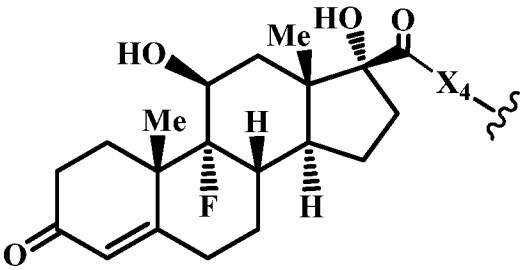
LB25 (аналог рифабутина),



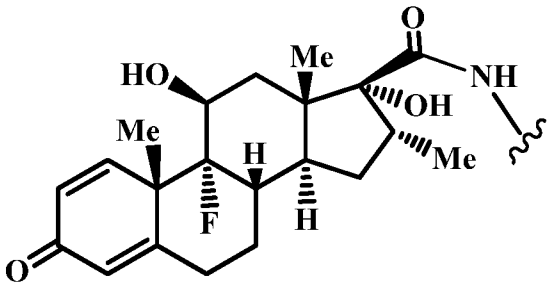
LB26 (аналог рифабутина),



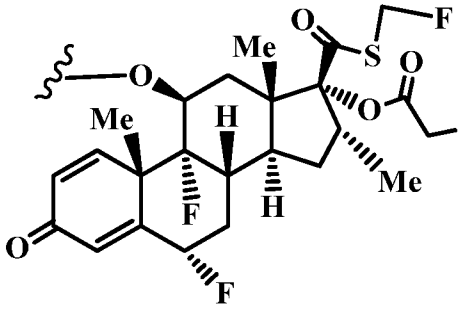
LB27 (аналог рифабутина),



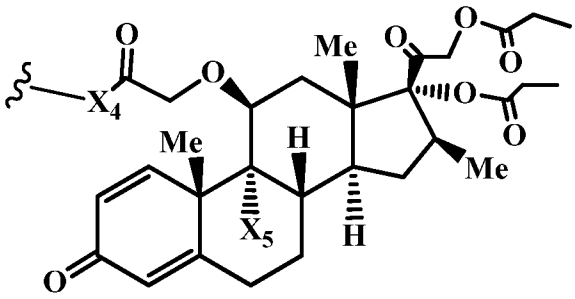
LB28 (флудрокортизон),



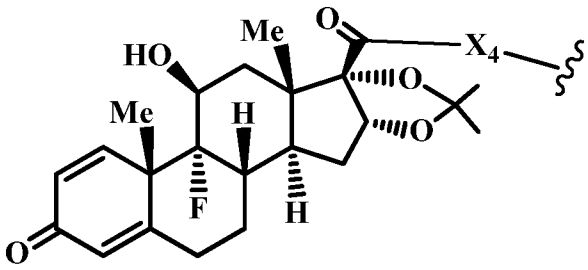
LB29 (дексаметазон),



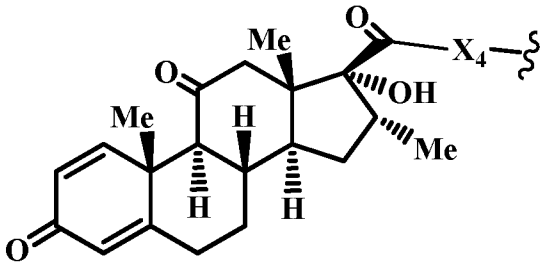
LB30 (флутиказона пропионат),



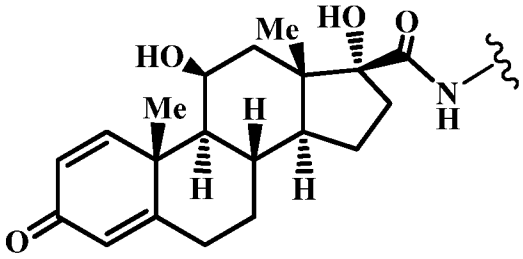
LB31 (беклометазона дипропионат),



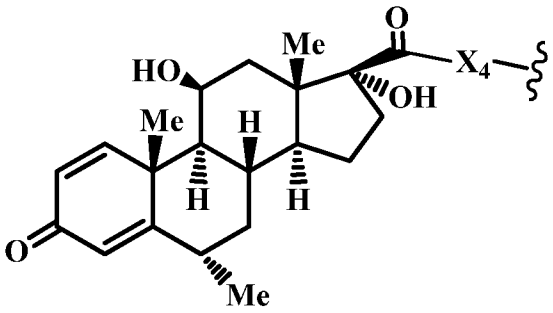
LB32 (триамцинолона ацетонид),



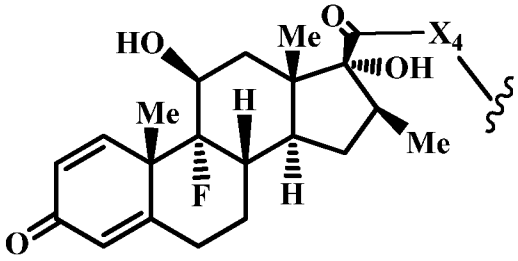
LB33 (преднизон),



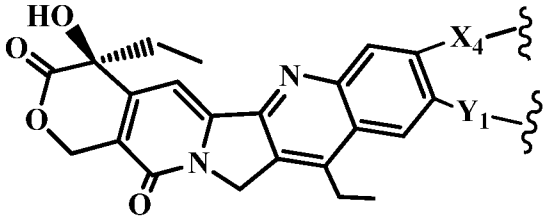
LB34 (преднизолон),



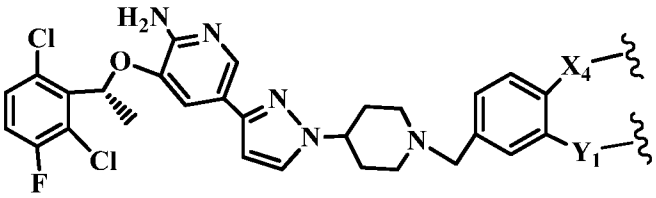
LB35 (метилпреднизолон),



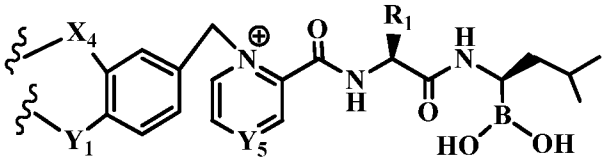
LB36 (бетаметазон),



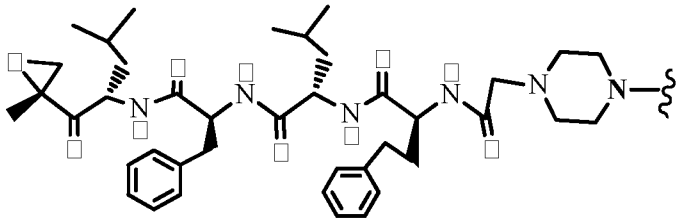
LB37 (аналог иринотекана),



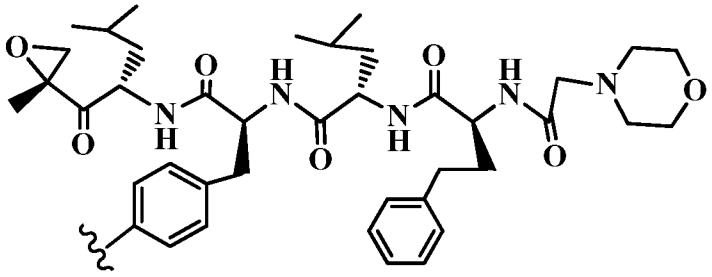
LB38 (аналог кризотиниба),



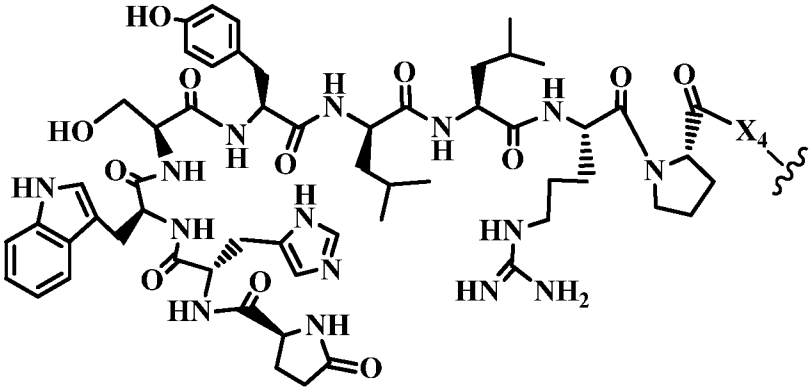
LB39 (аналог бортезомиба), где Y_5 представляет собой N, CH, C(Cl), $C(CH_3)$ или $C(COOR_1)$; R_1 представляет собой H, C_1-C_6 алкил, C_3-C_8 Ar;



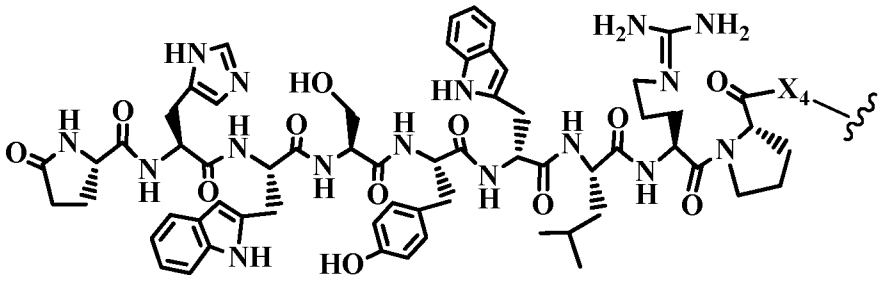
LB40 (аналог карфилзомиба),



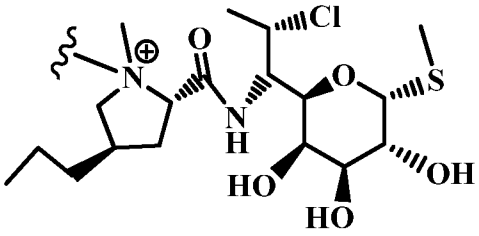
LB41 (аналог карфилзомиба),



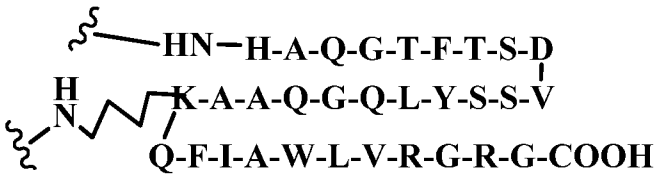
LB42 (аналог лейпролида),



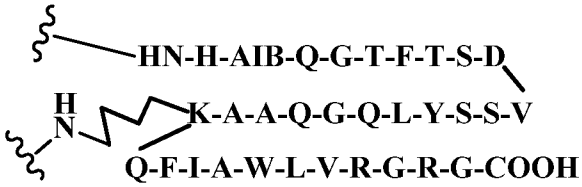
LB43 (аналог трипторелина),



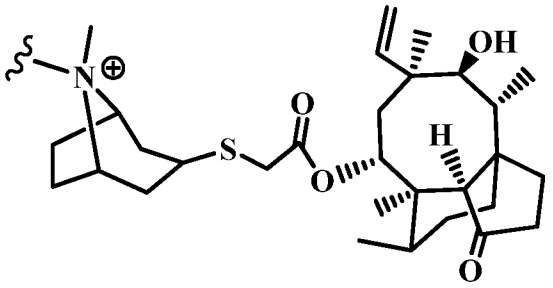
LB44 (клиндамицин),



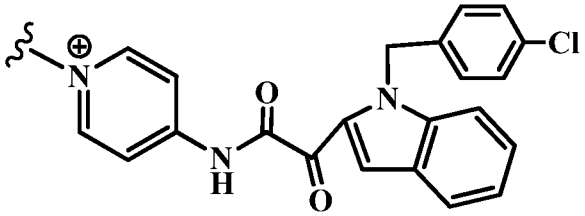
LB45 (аналог лираглутида),



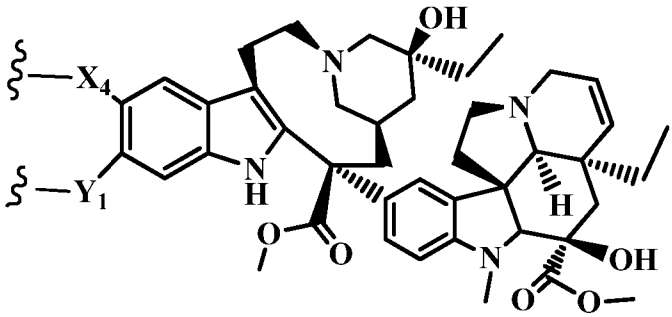
LB46 (аналог семаглутида),



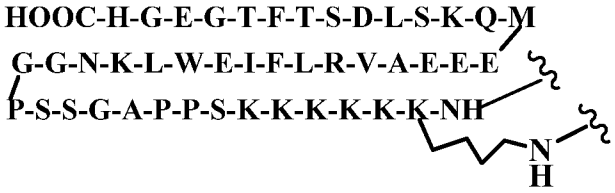
LB47 (аналог ретапамулина),



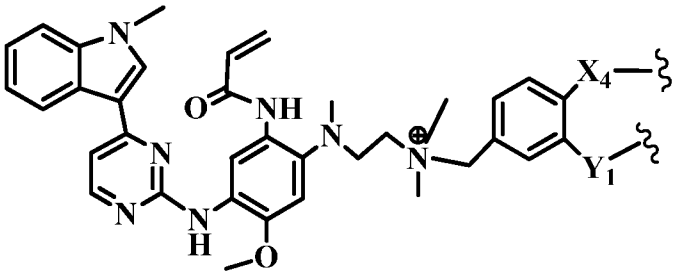
LB48 (аналог инбулина),



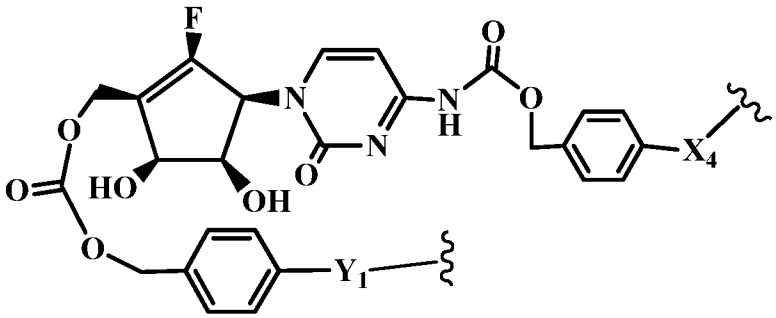
LB49 (аналог винбластина),



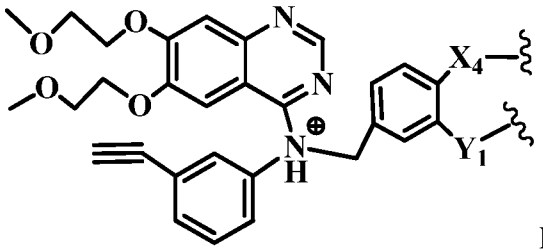
LB50 (аналог ликсисенатида),



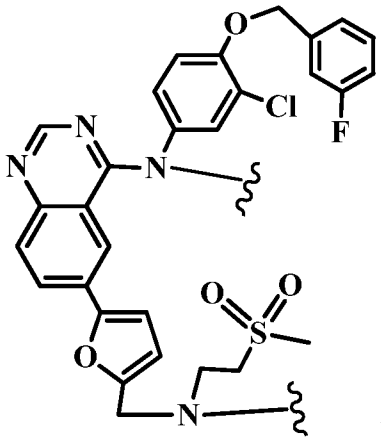
LB51 (аналог осимертиниба),



LB52 (аналог неуклеозида),



LB53 (аналог эрлотиниба),



LB54 (аналог эрлотиниба),

где « ∿∿ » представляет собой участок для присоединения линкера боковой цепи по настоящему патенту; X_4 и Y_1 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_1, S, C(O)O, C(O)NH, OC(O)NH, OC(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)S, OC(O)N(R_1), N(R_1)C(O)N(R_1), CH_2, C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1; X_1 представляет собой H, CH_2, OH, O, C(O), C(O)NH, C(O)N(R_1), R_1, NHR_1, NR_1, C(O)R_1 или C(O)O; X_5 представляет собой H, CH_3, F или Cl; M_1 и M_2 независимо представляют собой H, Na, K, Ca, Mg, NH_4, N($R_{12}R_{12'}R_{13}$ $R_{13'}$); R_{12}, $R_{12'}$, R_{13} и $R_{13'}$ определены в Формуле (I);

В другом варианте реализации вышеупомянутые лиганды могут использоваться в качестве полезных нагрузок для конъюгирования с клеточно-связывающей молекулой (например, антителом) через линкеры боковой цепи данного изобретения для целевого лечения или предотвращения рака, инфекции и аутоиммунного заболевания.

В еще одном варианте осуществления одна, две или более ДНК, РНК, мРНК, малые интерферирующие РНК (миРНК), микроРНК (микроРНК) и PIWI взаимодействующие РНК (пиРНК), могут быть конъюгированы с молекулой, связывающейся с клеткой через линкеры боковой цепи согласно данного патента. 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, миРНК, микроРНК или пиРНК в данном документе могут быть одно- или двуцепочечными с нуклеотидными единицами от 3 до 1 миллиона, и некоторые из этих нуклеотидов могут быть неприродными (синтетическими), например, как в олигонуклеотиде с фосфоротиоатной связью, например, в фомивирсене или

нуклеотиды могут быть связанными фосфоротиоатными связями, вместо фосфодиэфирных связей в природных РНК и ДНК, и фрагменты сахара представляют собой дезоксирибозу в средней части молекулы и 2'-О-метоксиэтилмодифицированную рибозу на двух концах, как, например, в мипомерсене или олигонуклеотид, полученный из пептидной нуклеиновой кислоты (PNA), морфолино, фосфоротиоата, тиофосфорамидата или с 2'-О-метоксиэтил (MOE), 2'-О-метил, 2'-фтор, блокированной нуклеиновой кислоты (LNA) или бициклическая нуклеиновая кислота (BNA) рибозного сахара или нуклеиновые кислот модифицированы 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 200 нуклеотидов. Примеры структур нуклеотидов для конъюгатов проиллюстрированы ниже:

, SI01,

, SI02

где X_1, “ ” являются такими, как определено в Формуле (I) или выше; представляет собой одинарные или двойные цепи ДНК, РНК, мРНК, миРНК, микроРНК или пиРНК; Y предпочтительно представляет собой O, S, NH или CH_2.

ПРИМЕНЕНИЕ КОНЪЮГАТА

В конкретном варианте осуществления конъюгаты связывающегося с клеткой лиганда и лекарственного средства, связанные через линкеры боковой цепи 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 агента, связывающегося с клеткой и лекарственного средства по данному изобретению используются в соответствии с композициями и способами для лечения или профилактики аутоиммунного заболевания. Аутоиммунные заболевания включают, 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 пурпура (см. аутоиммунная тромбоцитопеническая пурпура), IgA нефропатию (также болезнь Бергера), миозит включающего тела, воспалительную демиелинизирующую полинеопатию, интерстициальный цистит, синдром раздраженного кишечника, ювенильный идиопатический артрит, ювенильный ревматоидный артрит, болезнь Кавасаки, миастенический синдром Ламберта-Итона, лейкоцитокластический васкулит, красный плоский лишай, склеротический лишай, болезнь линейного IgA (LAD), болезнь Лу Герига (также боковой амиотрофический склероз), люпоидный гепатит, красную волчанку, синдром Мажида, болезнь 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 линкеры боковой цепи, по настоящему изобретению для лечения или профилактики аутоиммунного заболевания, может быть, без ограничений, антиэластиновым антителом; антителом против антител к эпителиальным клеткам; белковым антителом к базальному мембранному коллагену 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-тиреоглобулиновым 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; анти-топоизомераза антителом; анти-нейтрофил цитоплазматическим (cANCA) антителом.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления связывающая молекула для конъюгата по настоящему изобретению может связываться как с рецептором, так и с рецепторным комплексом, экспрессируемым на поверхности активированного лимфоцита, который ассоциируется с аутоиммунным заболеванием. Рецептор или рецепторный комплекс может содержать член суперсемейства генов иммуноглобулинов (например, CD2, CD3, CD4, CD8, CD19, CD20, CD22, CD28, CD30, CD33, CD37, CD38, CD56, CD70, CD79, CD79b, CD90, CD125, CD137, CD138, CD147, CD152/CTLA-4, PD-1 или ICOS), член суперсемейства рецепторов TNF (например, CD27, CD40, CD95/Fas, CD134/OX40, CD137/4-1BB, INF-R1, TNFR-2, RANK, TACI, BCMA, остеопротегерин, Apo2/TRAIL-R1, TRAIL-R2, TRAIL-R3, TRAIL-R4 и APO-3), интегрин, рецептор цитокинов, рецептор хемокинов, главный белок гистосовместимости, лектин (C-тип, S-тип или I-тип) или контрольный белок комплемента.

В другом конкретном варианте осуществления полезные клеточно-связывающие лиганды, 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, без ограничений, любой вирусный пептид, полипептидный белок (например, ВИЧ gp120, ВИЧ-nef, гликопротеин RSV F, нейрамимидазу 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, без ограничений, любой микробный пептид, полипептид, белок, сахарид, полисахарид или молекулу липида (например, полипептиды бактерий, грибов, патогенных простейших или дрожжей, включая, например, LPS и капсульный полисахарид 5/8), который способен вызывать иммунный ответ. Примеры антител, доступных для лечения вирусной или микробной инфекции, включают, без ограничений, паливизумаб, который представляет собой гуманизированное моноклональное антитело против респираторного синцитиального вируса для лечения инфекции RSV; PRO542, который представляет собой слитое антитело CD4 для лечения ВИЧ-инфекции; оставир, который представляет собой антитело человека для лечения вируса гепатита B; ПРОТВИР, который представляет собой гуманизированное антитело IgG 1 для лечения цитомегаловируса; и анти-LPS антитела.

Конъюгаты клеточно-связывающей молекулы и лекарственного средства, связанные через линкеры боковой цепи 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 (остричная инфекция), энтерококовую 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 А, стрептококковую инфекцию группы В, гемофилическую инфекцию, энтеровирусный везикулярный стоматит (HFMD), хантавирусный легочный синдром, инфекция Helicobacter pylori, гемолитико-уремический синдром, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, гепатит А, гепатит В, гепатит С, гепатит D, гепатит Е, 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, менингококовую 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.

Конъюгаты изобретения, более предпочтительно будут связываться с патогенными штаммами, включая, без ограничений, Acinetobacter baumannii, Actinomyces israelii, Actinomyces gerencseriae и Propionibacterium propionicus, Trypanosoma brucei, ВИЧ (вирус иммунодефицита человека), Entamoeba histolytica, Anaplasma genus, Bacillus anthracis, Arcanobacterium haemolyticum, вирус Junin, Ascaris lumbricoides, Aspergillus genus, семейство Astroviridae, Babesia genus, Bacillus cereus, разнообразные бактерии, Bacteroides genus, Balantidium coli, Baylisascaris genus, BK вирус, Piedraia hortae, Blastocystis hominis, Blastomyces dermatitides, Machupo вирус, Borrelia genus, Clostridium botulinum, Sabia, Brucella genus, обычно Burkholderia cepacia и другие виды Burkholderia, Mycobacterium ulcerans, семейство Caliciviridae, Campylobacter genus, обычно Candida albicans и другие виды Candida, Bartonella henselae, группа 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, Cryptosporidium genus, Ancylostoma braziliense; разнообразные паразиты, Cyclospora cayetanensis, Taenia solium, Cytomegalovirus, Dengue viruses (DEN-1, DEN-2, DEN-3 и DEN-4) – флавивирусы, Dientamoeba fragilis, Corynebacterium diphtheriae, Diphyllobothrium, Dracunculus medinensis, эболавирус, род Echinococcus, род Ehrlichia, Enterobius vermicularis, род Enterococcus, род Enterovirus, Rickettsia prowazekii, парвовирус B19, герпесвирус человека 6 и герпесвирус человека 7, Fasciolopsis buski, Fasciola hepatica и Fasciola gigantica, FFI прион, Filarioidea суперсемейство, Clostridium perfringens, Fusobacterium genus, Clostridium perfringens; другие виды Clostridium, Geotrichum candidum, GSS прион, Giardia intestinalis, Burkholderia mallei, Gnathostoma spinigerum и Gnathostoma hispidum, Neisseria gonorrhoeae, Klebsiella granulomatis, Streptococcus pyogenes, Streptococcus agalactiae, Haemophilus influenzae, энтеровирусы, в основном вирус коксаки 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, Leishmania genus, Mycobacterium leprae и Mycobacterium lepromatosis, Leptospira genus, Listeria monocytogenes, Borrelia burgdorferi и другие виды Borrelia, Wuchereria bancrofti и Brugia malayi, вирус лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), Plasmodium genus, марбургский вирус, вирус кори, Burkholderia pseudomallei, Neisseria meningitides, Metagonimus yokagawai, Microsporidia phylum, вирус контагиозного моллюска (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, Pasteurella genus, Pediculus humanus capitis, Pediculus humanus corporis, Phthirus pubis, Bordetella pertussis, Yersinia pestis, Streptococcus pneumoniae, Pneumocystis jirovecii, полиовирус, Prevotella genus, Naegleria fowleri, вирус JC, Chlamydophila psittaci, Coxiella burnetii, вирус бешенства, Streptobacillus moniliformis и Spirillum minus, респираторно-синцитиальный вирус, Rhinosporidium seeberi, риновирус, Rickettsia genus, Rickettsia akari, вирус лихорадки долины Рифт, Rickettsia rickettsii, ротавирус, вирус коревой краснухи, Salmonella genus, коронавирус SARS, Sarcoptes scabiei, Schistosoma genus, Shigella genus, вирус ветряной оспы, Variola major или Variola minor, Sporothrix schenckii, Staphylococcus genus, Staphylococcus genus, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Strongyloides stercoralis, Treponema pallidum, Taenia genus, Clostridium tetani, Trichophyton genus, Trichophyton tonsurans, Trichophyton genus, Epidermophyton floccosum, Trichophyton rubrum, и Trichophyton mentagrophytes, Trichophyton rubrum, Hortaea werneckii, Trichophyton genus, Malassezia genus, Toxocara canis или Toxocara cati, Toxoplasma gondii, Trichinella spiralis, Trichomonas vaginalis, Trichuris trichiura, Mycobacterium tuberculosis, Francisella tularensis, Ureaplasma urealyticum, вирус венесуэльского энцефалита лошадей, Vibrio 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).

Дополнительные конъюгаты изобретения для применения при лечении вирусных заболеваний включают конъюгаты для лечения вирусов, включая, но не ограничиваясь вирусами Poxyiridae, Herpesviridae, Adenoviridae, Papovaviridae, Enteroviridae, Picornaviridae, Parvoviridae, Reoviridae, Retroviridae, вирусами гриппа, вирусами парагриппа, паротита, кори, респираторно-синцитиальным вирусом, вирусом коревой краснухи, Arboviridae, Rhabdoviridae, Arenaviridae, не-А/не-В вирусом гепатита, Rhinoviridae, Coronaviridae, Rotoviridae, онковирусом [таким как, HBV (гепатоцеллюлярная карцинома), HPV (рак шейки матки, рак ануса), ассоциированный с саркомой Капоши герпесвирусом (саркома Капоши), вирусом Эпштейна-Барр (назофарингеальная карцинома, лимфома Беркитта, первичная лимфома центральной нервной системы), MCPyV (рак клеток Меркеля), SV40 (вирус обезьян 40), HCV (гепатоцеллюлярная карцинома), HTLV-I (Т-клеточный лейкоз/лимфома взрослых)], иммунные расстройства вызванные вирусом: [таким как вирус иммунодефицита человека (СПИД)]; вирус, поражающий центральную нервную систему: [такой как JCV (прогрессирующая мультифокальная лейкоэнцефалопатия), MeV (подострый склерозирующий лейкоэнцефалит), LCV (лимфоцитарный хориоменингит), Arbovirus encephalitis, Orthomyxoviridae (возможно) (Encephalitis lethargica), RV (бешенство), вирус Chandipura, герпесвирусный менингит, синдром Рамсея-Ханта тип II; 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) ортомиксовирусы: вирус гриппа A/B/C (грипп/птичий грипп), парамиксовирус: вирусы парагриппа человека (парагрипп), RSV (респираторный синцитиальный вирус человека), hMPV]; вирус, поражающий пищеварительную систему [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 онкологических заболеваний, инфекций или аутоиммунных расстройств. Способ лечения онкологических 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 берут костный мозг, а затем инкубируют в среде, содержащей сыворотку, к которой добавляют конъюгат по изобретению, в диапазоне концентраций от около 1 пМ до 0,1 мМ, в течение от около 15 минут до около 48 часов при температуре около 37 °C. 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.

ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО /ЦИТОТОКСИЧЕСКИЙ АГЕНТ ДЛЯ СИНЕРГИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ИЛИ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ НАГРУЗКИ ДЛЯ КОНЬЮГАТА С ЛИНКЕРОМ

Химиотерапевтическое лекарственное средство, которое можно использовать в качестве полезной нагрузки для конъюгирования по настоящему изобретению или вместе с конъюгатом по настоящему изобретению для синергического лечения, представляет собой низкомолекулярные лекарственные средства, включая цитотоксические агенты. Термин «низкомолекулярное лекарственное средство» широко используется в данном документе для обозначения органического, неорганического или металлоорганического соединения, которое может иметь молекулярную массу, например, от 100 до 2500, более подходяще от 200 до 2000. Низкомолекулярные лекарственные средства хорошо охарактеризованы в данной области техники, например, в WO05058367A2 и в патенте США № 4956303, и в: Chessum, N., et al, Prog Med Chem. 2015, 54: 1-63; Eder, J., et al, Nat Rev Drug Discov. 2014, 13(8): 577-87; Zhang, M.-Q., et al, Curr Opin Biotechnol. 2007, 18(6): 478-88; среди прочего и полностью включены в качестве ссылки. Лекарственные средства включают в себя известные лекарственные средства и те, которые могут стать известными лекарственными средствами.

Известные цитотоксические лекарственные средства включают, но не ограничиваются ими, 1). Химиотерапевтические агенты: a). 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; CC-1065 (включая его синтетические аналоги адозелезин, карзелезин и бизелезин); дуокармицин (включая синтетические аналоги, димеры KW-2189, CBI-TMI); 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]; b). растительные алкалоиды: такие как алкалоиды барвинка: (винкристин, винбластин, виндезин, винорелбин, навелбин); таксоиды: (паклитаксел, доцетаксол) и их аналоги, майтанзиноиды (DM1, DM2, DM3, DM4, майтанзин и ансамитоцины) и их аналоги, криптофицины (в частности, криптофицин 1 и криптофицин 8); эпотилоны, элеутеробин, дискодермолид, бриостатины, долостатины, ауристатины,

аматоксины, цефалостатины; панкратистатин; саркодиктин; спонгистатин; c). 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 C)]; d). антиметаболиты: такие как {[антифолаты: 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: аналогов 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)]; пополнитель запаса фолиевой кислоты, такой как фролиновая кислота}; e). гормональные терапевтические средства: такие как {антагонисты рецепторов: [антиэстрогенов: (мегестрол, ралоксифен, тамоксифен); агонисты LHRH: (гозерелин, лейпролид ацетат); антиандрогены: (бикалутамид, флутамид, калустерон, дромостанолон пропионат, эпитиостанол, гозерелин, лейпролид, мепитиостан, нилутамид, тестолактон, трилостан и другие ингибиторы андрогенов)]; ретиноиды/дельтоиды: [аналогов 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 (PARP), такие как олапариб, нирапариб, инипариб, талазопариб, велипариб, велипариб, CEP 9722 (Cephalon), E7016 (Eisai), BGB-290 (BeiGene), 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, 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; PSK®; разоксан; ризоксин; сизофиран; спирогерманий; тенуазоновая кислота; триазиквон; 2,2',2''-трихлортриэтиламин; трихотецены (особенно токсин T-2, веррукарин A, роридин A и ангуидин); уретан, миРНК, антисмысловые лекарственные средства и нуклеолитический фермент.

2). Агент для лечения аутоиммуных заболеваний включает, без ограничений, циклоспорин, циклоспорин А, аминокапроновую кислоту, азатиоприн, бромокриптин, хлорамбуцил, хлорохин, циклофосфамид, кортикостероиды (например, амциниониды, бетаметазон, будесониды, гидрокортизон, флунизолид, флутиказон пропионат, флуокортолон даназол, дексаметазон, триамцинолона ацетонид, беклометазона дипропионат), DHEA, энанерцепт, гидроксихлорохин, инфликсимаб, мелоксикам, метотрексат, мофетил, микофенилат, преднизон, сиролимус, такролимус.

3). Агент для лечения инфекционного заболевания включает в себя, без ограничений, 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). Противовирусные 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-1-2'-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 А, церагенин, циановирин-н, диарилпиримидины, эпигаллокатехин галлат (EGCG), фоскарнет, гриффитсин, тарибавирин (вирамидин), гидроксимочевина, KP-1461, милтефозин, плеконарил, комбинированные гибридные ингибиторы рибавирин, селицилиб.

5). Радиоизотоп для лучевой терапии. 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 антитела и лекарственного средства (Wu et al (2005) Nature Biotechnology 23(9): 1137-46). Клеточно-связывающие молекулы, например антитело, могут быть меченными реагентами лигандами, 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). Другие конъюгаты связывающейся с клеткой молекулы и лекарственного средства в качестве синергетической терапии. Предпочтительный синергетический конъюгат может представлять собой конъюгат, в состав которого входит цитотоксический агент, такой как аналог тубулизина, аналог майтансиноида, аналог таксаноидов (таксан), аналог CC-1065, соединение даунорубицина и доксорубицина, аналог аматоксина, димер бензодиазепина

(например, димеры пирролобензодиазепина (PBD), томаймицина, антрамицина, индолинбензодиазепинов, имидазобензотиадиазепинов или оксазолидинобензодиазепинов), калихеамицины и соединение энедииновых антибиотиков, актиномицин, азасерин, блеомицины, эпирубицин, тамоксифен, идарубицин, доластатин, ауристатин (например, монометилауристатин E, MMAE , MMAF, ауристатин PYE, ауристатин TP, ауристатины 2-AQ, 6-AQ, EB (AEB), и EFP (AEFP)), дуокармицины, гелданамицины, метотрексаты, тиотепа, виндезины, винкристины, гемиастерлины, назумамиды, микрогинины, радиозумины, альтеробактины, микросклеродермины, теонелламиды, эсперамицины, PNU-159682 и их аналоги и производные.

7). Фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные любого из вышеуказанных лекарственных средств.

В еще одном варианте осуществления иммунотоксин может быть конъюгирован с молекулой, связывающейся с клеткой через боковой линкер изобретения. 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.

При другом виде синергетической иммунотерапии вместе с конъюгатами по настоящему патенту для синергетической терапии предпочтительно использовать антитело-ингибитор контрольной точки, TCR (Т-клеточные рецепторы) Т-клетки или CAR (химерные антигенные рецепторы) Т-клеток или В-клеточных рецепторов (BCR), естественных клеток-киллеров (NK) или цитотоксических клеток, или антитело к CD3, CD4, CD8, CD16 (FcγRIII), CD19, CD20, CD22, CD25, CD27, CD30, CD33, CD37, CD38, CD40, CD40L, CD45RA, CD45RO, CD56, CD57, $CD57^{bright}$, CD70, CD79, CD79b, CD123, CD125, CD138, TNFβ, Fas-лиганду, молекулы MHC класса I (HLA-A, B, C), VEGF или NKR-P1.

ИЗГОТОВЛЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ И ПРИМЕНЕНИЕ

Конъюгаты по заявке на патент составляются в жидком виде или пригодны для лиофилизации, и впоследствии восстанавливаются до жидкой композиции. Содержание конъюгата в жидкой композиции или в составе лиофилизированного порошке может составлять от 0,01 до 99% масс. в качестве основного ингредиента в композиции. В общем, 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 тоничность (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 композициях включают, без ограничений, соли органических кислот, такие как натриевые, калиевые, аммониевые или тригидроксиэтиламино соли лимонной кислоты, аскорбиновой кислоты, глюконовой кислоты, угольной кислоты, винной кислоты, янтарной кислоты, уксусной кислоты или фталевой кислоты; трис, трометамина гидрохлорид, сульфатный или фосфатный буфер. Кроме того, аминокислотные катионные 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. Композиции буферов имеют pH от 4,5 до 7,5, предпочтительно от около 4,5 до около 6,5, более предпочтительно от около 5,0 до около 6,2. В некоторых вариантах осуществления концентрация солей органических кислот в буфере составляет от около 10 мМ до около 500 мМ.

«Полиол», который необязательно может быть включен в состав, представляет собой вещество с несколькими гидроксильными группами. Полиолы могут быть использованы в качестве стабилизирующих наполнителей и/или агентов изотоничности как в жидких, так и в лиофилизированных составах. Полиолы могут защищать биофармацевтические препараты как от физического, так и от химического разложения. Преимущественно

исключенные сорастворители увеличивают эффективное поверхностное натяжение растворителя на границе раздела белков, благодаря чему наиболее энергетически выгодные структурные конформации представляют собой структуры с наименьшей площадью поверхности. Полиолы включают сахара (восстанавливающие и невосстанавливающие сахара), сахарные спирты и сахарные кислоты. «Восстанавливающий сахар» представляет собой такой спирт, который содержит гемиацетальную группу, которая может восстанавливать ионы металлов или ковалентно реагировать с лизином и другими 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. Содержание полиола в жидком составе или в составе лиофилизированного твердого вещества может составлять 0,0–20% масс. Предпочтительно невосстанавливающий сахар: сахароза или трегалоза в концентрации около от 0,1% до 15% выбирается в составе, где трегалоза предпочтительнее сахарозы из-за стабильности раствора трегалозы.

Поверхностно-активное вещество, необязательное в композициях, выбирают из полисорбата (полисорбат 20, полисорбат 40, полисорбат 65, полисорбат 80, полисорбат 81, полисорбат 85 и тому подобное); 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 в композиции находится в диапазоне от 0,0% до около 2,0% масс. В определенных вариантах осуществления концентрация поверхностно-активного вещества составляет от около 0,01% до около 0,2%. В одном варианте концентрация поверхностно-активного вещества составляет около 0,02%.

«Консервант», необязательный в композициях, представляет собой соединение, которое существенно снижает бактериальное действие. Примеры потенциальных консервантов включают в себя хлорид октадецилдиметилбензиламмония, хлорид гексаметония, хлорид бензалкония (смесь хлоридов алкилбензилдиметиламмония, в которой алкильные группы представляют собой длинноцепные соединения) и хлорид бензетония. Другие типы консервантов включают ароматические спирты, такие как фенол, бутил и бензиловый спирт, алкилпарабены, такие как метил или пропилпарабен, катехол, резорцин, циклогексанол, 3-пентанол и м-крезол. Содержание консерванта в жидком составе или в составе лиофилизированного порошка может составлять 0,0–5,0% масс. В одном варианте реализации консервантом в данном документе является бензиловый спирт.

Подходящие свободные аминокислоты в качестве объемистого материала или агента для регулирования тоничности или коррекции осмотического давления в композиции выбирают, без ограничений, из одного или более из аргинина, цистина, глицина, лизина, гистидина, орнитина, изолейцина, лейцина, аланина, глицина, глутаминовой кислоты или аспарагиновой кислоты. Включение основной аминокислоты, то есть аргинина, лизина и/или гистидина, является предпочтительным. Если композиция включает гистидин, то он может действовать как в качестве буферного агента, так и в качестве свободной аминокислоты, но когда используется буфер гистидина, он обычно включает в себя свободную негистидиновую аминокислоту, например, гистидиновый буфер и лизин. Аминокислота может присутствовать в своей D- и/или L-форме, но L-форма является типичной. Аминокислота может присутствовать в виде любой подходящей соли, например, гидрохлоридной соли, такой как аргинин-HCl. Содержание аминокислоты в жидком составе или в составе лиофилизированного порошка может составлять 0,0–30% масс.

Композиции могут необязательно содержать метионин глутатион, цистеин, цистин или аскорбиновую кислоту в качестве антиоксиданта в концентрации до около 5 мг/мл в жидком составе или 0,0%–5,0% масс. в составе лиофилизированного порошка. Композиции могут необязательно содержать хелатообразующий агент, например, ЭДТА, EGTA и т. п. в концентрации до около 2 мМ в жидком составе или 0,0%–0,3% масс. в составе лиофилизированного порошка.

Конечный состав можно довести до предпочтительного значения pH с помощью корректирующего буферного 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_4OH, этаноламина, диэтаноламина или триэтаноламина, фосфата натрия, фосфата калия, тринатрийцитрата, трометамина и т. д.), и при этом 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. Изотонический агент выбирают из маннита, сорбита, ацетата натрия, хлорида калия, фосфата натрия, фосфата калия, тринатрийцитрата или NaCl. Как правило, буферные соли и изотонический агент могут составлять до 30% масс. композиции.

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, плюроник F-127, целлюлозу, циклодекстрин, (2-гидроксипропил)-β-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 настоящего изобретения, известны в данной области техники, например, как указано в The Handbook of Pharmaceutical Excipients, 4th edition,

Rowe et al., Eds., American Pharmaceuticals Association (2003); и Remington: the Science and Practice of Pharmacy, 21th edition, Gennaro, Ed., Lippincott Williams & Wilkins (2005).

Фармацевтический контейнер или сосуд используют для хранения фармацевтического состава любого из конъюгатов согласно заявке на патент. Сосуд представляет собой флакон, бутылку, предварительно заполненный шприц или предварительно заполненный шприц с автоинжектором. Жидкая композиция может быть лиофилизированна или высушена в барабанной сушилке с образованием лиофилизата или порошка во флаконе из боросиликатного стекла или натриево-кальциево-силикатного стекла. Твердый порошок также может быть приготовлен путем эффективной распылительной сушки, а затем упакован во флакон или фармацевтический контейнер для хранения и распространения.

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

Жидкий фармацевтический состав конъюгатов согласно данной 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 6 месяцев при 25 °C. Более предпочтительный конъюгат в жидкой форме или в форме лиофилизата должен иметь срок годности более 12 месяцев при

25 °C. Наиболее предпочтительный жидкий состав должен демонстрировать срок годности около 24–36 месяцев при 2–8 °C, а состав лиофилизата должен демонстрировать срок годности предпочтительно до около 60 месяцев при 2–8 °C. Как жидкие, так и лиофилизированные составы должны демонстрировать срок годности при хранении не менее двух лет при -20 °C или -70 °C.

В некоторых вариантах реализации, 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 фокусирования изображения (icIEF) или электрофореза в капиллярной зоне; анализ аминоконцевой или карбоксиконцевой последовательности; масс-спектрометрический анализ или матричную лазерную десорбционную ионизацию/времяпролетную масс-спектрометрию (MALDI/TOF MS) или ВЭЖХ-МС/МС; ДНС-ПААГ анализ для сравнения восстановленного и интактного антитела; анализ пептидной карты (например, триптический или LYS-C); оценка биологической активности или антигенсвязывающей функции антитела; и т.п. Нестабильность может включать одно или более 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, находится в пределах около 20%, предпочтительно около 10% (в пределах ошибок анализа) биологической активности, проявляемой в то время, когда фармацевтическую композицию готовили, определяли, например, в анализе связывания антигена и/или в анализе цитотоксичности *in vitro*.

Для клинического использования *in vivo* конъюгат через линкеры по данному изобретению будет поставляться в виде растворов или лиофилизированного твердого вещества, которое можно повторно растворить в стерильной воде для инъекций. Примеры подходящих протоколов введения конъюгата представлены ниже. Конъюгаты вводятся ежедневно,

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

Примеры 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 общем, конъюгаты через линкеры по данному изобретению могут быть предоставлены в водном физиологическом буферном растворе, содержащем от 0,1 до 10% конъюгатов масс./об. для парентерального введения. Типичные диапазоны доз составляют от 1 мкг/кг до 0,1 г/кг массы тела в день; еженедельно, раз в две недели, раз в три недели или в месяц, предпочтительный диапазон доз составляет от 0,01 мг/кг до 20 мг/кг массы тела, еженедельно, раз в две недели или раз в месяц, эквивалентная доза для человека. Предпочтительная дозировка лекарственного средства, которая должна вводиться, вероятно, зависит от таких переменных, как тип и степень прогрессирования заболевания или расстройства, общее состояние здоровья конкретного пациента, относительная биологическая эффективность выбранного соединения, состав соединения, путь введения (внутривенно, внутримышечно или др.), фармакокинетические свойства конъюгатов по выбранному пути доставки, а также скорость (болюс или непрерывная инфузия) и график введения (количество повторений за определенный период времени).

Конъюгаты через линкеры по данному 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, и при этом

она будет оставаться 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 общие дневные/еженедельные/двухнедельные/ежемесячные диапазоны доз составляют от 0,01 до 100 мг/кг массы тела. В качестве общего руководства стандартные дозы для человека варьируются от 1 мг до 3000 мг в день или в неделю, в течение двух недель (раз в две недели), трижды в неделю или в месяц. Предпочтительно диапазон стандартной дозы составляет от 1 до 500 мг, вводимых от одного до четырех раз в месяц, и даже 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 данном документе, могут быть составлены в фармацевтические композиции путем смешивания с одним или более фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами. 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 реализации, фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество конъюгата Формулы (I), (II) или (III) или любых конъюгатов, описанных в данной патентной заявке, может быть введена одновременно с другими терапевтическими агентами, такими как химиотерапевтический агент, лучевая терапия, иммунотерапевтические агенты, агенты для лечения аутоиммунного расстройства, перотивоинфекционные 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: абатацепт, абиратерона ацетат, абраксан, ацетаминофен/гидрокодон, акалабрутиниб, адуканумаб, адалимумаб, ADXS31-142, ADXS-HER2, афатиниб дималеат, альдеслейкин, алектиниб, алемтузумаб, алитретиноин, адо-трастузумаб эмтанзин, амфетамин/декстроамфетамин, анастрозол, арипипразол, антрациклины, арипипразол, атазанавир, атезолизумаб, аторвастатин, авелумаб, аксикабтаген цилолейцел, акситиниб, белиностат, «живая» БЦЖ, бевацизумаб, бексаротен, блинатумомаб, бортезомиб, бозутиниб, брентуксимаб ведотин, бригатиниб, будесонид, будесонид/формотерол, бупренорфин, кабазитаксел, кабозантиниб, капматиниб, капецитабин, карфилзомиб, химерные антигенные рецепторные сконструированные Т-клетки (CAR-T),, целекоксиб, церитиниб, цетуксимаб, хидамид, циклоспорин,

цинакальцет, кризотиниб, кобиметиниб, козентикс, кризотиниб, CTL019, дабигатран, дабрафениб, дакарбазин, даклизумаб, дакомотиниб, даптомицин, даратумумаб, дарбэпоэтин альфа, дарунавир, дасатиниб, денилейкин дифтитокс, деносумаб, депакот, декслансопразол, дексметилфенидат, дексаметазон, система охлаждения DigniCap, динутуксимаб, доксициклин, дулоксетин, дувелисиб, дурвалумаб, элотузумаб, эмтрицитабин/рилпивирин/тенофовира дизопроксилфумарат, эмтрицитабин/тенофовир/эфавиренз, эноксапарин, энсартиниб, энзалутамид, эпоэтин альфа, эрлотиниб, эзомепразол, эзопиклон, этанерцепт, эверолимус, экземестан, эверолимус, экзенатид ER, эзетимиб, эзетимиб/симвастатин, фенофибрат, филграстим, финголимод, флутиказона пропионат, флутиказон/сальметерол, фулвестрант, газыва, гефитиниб, глатирамер, ацетат гозерелина, икотиниб, иматиниб, ибритумомаб тиуксетан, ибрутиниб, иделализиб, ифосфамид, инфликсимаб, имиквимод, ImmuCyst, иммуно БЦЖ, инипариб, инсулин аспарт, инсулин детемир, инсулин гларгин, инсулин лизпро, интерферон альфа, интерферон альфа-1b, интерферон альфа-2a, интерферон альфа-2b, интерферон бета, интерферон бета-1a, интерферон бета-1b, интерферон гамма-1a, лапатиниб, ипилимумаб, ипратропия бромид/сальбутамол, иксазомиб, канума, ланреотид ацетат, леналидомид, леналиомид, ленватиниба мезилат, летрозол, левотироксин, левотироксин, лидокаин, линезолид, лираглутид, лидексамфетамин, LN-144, лорлатиниб, мемантин, метилфенидат, метопролол, мекинист, мерицитабин/рилпивирин/тенофовир, модафинил, мометазон, мицидак-С, нецитумумаб, нератиниб, нилотиниб, нирапариб, ниволумаб, офатумумаб, обинутузумаб, олапариб, олмесартан, олмесартан/гидрохлоротиазид, омализумаб, сложные этиловые эфиры омега-3 жирных кислот, онкорин, осельтамивир, осимертиниб, оксикодон, палбоциклиб, паливизумаб, панитумумаб, панобиностат, пазопаниб, пембролизумаб, антитело к PD-1, антитело к PD-L1, пеметрексед, пертузумаб, пневмококковая конъюгатная вакцина, помалидомид, прегабалин, ProscaVax, пропранолол, кветиапин, рабепразол, хлорид радия 223, ралоксифен, ралтегравир, рамуцирумаб, ранибизумаб, регорафениб, рибоциклиб, ритуксимаб, ривароксабан, ромидепсин, розувастатин, руксолитиниба фосфат, сальбутамол, саволитиниб, семаглутид, севеламер, силденафил, силтуксимаб, сипулейцел-Т, ситаглиптин, ситаглиптин/метформин, солифенацин, соланезумаб, сонидегиб, сорафениб, сунитиниб, такролимус, такримус, тадалафил, тамоксифен, тафинлар, талимоген, лагерпарепвек, талазопариб, телапревир, талазопариб, темозоломид, темсиролимус, тенофовир/эмтрицитабин, тенофовир дизопроксила фумарат, тестостерон гель, талидомид, БЦЖ TICE, тиотропия бромид, тисагенлеклейсел, торемифен, траметиниб,

трастузумаб, трабектедин (эктеинасцидин 743), траметиниб, тремелимумаб, трифлуридин/типирацил, третиноин, уро-БЦЖ, устекинумаб, валсартан, велипариб, вандетаниб, вемурафениб, венетоклакс, вориностат, зив-афлиберцепт, зоставакс и их аналоги, производные, фармацевтически приемлемые соли, носители, разбавители или их вспомогательные вещества, или комбинация вышеуказанного.

Лекарственные средства/цитотоксические агенты, используемые для конъюгирования через разветвленный линкер согласно настоящего патента, могут представлять собой любые аналоги и/или производные аматоксина, описанные в данном патенте. Специалист в области лекарственных средств/цитотоксических агентов легко поймет, что каждый из аматоксина, описанных в данном документе, может быть модифицирован 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 аналогов или производных соединений могут быть использованы вместо аналогов лекарственных средств, описанных в данном документе. Таким образом, аналоги лекарственных средств по данному изобретению включают множество аналогов и производных, которые могут быть подробно не описаны.

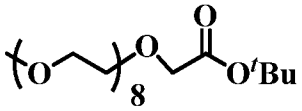
Все ссылки, цитируемые в данном документе и в следующих примерах, непосредственно включены в качестве ссылки во всей их полноте.

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 культуры клеток Китайской академии наук, если не указано иное. Реагенты для клеточных культур получали от Invitrogen Corp., если не указано иное. Все безводные растворители были получены коммерчески и хранились в герметичных склянках под азотом. Соединения ПЭГ были приобретены у Biomatrik Inc, Цзясин, Китай. Топотекан, Майтансинол, MMAE, MMAF, Эксатекан, Эрибулин и их производные или основные компоненты были приобретены у нескольких коммерческих источников, таких как Chengdu Tianyuan Natural Product Co., Ltd, Чэнду, Китай; Brightgene Biomedical Co., Сучжоу, Китай; и т.п. Экспериментальные животные были приобретены в Национальном центре ресурсов модельных мышей через GemPharmatech.Co., Ltd, Нанкин, Китай, и Shanghai SLAC Laboratory Animal Co., Ltd., Шанхай, Китай; T-DM1 был приобретен у Roche через аптеку в

Гонконге, Китай. Все остальные реагенты и растворители приобретались наивысшего качества и использовались без дальнейшей очистки. Разделение препаративной ВЭЖХ проводили с помощью прибора Varain PreStar HPLC. Спектры ЯМР записывали на приборе Bruker 500 МГц. Химические сдвиги (дельта) представлены в частях на миллион (ч/млн) по отношению к тетраметилсилану при 0,00, а константы взаимодействия (J) указаны в Гц. Данные масс-спектров были получены на масс-спектрометре Waters Xevo G2 QTOF, оборудованном модулем разделения Waters Acquity UPLC и детектором Acquity TUV. Обычно УЭЖХ-разделение проводили на колонке C_8 с подвижной фазой A, 1% муравьиной кислоты и фазой B, 100% CH_3CN.

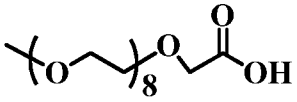
Пример 1. Синтез трет-бутил 2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаоксаоктакозан-28-оата (**1**).



1

К раствору $mPEG_8$-OH (38,4 г, 100 ммоль) в ТГФ (1,0 л) добавляли NaH (60%, 8,0 г, 200 ммоль). 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 на ледяную воду, экстрагировали ДХМ и органический слой промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия. Очистка с помощью колоночной хроматографии (от 0% до 5% метанол/дихлорметан) давала соединение 1 в виде желтого масла (27,6 г, выход 59%). ЭСИ МС m/z 499,40 ($[M+H]^+$).

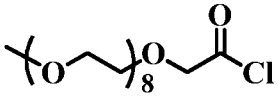
Пример 2. Синтез 2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаоксаоктакозан-28-овой кислоты (**2**).



2

Соединение **1** (29,4 г, 59,0 ммоль) растворяли в ДХМ (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 позволяло получить указанный в заголовке продукт в виде желтого масла (26,1 г, теоретический выход > 100%). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{19}H_{39}O_{11}$ $[M+H]^+$: 443,24, найдено 443,25.

Пример 3. Синтез соединения **3**.

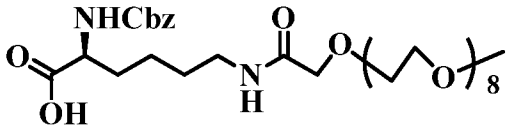


3

К раствору соединения **2** (59,0 ммоль), растворенного в ДХМ (600 мл), добавляли $(COCl)_2$ (100 мл) и ДМФА (41 г, 0,59 ммоль). Полученный раствор перемешивали при комнатной

температуре в течение 4 ч. Все летучие вещества удаляли в вакууме с получением указанного в заголовке продукта в виде желтого масла. ЭСИ МС m/z 461,38 ([M+H]$^+$).

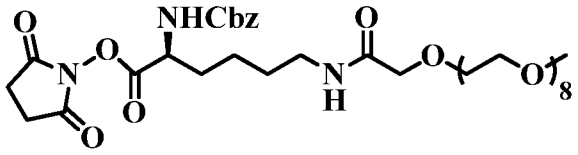
Пример 4. Синтез соединения **4**.



4

Z-L-Lys-OH (33,1 г, 118,0 ммоль), Na_2CO_3 (18,7 г, 177,1 ммоль) и NaOH (4,7 г, 118,0 ммоль) растворяли в воде (700 мл). Смесь охлаждали до 0 °C, после чего к ней добавляли раствор соединения **3** (59,0 ммоль) в ТГФ (20 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. ТГФ удаляли в вакууме и к водному раствору добавляли концентрированную HCl до достижения значения pH 3 при охлаждении льдом. После экстрагирования ДХМ, органический слой промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над сульфатом натрия и концентрировали с получением указанного в заголовке продукта в виде желтого масла (44 г, 99% выход). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{33}H_{57}N_2O_{14}$ [M+H]$^+$: 705,40, найдено 705,39.

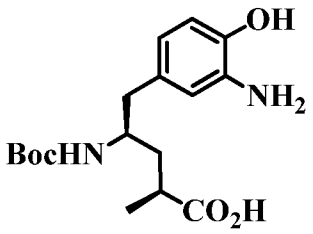
Пример 5. Синтез соединения **5**.



5

Соединение **4** (20 г, 28,4 ммоль, 1,0 экв) растворяли в 350 мл безводного ДХМ и охлаждали на ледяной бане. Последовательно добавляли NHS (3,9 г, 34,1 ммоль, 1,2 экв.) и EDC (27 г, 142,0 ммоль, 5,0 экв.). Реакционную смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение ночи, а затем промывали водой (200 мл × 2), насыщенным водным раствором хлорида натрия (200 мл × 1), сушили над безводным сульфатом натрия, концентрировали. Остаток растворяли в небольшом количестве ДХМ и загружали на колонку с силикагелем и элюировали смесью от 2:49:49 до 4:48:48 MeOH/ЭА/ДХМ. Продукт получали в виде желтого масла (14,2 г, выход 62%). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{37}H_{60}N_3O_{16}$ [M+H]$^+$: 802,4, найдено: 802,4.

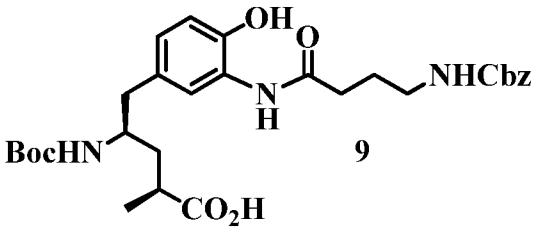
Пример 6. Синтез (2S,4R)-5-(3-амино-4-гидроксифенил)-4-((трет-бутоксикарбонил)-амино)-2-метилпентановой кислоты (Соединение **7**).



7

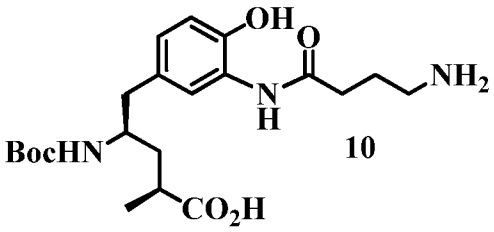
Смесь (2S,4R)-4-((трет-бутоксикарбонил)амино)-5-(4-гидрокси-3-нитрофенил)-2-метилпентановой кислоты (Соединение **6**) (15 г, 0,041 моль, 1,0 экв) и палладия на углероде (2,0 г, 10% масс.) в 150 мл метанола перемешивали при комнатной температуре в атмосфере H_2 при давлении шара в течение 4 часов. Катализатор отфильтровывали и промывали метанолом. Фильтрат концентрировали с получением 13,8 г неочищенного материала, который использовали непосредственно на следующей стадии (выход >100%). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{17}H_{27}N_2O_5$ $[M+H]^+$: 339,2, найдено: 339,2.

Пример 7. Синтез соединения **9.**



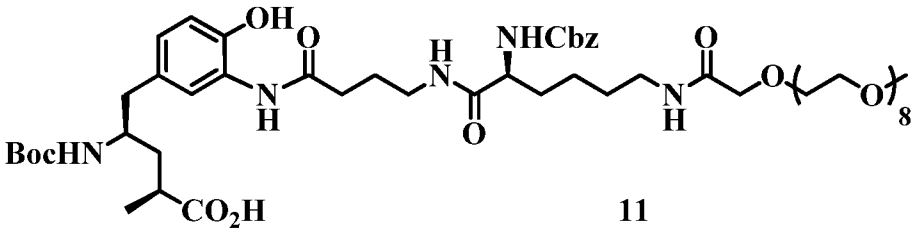
К неочищенному продукту с предыдущей стадии (13,8 г, 0,041 моль, 1,0 экв), растворенному в 2 мл этанола и 0,2 мл 0,1M NaH_2PO_4, добавляли 2,5-диоксопирролидин-1-ил 4-(((бензилокси)-карбонил)амино)-бутаноат (15,0 г, 0,054 моль, 1,1 экв). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, концентрировали и повторно растворяли в ДХМ, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали, концентрировали и очищали на колонке с силикагелем (0-5% MeOH/ДХМ) с получением желтого масла (14,9 г, 66% выход). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{29}H_{40}N_3O_8$ $[M+H]^+$: 558,3, найдено: 558,3.

Пример 8. Синтез соединения **10**.



Соединение **9** (8,7 г, 15,08 ммоль, 1,0 экв) и палладий на углероде (1,0 г, 10% масс.) в 100 мл метанола перемешивали в атмосфере H_2 при давлении шара при комнатной температуре в течение ночи. Катализатор отфильтровывали и промывали метанолом. Фильтрат упаривали в вакууме с получением 6,4 г неочищенного материала, который использовался непосредственно на следующей стадии (выход >100%). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{21}H_{34}N_3O_6$ $[M+H]^+$: 424,2, найдено: 424,2.

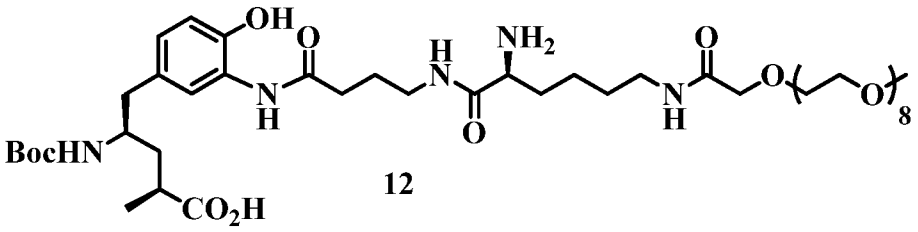
Пример 9. Синтез соединения **11**.



11

К соединению **10** (6,4 г, 15,1 ммоль, 1,0 экв) в смеси 40 мл этанола и 10 мл 0,1M NaH_2PO_4 добавляли соединение **5** (12,7 г, 15,9 ммоль, 1,05 экв). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, концентрировали и растворяли в ДХМ, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали, концентрировали и очищали на колонке с силикагелем (3-5% MeOH/ДХМ) с получением белой пены (11,7 г, 70% выход). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{54}H_{88}N_5O_{19}$ $[M+H]^+$: 1110,6, найдено: 1110,6.

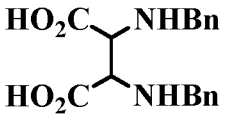
Пример 10. Синтез соединения **12**.



12

Смесь соединения **11** (4,2 г, 3,79 ммоль, 1,0 экв.) и палладия на углероде (0,4 г, 10% масс.) в 5 мл метанола перемешивали в атмосфере H_2 при давлении шара при комнатной температуре в течение ночи. Катализатор отфильтровывали и промывали метанолом. Фильтрат упаривали с получением 0,32 г неочищенного материала, который использовался непосредственно на следующей стадии (выход 87%). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{46}H_{82}N_5O_{17}$ $[M+H]^+$: 1997,1, найдено: 1997,1.

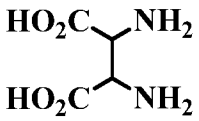
Пример 11. Синтез мезо-2,3-бис(бензиламино)янтарной кислоты (Соединение **13**).



13

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 водой. Добавляли 6 н HCl до достижения значения pH 4 для получения белого осадка. Осадок отфильтровывали, промывали водой и сушили с получением мезо-2,3-бис(бензиламино)янтарной кислоты (50 г, 152 ммоль, 84%).

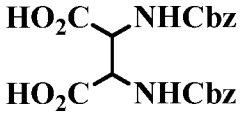
Пример 12. Синтез мезо-2,3-диаминоянтарной кислоты.



14

К раствору мезо-2,3-бис(бензиламино)янтарной кислоты (18 г, 55 ммоль) в AcOH (100 мл) и HCl (100 мл) добавляли Pd/C (3 г, 10% масс.) и смесь перемешивали в атмосфе водорода при давлении 1 атм при 50 °C в течение 48 часов. Катализатор удаляли фильтрованием и промывали водой. Фильтрат концентрировали и остаток растворяли в 1 н NaOH (200 мл). Добавляли уксусную кислоту до достижения значения pH 5 с получением белого осадка. Осадок отфильтровывали, промывали водой и сушили с получением мезо-2,3-диаминоянтарной кислоты (8,7 г, > 100%).

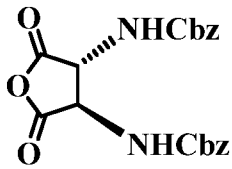
Пример 13. Синтез мезо-2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)янтарной кислоты



15

К раствору мезо-2,3-диаминоянтарной кислоты (31,74 г, 214 ммоль) в ТГФ (220 мл) и 4 н NaOH (214 мл) по каплям добавляли бензилхлорформиат (61 мл, 428 ммоль) при 0 °C. После завершения добавления смеси давали нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 часов. Реакционную смесь разбавляли водой (1600 мл) и промывали этилацетатом (2 × 1500 мл). Водный слой отделяли и подкисляли концентрированной HCl до достижения значения pH 2. Полученный раствор перемешивали в течение 1 часа и выдерживали при 5 °C для получения белого осадка. Осадок отфильтровывали, промывали водой и сушили с получением мезо-2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)янтарной кислоты (52,2 г, 125 ммоль, 59%).

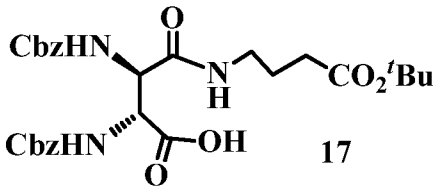
Пример 14. Синтез дибензил ((3R,4S)-2,5-диоксотетрагидрофуран-3,4-диил)дикарбамата.



16

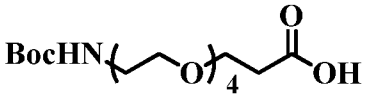
Раствор мезо-2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)янтарной кислоты (5,0 г, 12 ммоль) в Ac_2O (37,5 мл) кипятили с обратным холодильником в течение 20 минут, охлаждали и концентрировали с получением ангидрида. Смесь диастереомеров обрабатывали $CHCl_3$ (37 мл), нерастворимый мезо-изомер отфильтровывали и фильтрат обрабатывали петролейным эфиром с получением кристаллов дибензил ((3R,4S)-2,5-диоксотетрагидрофуран-3,4-диил)дикарбамата (рацемическая смесь, 2,0 г, 5 ммоль, 42%).

Пример 15. Синтез соединения **17**.



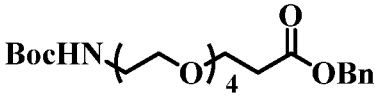
К смеси соединения 16 (4,25 г, 10,68 ммоль, 1,0 экв) и DMAP (13 мг, 0,11 ммоль, 0,01 экв) в 20 мл сухого ДХМ, добавляли раствор трет-бутил аминобутирата (1,78 г, 11,21 ммоль, 1,05 экв) в 10 мл безводного ДХМ. После завершения добавления соединение **16** полностью растворялось и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Неочищенный продукт загружали на колонку с силикагелем и элюировали смесью 3-5% MeOH/ДХМ. Фракции объединяли и упаривали, остаток растирали со смесью ПЭ/ДХМ (1:1) с получением 3,3 г белого твердого вещества (выход 55,9%). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{28}H_{36}N_3O_9$ $[M+H]^+$: 558,2, найдено: 558,2.

Пример 16. Синтез соединения **18**.



В колбе на 500 мл растворяли H_2N-PEG_4-$CH_2CH_2CO_2H$ (3,0 г, 11,3 ммоль, 1,0 экв) и K_2CO_3 (4,7 г, 33,93 ммоль, 3,0 экв) в 50 мл воды, и охлаждали на ледяной бане. По каплям добавляли Boc_2O (3,2 г, 14,7 ммоль, 1,3) в 50 мл ТГФ. Реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Значение pH реакционной смеси доводили до 4-5 з помощью 1 н $KHSO_4$ и экстрагировали ДХМ (200 мл × 1, 100 мл × 3), промывали водой (500 мл × 1), и насыщенным водным раствором хлорида натрия (500 мл × 1), сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали. Остаток растворяли в небольшом количестве ДХМ, а затем загружали на колонку с силикагелем, элюируя 2-4% MeOH/ДХМ, и фракции объединяли и концентрировали с получением 3,8 г бесцветного масла (выход 93%). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{16}H_{32}NO_8$ $[M+H]^+$: 366,2, найдено: 366,2.

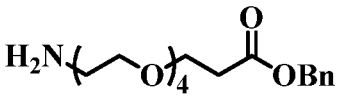
Пример 17. Синтез соединения **19**.



В одногорлой колбе на 50 мл смешивали BocHN-PEG_4-$CH_2CH_2CO_2H$ (0,81 г, 2,22 ммоль, 1,0 экв), K_2CO_3 (0,92 г, 6,66 ммоль, 3,0 экв) и NaI (0,033 г, 0,222 ммоль, 0,1 экв) в 10 мл ДМФА, охлаждали на ледяной бане, и по каплям добавляли BnBr (0,57 г, 3,33 ммоль, 1,5 экв) и смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь разбавляли с помощью 100 мл воды, экстрагировали ДХМ (100 мл × 2), промывали водой

(200 мл × 1) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (200 мл × 1), сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали. Остаток растворяли в небольшом количестве ДХМ, загружали на колонку с силикагелем, элюировали 70-90% ЭА/ПЭ с получением 0,69 г бесцветного масла (69% выход). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{23}H_{38}NO_8$ $[M+H]^+$: 446,3, найдено: 446,3.

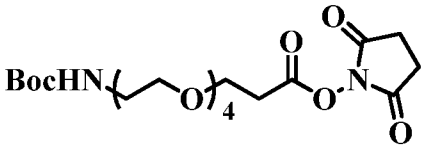
Пример 18. Синтез соединения **20**.



20

Раствор BocHN-PEG_4-$CH_2CH_2CO_2Bn$ (0,69 г, 1,5 ммоль, 1,0 экв) в 6 мл ДХМ и 3 мл ТФК перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут. Растворители удаляли и остаток трижды упаривали совместно с ДХМ, помещали в высокий вакуум. Неочищенный продукт использовали непосредственно в следующей реакции. ЭСИ m/z рассчитано для $C_{18}H_{30}NO_6$ $[M+H]^+$: 356,2, найдено: 356,2.

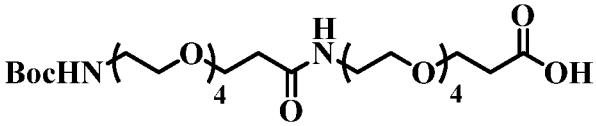
Пример 19. Синтез соединения **21**.



21

К раствору BocHN-PEG_4-$CH_2CH_2CO_2H$ (3,8 г, 10,4 ммоль, 1,0 экв) в 50 мл сухого ДХМ, добавляли NHS (1,4 г, 12,5 ммоль, 1,2 экв) и EDC (10,0 г, 52,0 ммоль, 5,0 экв.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, а затем промывали водой (50 мл × 2), насыщенным водным раствором хлорида натрия (100 мл × 1), сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали. Неочищенный продукт использовали непосредственно на следующей стадии. ЭСИ m/z рассчитано для $C_{20}H_{35}N_2O_{10}$ $[M+H]^+$: 463,2, найдено:463,2.

Пример 2**0**. Синтез соединения **22**.

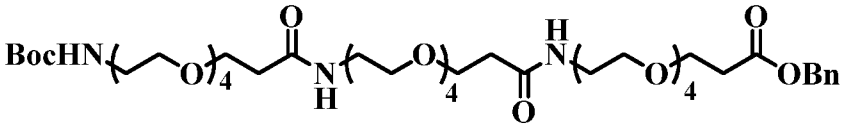


22

В колбе на 300 мл растворяли H_2N-PEG_4-$CH_2CH_2CO_2H$ (2,8 г, 10,4 ммоль, 1,0 экв) и K_2CO_3 (4,3 г, 31,2 ммоль, 3,0 экв) в 40 мл воды, охлаждали на ледяной бане и по каплям добавляли раствор неочищенного эфира NHS (3,8 г, 10,4 ммоль, 1,0 экв) в 40 мл ТГФ и смесь нагревали до комнатной температуре и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь доводили до значения pH 4-5, используя 1 н $KHSO_4$, экстрагировали ДХМ (150 мл × 1, 100 мл × 2), промывали водой (200 мл × 1) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (200 мл ×

1), сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали. Остаток растворяли в небольшом количестве ДХМ и загружали на колонку с силикагелем, элюируя 4-6% MeOH/ДХМ с получением бесцветного масла (5,18 г, 81% выход). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{27}H_{53}N_2O_{13}$ $[M+H]^+$: 613,3, найдено: 613,3.

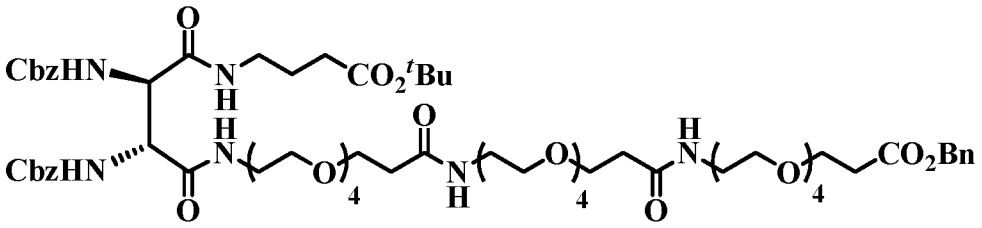
Пример 21. Синтез соединения **23**.



23

К H_2N-PEG_4-$CH_2CH_2CO_2Bn$ (неочищенный продукт с предыдущей стадии), растворенному в 3 мл ДМФА, охлажденному на бане лед/вода, по каплям добавляли DIPEA (0,78 г, 6,0 ммоль, 4,0 экв) и потом добавляли раствор соединения **22** (0,93 г, 1,5 ммоль, 1,0 экв) в 7 мл ДМФА и HATU (1,72 г, 4,5ммоль, 3,0 экв.). Реакционную смесь перемешивали на ледяной бане в течение 2 часов и разбавляли с помощью 100 мл воды, экстрагировали ДХМ (100 мл × 3), промывали 1 н $KHSO_4$ (200 мл × 1), насыщенным раствором гидрокарбоната натрия (200 мл × 1) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (200 мл × 1), сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали. Остаток растворяли в небольшом количестве ДХМ, загружали на колонку с силикагелем и элюировали смесью 0-5% MeOH/ДХМ. Фракции объединяли и концентрировали, получая 1,0 г светло-желтого масла (71% выход). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{45}H_{80}N_3O_{18}$ $[M+H]^+$: 950,5, найдено: 950,5.

Пример 22. Синтез соединения 24.



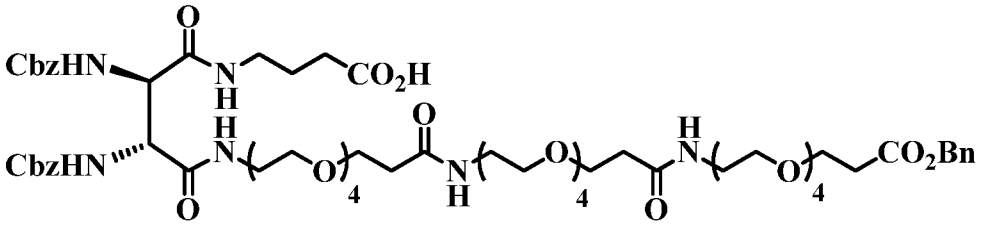
24

Раствор соединения **23** (1,0 г, 1,03 ммоль, 1,0 экв) в 6 мл ДХМ и 3 мл ТФК перемешивали при к.т. в течение 1 часа. Растворители удаляли и остаток трижды упаривали совместно с ДХМ, помещали в высокий вакуум.

Неочищенный продукт повторно растворяли в 10 мл ДМФА, охлаждали на ледяной бане. К DIPEA (0,53 г, 4,12 ммоль, 4,0 экв) последовательно добавляли соединение **17** (0,56 г, 1,03 ммоль, 1,0 экв) и HATU (1,17 г, 3,09 ммоль, 3,0 экв). После перемешивания на ледяной бане в течение 1 часа добавляли 100 мл воды и выпадал твердый осадок. Твердое вещество собирали фильтрованием и промывали водой, растворяли в ДХМ, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток растворяли в небольшом количестве ДХМ, загружали на колонку с силикагелем и элюировали смесью 0-10%

MeOH/ДХМ. Фракции объединяли и концентрировали с получением 0,93 г светло-желтой пены (выход 65%). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{68}H_{107}N_8O_{26}$ $[M+H]^+$: 1451,7, найдено: 1451,7.

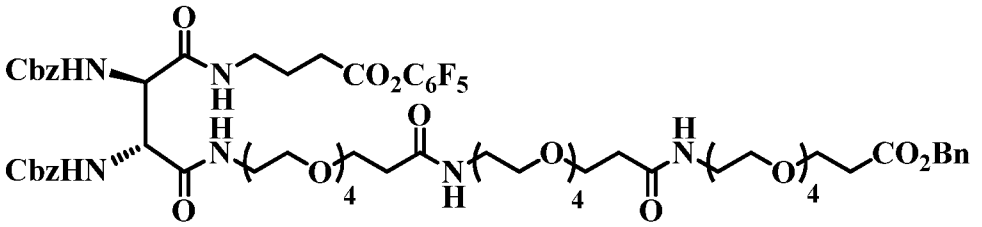
Пример 23. Синтез соединения **25**.



25

Раствор соединения **24** (0,93 г, 0,67 ммоль, 1,0 экв) в 6 мл ДХМ и 3 мл ТФК перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа (завершение реакции контролировали с помощью ЖХ-МС). Растворители удаляли и остаток трижды совместно упаривали с ДХМ, помещали в высокий вакуум. Неочищенный продукт растворяли в небольшом количестве ДХМ и загружали на колонку с силикагелем, а затем элюировали смесью 15-20% MeOH/ДХМ. Фракции объединяли и концентрировали, получая 0,53 г продукта в виде белой пены (выход 60%). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{64}H_{99}N_8O_{26}$ $[M+H]^+$: 1395,7, найдено: 1395,7.

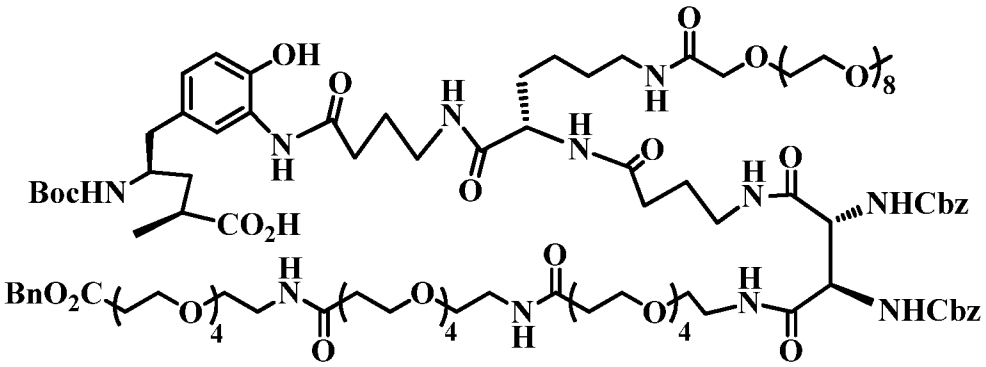
Пример 24. Синтез соединения 26.



26

К соединению **25** (0,53 г, 0,40 ммоль, 1,0 экв) в 10 мл ДХМ добавляли пентафторфенол (0,081 г, 0,44 ммоль, 1,1 экв) и EDC (0,38 г, 2,0 ммоль, 5,0 экв). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, а затем промывали холодной водой (5 мл × 2) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (10 мл × 1), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт использовали непосредственно на следующей стадии. ЭСИ m/z рассчитано для $C_{70}H_{98}F_5N_6O_{26}$ $[M+H]^+$: 1561,6, найдено: 1561,6.

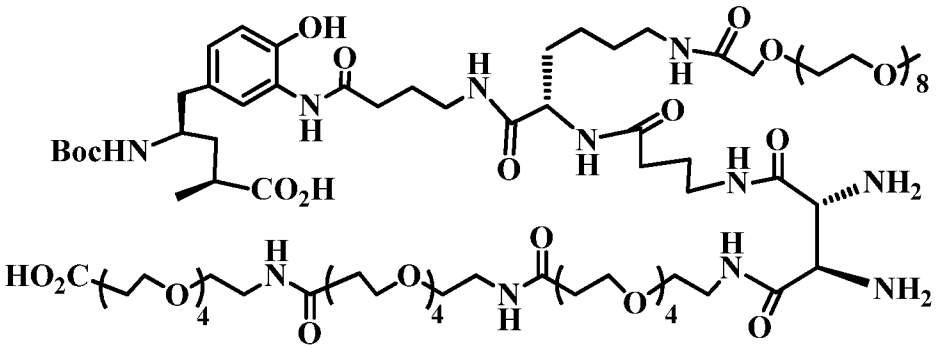
Пример 25. Синтез соединения 27.



27

Неочищенный продукт с предыдущей стадии (0,4 ммоль, 1,0 экв) растворяли в 10 мл ДМФА, охлаждали на ледяной бане. Последовательно добавляли соединение **12** (0,39 г,0,4 ммоль,1,0 экв) и DIPEA (0,15 г, 1,2 ммоль, 3,0 экв). После перемешивания на ледяной бане в течение 1 часа, реакционную смесь концентрировали и повторно растворяли в небольшом количестве ДХМ, загружали на колонку с силикагелем и элюировали смесью 0-20% MeOH/ДХМ с получением бесцветного масла (0,53 г, 58% выход). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{110}H_{176}N_{11}O_{40}$ $[M+H]^+$: 2291,2, найдено: 2291,2.

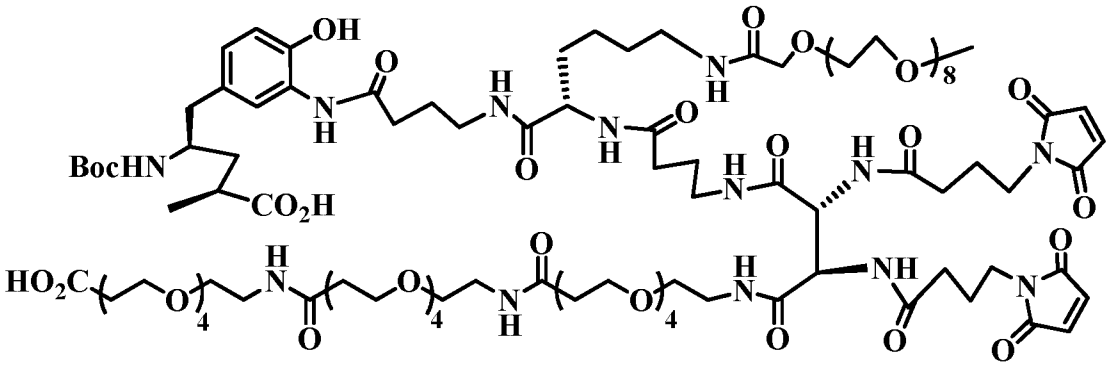
Пример 26. Синтез соединения **28**.



28

Соединение **27** (0,53 г, 0,23 ммоль, 1,0 экв) и сухой палладий на углероде (0,1 г, 10% масс.) в 10 мл метанола перемешивали в атмосфере H_2 при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат упаривали, получая 0,35 г неочищенного материала, который непосредственно использовали на следующей стадии (выход 80%). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{87}H_{158}N_{11}O_{36}$ $[M+H]^+$: 1933,1, найдено: 1933,1.

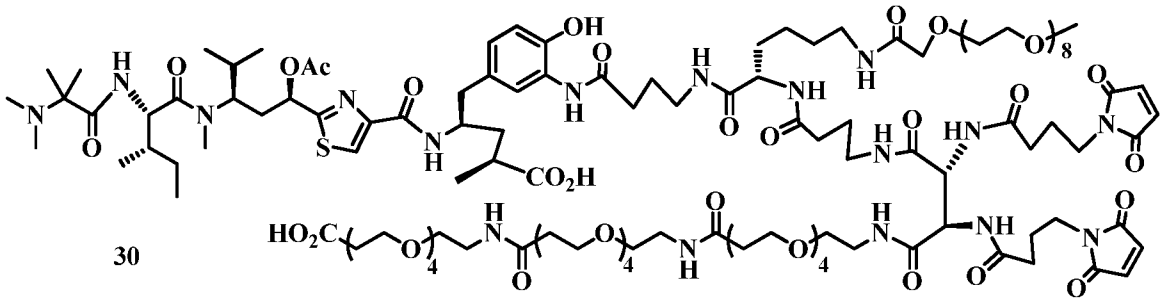
Пример 27. Синтез соединения 29.



29

К неочищенному продукту с предыдущей стадии (0,35 г, 0,18 ммоль, 1,0 экв), повторно растворенному в смеси 3 мл этанола, 0,2 мл 0,1М NaH_2PO_4, добавляли N-(4-малеимидобутирилокси)сукцинимид (0,20 г, 0,72 ммоль, 4,0 экв). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, а затем концентрировали и повторно растворяли в ДХМ, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток растворяли в небольшом количестве ДХМ и загружали на колонку с силикагелем, элюируя 0-20% MeOH/ДХМ с получением бесцветного масла (0,13 г, 33% выход). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{103}H_{172}N_{13}O_{42}$ $[M+H]^+$: 2263,2, найдено: 2263,2

Пример 28. Синтез соединения **30**.

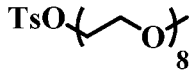


30

Соединение **29** (0,13 г, 0,0574 ммоль, 1,0 экв) растворяли в 2 мл ДХМ и перемешивали с 2 мл ТФК при комнатной температуре в течение 3 ч. Растворители удаляли и остаток повторно упаривали с ДХМ три раза, помещали в высокий вакуум.

Неочищенный продукт повторно растворяли в ДМФА и охлаждали на ледяной бане. Добавляли Tub-пентафторфенол (0,048 г, 0,0690 ммоль, 1,0 экв), с последующим добавлением DIPEA (0,022 г, 0,172 ммоль, 3,0 экв). Реакционную смесь перемешивали на ледяной бане в течение 1 часа, а затем значение pH доводили до 4-5, используя муравьиную кислоту. Смесь концентрировали, повторно растворяли в небольшом количестве ДХМ и загружали на колонку с силикагелем, элюируя ПЭ/ЭА и MeOH/ДХМ (содержащие 0,1% муравьиной кислоты). Фракции объединяли и концентрировали с получением 0,1 г желтой пены (70% выход). Продукт дополнительно очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (45-50% $MeCN/H_2O$, содержащей 0,1% муравьиной кислоты). Фракции объединяли и концентрировали с получением бесцветного масла (0,030 г, 20% выход). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{123}H_{204}N_{17}O_{45}S$ $[M+H]^+$: 2671,4, найдено: 2671,4.

Пример 29. Синтез соединения 31.

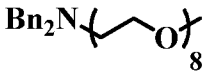


31

К раствору $mPEG_8$-OH (10 г, 26 ммоль, 1,0 экв) в 100 мл безводного ДХМ последовательно добавляли на ледяной бане TEA (10,5 г, 104 ммоль, 4,0 экв), DMAP (32 мг, 0,26 ммоль, 0,01 экв) и TsCl (14,9 г, 78 ммоль, 3,0 экв). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение

10 минут, затем нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь промывали 1 н HCl, промывая (100 мл × 1), водой (100 мл × 1) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (100 мл × 1), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток растворяли в небольшом количестве ДХМ и загружали на колонку с силикагелем, элюируя ЭА/ПЭ (5-100%) и 1-3% MeOH/ДХМ. Фракции объединяли и концентрировали с получением желтого масла (11,6 г, 83% выход). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{24}H_{43}O_{11}S$ $[M+H]^+$: 539,2, найдено:539,2.

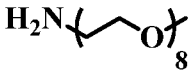
Пример 30. Синтез соединения **32**.



32

Смесь соединения **31** (11,6 г, 21,5 ммоль, 1,0 экв) и дибензиламина (5,5 г, 27,8 ммоль, 1,5 экв) в 20 мл безводного ДМФА нагревали до 100 °C при перемешивании в течение ночи. Реакционную смесь разбавляли 300 мл ДХМ, промывали водой (300 мл × 3) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (300 мл × 1), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали на колонке с силикагелем (50-100% ЭА/ПЭ), получая светло-желтое масло (8,2 г, 66% выход). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{31}H_{50}NO_8$ $[M+H]^+$: 564,3, найдено:564,3.

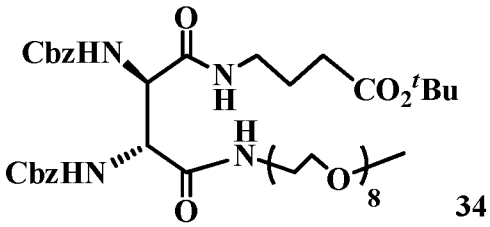
Пример 31. Синтез соединения **33**.



33

Раствор смеси соединения **32** (8,6 г, 15,2 ммоль, 1,0 экв) и сухого палладия на углероде (0,9 г, 10% масс.) в 100 мл безводного метанола кипятили с обратным холодильником в атмосфере H_2 при давлении шара в течение ночи. Катализатор отфильтровывали и промывали метанолом. Фильтрат упаривали, получая 5,3 г бесцветного масла (выход 90%). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{17}H_{38}NO_8$ $[M+H]^+$: 384,3, найдено:384,3.

Пример 32. Синтез соединения **34**.

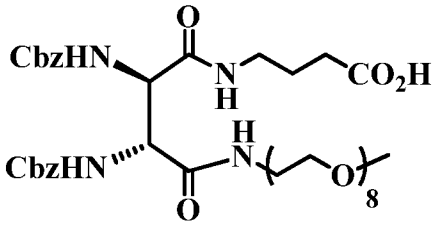


34

Соединение **17** (1,6 г, 2,84 ммоль, 1,0 экв) и соединение **33** (1,2 г, 2,84 ммоль, 1,0 экв) растворяли в 5 мл безводного ДМФА, к смеси последовательно добавляли HATU (3,2 г, 8,52 ммоль, 3,0 экв) и DIPEA (1,5 г, 11,36 ммоль, 4,0 экв) на ледяной бане. Реакционную смесь перемешивали на бане в течение 2 часов, затем добавляли 150 мл воды и экстрагировали

ДХМ (150 мл × 1, 100 мл × 1). Органическую фазу промывали 1 н HCl (200 мл × 1), насыщенным раствором гидрокарбоната натрия (200 мл × 1) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (200 мл × 1), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт растворяли в небольшом количестве ДХМ и загружали на колонку с силикагелем, а затем элюировали 0-5% MeOH/ДХМ. Фракции объединяли и концентрировали с получением 2,29 г белого твердого вещества (87% выход). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{45}H_{71}N_4O_{16}$ $[M+H]^+$: 923,5, найдено: 923,5.

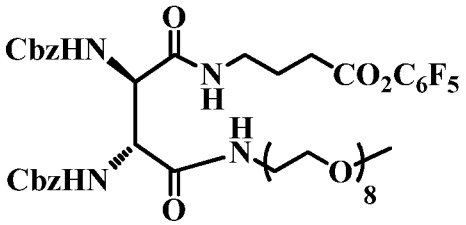
Пример 33. Синтез соединения **35**.



35

Раствор соединения **34** (2,29 г, 2,48 ммоль, 1,0 экв) в смеси 5 мл ДХМ и 5 мл ТФК перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Растворители удаляли и остаток трижды упаривали совместно с ДХМ, остаток растворяли в небольшом количестве ДХМ и загружали на колонку с силикагелем, элюируя смесью 5-8% MeOH/ДХМ. Фракции объединяли и концентрировали, получая 2,09 г белого твердого желе (выход 97%). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{41}H_{63}N_4O_{16}$ $[M+H]^+$: 867,4, найдено: 867,4.

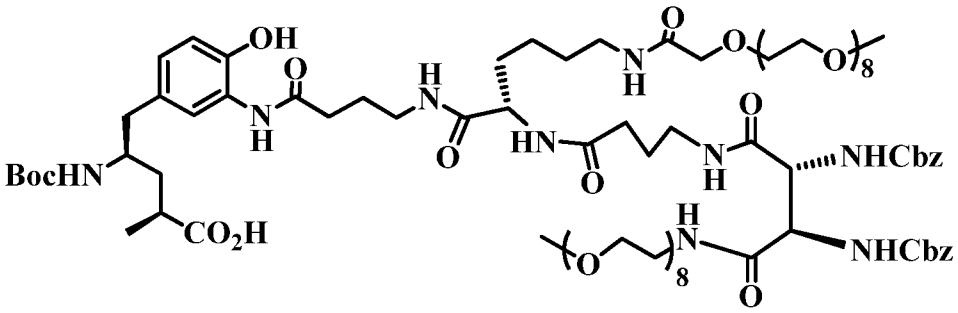
Пример 34. Синтез соединения **36**.



36

К соединению **35** (1,5 г, 1,73 ммоль, 1,0 экв) в 10 мл ДХМ на ледяной бане добавляли пентафторфенол (0,35 г, 1,90 ммоль, 1,1 экв) и EDC (1,7 г, 8,66 ммоль, 5,0 экв). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 5 часов, затем промывали водой (10 мл × 2) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (20 мл × 1), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением 1,07 г неочищенного продукта (60% выход). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{47}H_{62}F_5N_4O_{16}$ $[M+H]^+$: 1033,4, найдено:1033,4.

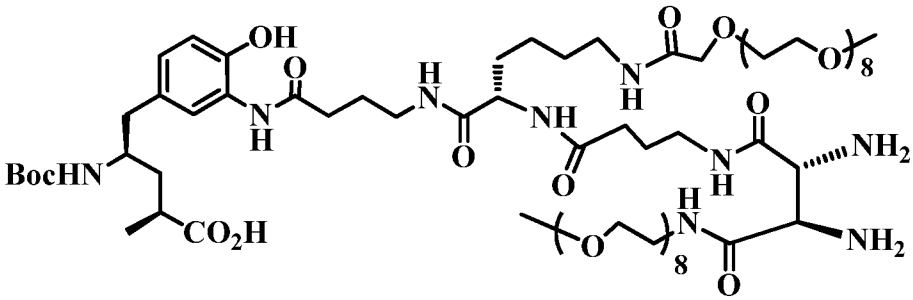
Пример 35. Синтез соединения **37**.



37

К вышеуказанному неочищенному продукту (1,07 г, 1,0 ммоль, 1,0 экв) в 10 мл ДМФА на ледяной бане добавляли соединение **12** (0,92 г, 1,0 ммоль, 1,0 экв) и DIPEA (0,39 г, 3,0 ммоль, 3,0 экв). Реакционную смесь перемешивали на ледяной бане в течение 1 часа и доводили значение pH до 4-5, используя 1 н HCl, разбавляли ЭА (100 мл), экстрагировали водой (30 мл × 5). Водную фазу концентрировали, а затем повторно растворяли в небольшом количестве ДХМ, загружали на колонку с силикагелем и элюировали смесью 15-18% MeOH/ДХМ. Фракции объединяли и концентрировали с получением 0,88 г бесцветного масла (51% выход). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{87}H_{142}N_9O_{32}$ $[M+H]^+$: 1825,0, найдено: 1825,0.

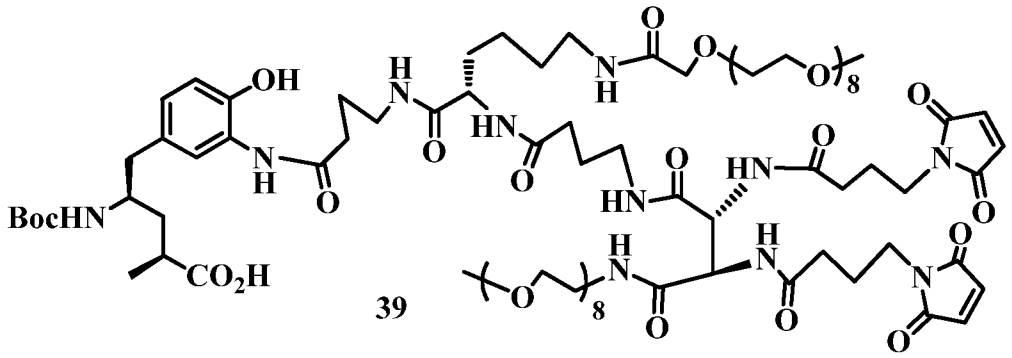
Пример 36. Синтез соединения **38**.



38

Смесь соединения **37** (0,88 г, 0,48 ммоль, 1,0 экв) и палладия на углероде (0,1 г, 10% масс.) в 5 мл метанола перемешивали в атмосфере H_2 при давлении шара при комнатной температуре в течение ночи. Катализатор отфильтровывали и профильтрованный раствор концентрировали с получением 0,75 г неочищенного материала, который непосредственно использовали на следующей стадии (выход 80%). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{71}H_{130}N_9O_{28}$ $[M+H]^+$: 1556,9, найдено: 1556,9.

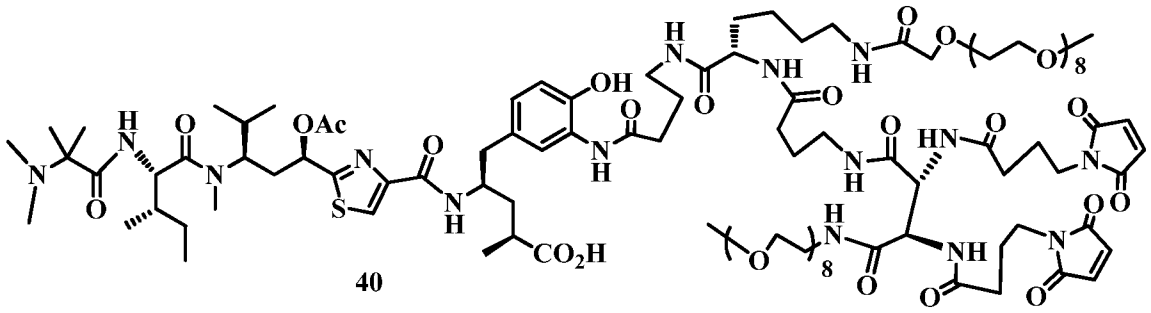
Пример 37. Синтез соединения 39.



39

Неочищенный продукт с предыдущей стадии (0,75 г, 0,48 ммоль, 1,0 экв.) растворяли в смеси 2 мл этанола и 0,2 мл 0,1 М NaH_2PO_4, добавляли *N*-(4-малеимидобутирилокси)сукцинимид (0,54 г, 1,92 ммоль, 4,0 экв). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, а затем концентрировали и повторно растворяли в ДХМ, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток растворяли в небольшом количестве ДХМ и загружали на колонку с силикагелем, элюируя 0-20% MeOH/ДХМ с получением бесцветного масла (0,26 г, выход 29%). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{87}H_{144}N_{11}O_{34}$ $[M+H]^+$: 1887,0, найдено: 1887,0.

Пример 38. Синтез соединения **40**.



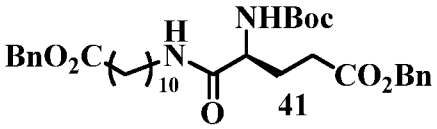
40

Соединение **39** (0,26 г, 0,138 ммоль, 1,0 экв) в 3 мл ДХМ и 1 мл ТФК перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Растворители удаляли и остаток трижды совместно упаривали с ДХМ, помещали в высокий вакуум.

Неочищенный продукт повторно растворяли в 5 мл ДМФА и охлаждали на ледяной бане. Добавляли Tub-PFP (0,114 г, 0,166 ммоль, 1,2 экв) и DIPEA (0,265 г, 2,07 ммоль). Реакционную смесь перемешивали на ледяной бане в течение 1 часа, а затем значение pH доводили до 4-5 с помощью муравьиной кислоты. Смесь концентрировали, повторно растворяли в небольшом количестве ДХМ и загружали на колонку с силикагелем, элюируя ПЭ/ЭА и MeOH/ДХМ (содержащие 0,1% муравьиной кислоты). Фракции объединяли и концентрировали с получением 0,2 г продукта в виде желтой пены (63% выход). Продукт дополнительно очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (45-50% MeCN/H2O, содержащей 0,1% муравьиной кислоты). Фракции объединяли и концентрировали с

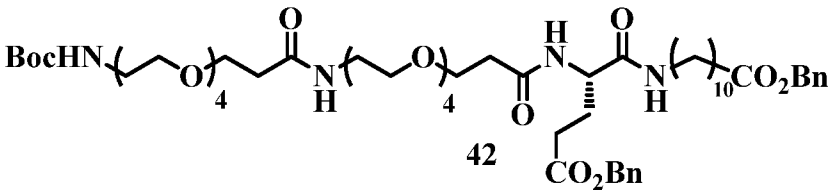
получением бесцветного масла (0,10 г, 23% выход). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{107}H_{176}N_{15}O_{37}S$ $[M+H]^+$: 2295,2, найдено: 2295,2.

Пример 39. Синтез соединения 41.



К раствору бензил 11-аминоундеканоата (2,91 г, 10,0 ммоль) и Boc-Glu(OBzl)-OH (3,37 г, 10,0 ммоль) в ДМФА (50 мл) добавляли EDC (1,91 г, 12,0 ммоль) и TEA (3,5 мл, 25,0 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 8 часов, разбавляли водой (100 мл) и экстрагировали ЭА (3 × 100 мл). Объединенные органические фазы один раз промывали 100 мл насыщенного водного раствора хлорида натрия, затем сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на SiO_2 (ЭА/ДХМ, 1:15) с получением указанного в заголовке соединения в виде бесцветного масла (5,37 г, 88% выход).

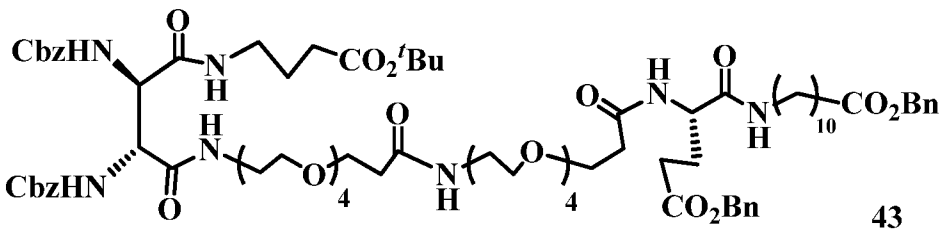
Пример 40. Синтез соединения 42.



Соединение **41** (0,64 г, 1,05 ммоль, 1,0 экв) в смеси 5 мл ДХМ и 2 мл ТФК перемешивали при к.т. в течение 2 часов, а затем концентрировали. Остаток трижды упаривали с ДХМ и помещали в высокий вакуум. ЭСИ m/z рассчитано для $C_{30}H_{42}N_2O_5$ $[M+H]^+$: 511,3, найдено: 511,3.

Вышеуказанный неочищенный продукт повторно растворяли в 3 мл ДМФА и охлаждали на ледяной бане. К продукту добавляли раствор соединения **22** (0,64 г, 1,05 ммоль, 1,0 экв) в 7 мл ДМФА, с последующим добавлением DIPEA (0,54 г, 4,20 ммоль, 4,0 экв) и HATU (1,2 г, 3,15 ммоль, 3,0 экв). Реакционную смесь перемешивали на бане в течение 1 часа, затем добавляли 100 мл воды и экстрагировали ДХМ (150 мл × 1, 100 мл × 1). Органическую фазу промывали 1 н $KHSO_4$ (200 мл × 1), насыщенным раствором гидрокарбоната натрия (200 мл × 1) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (200 мл × 1), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт растворяли в небольшом количестве ДХМ и загружали на колонку с силикагелем, а затем элюировали 0-10% MeOH/ДХМ. Фракции объединяли и концентрировали, получая 0,94 г светло-желтого масла (выход 81%). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{57}H_{92}N_4O_{17}$ $[M+H]^+$: 1104,6, найдено: 1104,6.

Пример 41. Синтез соединения 43.

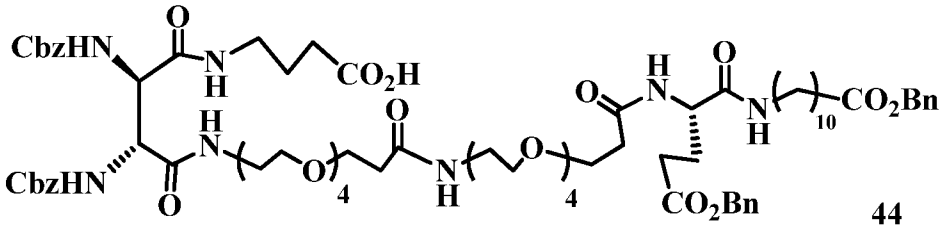


43

Соединение **42** (0,94 г, 0,458 ммоль, 1,0 экв) в смеси 7 мл ДХМ 3 мл ТФК перемешивали при к.т. в течение 2 часов и концентрировали. Остаток трижды совместно упаривали с ДХМ, затем помещали в высокий вакуум. ЭСИ m/z рассчитано для $C_{52}H_{84}N_4O_{15}$ $[M+H]^+$: 1004,6, найдено:1004,6.

Вышеуказанное неочищенное соединение повторно растворяли в 10 мл ДМФА и охлаждали на ледяной бане, добавляли соединение **17** (0,46 г, 0,85 ммоль, 1,0 экв), DIPEA (0,44 г, 3,40 ммоль, 4,0 экв) и HATU (0,97 г, 2,55 ммоль, 3,0 экв). Реакционную смесь перемешивали на бане в течение 1 часа, затем добавляли 100 мл воды и выпадал осадок твердого вещества Твердое вещество собирали фильтрованием и промывали водой, растворяли в ДХМ и сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт растворяли в небольшом количестве ДХМ и загружали на колонку с силикагелем, элюируя смесью 0-10% MeOH/ДХМ. Фракции объединяли и концентрировали с получением 1,13 г светло-желтого маслянистого продукта (87% выход). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{80}H_{120}N_9O_{24}$ $[M+H]^+$: 1590,8, найдено: 1590,8.

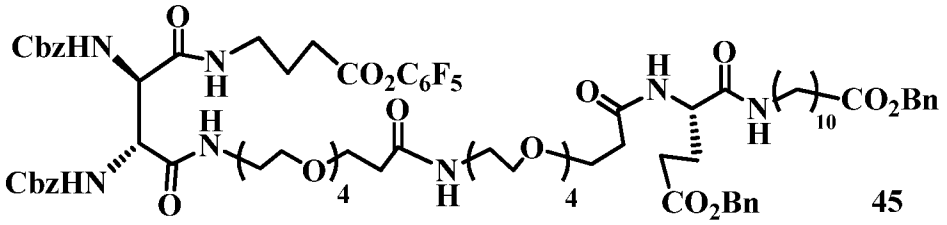
Пример 42. Синтез соединения 44.



44

Соединение **43** (1,13 г, 0,73 ммоль, 1,0 экв) в смеси 7 мл ДХМ и 3 мл ТФК перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч, и концентрировали. Остаток совместно упаривали с ДХМ три раза, растворяли в небольшом количестве ДХМ и загружали на колонку с силикагелем, и элюируя смесью 5-15% MeOH/ДХМ. Фракции объединяли и концентрировали с получением 0,85 г продукта в виде белой пены (78% выход). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{76}H_{112}N_9O_{25}$ $[M+H]^+$: 1550,8, найдено: 1550,8.

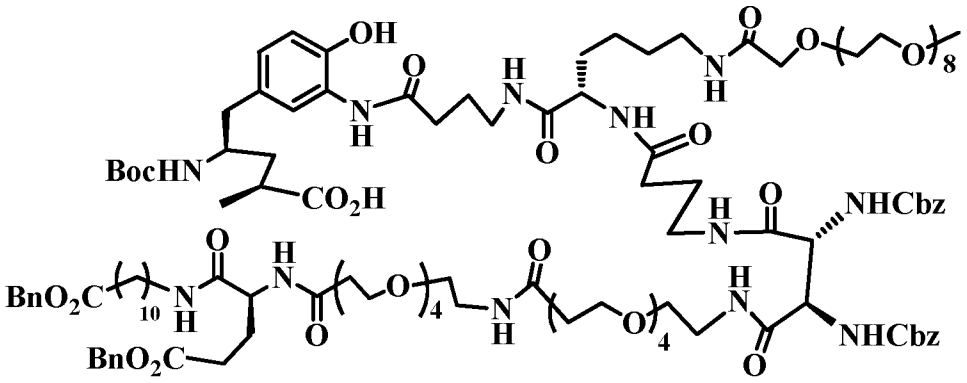
Пример 43. Синтез соединения 45.



45

К соединению **44** (0,85 г, 0,57 ммоль, 1,0 экв) в 10 мл ДХМ на ледяной бане добавляли пентафторфенол (0,11 г, 0,63 ммоль, 1,1 экв) и EDC (0,55 г, 2,85 ммоль, 5,0 экв). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи, затем промывали ледяной водой (10 мл × 2) и охлажденным насыщенным водным раствором хлорида натрия (20 мл × 1), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт использовали непосредственно на следующей стадии.

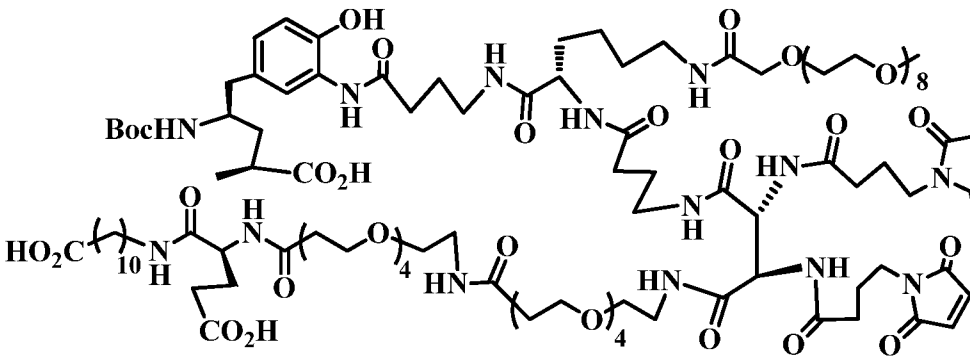
Пример 44. Синтез соединения 46.



46

К вышеуказанному неочищенному продукту (0,94 г, 0,57 ммоль, 1,0 экв) в 10 мл ДМФА на ледяной бане добавляли соединение **12** (0,56 г, 0,57 ммоль, 1,0 экв) и DIPEA (0,22 г, 1,71 ммоль, 3,0 экв). Реакционную смесь перемешивали на бане в течение 3 часов и концентрировали, а затем повторно растворяли в небольшом количестве ДХМ, загружали на колонку с силикагелем и элюировали смесью 12-20% MeOH/ДХМ. Фракции объединяли и концентрировали с получением 1,00 г бесцветного масла (71% выход). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{122}H_{189}N_{12}O_{39}$ $[M+H]^+$: 2446,3, найдено: 2446,3.

Пример 45. Синтез соединения 47.

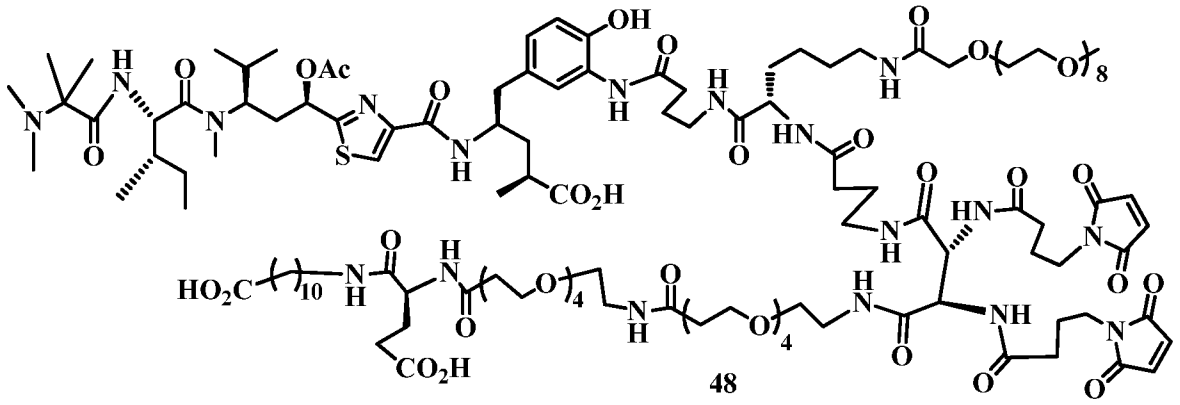


47

Соединение **46** (0,53 г, 0,23 ммоль, 1,0 экв) растворяли в 5 мл метанола, и добавляли сухой палладий на углероде (0,1 г, 10% масс.), и реакционную смесь перемешивали под атмосферой H_2 при комнатной температуре в течение ночи. Катализатор отфильтровывали и фильтрат упаривали, получая 0,71 г неочищенного материала (выход 87%). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{92}H_{165}N_{12}O_{35}$ $[M+H]^+$: 1997,1, найдено: 1997,1.

Вышеупомянутый неочищенный продукт (0,71 г, 0,355 ммоль, 1,0 экв) повторно растворяли в 2 мл этанола и 0,2 мл 0,1M NaH_2PO_4, добавляли *N*-(4-малеимидобутирилокси)сукцинимид (0,40 г, 1,42 ммоль, 4,0 экв) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, концентрировали и очищали на колонке С-18 преп-ВЭЖХ, элюируя 0-40% MeOH/H_2O с получением бесцветного масла (0,26 г, 33%). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{108}H_{179}N_{14}O_{41}$ $[M+H]^+$: 2328,2, найдено: 2328,2.

Пример 46. Синтез соединения **48**.



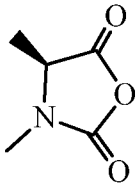
48

Соединение **47** (0,26 г, 0,112 ммоль, 1,0 экв) перемешивали в смеси 2 мл ДХМ и 2 мл ТФК при комнатной температуре в течение 3 ч. Растворители удаляли и остаток трижды упаривали совместно с ДХМ, помещая в высокий вакуум. ЭСИ m/z рассчитано для $C_{103}H_{171}N_{14}O_{39}$ $[M+H]^+$: 2228,2, найдено: 2228,2.

Вышеупомянутый неочищенный продукт повторно растворяли в 5 мл ДМФА и охлаждали на ледяной бане. Добавляли Tub-PFP (0,0,93 г, 0,134 ммоль, 1,2 экв) с последующим добавлением DIPEA (0,043 г, 0,336 ммоль, 3,0 экв). Реакционную смесь перемешивали на ледяной бане в течение 1 часа, а затем доводили значение pH до 4-5 с помощью муравьиной кислоты. Смесь концентрировали, повторно растворяли в небольшом количестве ДХМ и загружали на колонку с силикагелем и элюировали смесью ПЭ/ЭА и MeOH/ДХМ (содержащей 0,1% муравьиной кислоты). Фракции объединяли и концентрировали с получением 0,09 г желтой пены. Продукт растворяли в 50:50 MeOH/H_2O (2 мл), дополнительно очищали препаративной ВЭЖХ (45-50% MeCN/H_2O, содержащей 0,1% муравьиной кислоты). Фракции объединяли и концентрировали с получением бесцветного

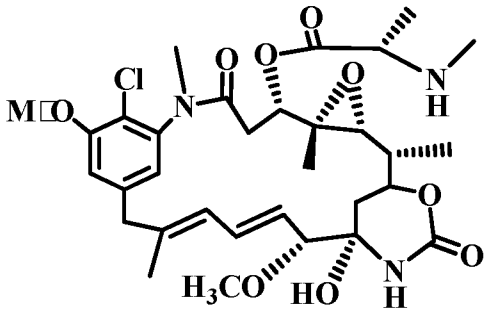
масла (0,027 г, 15% выход). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{128}H_{211}N_{18}O_{44}S$ $[M+H]^+$: 2736,4, найдено: 2736,4.

Пример 47. Синтез (S)-3,4-диметилоксазолидин-2,5-диона (NCA).



(S)-2-((трет-бутоксикарбонил)(метил)амино)пропановую кислоту (5,0 г, 24,6 ммоль) растворяли в дихлорметане (95 мл) и оставляли перемешиваться на бане лед/вода в течение 15 минут. После охлаждения по каплям добавляли трифосген (8,7 г, 29,6 ммоль, 1,2 экв) в течение около 5 минут. После завершения добавления ледяную баню убирали, реакцию оставляли протекать при комнатной температуре в течение еще 4 часов. Раствор уменьшали под давлением и добавляли четыреххлористый углерод (130 мл) для осаждения продукта. Белый осадок собирали фильтрованием и промывали оставшимся четыреххлористым углеродом. Через несколько минут кристаллы стали желтыми и желтые кристаллы повторно растворяли в небольшом количестве дихлорметана, и желтый осадок удаляли фильтрованием. Затем фильтрат (продукт) осаждали четыреххлористым углеродом и фильтровали. Кристаллам давали высохнуть на фильтре в течение 3 часов при температуре окружающей среды с получением указанного в заголовке продукта (2,3 г, выход 69%). ЭСИ МС, 130,05 $(M+1)^+$.

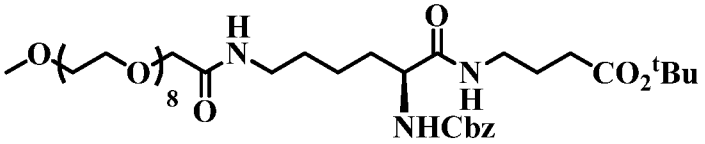
Пример 48. Синтез May-NMA



Майтанзинол (200 мг, 0,354 ммоль) растворяли в ДМФА (5 мл) и ТГФ (2,5 мл), и охлаждали на бане лед/вода. Через несколько минут при перемешивании на магнитной мешалке добавляли DIPEA (0,25 мл, 1,42 ммоль, 4 экв.) и трифлат цинка (6 экв), затем добавляли NCA (183 мг, 1,42 ммоль, 4 экв.) и реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 17 часов. Реакционную смесь разбавляли EtOAC (20 мл) и обрабатывали раствором насыщенного водного раствора хлорида натрия: насыщенного раствора гидрокарбоната натрия (1:1) (4,4 мл), полученный раствор перемешивали в течение 10 минут. Белый осадок отфильтровывали и полученный водный

раствор повторно экстрагировали EtOAC (20 мл x 2), а затем органический слой промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия. Полученный органический слой концентрировали с получением неочищенного продукта для следующей стадии без дополнительной очистки (210 мг, ~ 91% выход, 87% чистоты по данным ВЭЖХ). ЭСИ m/z рассчитано для $C_{32}H_{45}ClN_3O_9$ $[M+H]^+$: 650,28, найдено: 650,29.

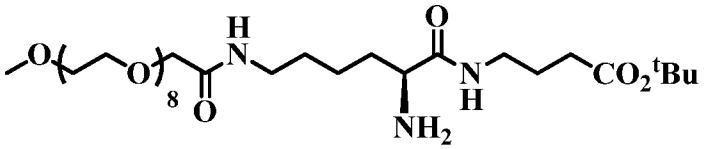
Пример 49. Синтез (S)-трет-бутил 34-(((бензилокси)карбонил)амино)-28,35-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаокса-29,36-диазатетраконтан-40-оата (**210**).



210

К смеси *трет*-бутил 4-аминобутаноата (1,03 г, 6,12 ммоль) и соединения **4** (3,91 г, 5,56 ммоль) в ДМФА (18 мл) при 0 °C последовательно добавляли HATU (2,32 г, 6,12 ммоль) и TEA (1,2 мл, 8,34 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа, затем разбавляли водой (300 мл) и экстрагировали этилацетатом (3 × 250 мл). Органический раствор промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали, концентрировали и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (32:1 дихлорметан/метанол) с получением указанного в заголовке соединения (**210**) (5,10 г, 99% выход). ЭСИ МС m/z 846,50 ($[M+H]^+$).

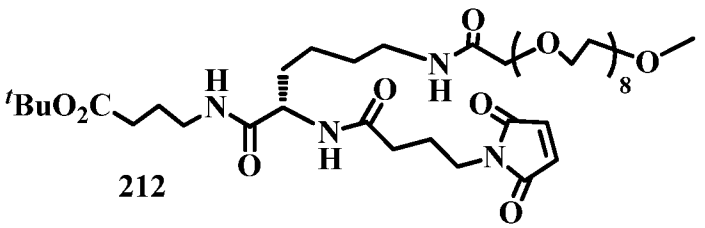
Пример 50. Синтез (S)-трет-бутил 34-амино-28,35-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаокса-29,36-диазатетраконтан-40-оата (**211**).



211

Добавляли соединение **210** (1,0 г, 1,18 ммоль) и Pd/C (10% масс., 0,10 г) в сосуде для гидрирования, содержащей метанол (50 мл). Смесь встряхивали в течение 2 часов, фильтровали через целит (фильтрующая среда) и фильтрат концентрировали с получением соединения **211** (0,93 г, выход＞100%). ЭСИ МС m/z 712,50 ($[M+H]^+$).

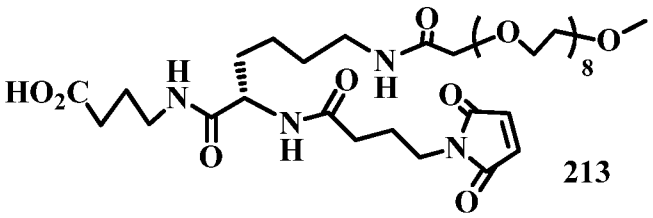
Пример 51. Синтез (S)-трет-бутил 34-(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-28,35-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаокса-29,36-диазатетраконтан-40-оата (**212**).



212

К раствору соединения **211** (0,93 г, 1,18 ммоль) в 95% EtOH (50 мл) и раствору NaH_2PO_4 (0,1 М, pH 5,0, 10 мл), добавляли N-сукцинимидил 4-малеимидобутират (0,50 г, 1,77 ммоль, 1,5 экв). Смесь перемешивали в течение ночи, затем концентрировали и разбавляли водой (50 мл), и экстрагировали дихлорметаном (80 мл × 3), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали, концентрировали и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (25:1 дихлорметан/метанол) с получением указанного в заголовке соединения в виде светло-желтого масла(0,82 г, 80%). ЭСИ МС m/z 877,52 ($[M+H]^+$).

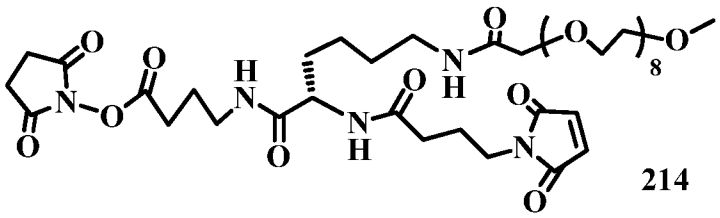
Пример 52. Синтез (S)-34-(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-28,35-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаокса-29,36-диазатетраконтан-40-овой кислоты (**213**).



213

Соединение **212** (0,82 г, 0,94 ммоль) растворяли в HCOOH (50 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Реакционную смесь концентрировали и дважды упаривали с толуолом, а остаток упаривали с помощью вакуумного насоса с получением соединения 213 (0,80 г, неочищенный продукт). ЭСИ МС m/z 820,45 ($[M+H]^+$).

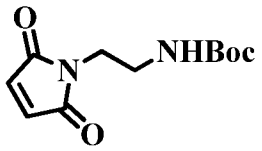
Пример 53. Синтез (S)-2,5-диоксопирролидин-1-ил 34-(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-28,35-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаокса-29,36-диазатетраконтан-40-оата (**214**).



214

К раствору соединения 213 (0,80 г, неочищенное, 0,94 ммоль) в ДМА (5,0 мл), добавляли NHS (0,12 г, 1,03 ммоль) и EDC·HCl (0,27 г, 1,41 ммоль), и реакционную смесь перемешивали при к.т. в течение 2 часов, затем разбавляли водой (15 мл) и экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Объединенную органическую фазу промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (10 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали на колонке с силикагелем (10-50 % этилацетат/петролейный эфир) с получением соединения в виде бесцветного масла (0,67 г, 78% выход). ЭСИ МС m/z 918,55 ($[M+H]^+$).

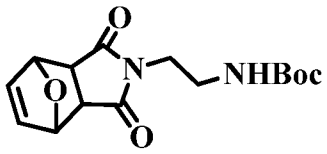
Пример 54. Синтез трет-бутил (2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)этил)карбамата (**215**).



215

Смесь *N*-Boc-этилендиамина (5,6 мл, 35,4 ммоль, 1,1 экв.) и насыщенного $NaHCO_3$ (60 мл) охлаждали до 0 °C, порциями добавляли *N*-метоксикарбонилмалеимид (5,00 г, 32,2 ммоль, 1,0 экв.). После перемешивания при 0 °C в течение 30 минут, реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 часа. Осадок собирали с помощью фильтрования, промывали холодной водой, затем растворяли в этилацетате и промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали, получая белое твердое вещество (6,69 г, 87% выход). ЭСИ МС m/z 241,12 ($[M+H]^+$).

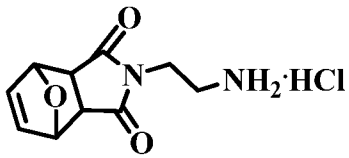
Пример 55. Синтез трет-бутил (2-(1,3-диоксо-3a,4,7,7a-тетрагидро-1H-4,7-ероксиизоиндол-2(3H)-ил)этил)карбамата (**216**).



216

В трубке высокого давления раствор соединения **215** (6,00 г, 25,0 ммоль), фурана (18,0 мл) в толуоле (120 мл) нагревали с обратным холодильником и перемешивали в течение 16 часов. Во время реакции бесцветный раствор желтел. Затем смесь охлаждали до к. т. и концентрировали. Полученное белое твердое вещество растирали с простым этиловым эфиром с получением соединения **216** (6,5 г, 84% выход). ЭСИ МС m/z 309,13 ($[M+H]^+$).

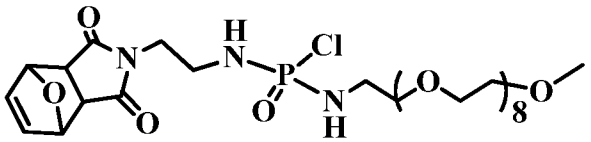
Пример 57. Синтез 2-(2-аминоэтил)-3a,4,7,7a-тетрагидро-1H-4,7-эпоксиизоиндол-1,3(2H)-диона гидрохлорида (**217**).



217

К раствору соединения **216** (9,93 г, 32,2 ммоль) в диоксане (15 мл) добавляли концентрированную HCl (15 мл) при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь концентрировали и полученное твердое вещество собирали с помощью фильтрования, промывая осадок на фильтре этилацетатом. Твердое вещество сушили в печи (50 °C) в течение ночи с получением соединения **217** (6,94 г, 88% выход). ЭСИ МС m/z 206,05 ($[M+H]^+$).

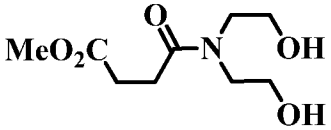
Пример 58. Синтез соединения **218.**



218

К раствору соединения **217** (1,22 г, 5 ммоль) в ТГФ (10 мл) при -10 °C добавляли $POCl_3$ (0,47 мл, 5 ммоль). После перемешивания в течение 10 минут добавляли 2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаоксаоктакозан-28-амин (2,14 г, 5 ммоль), затем добавляли DIPEA (0,87 мл, 5 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 0 °C и перемешивали в течение 3 часов, а затем концентрировали. Остаток разбавляли дихлорметаном (10 мл) и фильтровали через целит, фильтрат использовали непосредственного на следующей стадии. ЭСИ МС m/z 716,29 ($[M+H]^+$).

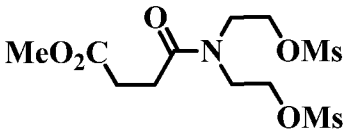
Пример 59. Синтез метил 4-(бис(2-гидроксиэтил)амино)-4-оксобутаноата (**219**).



219

Диметилсукцинат (20,0 г, 136,9 ммоль) и дигидроксиэтиламин (7,20 г, 68,7 ммоль) в смеси безводного толуола (500 мл) и пиридина (50 мл) нагревали при 150 °C в течение 28 часов. Смесь концентрировали и очищали на колонке с силикагелем, элюируя смесью 5-25% этилацетат/дихлорметан с получением указанного в заголовке соединения (12,5 г, 83% выход). ЭСИ МС m/z 242,42 $[M + Na]^+$.

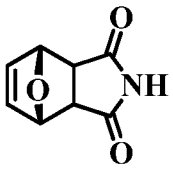
Пример 60. Синтез метил 4-(бис(2-((метилсульфонил)окси)этил) амино)-4-оксобутаноата (**220**)



220

К раствору метил 4-(бис(2-гидроксиэтил)амино)-4-оксобутаноата (12,0 г, 49,56 ммоль) в безводном пиридине (350 мл), добавляли метансульфонилхлорид (20,0 г, 175,4 ммоль). После перемешивания в течение ночи, смесь концентрировали, разбавляли этилацетатом (350 мл), промывали охлажденным 1 М NaH_2PO_4 (2 × 300мл), сушили над $MgSO_4$, фильтровали и упаривали с получением неочищенного продукта (~18,8 г, >100% выход). Неочищенный продукт использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЭСИ МС m/z 376,06 ($[M+H]^+$).

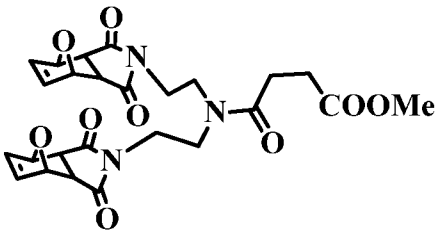
Пример 61. Синтез 3,6-эндоксо-Δ-тетрагидрофталимида (**221**).



221

К раствору малеимида (10,0 г, 103,0 ммоль) в толуоле (200 мл) добавляли фуран (10,0 мл, 137,4 ммоль). Смесь нагревании в автоклавном реакторе объемом 1 л при 100 °C в течение 8 часов. Реактор охлаждали до комнатной температуры и твердое вещество промывали метанолом, концентрировали и кристаллизовали в смеси этилацетат/гексан с получением 16,7 г (99%) указанного в заголовке соединения 1H ЯМР ($CDCl_3$): 11,12 (с, 1H), 6,68~6,64 (м, 2H), 5,18~5,13 (м, 2H), 2,97 ~2,92 (м, 2H). ЭСИ МС m/z $[M + Na]^+$ 188,04.

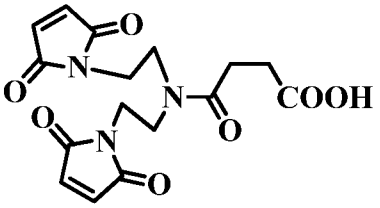
Пример 62. Синтез метил 4-((2-((3aR,4R,7S,7aS)-1,3-диоксо-3a,4,7,7a -тетрагидро-1H-4,7-ероксиизоиндол-2(3H)-ил)этил)(2-((4R,7S,7aS)-1,3-диоксо-3a,4,7,7a-тетрагидро-1H-4,7-ероксиизоиндол-2(3H)-ил)этил)амино)-4-оксобутаноата (**222**).



222

К раствору метил 4-(бис(2-((метилсульфонил)окси)этил)амино)-4-оксобутаноата (**220**, свежеприготовленного, 90% чистоты 8,5 г, ~20 ммоль) в ДМА (350 мл) добавляли 3,6-эндоксо-Δ-тетрагидрофталимид (10,2 г, 61,8 ммоль), карбонат натрия (8,0 г, 75,5 ммоль) и йодид натрия (0,3 г, 2,0 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, концентрировали, разбавляли этилацетатом (350 мл), промывали насыщенным раствором $NaHCO_3$ (300 мл), насыщенным раствором NaCl (300 мл) и 1 M NaH_2PO_4 (300 мл). Органический слой сушили над сульфатом натрия, фильтровали, упаривали, загружали на колонку с силикагелем и элюировали смесью 10-30% этилацетат/гексан с получением указанного в заголовке соединения (7,9 г, 77% выход). ЭСИ МС m/z $[M + Na]^+$ 536,4.

Пример 63. Синтез 4-(бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)этил) амино)-4-оксобутановой кислоты (**223**).

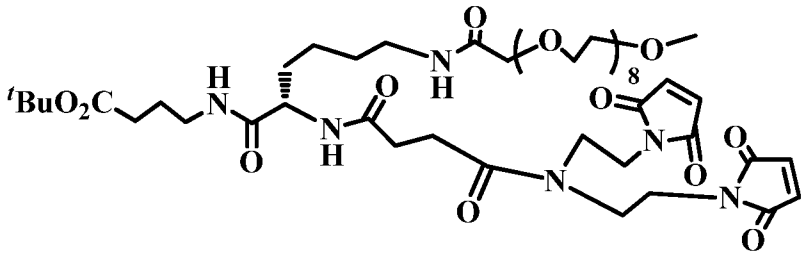


223

Соединение **222** (3,0 г, 5,8 ммоль) и триметилстаннанол (4,8 г, 26,4 ммоль) в 1,2-дихлорэтане (150 мл) кипятили с обратным холодильником при 80 °C в течение 8 часов, затем охлаждали

до комнатной температуры и остаток пропускали через короткую колонку с силикагелем и элюировали смесью дихлорметан/метанол для удаления избытка гидроксида триметилолова. Затем объединенные фракции объединяли, концентрировали и разбавляли ДМА и толуолом, нагревали до 120 °C и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь загружали на колонку с силикагелем и элюировали смесью 5-10% метанол/дихлорметан с получением указанного в заголовке соединения (1,62 г, выход 76%). ЭСИ МС m/z $[M + Na]^+$ 386,2.

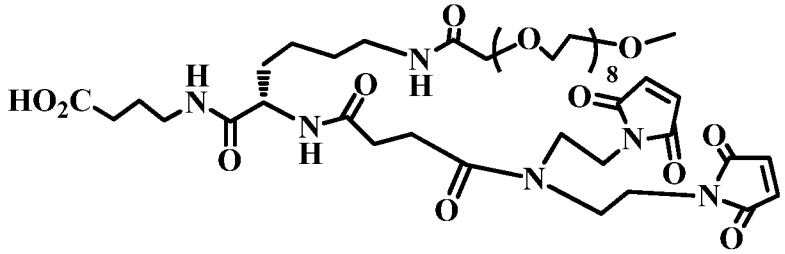
Пример 64. Синтез (S)-трет-бутил 34-(4-(бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)этил)амино)-4-оксобутанамидо)-28,35-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаокса-29,36-диазатетраконтан-40-оата (**224**).



224

К раствору соединения **223** (1,62 г, 4,20 ммоль) и соединения **211** (2,71 г, 3,82 ммоль) в ДМА (20 мл) добавляли EDC·HCl (0,81 г, 4,20 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, затем выливали в воду (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (3 × 40 мл). Объединенную органическую фазу промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (40 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (10-50% этилацетат/петролейный эфир) с получением бесцветного масла (3,20 г, 80% выход). ЭСИ МС m/z 1057,85 ($[M+H]^+$).

Пример 65. Синтез (S)-34-(4-(бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)этил)амино)-4-оксобутанамидо)-28,35-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаокса-29,36-диазатетраконтан-40-овой кислоты (**225**).

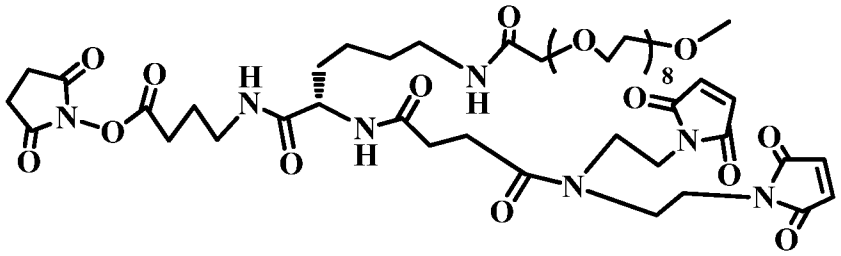


225

Раствор соединения **224** (3,20 г, 3,03 ммоль) в муравьиной кислоте (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Затем раствор концентрировали и трижды

упаривали вместе с толуолом, получая бесцветное масло (3,00 г, неочищенное), которое использовали без дополнительной очистки. ЭСИ МС m/z 1001,50 ([M+H]$^+$).

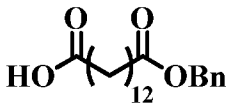
Пример 66. Синтез (S)-2,5-диоксопирролидин-1-ил 34-(4-(бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)этил)амино)-4-оксобутанамидо)-28,35-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаокса-29,36-диазатетраконтан-40-оата (**226**).



226

К раствору соединения **225** (3,00 г, неочищенное, 3,03 ммоль) в ДМА (15,0 мл), добавляли NHS (0,38 г, 3,33 ммоль) и EDC·HCl (0,87 г, 4,55 ммоль), и реакционную смесь перемешивали при к.т. в течение 2 часов, затем разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (3 × 30 мл). Объединенную органическую фазу промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (30 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали на колонке с силикагелем (10-50 % этилацетат/петролейный эфир) с получением бесцветного масла (2,90 г, 90% выход). ЭСИ МС m/z 1098,50 ([M+H]$^+$).

Пример 67. Синтез 14-(бензилокси)-14-оксотетрадекановой кислоты (**227**).



227

К раствору тетрадекандиовой кислоты (2,06 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 концентрировали и очищали с помощью колоночной хроматографии (этилацетат/петролейный эфир) с получением указанного в заголовке соединения **227** (1,2 г, 45% выход). ЭСИ МС m/z 349,23 ([M+H]$^+$).

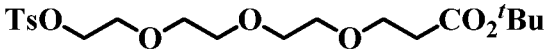
Пример 68. Синтез трет-бутил 3-(2-(2-(2-гидроксиэтокси)этокси)этокси) пропаноата (**228**).

228

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 исчезновения 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. Удаляли ТГФ на роторном испарителе, добавляли насыщенный водный раствор хлорида

натрия (300 мл) и полученную смесь экстрагировали этилацетатом (3 × 100 мл). Органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (3 × 300 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением бесцветного масла (30,20 г, 79,0% выход), которое использовали без дальнейшей очистки. МС ЭСИ m/z 278,17 ($[M+H]^+$).

Пример 69. Синтез трет-бутил 3-(2-(2-(2-(тозилокси)этокси)этокси)этокси) пропаноата (**229**).



229

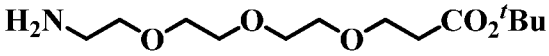
К раствору *трет*-бутил 3-(2-(2-(2-гидроксиэтокси)этокси)этокси) пропаноата (30,20 г, 108,5 ммоль, 1,0 экв.) и TsCl (41,37 г, 217,0 ммоль, 2,0 экв.) в безводном ДХМ (220 мл) при 0 °C добавляли TEA (30,0 мл, 217,0 ммоль, 2,0 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, а затем промывали водой (3 × 300 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (300 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали, концентрировали и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (3:1 смесь изомеров гексана/этилацетат) с получением бесцветного масла (39,4 г, 84,0% выход). МС ЭСИ m/z 433,28 ($[M+H]^+$).

Пример 70. Синтез трет-бутил 3-(2-(2-(2-азидоэтокси)этокси)этокси) пропаноата (**230**).

230

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 добавляли (100 мл), 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 этилацетатом (3 × 300 мл). Объединенные органические слои промывали водой (3 × 900 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (900 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали, концентрировали и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (5:1 смесь изомеров гексана/ этилацетат) с получением светло-желтого масла (23,8 г, 85,53% выход). МС ЭСИ m/z 326,2 ($[M + Na]^+$).

Пример 71. Синтез трет-бутил 3-(2-(2-(2-аминоэтокси)этокси)этокси) пропаноата (**231**).

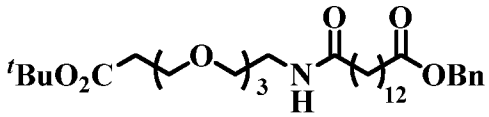


231

Ni Ренея (7,5 г, суспендированный в воде) промывали водой (трижды) и изопропиловым спиртом (трижды) и смешивали с соединением **230** (5,0 г, 16,5 ммоль) в изопропиловом спирте Смесь перемешивали в атмосфере H_2 при давлении шара при комнатной температуре в течение 16 часов, а затем фильтровали через слой целита, промывая слой на

фильтре изопропиловым спиртом. Фильтрат концентрировали и очищали с помощью колоночной хроматографии (5-25% метанол/дихлорметан) с получением светло-желтого масла (2,60 г, выход 57%). МС ЭСИ m/z 279,19 ([M+H]$^+$).

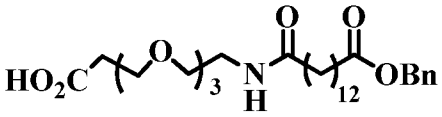
Пример 72. Синтез 27-бензил 1-трет-бутил 14-оксо-4,7,10-триокса-13-азагептакозан-1,27-диоата (**232**).



232

К раствору соединения **231** (2,60 г, 9,35 ммоль) и соединения **227** (3,91 г, 11,2 ммоль) в дихлорметане (50 мл), добавляли EDC·HCl (2,15 г, 11,2 ммоль) и DIPEA (3,6 мл, 20,6 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, затем разбавляли 50 мл дихлорметана и выливали в делительную воронку, содержащую 50 мл воды. Органическую фазу отделяли, промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (50 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (0-10% метанол/дихлорметан) с получением указанного в заголовке соединения **232** (4,94 г, 87% выход). ЭСИ m/z 608,40 ([M+H]$^+$).

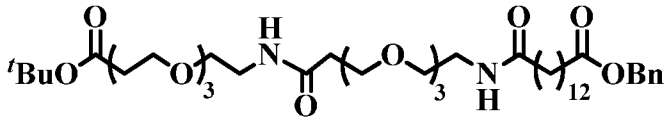
Пример 73. Синтез 3,16-диоксо-1-фенил-2,20,23,26-тетраокса-17-азанонакозан-29-овой кислоты (**233**).



233

К раствору соединения **232** (4,94 г, 8,14 ммоль) в дихлорметане (20 мл) добавляли ТФК (20 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, затем концентрировали досуха и дважды упаривали совместно с дихлорметаном, и остаток сушили в вакууме с получением соединения **233** (4,50 г, неочищенный продукт). ЭСИ МС m/z 552,35 ([M+H]$^+$).

Пример 74. Синтез 40-бензил 1-трет-бутил 14,27-диоксо-4,7,10,17,20,23-гексаокса-13,26-диазатетраконтан-1,40-диоата (**234**).

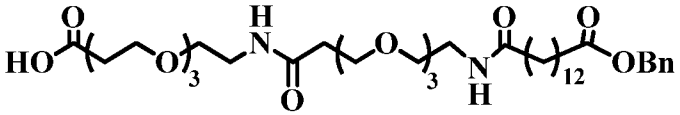


234

К раствору соединения **233** (4,50 г, неочищенное, 8,14 ммоль) и соединения **231** (1,95 г, 7,00 ммоль) в дихлорметане (50 мл) добавляли EDC·HCl (1,56 г, 8,14 ммоль) и DIPEA (2,7 мл, 15,4 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, затем разбавляли 50 мл дихлорметана и выливали в делительную воронку,

содержащую 50 мл воды. Органическую фазу отделяли, промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (50 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (0-10% метанол/дихлорметан) с получением указанного в заголовке соединения **234** (5,22 г, 92% выход). ЭСИ m/z 811,52 ([M+H]$^+$).

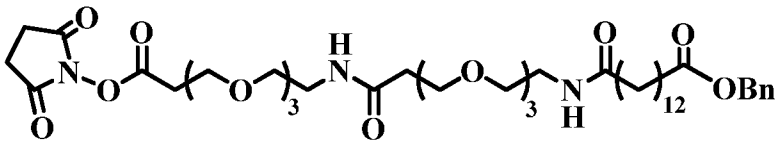
Пример 75. Синтез 3,16,29-триоксо-1-фенил-2,20,23,26,33,36,39-гептаокса-17,30-диазадотетраконтан-42-овой кислоты (**235**).



235

К раствору соединения **234** (5,22 г, 6,44 ммоль) в дихлорметане (20 мл) добавляли ТФК (5 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, затем концентрировали досуха и дважды упаривали совместно с дихлорметаном, и остаток сушили в вакууме с получением соединения **235** (4,90 г, неочищенный продукт). ЭСИ МС m/z 755,46 ([M+H]$^+$).

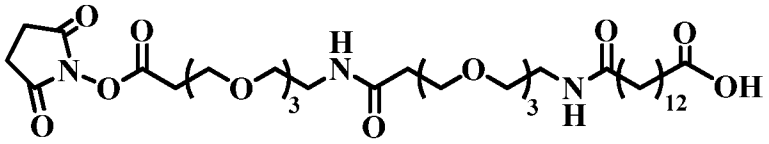
Пример 76. Синтез 40-бензил 1-(2,5-диоксопирролидин-1-ил) 14,27-диоксо-4,7,10,17,20,23-гексаокса-13,26-диазатетраконтан-1,40-диоата (**236**).



236

К раствору соединения **235** (4,90 г, неочищенное, 6,44 ммоль) в дихлорметане (30 мл) добавляли NHS (0,81 г, 7,08 ммоль), EDC·HCl (1,85 г, 9,66 ммоль) и DIPEA (2,8 мл, 16,1 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов, затем разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (3 × 30 мл). Объединенную органическую фазу промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (30 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали на колонке с силикагелем (10-50 % этилацетат/петролейный эфир) с получением бесцветного масла **236** (4,90 г, 90% выход). ЭСИ МС m/z 852,48 ([M+H]$^+$).

Пример 77. Синтез 1-((2,5-диоксопирролидин-1-ил)окси)-1,14,27-триоксо-4,7,10,17,20,23-гексаокса-13,26-диазатетраконтан-40-овой кислоты (**237**).

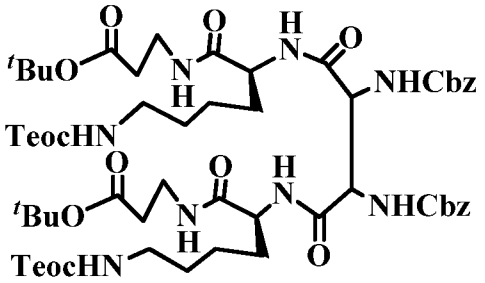


237

К раствору соединения **193** (4,90 г, 5,75 ммоль) в ТГФ (20 мл) в сосуде для гидрирования добавляли Pd/C (10% масс., 0,20 г). Смесь перемешивали в атмосфере H_2 при давлении 1

атм в течение ночи, фильтровали через целит (фильтрующая среда) и профильтрованный раствор концентрировали с получением соединения **237** (4,50 г, >100% выход). ЭСИ МС m/z 762,44 ([M+H]$^+$).

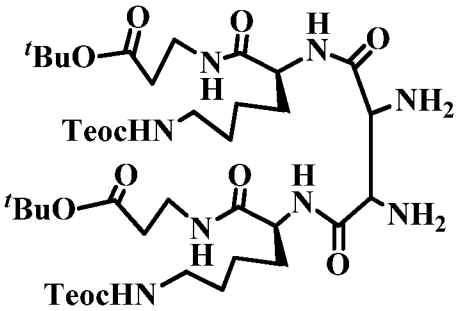
Пример 78. Синтез (6S,13S)-ди-трет-бутил 9,10-бис(((бензилокси)карбонил)амино)-5,8,11,14-тетраоксо-6,13-бис(4-(((2-(триметилсилил)этокси)карбонил)амино)бутил)-4,7,12,15-тетраазаоктадекан-1,18-диоата (**152**).



152

К раствору (S)-трет-бутил 12-амино-2,2-диметил-6,13-диоксо-5-окса-7,14-диаза-2-силагептадекан-17-оата (6,02 г, 14,4 ммоль) и 2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)янтарной кислоты (5,00 г, 12,0 ммоль) в ДМА (60 мл) добавляли EDC·HCl (2,76 г, 14,4 ммоль) и DIPEA (4,7 мл, 26,4 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, затем разбавляли 150 мл дихлорметана и выливали в делительную воронку, содержащую 100 мл воды. Органическую фазу отделяли, промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (2 × 50 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (10-80% этилацетат/петролейный эфир) с получением указанного в заголовке соединения **152** (12,4 г, 85% выход). ЭСИ МС m/z 1215,63 ([M+H]$^+$).

Пример 79. Синтез (6S,13S)-ди-трет-бутил 9,10-диамино-5,8,11,14-тетраоксо-6,13-бис(4-(((2-(триметилсилил)этокси)карбонил)амино)бутил)-4,7,12,15-тетраазаоктадекан-1,18-диоата (**153**).

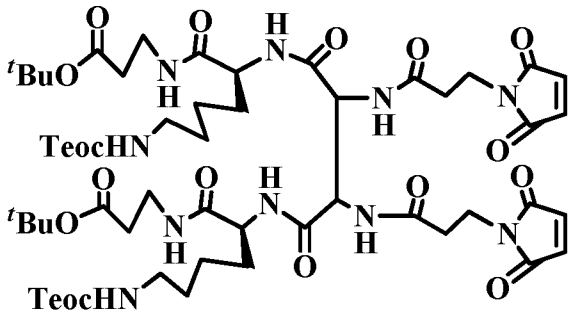


153

Через раствор соединения **152** (12,4 г, 10,2 ммоль) и Pd/C (10% масс., 0,10 г) в метаноле (50 мл) в сосуде для гидрирования продували водород (5 фунт/кв. дюйм). Смесь встряхивали в течение 2 часов, фильтровали через целит (фильтрующая среда) и фильтрат

концентрировали с получением соединения **153** (9,47 г, 98% выход) в виде бесцветного масла. ЭСИ МС m/z 947,56 ([M+H]$^+$).

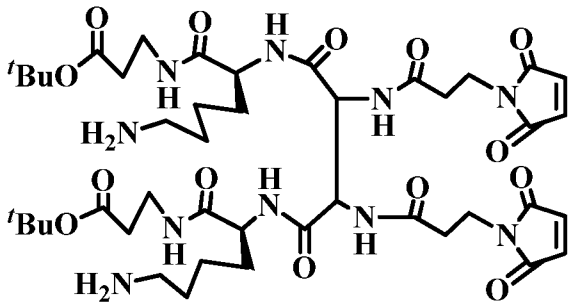
Пример 80. Синтез (6S,13S)-ди-трет-бутил 9,10-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-5,8,11,14-тетраоксо-6,13-бис(4-(((2-(триметилсилил)этокси)карбонил)-амино)бутил)-4,7,12,15-тетраазаоктадекан-1,18-диоата (**154**).



154

К раствору соединения **153** (9,47 г, 10,0 ммоль) в дихлорметане (50 мл) добавляли NHS (1,39 г, 12,0 ммоль), EDC·HCl (2,30 г, 12,0 ммоль) и DIPEA (3,8 мл, 22,0 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов, затем разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (3 × 30 мл). Объединенную органическую фазу промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (30 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали на колонке с силикагелем (10-80 % этилацетат/петролейный эфир) с получением бесцветного масла (9,49 г, 76% выход). ЭСИ МС m/z 1249,72 ([M+H]$^+$).

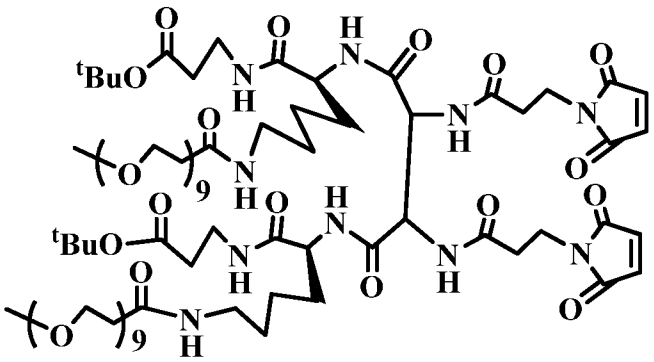
Пример 81. Синтез (6S,13S)-ди-трет-бутил 6,13-бис(4-аминобутил)-9,10-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-5,8,11,14-тетраоксо-4,7,12,15-тетраазаоктадекан-1,18-диоата (**155**).



155

К раствору соединения **154** (8,50 г, 6,80 ммоль) в метаноле (100 мл) добавляли NH_4F (0,80 г, 21,62 ммоль) и каплю 1,0 М HCl (~0,010 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов, затем при 50 °C в течение 2 часов. Затем смесь разбавляли ДМФА (30 мл), упаривали в вакууме и сушили с помощью масляного вакуумного насоса с получением неочищенного продукта (8,19 г, >100% выход) для следующей стадии без дополнительной очистки. ЭСИ МС m/z 961,53 ([M+H]$^+$).

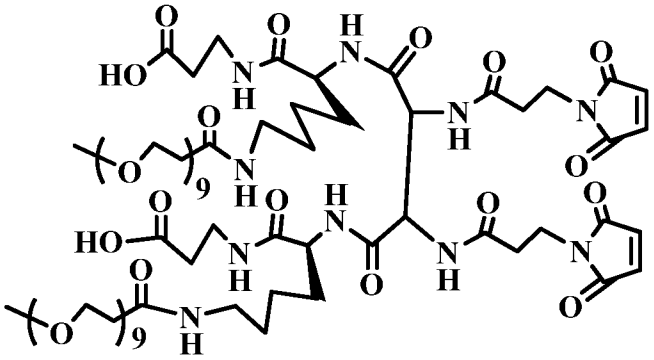
Пример 82. Синтез (6S,13S)-ди-трет-бутил 9,10-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-5,8,11,14-тетраоксо-6,13-бис(29-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаокса-30-азатетратриаконтан-34-ил)-4,7,12,15-тетраазаоктадекан-1,18-диоата (**157**).



157

К раствору неочищенного соединения **155** (8,19 г, ~ 6,80 ммоль) в ДМА(100 мл) добавляли 2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаоксанонакозан-29-овую кислоту (6,92 г, 15,17 ммоль) и EDC·HCl (6,30 г, 33,15 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 8 часов, затем концентрировали, разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (3 × 80 мл). Объединенную органическую фазу сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали, концентрировали и очищали на колонке с силикагелем (10% - 30 % МеОН/ДХМ) с получением бесцветного масла (6,51 г, 52% выход за две стадии). ЭСИ МС m/z 1839,09 ($[M+H]^+$).

Пример 83. Синтез (6S,13S)-9,10-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-5,8,11,14-тетраоксо-6,13-бис(29-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаокса-30-азатетратриаконтан-34-ил)-4,7,12,15-тетраазаоктадекан-1,18-диовой кислоты (**158**).

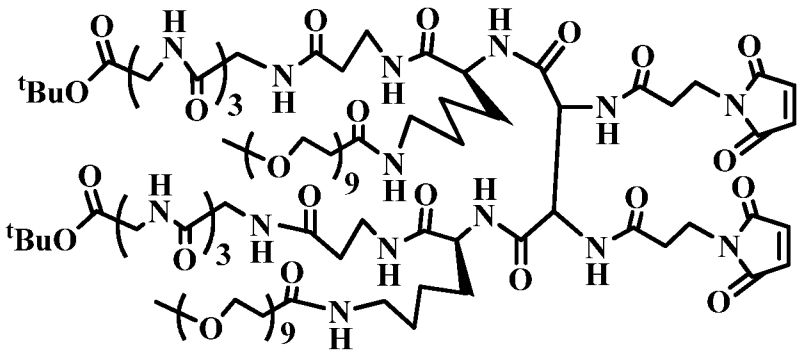


158

Раствор соединения **157** (6,49 г, 3,53 ммоль) в диоксане (30 мл) обрабатывали концентрированной HCl (10 мл) при 0 °C в течение 30 минут, затем разбавляли толуолом (50 мл), концентрировали и очищали на короткой колонке с силикагелем, элюируя смесью 10 -25% метанол/дихлорметан с получением бесцветного масла (5,47 г, 90% выход). ЭСИ МС m/z 1725,88 ($[M+H]^+$).

Пример 84. Синтез (18S,25S)-ди-трет-бутил 21,22-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-4,7,10,13,17,20,23,26,30,33,36,39-додекаоксо-18,25-бис(29-

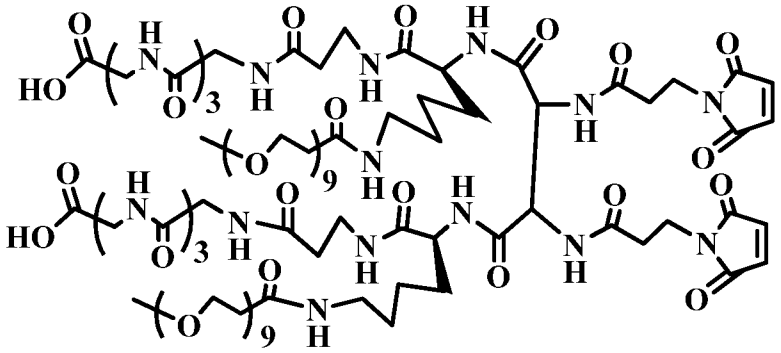
оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаокса-30-азатетратриаконтан-34-ил)-3,6,9,12,16,19,24,27,31,34,37,40-додекаазадотетраконтан-1,42-диоата (**160**).



160

К раствору соединения **158** (5,40 г, 3,13 ммоль) в ДМА (100 мл) добавляли трет-бутил 2-(2-(2-(2-аминоацетамидо)ацетамидо)ацетамидо)ацетат (гли-гли-гли-гли-O^{t}Bu) (2,50 г, 8,27 ммоль) и EDC·HCl (5,50 г, 28,94 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 8 часов, затем концентрировали, разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (3 × 80 мл). Объединенную органическую фазу сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали, концентрировали и очищали на колонке с силикагелем (5% - 20 % MeOH/ДХМ) с получением бесцветного масла (5,95 г, 83% выход). ЭСИ МС m/z 2294,52 ([M+H]$^+$).

Пример 85. Синтез (18S,25S)-21,22-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-4,7,10,13,17,20,23,26,30,33,36,39-додекаоксо-18,25-бис(29-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаокса-30-азатетратриаконтан-34-ил)-3,6,9,12,16,19,24,27,31,34,37,40-додекаазадотетраконтан-1,42-диовой кислоты (**161**).

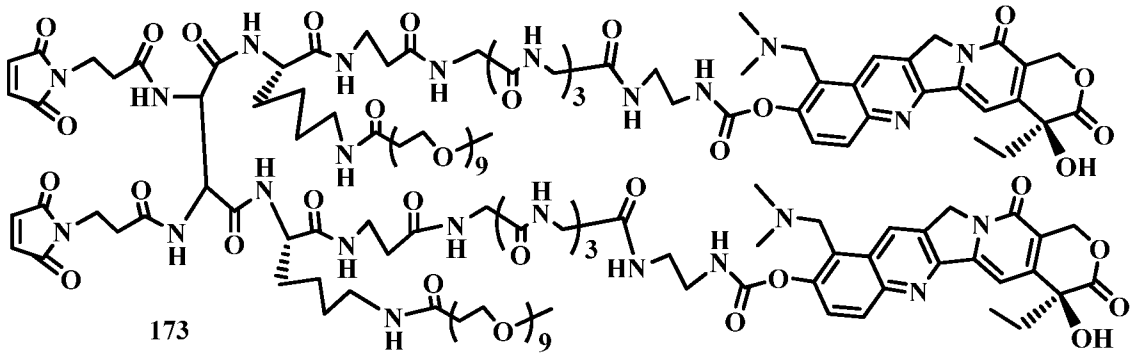


161

Раствор соединения **160** (5,90 г, 2,57 ммоль) в диоксане (30 мл) обрабатывали концентрированной HCl (10 мл) при 0 °C в течение 30 минут, затем разбавляли толуолом (50 мл), концентрировали и загружали на короткую колонку с силикагелем и элюировали смесью 10 -30% метанол/дихлорметана с получением бесцветного масла (4,60 г, 82% выход). ЭСИ МС m/z 2182,33 ([M+H]$^+$).

Пример 86. Синтез бис((S)-10-((диметиламино)метил)-4-этил-4-гидрокси-3,14-диоксо-3,4,12,14-тетрагидро-1H-пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-9-ил) ((35S,35'S)-

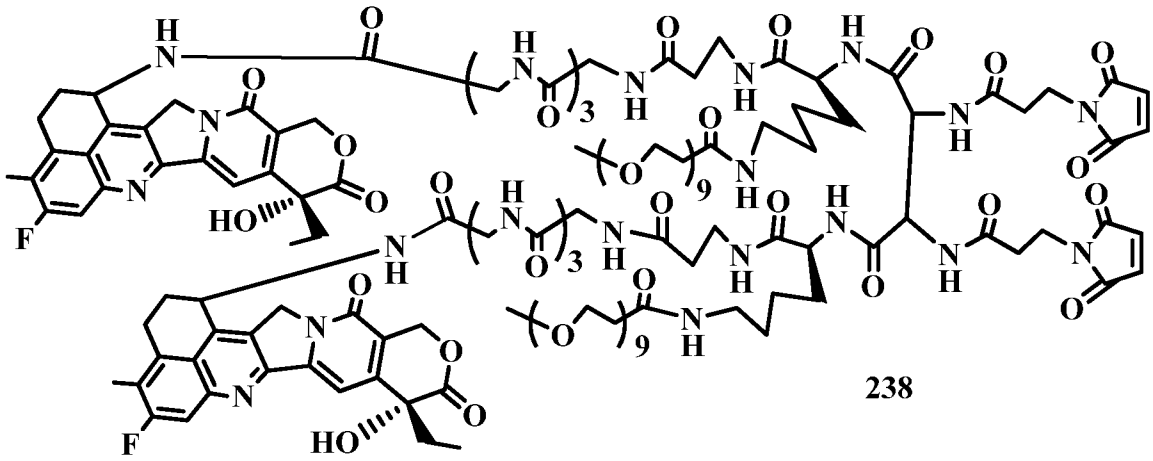
35,35'-((2,3-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)сукцинил)бис(азандиил))-бис(29,36,40,43,46,49,52-гептаоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаокса-30,37,41,44,47,50,53-гептаазапентапентаконтан-55,35-диил))дикарбамата (**173**).



173

К раствору соединения **161** (180,5 мг, 0,0825 ммоль) в ДМА (6 мл), добавляли (S)-10-((диметиламино)метил)-4-этил-4-гидрокси-3,14-диоксо-3,4,12,14-тетрагидро-1H-пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-9-ил (2-аминоэтил)карбамат HCl соль (**172**) (145,0 мг, 0,267 ммоль), EDC·HCl (120,2 мг, 0,632 ммоль) и DIPEA (0,10 мл, 0,57 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 8 часов, затем концентрировали, разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (3 × 30 мл). Объединенную органическую фазу сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали, концентрировали и очищали на колонке с силикагелем (5% - 15 % MeOH/ДХМ) с получением бесцветного масла (212,3 мг, 82% выход). ЭСИ МС m/z 3160,89 ($[M+H]^+$).

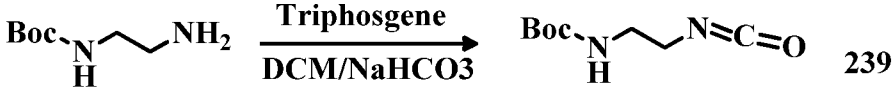
Пример 87. Синтез 2,3-бис(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-N1,N4-бис((35S)-52-(((9R)-9-этил-5-фтор-9-гидрокси-4-метил-10,13-диоксо-1,2,3,9,10,12,13,15-октагидробензо[де]пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-1-ил)амино)-29,36,40,43,46,49,52-гептаоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26-нонаокса-30,37,41,44,47,50-гексаазадопентаконтан-35-ил)сукцинамида (**238**).



238

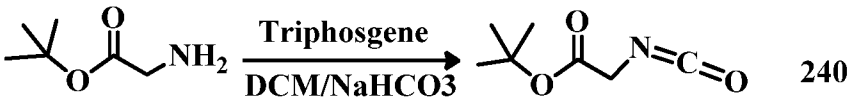
К раствору соединения **161** (195,1 мг, 0,0894 ммоль) в ДМА (6 мл) добавляли (9R)-1-амино-9-этил-5-фтор-9-гидрокси-4-метил-2,3,12,15-тетрагидробензо[de]пирано-[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-10,13(1H,9H)-дион HCl соль (**65**) (128,0 мг, 0,271 ммоль), EDC·HCl (120,0 мг, 0,632 ммоль) и DIPEA (0,10 мл, 0,57 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 8 часов, затем концентрировали, разбавляли водой (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (3 × 30 мл). Объединенную органическую фазу сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали, концентрировали и очищали на колонке с силикагелем (5% - 15 % MeOH/ДХМ) с получением бесцветного масла (215,5 мг, 80% выход). ЭСИ МС m/z 3016,38 ($[M+H]^+$).

Пример 88. Синтез трет-бутил (2-изоцианатоэтил)карбамата (**239**)



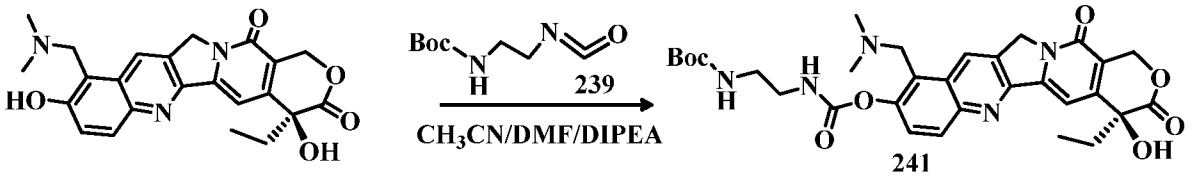
К *N-трет*-бутоксикарбонил-1,2-этандиамина (10,0 г, 0,062 моль) в смеси дихлорметана/насыщенного раствора $NaHCO_3$ (100 мл/100 мл) при около 0 °C за один раз добавляли трифосген (6,1 г, 0,02 моль). После добавления, реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 1 часа. Две фазы разделяли и дихлорметановую фазу промывали водой (30 мл), насыщенным водным раствором хлорида натрия (30 мл), сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением соединения **239** (8,6 г, 74% выход).

Пример 89. Синтез трет-бутил 2-изоцианатоацетата (**240**).



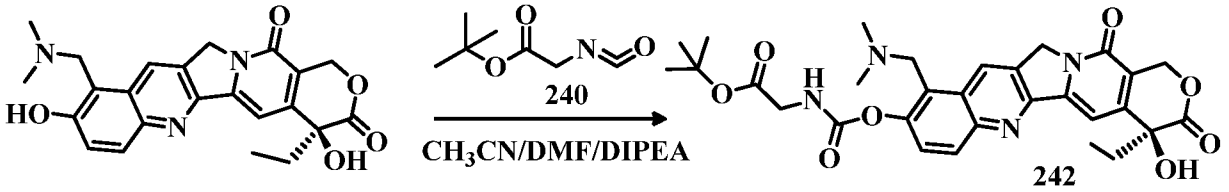
К гидрохлорид трет-бутиловому эфиру глицина (10,0 г, 0,059 моль) в смеси дихлорметан/насыщенный раствор $NaHCO_3$ (100 мл/100 мл) при около 0 °C за один раз добавляли трифосген (5,9 г, 0,19 моль). После добавления, реакционную смесь перемешивали при 0 ° в течение 1 часа. Две фазы разделяли и дихлорметановую фазу промывали водой (30 мл), насыщенным водным раствором хлорида натрия (30 мл), сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт перегоняли (2 торр, 35 °C), получая бесцветный продукт в виде масла (6,1 г, 65 % выход).

Пример 90. Синтез (S)-трет-бутил (10-((диметиламино)метил)-4-этил-4-гидрокси-3,14-диоксо-3,4,12,14-тетрагидро-1H-пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-9-ил) этан-1,2-диилдикарбамата (**241**).



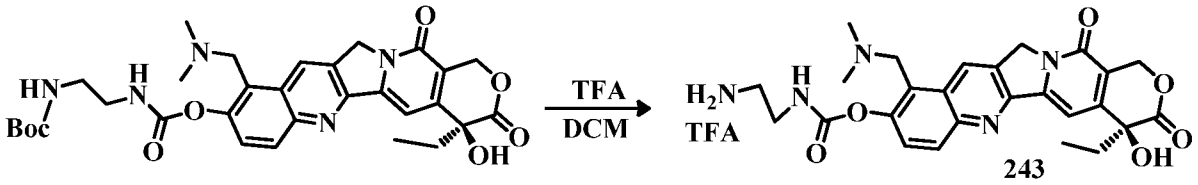
К топотекану (50 мг, 0,109 ммоль) в смеси ДМФА/CH_3CN (1 мл / 3 мл) при 0 °C добавляли DIPEA (34 мг, 0,27 ммоль) и соединение **239** (30 мг, 0,164 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 1 часа, затем при комнатной температуре в течение еще 1 часа, концентрировали досуха, растирали с 4 мл этилацетата с получением желтого твердого вещества (**241**) (47 мг, 69% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{31}H_{37}N_5O_8$, 608,26; найдено 608,26.

Пример 91. Синтез (S)-трет-бутил 2-((((10-((диметиламино)метил)-4-этил-4-гидрокси-3,14-диоксо-3,4,12,14-тетрагидро-1H-пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-9-ил)окси)карбонил)амино)ацетата (**242**).



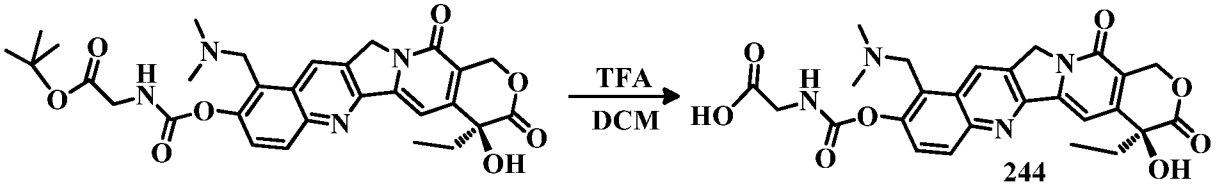
К топотекану (50 мг, 0,109 ммоль) в смеси ДМФА/CH_3CN (1 мл / 3 мл) при 0 °C последовательно добавляли DIPEA (34 мг, 0,27 ммоль) и соединение **240** (26 мг, 0,164 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 1 часа, затем при комнатной температуре в течение еще 1 часа, концентрировали досуха, растирали с 4 мл этилацетата с получением желтого твердого вещества (**242**) (43 мг, 68% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{30}H_{34}N_4O_8$, 579,24; найдено, 579,24.

Пример 92. Синтез (S)-10-((диметиламино)метил)-4-этил-4-гидрокси-3,14-диоксо-3,4,12,14-тетрагидро-1H-пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-9-ил (2-аминоэтил)карбамата (**243**).



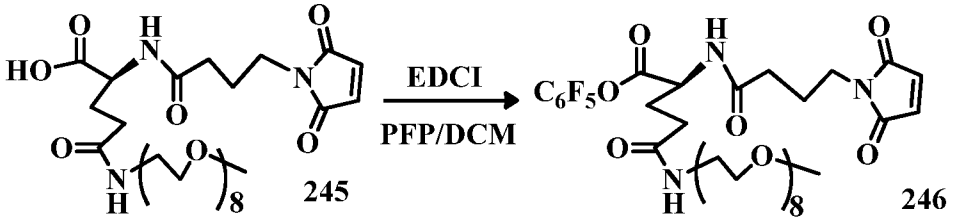
Соединение **241** (47 мг, 0,077 ммоль) суспендировали в дихлорметане (3 мл) при перемешивании, добавляли ТФК (1 мл). Раствор сватал прозрачным. После перемешивания в течение 0,5 часа, смесь разбавляли толуолом (5 мл) и упаривали с получением указанного в заголовке соединения **243** (47 мг, 100% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{26}H_{29}N_5O_6$, 508,21; найдено, 508,21.

Пример 93. Синтез (S)-2-((((10-((диметиламино)метил)-4-этил-4-гидрокси-3,14-диоксо-3,4,12,14-тетрагидро-1H-пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-9-ил)окси)карбонил)амино)уксусной кислоты (**244**).



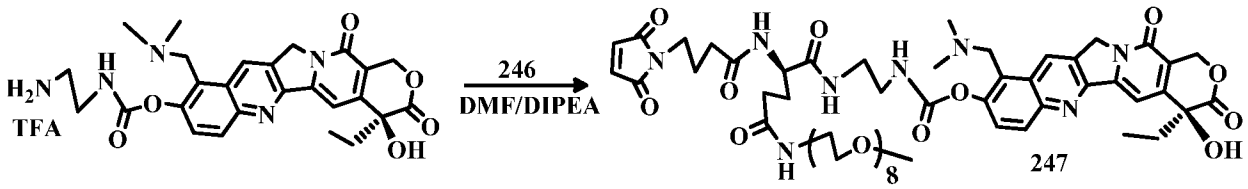
Соединение **242** (43 мг, 0,074 ммоль) суспендировали в дихлорметане (3 мл) при перемешивании, добавляли ТФК (1 мл). После перемешивания в течение 0,5 часа, смесь разбавляли толуолом (5 мл) и упаривали с получением указанного в заголовке соединения **244** (39 мг, 100% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{26}H_{26}N_4O_8$ 523,18, найдено 523,18.

Пример 94. Синтез (S)-перфторфенил 30-(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-27-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23-октаокса-26-азаентриаконтан-31-оата



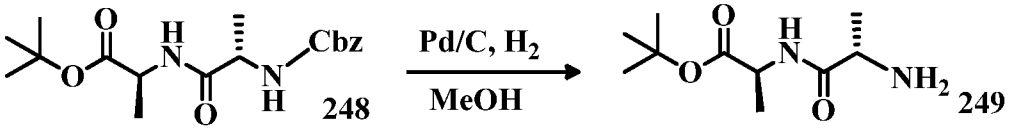
К (S)-30-(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-27-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23-октаокса-26-азаентриаконтан-31-оновой кислоте (20 мг, 0,029 ммоль) в дихлорметане (5 мл) добавляли EDC (11 мг, 0,059 ммоль) и пентафторфенол (10,8 мг, 0,059 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов, концентрировали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя смесью EtOAc/ДХМ (1:4) с получением указанного в заголовке соединения **246** (24 мг, 100% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{36}H_{50}F_5N_3O_{14}$, 844,32; найдено, 844,32.

Пример 95. Синтез (S)-10-((диметиламино)метил)-4-этил-4-гидрокси-3,14-диоксо-3,4,12,14-тетрагидро-1H-пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-9-ил ((S)-30-(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-27,31-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23-октаокса-26,32-диазатетратриаконтан-34-ил)карбамата (**247**).



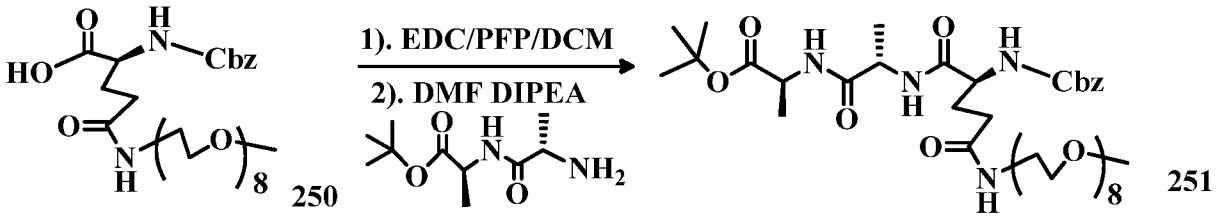
К раствору соединения **243** (18 мг, 0,029 ммоль) и соединения **246** (24 мг, 0,029 ммоль) в ДМФА (4 мл) при около 0 °C добавляли DIPEA (75 мг, 0,58 ммоль). Реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 часов. После концентрации, остаток очищали с помощью ВЭЖХ (CH_3CN/H_2O, 20%-80%) с получением указанного в заголовке соединения **247** (15 мг, 45% выход). ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{56}H_{78}N_8O_{19}$, 1167,54; найдено, 1167,54.

Пример 96. Синтез (S)-трет-бутил 2-((S)-2-аминопропанамидо)пропаноата (**249**).



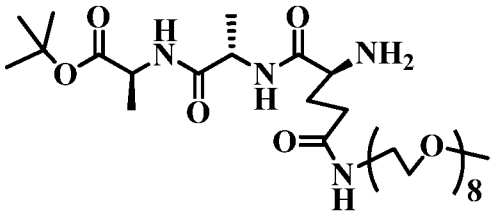
Раствор (S)-трет-бутил 2-((S)-2-(((бензилокси)карбонил)амино)пропанамидо)пропаноата (10 г, 0,028 моль) и 10% палладия на углероде (1,0 г) в метаноле (100 мл) перемешивали в атмосфере водорода (5 фунт/кв. дюйм) в течение 3 часов. Твердое вещество отфильтровывали и профильтрованный раствор упаривали, получая бесцветный продукт в виде масла (6,1 г, выход 100%). ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{10}H_{20}N_2O_3$, 217,15; найдено, 217,15.

Пример 97. Синтез (30S,33S,36S)-трет-бутил 30-(((бензилокси)карбонил)амино)-33,36-диметил-27,31,34-триоксо-2,5,8,11,14,17,20,23-октаокса-26,32,35-триазагептатриаконтан-37-оата (**251**).



К (S)-30-(((бензилокси)карбонил)амино)-27-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23-октаокса-26-азаентриаконтан-31-овой кислоте (**250**) (100 мг, 0,154 ммоль) в дихлорметане (5 мл) добавляли EDC (59 мг, 0,309 ммоль) и пентафторфенол (PFP) (57 мг, 0,309 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов, разбавляли дихлорметаном (20 мл), промывали водой (5 мл), сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток повторно растворяли в ДМФА (5 мл) с последующим добавлением соединения **249** (49 мг, 0,23 ммоль) и DIPEA (90 мг, 0,69 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, концентрировали и очищали на короткой колонке с SiO_2, элюируя $MeOH/CH_2Cl_2$ (1:10) с получением указанного в заголовке соединения **251** (80 мг, 61% выход). ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{40}H_{68}N_4O_{15}$, 845,47; найдено, 845,47.

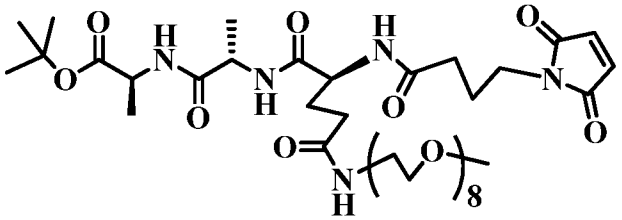
Пример 98. Синтез (30S,33S,36S)-трет-бутил 30-амино-33,36-диметил-27,31,34-триоксо-2,5,8,11,14,17,20,23-октаокса-26,32,35-триазагептатриаконтан-37-оата (**252**).



252

Раствор соединения **251** (80 мг, 0,094 ммоль) и 10% палладия на углерода (10 мг) в метаноле (5 мл) перемешивали в атмосфере водорода (5 фунт/кв. дюйм) в течение 2 часов. Твердое вещество отфильтровывали и фильтрат концентрировали с получением бесцветного масла (**252**) (66 мг, 100% выход) для следующей стадии без дополнительной очистки. МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{32}H_{62}N_4O_{13}$, 711,43; найдено, 711,43.

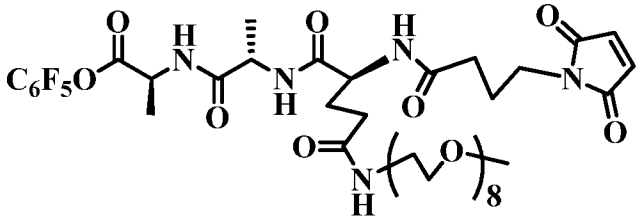
Пример 99. Синтез (30R,33S,36S)-трет-бутил 30-(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-33,36-диметил-27,31,34-триоксо-2,5,8,11,14,17,20,23-октаокса-26,32,35-триазагептатриаконтан-37-оата (**253**).



253

К соединению **252** (66 мг, 0,094 ммоль) в этаноле (5 мл) добавляли 2,5-диоксопирролидин-1-ил 4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутаноат (39 мг, 0,141 ммоль) и PBS (0,1 M, pH 7,5, 1,0 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, концентрировали и очищали на колонке с силикагелем (дихлорметан/MeOH = от 100:0 до 10:1) с получением указанного в заголовке соединения **253** (37 мг, 45% выход). ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{40}H_{69}N_5O_{16}$, 876,47; найдено, 876,47.

Пример 100. Синтез (30R,33S,36S)-перфторфенил 30-(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-33,36-диметил-27,31,34-триоксо-2,5,8,11,14,17,20,23-октаокса-26,32,35-триазагептатриаконтан-37-оата (**254**).

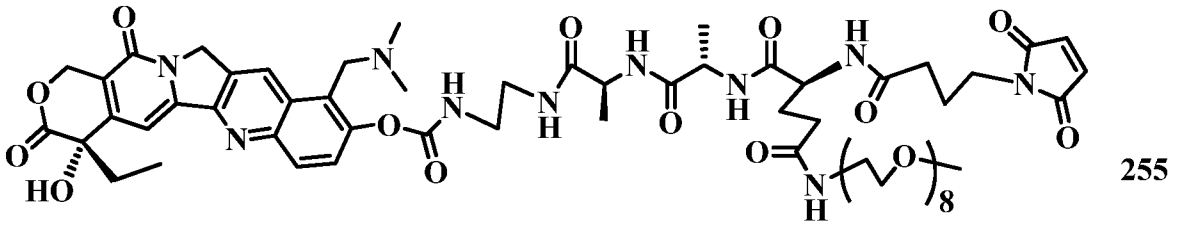


254

Соединение **253** (50 мг, 0,057 ммоль) в дихлорметане (3 мл) обрабатывали ТФК (1 мл) при комнатной температуре в течение 2 часов. Реакционную смесь упаривали досуха, а затем

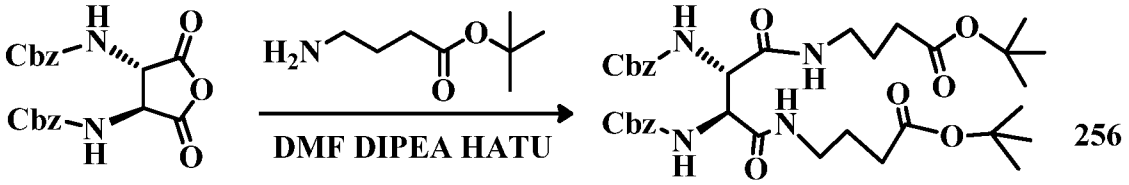
повторно растворяли в дихлорметане (5 мл), добавляли EDCI (16 мг, 0,084 ммоль) и пентафторфенол (15 мг, 0,084 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 часов, концентрировали и очищали на колонке с силикагелем (дихлорметан/EtOAc = от 100:10 до 3:1) с получением указанного в заголовке соединения **254** (41 мг, 73% выход). ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{42}H_{60}F_5N_5O_{16}$, 986,40; найдено, 986,42.

Пример 101. Синтез (S)-10-((диметиламино)метил)-4-этил-4-гидрокси-3,14-диоксо-3,4,12,14-тетрагидро-1H-пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-9-ил ((30R,33S,36S)-30-(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-33,36-диметил-27,31,34,37-тетраоксо-2,5,8,11,14,17,20,23-октаокса-26,32,35,38-тетраазатетраконтан-40-ил)карбамата (**255**).



К раствору соединения **243** (25 мг, 0,042 ммоль) и соединения **254** (41 мг, 0,042 ммоль) в ДМФА (5 мл) при 0 °C добавляли DIPEA (80 мг, 0,672 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 1 часа, затем при комнатной температуре в течение еще 1 часа. После концентрирования, остаток очищали с помощью преп-ВЕРХ (подвижная фаза: 10%-80% ацетонитрил/вода) с получением указанного в заголовке соединения **255** (23 мг, 43% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{62}H_{88}N_{10}O_{21}$, 1309,61; найдено, 1309,65.

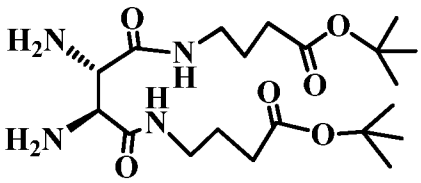
Пример 102. Синтез ди-трет-бутил 4,4'-(((2S,3S)-2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)-сукцинил)бис(азандиил))дибутаноата (**256**).



К раствору дибензил ((3S,4S)-2,5-диоксотетрагидрофуран-3,4-диил)дикарбамата (200 мг, 0,5 ммоль) в ДМФА (5 мл) при около 0 °C, добавляли *трет*-бутиламинобутирата (80 мг, 0,5 ммоль). Смесь перемешивали при 0 °C в течение 30 минут, а затем при комнатной температуре в течение 30 минут. Реакционный раствор повторно охлаждали до около 0 °C с последующим добавлением DIPEA (64 мг, 0,5 ммоль), *трет*-бутиламинобутирата (80 мг, 0,5 ммоль) и HATU (190 мг, 0,5 ммоль). Реакционную смесь нагревали до комнатной

температуры и перемешивали в течение 2 часа, затем разбавляли дихлорметаном (50 мл), промывали насыщенным $NaHCO_3$ (20 мл), водой (10 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (дихлорметан/MeOH= от 100:0 до 10:1) с получением указанного в заголовке соединения **256** (262 мг, 75% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{36}H_{50}N_4O_{10}$, 699,35; найдено, 699,35.

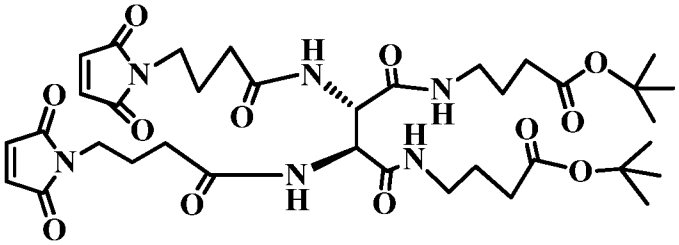
Пример 103. Синтез ди-трет-бутил 4,4'-(((2S,3S)-2,3-диаминосукцинил)бис(азандиил))-дибутаноата (**257**).



257

Смесь соединения **256** (100 мг, 0,14 ммоль) и 10% палладия на углероде (10 мг) в метаноле (5 мл) перемешивали в атмосфере водорода (5 фунт/кв. дюйм) в течение ночи. Твердое вещество отфильтровывали и фильтрованный раствор концентрировали с получением бесцветного масла указанного в заголовке соединения (**257**) для следующей стадии без очистки (61 мг, выход 100%). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{20}H_{38}N_4O_6$, 431,28; найдено, 431,28.

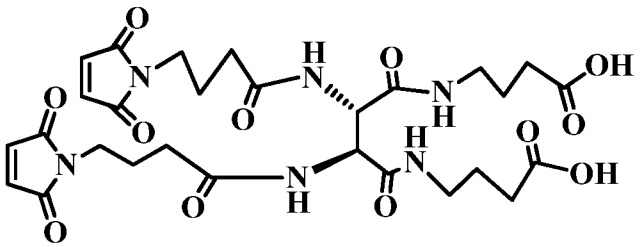
Пример 104. Синтез ди-трет-бутил 4,4'-(((2S,3S)-2,3-бис(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)сукцинил)бис(азандиил))дибутаноата



258

К раствору соединения **257** (61 мг, 0,14 ммоль) в смеси этанола (5 мл) и PBS (0,1 M, pH 7,5, 1,0 мл) добавляли 2,5-диоксопирролидин-1-ил 4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутаноат (118 мг, 0,42 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, концентрировали и очищали на колонке с силикагелем (дихлорметан/MeOH = от 100:0 до 10:1) с получением указанного в заголовке соединения **258** (65 мг, 60% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{37}H_{56}N_6O_{12}$, 777,40; найдено, 777,41.

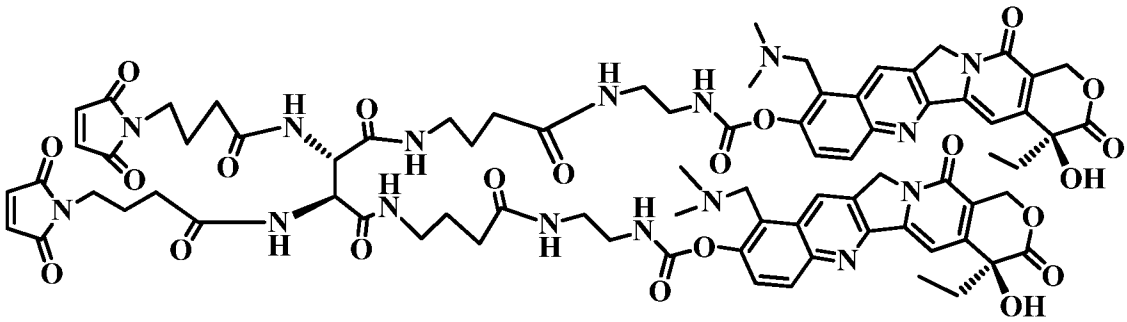
Пример 105. Синтез 4,4'-(((2S,3S)-2,3-бис(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)сукцинил)бис(азандиил))дибутановой кислоты (**259**).



259

Соединение **258** (65 мг, 0,083 ммоль) растворяли в дихлорметане (6 мл) и обрабатывали трифторуксусной кислотой (2 мл) в течение 2 часов. Реакционную смесь разбавляли толуолом (5 мл), концентрировали с получением указанного в заголовке соединения **259** (53 мг, 100% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{28}H_{36}N_6O_{12}$, 649,24; найдено, 649,24.

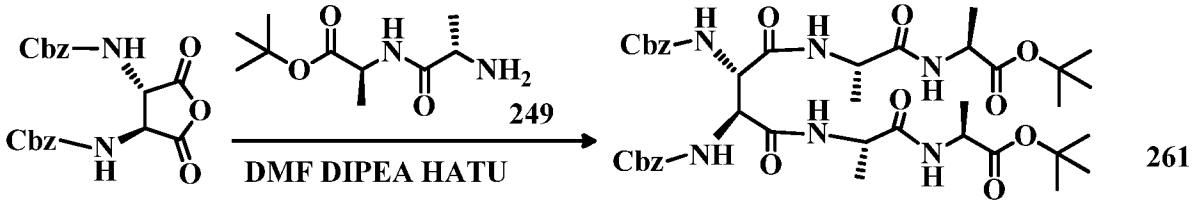
Пример 106. Синтез бис((S)-10-((диметиламино)метил)-4-этил-4-гидрокси-3,14-диоксо-3,4,12,14-тетрагидро-1H-пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-9-ил) ((10S,11S)-10,11-бис(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-4,9,12,17-тетраоксо-3,8,13,18-тетраазаикозан-1,20-диил)дикарбамата (**260**).



260

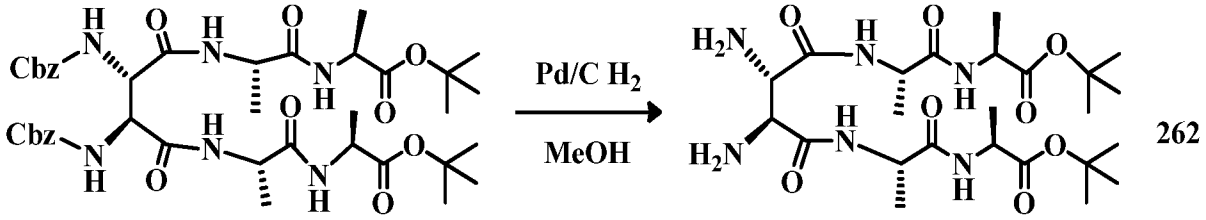
К раствору соединения **259** (53 мг, 0,083 ммоль) в ДМФА при 0 °C добавляли EDC (31 мг, 0,16 ммоль), HOBt (22 мг, 0,16 ммоль), DIPEA (53 мг, 0,41 ммоль) и соединение **243** (100 мг, 0,16 ммоль). Реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры, перемешивали в течение 2 часов, разбавляли дихлорметаном (50 мл), промывали водой (10 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (10 мл), сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали с помощью преп-ВЕРХ (подвижная фаза: от 10% до 80% CH_3CN/H_2O, с 0,1% муравьиной кислоты) с получением указанного в заголовке соединения **260** (55 мг, 42% выход). ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{80}H_{94}N_{16}O_{20}$, 1599,68; найдено, 1599,68.

Пример 107. Синтез (2S,5S,8S,9S,12S,15S)-ди-трет-бутил 8,9-бис(((бензилокси)карбонил)амино)-2,5,12,15-тетраметил-4,7,10,13-тетраоксо-3,6,11,14-тетраазагексадекан-1,16-диоата (**261**).



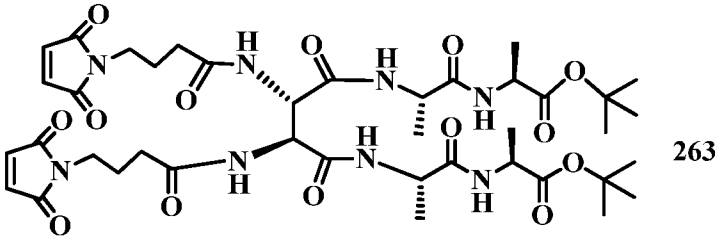
К раствору соединения **249** (200 мг, 0,5 ммоль) в ДМФА (5 мл) при около 0 °C добавляли дибензил ((3S,4S)-2,5-диоксотетрагидрофуран-3,4-диил)дикарбамата (216 мг, 1,0 ммоль). Смесь перемешивали при 0 °C в течение 30 минут, при комнатной температуре в течение 45 минут, затем снова охлаждали до около 0 °C с последующим добавлением DIPEA (64 мг, 0,5 ммоль) и EDC (458 мг, 2,41 ммоль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 часа, затем разбавляли дихлорметаном (50 мл), промывали насыщенным $NaHCO_3$ (20 мл), водой (10 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (от 100:0 до 10:1 дихлорметан/MeOH) с получением соединения **261** (264 мг, 65% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{40}H_{56}N_6O_{12}$, 813,40; найдено, 813,40.

Пример 108. Синтез (2S,5S,8S,9S,12S,15S)-ди-трет-бутил 8,9-диамино-2,5,12,15-тетраметил-4,7,10,13-тетраоксо-3,6,11,14-тетраазагексадекан-1,16-диоата (**262**).



Смесь соединения **261** (264 мг, 0,32 ммоль) и 10% палладия на углерода (10 мг) в метаноле (5 мл) перемешивали в атмосфере водорода в течение ночи. Твердое вещество отфильтровывали и фильтрат концентрировали с получением бесцветного масла (177 мг, 100% выход). ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{24}H_{44}N_6O_8$, 545,32; найдено, 545,32.

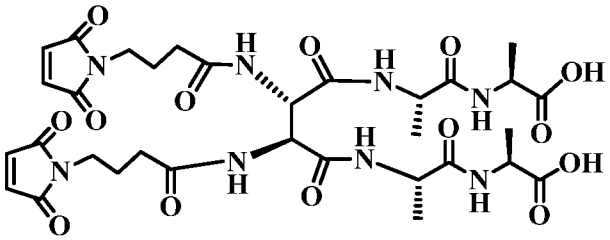
Пример 109. Синтез (2S,5S,8S,9S,12S,15S)-ди-трет-бутил 8,9-бис(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-2,5,12,15-тетраметил-4,7,10,13-тетраоксо-3,6,11,14-тетраазагексадекан-1,16-диоата (**263**).



К раствору соединения **262** (177 мг, 0,32 ммоль) в смеси этанола (5 мл) и PBS (0,1 M, pH 7,5, 1,0 мл) добавляли 2,5-диоксопирролидин-1-ил 4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-

ил)бутаноат (136 мг, 0,48 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, концентрировали и очищали на колонке с силикагелем (дихлорметан/MeOH = от 100:0 до 10:1) с получением указанного в заголовке соединения **263** (127 мг, 45% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{40}H_{58}N_8O_{14}$, 875,41; найдено 875,42.

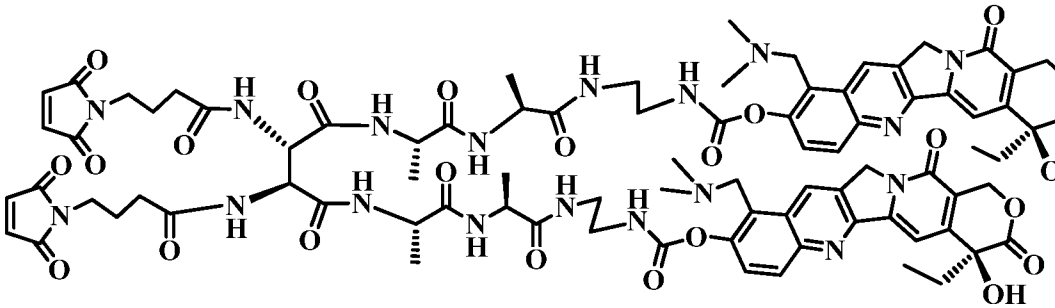
Пример 110. Синтез (2S,5S,8S,9S,12S,15S)-8,9-бис(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-2,5,12,15-тетраметил-4,7,10,13-тетраоксо-3,6,11,14-тетраазагексадекан-1,16-диовой кислоты (**264**).



264

Соединение **263** (127 мг, 0,14 ммоль) в дихлорметане (3 мл) обрабатывали трифторуксусной кислоты (3 мл) в течение 2 часов. Реакционную смесь выпаривали, получая продукт **264** (111 мг, 100% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{32}H_{42}N_8O_{14}$, 763,28; найдено, 763,28.

Пример 111. Синтез бис((S)-10-((диметиламино)метил)-4-этил-4-гидрокси-3,14-диоксо-3,4,12,14-тетрагидро-1H-пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-9-ил) ((5S,8S,11S,12S,15S,18S)-11,12-бис(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-5,8,15,18-тетраметил-4,7,10,13,16,19-гексаоксо-3,6,9,14,17,20-гексаазадокозан-1,22-диил)дикарбамата (**265**).

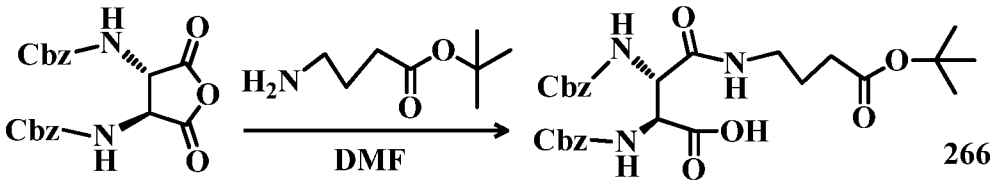


265

К раствору соединения **264** (61 мг, 0,08 ммоль) в ДМФА (5 мл) при около 0 °C добавляли EDC (31 мг, 0,16 ммоль), HOBt (22 мг, 0,16 ммоль), DIPEA (53 мг, 0,41 ммоль) и соединение **243** (100 мг, 0,16 ммоль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 часа, затем разбавляли дихлорметаном (50 мл), промывали водой (10 мл), насыщенным водным раствором хлорида натрия (10 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали с помощью преп-ВЕРХ (10%-80% CH_3CN/H_2O, с 0,1% муравьиной кислоты) с получением указанного в

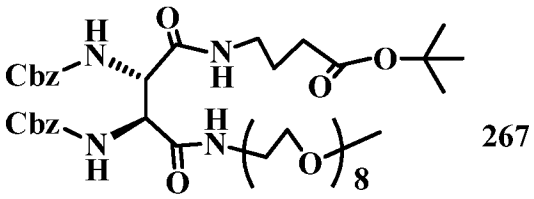
заголовке соединения **265** (55 мг, 40% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{84}H_{96}N_{18}O_{24}$, 1741,68; найдено, 1741,68.

Пример 112. Синтез (2S,3S)-2,3-бис(((бензилокси)карбонил)амино)-4-((4-(трет-бутокси)-4-оксобутил)амино)-4-оксобутановой кислоты



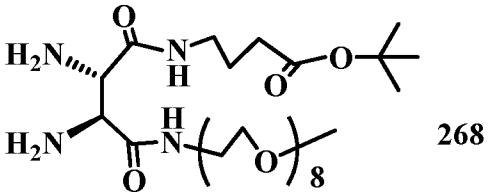
К раствору *трет*-бутиламинобутирата (80 мг, 0,5 ммоль) в ДМФА (5 мл) добавляли дибензил ((3S,4S)-2,5-диоксотетрагидрофуран-3,4-диил)дикарбамата (200 мг, 0,5 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Концентрирование реакционной смеси давало неочищенный продукт **266** без дополнительной очистки (280 мг, 100% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{28}H_{35}N_3O_9$, 558,24; найдено, 558,24.

Пример 113. Синтез (28S,29S)-трет-бутил 28,29-бис(((бензилокси)карбонил)амино)-27,30-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23-октаокса-26,31-диазапентатриаконтан-35-оата (**267**).



К раствору соединения **266** (280 мг, 0,5 ммоль) и соединения **31** (229 мг, 0,6 ммоль) в ДМФА (10 мл) при 0 °C добавляли HATU (228 мг, 0,6 ммоль) и DIPEA (77 мг, 0,6 ммоль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 часа, разбавляли дихлорметаном (50 мл), промывали водой (10 мл), насыщенным $NaHCO_3$ (10 мл), насыщенным водным раствором хлорида натрия (10 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали, концентрировали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя смесью EtOAc/ДХМ (1:3) с получением указанного в заголовке соединения **267** (392 мг, 85% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{45}H_{70}N_4O_{16}$, 923,48; найдено, 923,48.

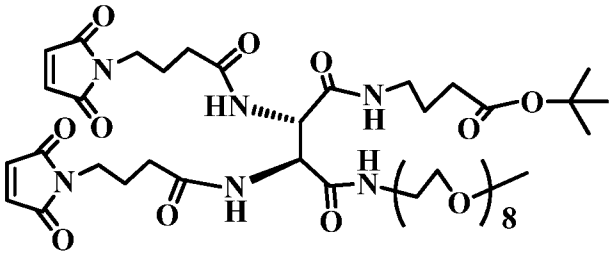
Пример 114. Синтез (28S,29S)-трет-бутил 28,29-диамино-27,30-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23-октаокса-26,31-диазапентатриаконтан-35-оата (**268**).



Соединение **267** (129 мг, 0,14 ммоль) и 10% палладия на углероде (10 мг) в метаноле (10 мл) перемешивали в атмосфере водорода (1,2 атмосферного давления) в течение ночи.

Твердое вещество отфильтровывали и профильтрованный раствор упаривали с получением продукта в виде бесцветного масла (91 мг, 100% выход) для следующей стадии без дополнительной очистки. МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{29}H_{58}N_4O_{12}$, 655,41; найдено, 655,41.

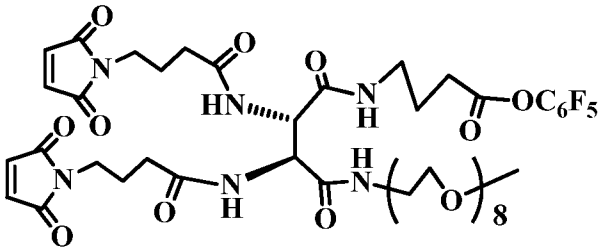
Пример 115. Синтез (28S,29S)-трет-бутил 28,29-бис(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-27,30-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23-октаокса-26,31-диазапентатриаконтан-35-оата (**269**).



269

Смесь соединения **268** (91 мг, 0,14 ммоль) и 2,5-диоксопирролидин-1-ил 4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутаноата (118 мг, 0,42 ммоль) в этаноле (10 мл) PBS (0,1 M, pH 7,5, 3,0 мл) перемешивали в течение ночи, концентрировали и очищали на колонке с силикагелем (дихлорметан/MeOH = от 100:0 до 10:1) с получением указанного в заголовке соединения **269** (71 мг, 50% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$рассчитано для $C_{45}H_{72}N_6O_{18}$, 985,49; найдено, 985,49.

Пример 116. Синтез (28S,29S)-перфторфенил 28,29-бис(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-27,30-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23-октаокса-26,31-диазапентатриаконтан-35-оата (**270**).

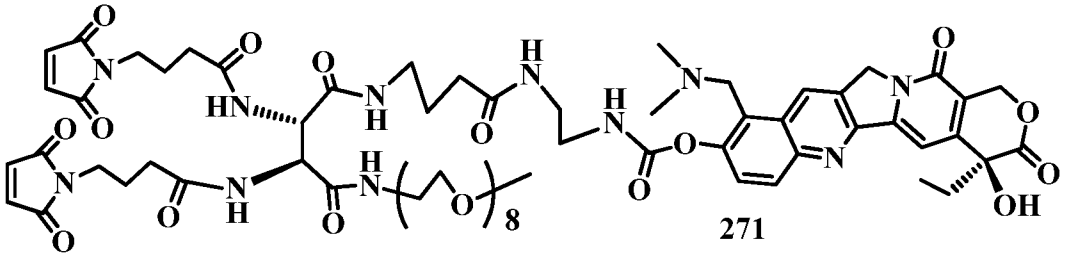


270

Соединение **269** (71 мг, 0,07 ммоль) в дихлорметане (5 мл) обрабатывали ТФК (2 мл) при комнатной температуре в течение 2 часов. Реакционную смесь концентрировали и повторно растворяли в дихлорметане (5 мл), к которой добавляли EDCI (54 мг, 0,28 ммоль), пентафторфенол (26 мг, 0,14 ммоль) и DIPEA (0,05 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 часов, концентрировали и очищали на колонке с силикагелем (дихлорметан/EtOAc = от 10:1 до 10:3) с получением указанного в заголовке

соединения **270** (78 мг, 100% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$рассчитано для $C_{47}H_{63}F_5N_6O_{18}$, 1095,41; найдено, 1095,41.

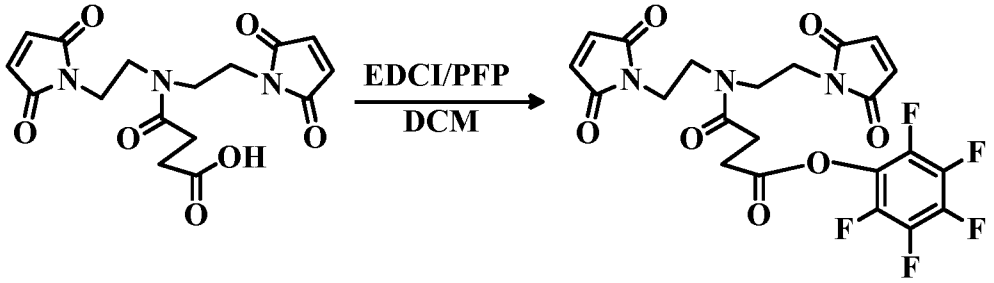
Пример 117. Синтез (S)-10-((диметиламино)метил)-4-этил-4-гидрокси-3,14-диоксо-3,4,12,14-тетрагидро-1H-пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-9-ил ((28S,29S)-28,29-бис(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-27,30,35-триоксо-2,5,8,11,14,17,20,23-октаокса-26,31,36-триазаоктатриаконтан-38-ил)карбамата (**271**).



271

К смеси соединения **243** (42 мг, 0,07 ммоль) и соединения **270** (78 мг, 0,07 ммоль) в ДМФА (5 мл) при 0 °C добавляли DIPEA (18 мг, 0,14 ммоль). Реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 часа. После концентрирования, остаток очищали с помощью преп-ВЕРХ (подвижная фаза: 10%-80% ацетонитрил/вода) с получением соединения **271** (41 мг, 40% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{67}H_{91}N_{11}O_{23}$, 1418,63; найдено, 1418,63.

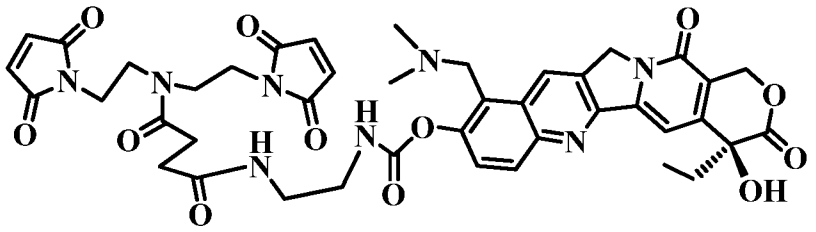
Пример 118. Синтез перфторфенил 4-(бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)этил)амино)-4-оксобутаноата (**272**).



272

К раствору 4-(бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)этил)амино)-4-оксобутановой кислоты (100 мг, 0,27 ммоль) в дихлорметане (5 мл) добавляли EDC (210 мг, 1,10 ммоль) и пентафторфенол (101 мг, 0,55 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов, концентрировали и очищали на колонке с силикагелем (дихлорметан/EtOAc = от 20:1 до 5:1) с получением указанного в заголовке соединения **272** (114 мг, 80% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{22}H_{16}F_5N_3O_7$, 530,09; найдено, 530,09.

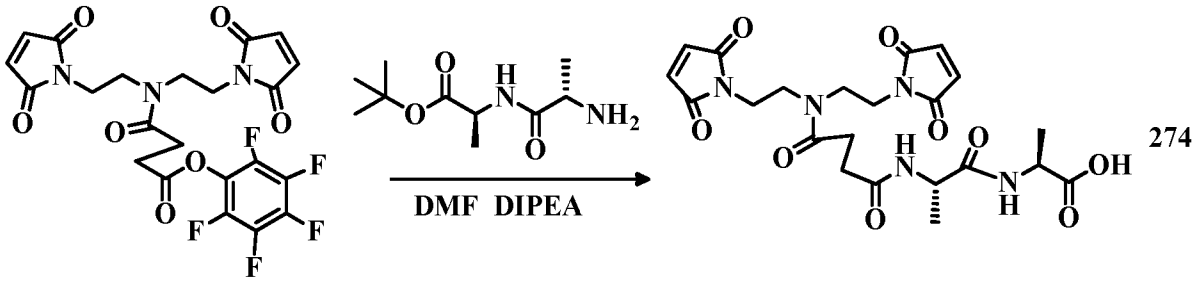
Пример 119. Синтез (S)-10-((диметиламино)метил)-4-этил-4-гидрокси-3,14-диоксо-3,4,12,14-тетрагидро-1H-пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-9-ил (2-(4-(бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)этил)амино)-4-оксобутанамидо)этил)карбамата (273).



273

К смеси соединения **243** (20 мг, 0,033 ммоль) и соединения **272** (17 мг, 0,033 ммоль) в ДМФА (5 мл) при 0 °C добавляли DIPEA (8,5 мг, 0,066 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 0,5 ч, а затем при комнатной температуре в течение 2 часов. Затем реакционную смесь концентрировали и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (подвижная фаза: ацетонитрил/вода = 10%-80% с 0,1% муравьиной кислоты) с получением указанного в заголовке соединения **273** (12,6 мг, 45% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{42}H_{44}N_8O_{12}$, 853,31; найдено, 853,31.

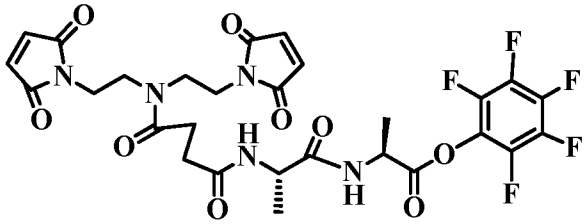
Пример 120. Синтез (S)-2-((S)-2-(4-(бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)этил)амино)-4-оксобутанамидо)пропанамидо)пропановой кислоты (**274**).



274

К смеси (S)-2-((S)-2-аминопропанамидо)пропановой кислоты (20 мг, 0,094 ммоль) и соединения **272** (50 мг, 0,094 ммоль) в ДМФА (5 мл) при 0 °C добавляли DIPEA (240 мг, 1,90 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 0,5 ч, а затем при комнатной температуре в течение 2 часов. Затем реакционную смесь концентрировали и очищали на короткой колонке с силикагелем (дихлорметан/CH_3OH = от 10:1 до 5:2) с получением указанного в заголовке соединения **274** (12,6 мг, 45% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{26}H_{35}N_5O_9$, 562,24; найдено, 562,24.

Пример 121. Синтез (S)-перфторфенил 2-((S)-2-(4-(бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)этил)амино)-4-оксобутанамидо)пропанамидо)пропаноата (**275**).

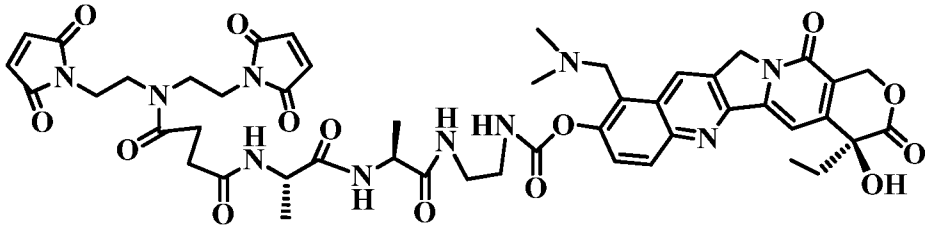


275

К раствору соединения **274** (47 мг, 0,084 ммоль) в дихлорметане (5 мл) добавляли EDC (210 мг, 1,10 ммоль) и пентафторфенол (50,0 мг, 0,27 ммоль). Смесь перемешивали при

комнатной температуре в течение 3 часов, концентрировали и очищали на колонке с силикагелем (дихлорметан/EtOAc = от 20:1 до 5:1) с получением указанного в заголовке соединения **275** (44,6 мг, 79% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{28}H_{27}F_5N_5O_9$, 672,17; найдено, 672,17.

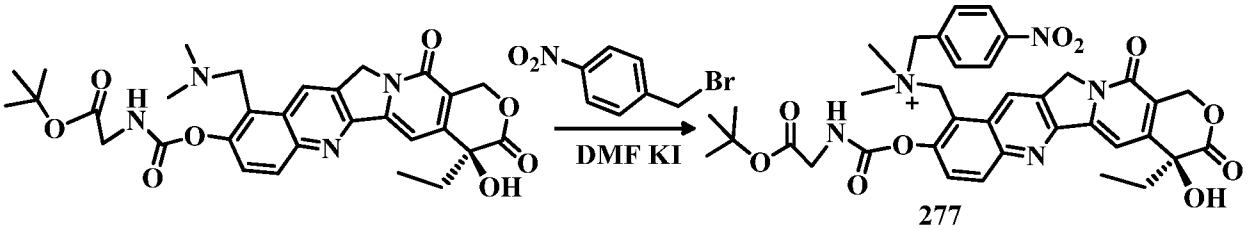
Пример 122. Синтез (S)-10-((диметиламино)метил)-4-этил-4-гидрокси-3,14-диоксо-3,4,12,14-тетрагидро-1H-пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-9-ил ((5S,8S)-16-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-14-(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)этил)-5,8-диметил-4,7,10,13-тетраоксо-3,6,9,14-тетраазагексадецил)карбамата (**276**).



276

К раствору соединения **243** (40 мг, 0,065 ммоль) и соединения **275** (43,6 мг, 0,065 ммоль) в ДМФА (5 мл) при 0 °C добавляли DIPEA (240 мг, 1,90 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 0,5 ч, а затем при комнатной температуре в течение 2 часов. Затем реакционную смесь концентрировали и очищали препаративной ВЭЖХ (подвижная фаза: ацетонитрил/вода = 10%-80% с 0,1% муравьиной кислоты) с получением соединения **276** (32 мг, 50% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{48}H_{54}N_{10}O_{14}$, 995,38; найдено, 995,38.

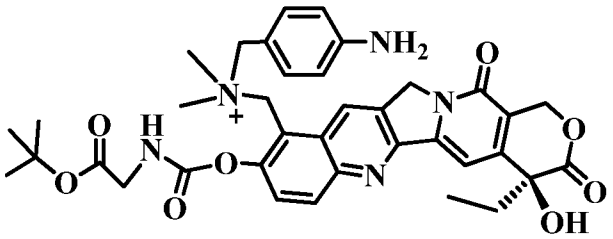
Пример 123. Синтез (S)-1-(9-(((2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил)карбамоил)окси)-4-этил-4-гидрокси-3,14-диоксо-3,4,12,14-тетрагидро-1H-пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-10-ил)-N,N-диметил-N-(4-нитробензил)метанаминия (**277**).



277

К раствору соединения **242** (50 мг, 0,069 ммоль) в ДМФА (3 мл) добавляли *п*-нитробензил бромид (32 мг, 0,138 ммоль) и каталитическое количество йодида калия (2 мг). Реакционную смесь нагревали до 60 °C в течение 4 часов и концентрировали, растирали с этилацетатом с получением желтого твердого вещества (25 мг, 50% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{37}H_{40}N_5O_{10}$, 714,28; найдено, 714,28.

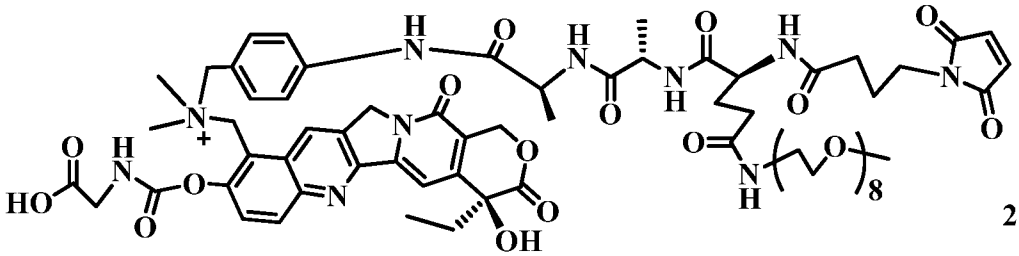
Пример 124. Синтез (S)-N-(4-аминобензил)-1-(9-(((2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил)карбамоил)окси)-4-этил-4-гидрокси-3,14-диоксо-3,4,12,14-тетрагидро-1H-пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-10-ил)-N,N-диметилметанаминия (**278**).



278

Раствор соединения **277** (100 мг, 0,14 ммоль), гидразин гидрата (7 мг, 0,14 ммоль) и $FeCl_3$ (324 мг, 0,14 ммоль) в этаноле (15 мл) кипятили с обратным холодильником в течение 2 часов до завершения реакции. После концентрирования, остаток растирали с этилацетатом с получением продукта в виде желтого твердого вещества (81 мг, 85% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{37}H_{42}N_5O_8$, 684,30; найдено, 684,30.

Пример 125. Синтез 1-((S)-9-(((карбоксиметил)карбамоил)окси)-4-этил-4-гидрокси-3,14-диоксо-3,4,12,14-тетрагидро-1H-пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-10-ил)-N-(4-((30S,33S,36S)-30-(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-33,36-диметил-27,31,34-триоксо-2,5,8,11,14,17,20,23-октаокса-26,32,35-триазагептатриаконтанамидо)бензил)-N,N-диметилметанаминия (**279**).

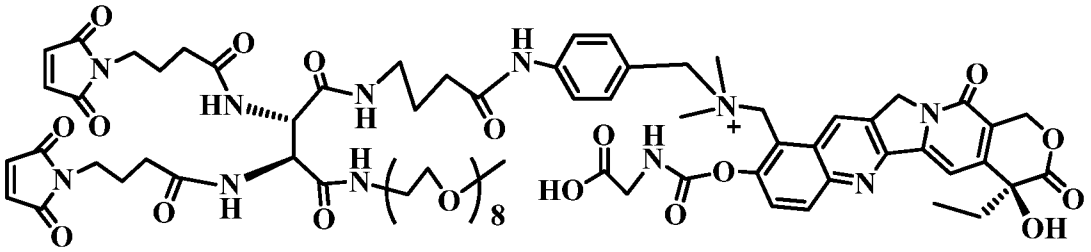


279

К раствору соединения **278** (20 мг, 0,029 ммоль) и соединения **254** (34 мг, 0,034 ммоль) в ДМФА (5 мл) при 0 °C добавляли DIPEA (75 мг, 0,58 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 0,5 ч, а затем при комнатной температуре в течение 2 часов. Затем реакционную смесь концентрировали и повторно растворяли в смеси дихлорметана (3 мл) и ТФК (1 мл). После перемешивания в течение 1 часа, реакционную смесь концентрировали и очищали препаративной ВЭЖХ (подвижная фаза: ацетонитрил/вода = 10%-80% с 0,1% муравьиной кислоты) с получением указанного в заголовке соединения **279** (12 мг, 30% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{69}H_{93}N_{10}O_{23}$, 1429,64; найдено, 1429,80.

Пример 126. Синтез N-(4-((28S,29S)-28,29-бис(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)-27,30-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23-октаокса-26,31-диазапентатриаконтанамидо)-бензил)-1-((S)-9-(((карбоксиметил)карбамоил)окси)-4-этил-

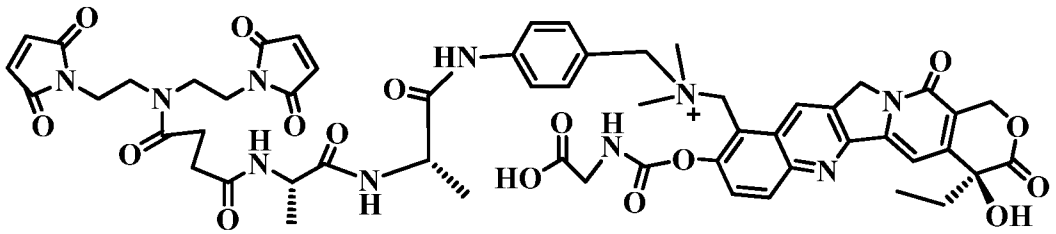
4-гидрокси-3,14-диоксо-3,4,12,14-тетрагидро-1H-пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-10-ил)-N,N-диметилметанаминия (**280**).



280

Раствор соединения **278** (20 мг, 0,029 ммоль) и соединения **270** (37 мг, 0,034 ммоль) в ДМФА (5 мл) при 0 °C добавляли DIPEA (75 мг, 0,58 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 0,5 ч, а затем при комнатной температуре в течение 2 часов. Затем реакционную смесь концентрировали и повторно растворяли в смеси дихлорметана (3 мл) и ТФК (1 мл). После перемешивания в течение 0,5 часа, реакционную смесь разбавляли толуолом (5 мл), концентрировали и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (подвижная фаза: ацетонитрил/вода = 10%-80% с 0,1% муравьиной кислоты) с получением указанного в заголовке соединения **280** (17 мг, 40% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{74}H_{96}N_{11}O_{25}$, 1538,66; найдено, 1538,66.

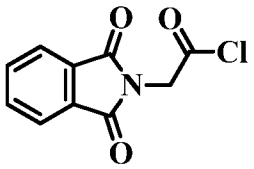
Пример 127. Синтез N-(4-((S)-2-((S)-2-(4-(бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)этил)амино)-4-оксобутанамидо)пропанамидо)пропанамидо)бензил)-1-((S)-9-(((карбоксиметил)карбамоил)окси)-4-этил-4-гидрокси-3,14-диоксо-3,4,12,14-тетрагидро-1H-пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-10-ил)-N,N-диметилметанаминия (**281**).



281

К раствору соединения **278** (20 мг, 0,029 ммоль) и соединения **275** (23 мг, 0,034 ммоль) в ДМФА (5 мл) при 0 °C добавляли DIPEA (75 мг, 0,58 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 0,5 ч, а затем при комнатной температуре в течение 2 часов. Затем реакционную смесь концентрировали и повторно растворяли в смеси дихлорметана (3 мл) и ТФК (1 мл). После перемешивания в течение 0,5 ч, реакционную смесь разбавляли толуолом (5 мл), концентрировали и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (подвижная фаза: ацетонитрил/вода = 10%-80% с 0,1% муравьиной кислоты) с получением указанного в заголовке соединения **281** (12 мг, 35% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{55}H_{59}N_{10}O_{16}$, 1115,41; найдено, 1115,47.

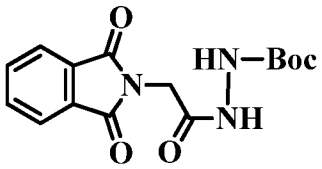
Пример 128. Синтез 2-(1,3-диоксоизоиндолин-2-ил)ацетилхлорида (**282**).



282

К раствору *N*-фталоилглицина (10,0 г, 48,7 ммоль) в дихлорметане (100 мл) добавляли оксалилхлорид (6,3 мл, 73,1 ммоль) с последующим добавлением капли ДМФА. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов, а затем концентрировали с получением соединения **282** (10,8 г) в виде желтого твердого вещества.

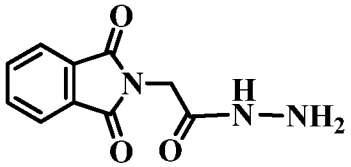
Пример 129. Синтез трет-бутил 2-(2-(1,3-диоксоизоиндолин-2-ил)ацетил)гидразинкарбоксилата (**283**).



283

К раствору Boc-гидразина (7,08. г, 53,5 ммоль) в дихлорметане (200 мл) при 0 °C последовательно добавляли Et_3N (13,5 мл, 97,4 ммоль) и соединение **282** (10,8 г, 48,7 ммоль). После перемешивания при комнатной температуре в течение 30 минут смесь выливали в ледяную воду (100 мл) и экстрагировали дихлорметаном (3 × 100 мл). Объединенные органические фазы промывали водой (100 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (100 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением белого твердого продукта (15,5 г, 100% выход). ЭСИ МС m/z 320,12 ($[M+H]^+$).

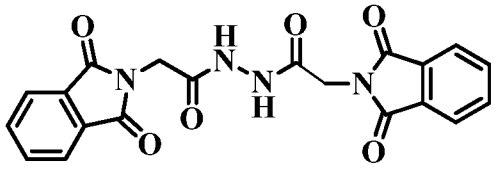
Пример 130. Синтез 2-(1,3-диоксоизоиндолин-2-ил)ацетогидразида (**284**).



284

Соединение **283** (15,5 г, 48,7 ммоль) растворяли в дихлорметане (150 мл) и обрабатывали ТФК (50 мл) при комнатной температуре в течение 1 часа, затем упаривали в вакууме, получая белое твердое вещество (10,6 г, 100% выход). ЭСИ МС m/z 220,06 ($[M+H]^+$).

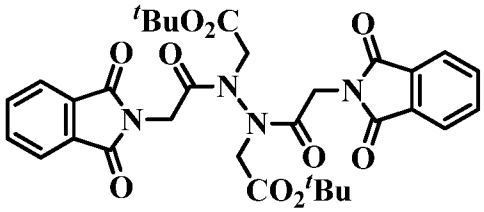
Пример 131. Синтез 2-(1,3-диоксоизоиндолин-2-ил)-N'-(2-(1,3-диоксоизоиндолин-2-ил)ацетил)ацетогидразида (**285**).



285

К раствору соединения **284** (10,6 г, 48,7 ммоль) в дихлорметане (200 мл) при 0 °C добавляли Et_3N (13,5 мл, 97,4 ммоль) и соединение **282** (10,8 г, 48,7 ммоль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Осадок собирали фильтрованием и суспендировали в воде (100 мл), и перемешивали в течение 20 минут. Смесь снова фильтровали и собирали белое твердое вещество (15,7 г, 80% выход). ЭСИ МС m/z 407,09 ($[M+H]^+$).

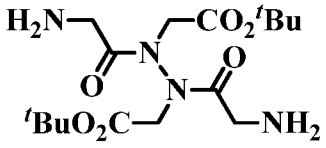
Пример 132. Синтез ди-трет-бутил 2,2'-(1,2-бис(2-(1,3-диоксоизоиндолин-2-ил)ацетил)гидразин-1,2-диил)диацетата (**286**).



286

К раствору соединения **285** (2,0 г, 4,92 ммоль) в ДМФА (40 мл) при 0 °C порциями добавляли NaH (0,5 г, 12,3 ммоль). Смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 часов. После чего добавляли *трет*-бутилбромацетат (2,0 г, 10,3 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи перед тем, как вылить в ледяную воду (100 мл) и экстрагировать дихлорметаном (3 × 50 мл). Объединенную органическую фазу промывали водой (50 мл), насыщенным водным раствором хлорида натрия (50 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали, очищая хроматографией на силикагеле с получением белого твердого вещества (1,5 г, 50% выход). ЭСИ МС m/z 635,23 ($[M+H]^+$).

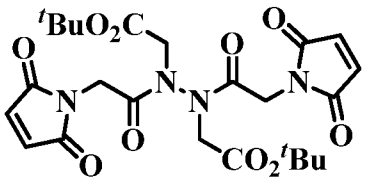
Пример 133. Синтез ди-трет-бутил 2,2'-(1,2-бис(2-аминоацетил)гидразин-1,2-диил)диацетата (**287**).



287

Смесь соединения **286** (1,5 г, 2,36 ммоль) и гидразина (442 мг, 7,08 ммоль) в этаноле (30 мл) кипятили в обратным холодильником в течение 1 часа, затем охлаждали до комнатной температуры и фильтровали. Фильтрат концентрировали и растворяли в этилацетате (20 мл), снова фильтровали. Фильтрат концентрировали, получая белое твердое вещество 287 (750 мг, 85% выход). ЭСИ МС m/z 375,22 ($[M+H]^+$).

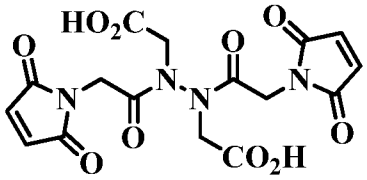
Пример 134. Синтез ди-трет-бутил 2,2'-(1,2-бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетил)гидразин-1,2-диил)диацетата (**288**).



288

Добавляли раствор соединения **287** (750 мг, 2 ммоль) в ТГФ (2 мл) и насыщенный водный раствор $NaHCO_3$ (30 мл) при 0 °C, *N*-метоксикарбонилмалеимид (622 мг, 4 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 1 часа. Белое твердое вещество собирали фильтрованием (854 мг, 80% выход). ЭСИ МС m/z 535,20 ($[M+H]^+$).

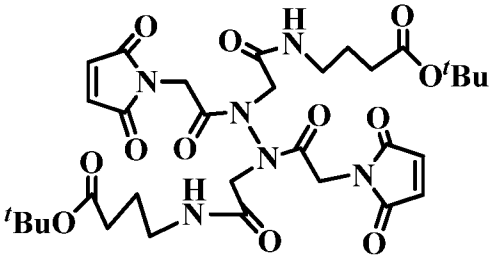
Пример 135. Синтез 2,2'-(1,2-бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетил)гидразин-1,2-диил)диуксусной кислоты (**289**).



289

Соединение **288** (854 мг, 1,6 ммоль) растворяли в дихлорметане (3 мл) и обрабатывали ТФК (3 мл) при к.т. в течение 2 часов. Затем реакционную смесь упаривали, получая соединение **289** (675 мг, 100% выход). ЭСИ МС m/z 423,07 ($[M+H]^+$).

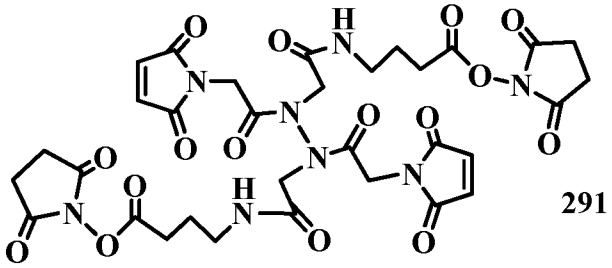
Пример 136. Синтез ди-трет-бутил 4,4'-((2,2'-(1,2-бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетил)гидразин-1,2-диил)бис(ацетил))бис(азандиил))дибутаноата (**290**).



290

К раствору соединения **289** (200 мг, 0,47 ммоль) в ДМФА (5 мл) при 0 °C, добавляли *трет*-бутил 4-аминобутаноат (158 мг, 0,99 ммоль) и EDC (189,7 мг, 0,99 ммоль). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. и перемешивали в течение ночи, выливали в ледяную воду и экстрагировали дихлорметаном (3 × 10 мл). Объединенную органическую фазу промывали 1 н HCl (5 мл), водой (5 мл), насыщенным водным раствором хлорида натрия (5 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали, получая белое твердое вещество 290 (330 мг, 100% выход).

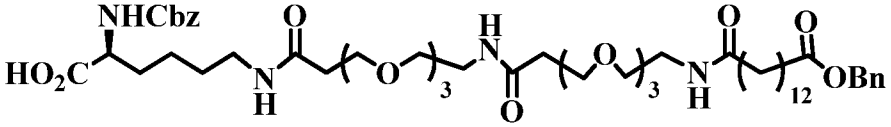
Пример 137. Синтез бис(2,5-диоксопирролидин-1-ил) 4,4'-((2,2'-(1,2-бис(2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)ацетил)гидразин-1,2-диил)бис(ацетил))бис(азандиил))дибутаноата (**291**).



291

Соединение **290** (330 мг, 0,47 ммоль) растворяли в дихлорметане (3 мл) и обрабатывали ТФК (3 мл) при к.т. в течение 2 часов. Реакционную смесь концентрировали и повторно растворяли в ДМФА (5 мл), и охлаждали до 0 °C, последовательно добавляли NHS (113 мг, 0,98 ммоль) и EDC (189 мг, 0,98 ммоль). Реакционную смесь нагревали до к. т. и перемешивали в течение ночи, выливали в ледяную воду и экстрагировали с помощью дихлорметана (3 × 20 мл). Объединенную органическую фазу промывали водой (5 мл), насыщенным водным раствором хлорида натрия (5 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали, получая белое твердое вещество 291 (369 мг, 100% выход). ЭСИ МС m/z 787,21 ([M+H]$^+$).

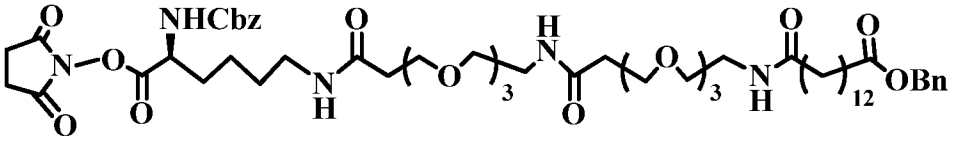
Пример 138. Синтез (S)-48-(((бензилокси)карбонил)амино)-3,16,29,42-тетраоксо-1-фенил-2,20,23,26,33,36,39-гептаокса-17,30,43-триазанонатетраконтан-49-овой кислоты (**292**).



292

К раствору соединения **235** (1,00 г, 1,32 ммоль) в дихлорметане (10 мл) при 0 °C добавляли HATU (0,50 г, 1,32 ммоль) и TEA (0,06 мл, 1,32 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 30 минут, затем добавляли Z-Lys-OH (0,40 г, 1,43 ммоль). Реакционную смесь затем перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа, затем разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали этилацетатом (3 × 20 мл). Объединенную органическую фазу промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (30 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали на колонке с силикагелем (0-10 % метанол/дихлорметан) с получением бесцветного масла **292** (1,28 г, 95% выход). ЭСИ МС m/z 1017,60 ([M+H]$^+$).

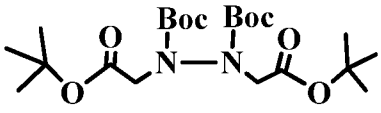
Пример 139. Синтез (S)-47-бензил 1-(2,5-диоксопирролидин-1-ил) 2-(((бензилокси)карбонил)амино)-8,21,34-триоксо-11,14,17,24,27,30-гексаокса-7,20,33-триазагептатетраконтан-1,47-диоата (**293**).



293

К раствору соединения **292** (1,28 г, 1,26 ммоль) в дихлорметане (10 мл) добавляли NHS (0,17 г, 1,51 ммоль) и EDC·HCl (0,29 г, 1,51 ммоль) с последующим добавлением TEA (0,38 мл, 2,77 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при к.т. в течение 2 часов, затем разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали этилацетатом (3 × 15 мл). Объединенную органическую фазу промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (30 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали на колонке с силикагелем (0-10 % метанол/дихлорметан) с получением бесцветного масла **293** (1,28 г, 91% выход). ЭСИ МС m/z 1114,62 ([M+H]$^+$).

Пример 140. Синтез ди-трет-бутил 1,2-бис(2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил)гидразин-1,2-дикарбоксилата (**294**).



294

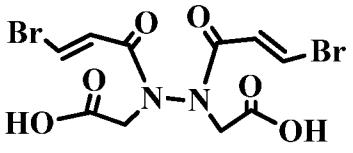
К раствору ди-трет-бутил гидразин-1,2-дикарбоксилата (8,01 г, 34,4 ммоль) в ДМФА (150 мл) добавляли NaH (60% в масле, 2,76 г, 68,8 ммоль). После перемешивания при к.т. в течение 30 минут добавляли трет-бутил 2-бромацетат (14,01 г, 72,1 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи, гасили добавлением метанола (3 мл), концентрировали, разбавляли EtOAc (100 мл) и водой (100 мл), разделяли и водный слой экстрагировали EtOAc (2 x 50 мл). Органические слои объединяли, сушили над $MgSO_4$, фильтровали, упаривали и очищали колоночной хроматографией на SiO_2 (EtOAc/гексан от 1:5 до 1:3) с получением указанного в заголовке соединения (12,98 г, 82% выход) в виде бесцветного масла. МС ЭСИ m/z рассчитано для $C_{22}H_{41}N_2O_8$ [M+H]$^+$ 461,28, найдено 461,40.

Пример 141. Синтез 2,2'-(гидразин-1,2-диил)диуксусной кислоты (**295**).

295

К раствору ди-трет-бутил 1,2-бис(2-(трет-бутокси)-2-оксоэтил)гидразин-1,2-дикарбоксилата (6,51 г, 14,14 ммоль) в 1,4-диоксане (40 мл) добавляли HCl (12 M, 10 мл). Смесь перемешивали в течение 30 минут, разбавляли диоксаном (20 мл) и толуолом (40 мл), упаривали и совместно упаривали с диоксаном (20 мл) и толуолом (40 мл) досуха с получением неочищенного указанного в заголовке продукта для следующей стадия без дополнительной очистки (2,15 г, 103% выход, ~93% чистота). МС ЭСИ m/z рассчитано для $C_4H_9N_2O_4$ [M+H]$^+$ 149,05, найдено 149,40.

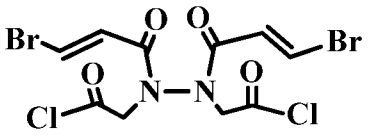
Пример 142. Синтез 2,2'-(1,2-бис((E)-3-бромакрилоил)гидразин-1,2-диил)диуксусной кислоты (**296**).



296

К раствору 2,2'-(гидразин-1,2-диил)диуксусной кислоты (1,10 г, 7,43 ммоль) в смеси ТГФ (50 мл) и NaH_2PO_4 (0,1 М, 80 мл, pH 6,0) добавляли (E)-3-бромакрилоил бромид (5,01 г, 23,60 ммоль). Смесь перемешивали в течение 6 часов, концентрировали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя смесью H_2O/CH_3CN (1:9), содержащей 3% муравьиной кислоты с получением указанного в заголовке соединения (2,35 г, 77% выход, ~93% чистоты). МС ЭСИ m/z рассчитано для $C_{10}H_{11}Br_2N_2O_6$ $[M+H]^+$ 412,89, найдено 413,50.

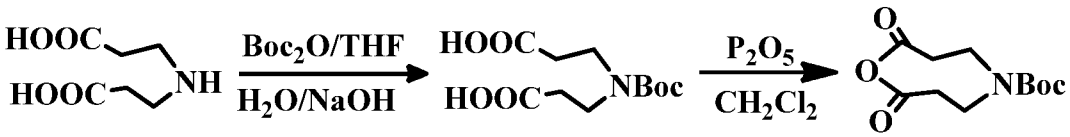
Пример 143. Синтез 2,2'-(1,2-бис((E)-3-бромакрилоил)гидразин-1,2-диил)диацетилхлорида (**297**).



297

К раствору 2,2'-(1,2-бис((E)-3-бромакрилоил)гидразин-1,2-диил)диуксусной кислоты (210 мг, 0,509 ммоль) в дихлорэтане (15 мл), добавляли $(COCl)_2$ (505 мг, 4,01 ммоль) с последующим добавлением 0,040 мл ДМФА. После перемешивания при комнатной температуре в течение 2 часов смесь упаривали и совместно упаривали с дихлорэтаном (2 x 20 мл) и толуолом (2 x 15 мл) досуха с получением указанного в заголовке неочищенного продукта (который не стабилен) для следующей стадии без дальнейшей очистки (245 мг, 107% выход). MS ЭСИ m/z рассчитано для $C_{10}H_9Br_2Cl_2N_2O_4$ $[M+H]^+$ 448,82, 450,82, 452,82, 454,82, найдено 448,60, 450,60, 452,60, 454,60.

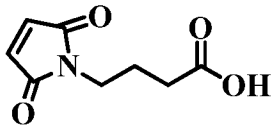
Пример 144. Синтез трет-бутил 2,8-диоксо-1,5-оксазокан-5-карбоксилата (**299**).



К раствору 3,3'-азандиилдипропановой кислоты (10,00 г, 62,08 ммоль) в 1,0 М NaOH (300 мл) при 4 °C добавляли ди-трет-бутилдикарбоната (22,10 г, 101,3 ммоль) в 200 мл ТГФ в течение 1 часа. После добавления смесь перемешивали в течение 2 часов при 4 °C. Смесь осторожно подкисляли до pH ~4 с помощью 0,2 М H_3PO_4, концентрировали в вакууме, экстрагировали CH_2Cl_2, сушили над Na_2SO_4, упаривали и очищали с помощью флэш-хроматографии на SiO2, элюируя смесью $AcOH/MeOH/CH_2Cl_2$ (0,01:1:5) с получением 3,3'-((трет-бутоксикарбонил)азандиил)дипропановой кислоты **298** (13,62 г, 84% выход). ЭСИ МС m/z $C_{11}H_{19}NO_6$ $[M+H]^+$, рассчитано 262,27, найдено 262,40.

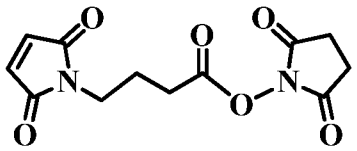
К раствору 3,3'-((трет-бутоксикарбонил)азандиил)дипропановой кислоты (8,0 г, 30,6 ммоль) в CH_2Cl_2 (500 мл) при 0 °C добавляли оксид фосфора (8,70 г, 61,30 ммоль). Смесь перемешивали при 0 °C в течение 2 часов, а затем при комнатной температуре в течение 1 часа, фильтровали через короткую колонку с SiO_2 и колонку промывали EtOAc/CH_2Cl_2 (1:6). Фильтрат концентрировали и растирали с EtOAc/гексан с получением указанного в заголовке соединения **299** (5,64 г, 74% выход). ЭСИ МС m/z $C_{11}H_{17}NO_5$ $[M+H]^+$, рассчитано 244,11, найдено 244,30.

Пример 145. Синтез 4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутановой кислоты (**300**).



К раствору малеинового ангидрида (268 г, 2,73 моль) в уксусной кислоте (1 л), добавляли 4-аминобутановую кислоту (285 г, 2,76 моль). После перемешивания при комнатной температуре в течение 30 минут, реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 1,5 ч, охлаждали до комнатной температуры и упаривали в вакууме, получая остаток, который растворяли в ЭА, промывали водой и насыщенным водным раствором хлорида натрия, и сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт кристаллизовали из EtOAc и ПЭ получая белое твердое вещество (400 г, 80 % выход). 1H ЯМР (500 МГц, CDCl3) δ 6,71 (с, 2H), 3,60 (т, J = 6,7 Гц, 2H), 2,38 (т, J = 7,3 Гц, 2H), 2,00 – 1,84 (м, 2H).

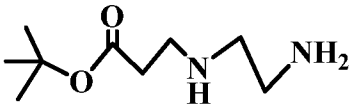
Пример 146. Синтез 2,5-диоксопирролидин-1-ил 4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутаноата (**301**).



301

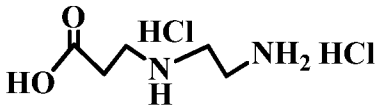
4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутановую кислоту (400 г, 2,18 моль, 1,0 экв.) растворяли в CH_2Cl_2 (1,5 л), добавляли *N*-гидроксисукцинимид (276 г, 2,40 ммоль, 1,1 экв.) и DIC (303 г, 2,40 моль, 1,1 экв.) при комнатной температуре и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали и очищали с помощью колоночной хроматографии (1:2 петролейный эфир/ EtOAc) с получением эфира NHS в виде белого твердого вещества (382 г, 63% выход). ^{1}H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$) δ 6,74 (с, 2H), 3,67 (т, *J* = 6,8 Гц, 2H), 2,85 (с, 4H), 2,68 (т, *J* = 7,5 Гц, 2H), 2,13 – 2,03 (м, 2H).

Пример 147. Синтез трет-бутил 3-((2-аминоэтил)амино)пропаноата (**302**).



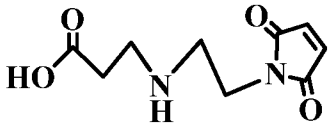
Трет-бутилакрилат (12,81 г, 0,10 ммоль) и этан-1,2-диамин (24,3 г, 0,40 моль) в ТГФ (150 мл) перемешивали при 45 °С в течение 24 часов. Смесь концентрировали и очищали на колонке с гелем Al_2O_3, элюируя $Et_3N/MeOH/CH_2Cl_2$ (5%:15%:80%) с получением указанного в заголовке соединения (17,50 г, 92% выход). ЭСИ МС m/z 189,20 ($[M+H]^+$).

Пример 148. Синтез 3-((2-аминоэтил)амино)пропановой кислоты, HCl соли (**303**).



Трет-бутил 3-((2-аминоэтил)амино)пропаноат (17,00 г, 90,33 ммоль) в1,4-диоксане (50 мл) обрабатывали конц. HCl (15 мл). Смесь перемешивали при к.т. в течение 30 минут, концентрировали разбавляли чистой водой (150 мл), и смесью EtOAc/гексан (40 мл, 1:5). Смесь разделяли и органический слой экстрагировали водой (2 x 10 мл). Водный слой концентрировали и сушили над вакуумным насосом с получением указанного в заголовке соединения (18,70 г, 100% выход и 96% чистоты по данным ЖХ-МС). ЭСИ МС m/z 133,20 ($[M+H]^+$).

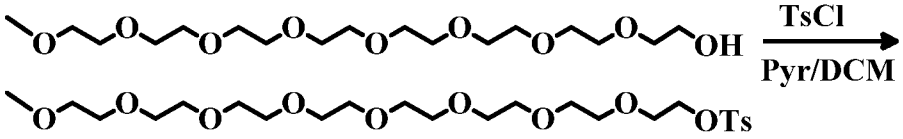
Пример 149. 3-((2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1Н-пиррол-1-ил)этил)амино)-пропановой кислоты (**304**).



К раствору 3-((2-аминоэтил)амино)пропановой кислоты (18,70 г, 90,33 ммоль) в ТГФ (150 мл) при 0 °С, добавляли малеиновый ангидрид (8,85 г, 90,33 ммоль). Смесь перемешивали при 0-4 °С в течение 4 часов, концентрировали с получением (Z)-4-((2-((2-карбоксиэтил)амино)этил)амино)-4-оксобут-2-еновой кислоты с количественным выходом, подтвержденным ЖХ-МС. Затем в смесь добавляли толуол (150 мл) и ДМА (50 мл), кипятили с обратным холодильником при 90 °С с ловушкой Дина-Старка. После сбора 30 мл растворителя в ловушке добавляли HMDS (гексаметилдисилазан, 9,0 мл, 43,15 ммоль) и ZnCl (16 мл, 1,0 М в диэтиловом эфире). Смесь нагревали до 115-125 °С и собирали толуол через ловушку Дина-Старка. Реакционную смесь кипятили при 120°С в течение 6 часов. В течение этого периода добавляли 2 x 40 мл сухого толуола, чтобы поддерживать объем смеси около 50 мл. Затем смесь охлаждали и добавляли 1 мл 1:10 HCl (конц.)/CH_3OH. Смесь упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя смесью вода/CH3CN (1:15) и сушили с

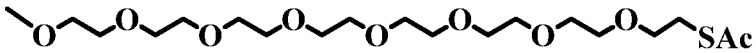
помощью вакуумного насоса с получением указанного в заголовке соединения 14,75 г (77,0% выход). ЭСИ МС m/z 213,10 ([M+H]$^+$).

Пример 150. Синтез 2,5,8,11,14,17,20,23-октаоксапентакозан-25-ил 4-метилбензолсульфоната (**305**).



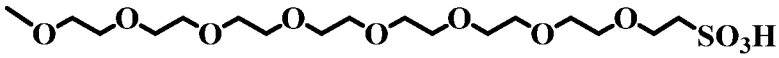
К раствору 2,5,8,11,14,17,20,23-октаоксапентакозан-25-ола (50,0 г, 0,130 моль) в ДХМ (200 мл) и пиридина (100 мл) добавляли TsCl (30,2 г, 0,159 моль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя смесью ацетон/ДХМ (от 1:1 до 4:1), и сушили с помощью вакуумного насоса с получением указанного в заголовке соединения 57,34 г (82,0% выход). ЭСИ МС m/z 539,40 ([M+H]$^+$).

Пример 151. Синтез S-2,5,8,11,14,17,20,23-октаоксапентакозан-25-ил этантиоата (**306**).



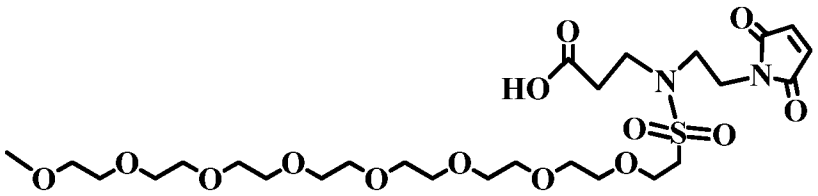
К раствору 2,5,8,11,14,17,20,23-октаоксапентакозан-25-ил 4-метилбензолсульфоната (57,30 г, 0,106 моль) в смеси ТГФ (300 мл) и DIPEA (50 мл) добавляли HSAc (10,0 г, 0,131 моль). Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали и очищали на колонке с SiO_2, элюируя смесью EtOAc/ДХМ (от 1:2 до 4:1) и сушили с помощью вакуумного насоса с получением указанного в заголовке соединения 40,51 г (86% выход). ЭСИ МС m/z 443,35 ([M+H]$^+$).

Пример 152. Синтез 2,5,8,11,14,17,20,23-октаоксапентакозан-25-сульфоновой кислоты (**307**).



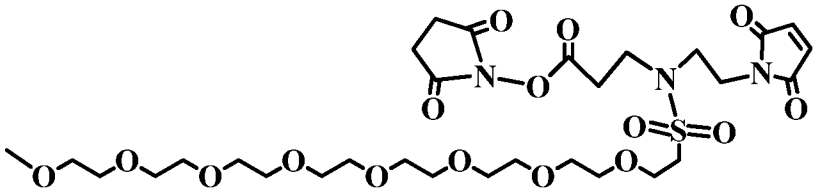
S-2,5,8,11,14,17,20,23-октаоксапентакозан-25-ил этантиоата (40,40 г, 0,091 моль) в смеси уксусной кислоты (200 мл) и 30% H_2O_2 (100 мл) перемешивали при 35 °C в течение ночи. Смесь концентрировали, разбавляли чистой водой (200 мл) и толуолом (150 мл), разделяли и органический слой экстрагировали водой (2 x 25 мл). Водные растворы объединяли, упаривали и сушили с помощью вакуумного насоса с получением указанного в заголовке соединения 40,50 г (99% выход, 95% чистота по данным ЖХ-МС). ЭСИ МС m/z 449,30 ([M+H]$^+$).

Пример 153. Синтез 3,3-N,N-(2''-малеимидоэтил)(2',5',8',11',14',17',20',23',26'-нонаоксаоктакозан-28'-сульфин)аминопропановой кислоты (**308**)



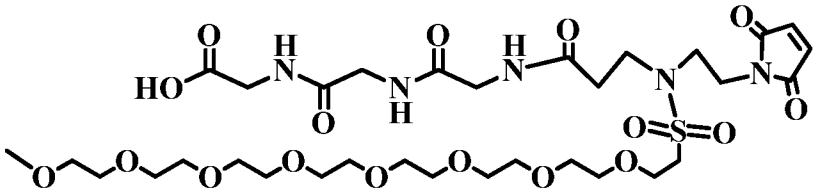
К раствору 2,5,8,11,14,17,20,23-октаоксапентакозан-25-сульфоновой кислоты (20,0 г, 44,62 ммоль) в смеси ТГФ (100 мл) и ДХМ (100 мл) последовательно добавляли $(COCl)_2$ (25,21 г, 200,19 ммоль) и ДМФА (0,015 мл). Смесь перемешивали при к.т. в течение 2 часов, концентрировали, совместно упаривали с ДХМ/толуол (1:1, 2 x 50 мл) а затем повторно растворяли в ТГФ (50 мл). К соединению 3-((2-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)этил)амино)-пропановой кислоты (7,50 г, 35,36 ммоль) в ТГФ (100 мл) добавляли раствор вышеуказанного сульфонилхлорида. Смесь перемешивали в течение ночи, упаривали в вакууме и очищали на колонке с SiO_2, элюируя смесью MeOH/ДХМ (от 1:6 до 1:5) и сушили с помощью вакуумного насоса с получением указанного в заголовке соединения 14,76 г (65% выход). ЭСИ МС m/z 643,35 ($[M+H]^+$).

Пример 154. Синтез N- N-сукцинимидо 3,3-N,N-(2''-малеимидоэтил)(2',5',8',11',14',17',20',23',26'-нонаоксаоктакозан-28'-сульфин)аминопропаноата (**309**)



Смесь 3,3-N,N-(2''-малеимидоэтил)(2',5',8',11',14',17',20',23',26'-нонаоксаоктакозан-28'-сульфин)аминопропановой кислоты (**308**) (7,50 г, 11,67 ммоль), N-гидроксисукцинимида (1,50 г, 13,04 ммоль) и EDC (10,10 г, 52,60 ммоль) в ТГФ (100 мл) перемешивали в течение ночи, упаривали в вакууме и очищали на колонке с SiO_2, элюируя смесью EtOAc/ДХМ (от 1:4 до 2:1) и сушили с помощью вакуумного насоса с получением указанного в заголовке соединения 6,30 г (73% выход). ЭСИ МС m/z 740,40 ($[M+H]^+$).

Пример 155. Синтез соединения **310**.

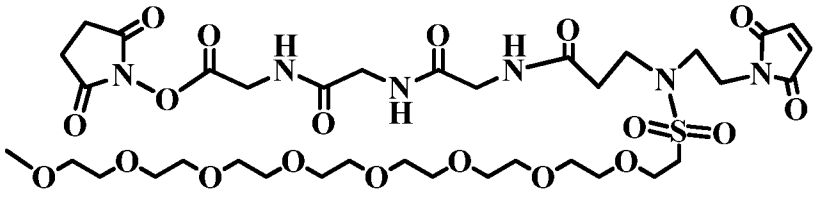


310

К раствору 2-(2-(2-(2-аминоацетамидо)ацетамидо)ацетамидо)уксусной кислоты (гли-гли-гли) (0,50 г, 2,03 ммоль) и соединения **309** (1,65 г, 2,22 ммоль) в ДМФА (15 мл) при 0 °C добавляли DIPEA (3 мл). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 0,5 ч, затем

при комнатной температуре в течение 4 часов. Затем реакционную смесь концентрировали и очищали с помощью хроматографии на SiO_2 (подвижная фаза: ацетонитрил/вода = 95:5 с 0,1% муравьиной кислоты) с получением указанного в заголовке соединения **310** (1,04 г, 63% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{32}H_{56}N_5O_{17}S$, 814,33; найдено, 814,46.

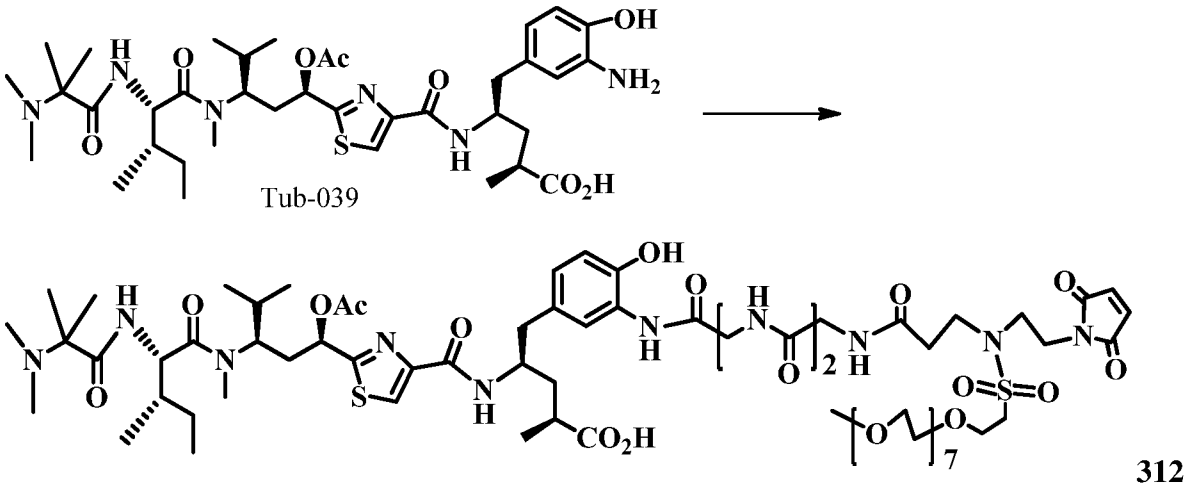
Пример 156. Синтез соединения **311**.



311

Смесь соединения **310** (0,70 г, 0,86 ммоль), N-гидроксисукцинимида (0,20 г, 1,73 ммоль) и EDC (1,21 г, 6,36 ммоль) в ТГФ (20 мл) перемешивали в течение ночи, упаривали в вакууме и очищали на колонке с SiO_2, элюируя смесью EtOAc/ДХМ (от 1:4 до 2:1) и сушили с помощью вакуумного насоса с получением указанного в заголовке соединения 0,540 г (69% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{36}H_{59}N_6O_{19}S$, 911,34; найдено, 911,42.

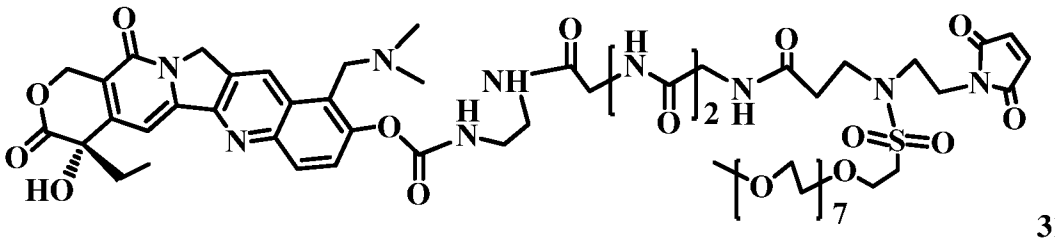
Пример 157. Синтез соединения **312**.



312

К раствору (2S,4R)-5-(3-амино-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, HCl соли (Tub-039, R. Zhao, et al, PCT/CN2017/120454; R. Zhao, et al, 14th PEGS Boston, Boston, MA, USA, 3rd May 2018) (83 мг, 0,106 ммоль) и соединения **311** (122 мг, 0,134 ммоль) в ДМФА (8 мл) при 0 °C добавляли DIPEA (2 мл). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 0,5 ч, затем при комнатной температуре в течение 4 часов. Затем реакционную смесь концентрировали и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (подвижная фаза: ацетонитрил/вода = 10%-80% с 0,1% муравьиной кислоты) с получением соединения **312** (95,5 мг, 58% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{69}H_{112}N_{11}O_{24}S$, 1542,72; найдено, 1542,76.

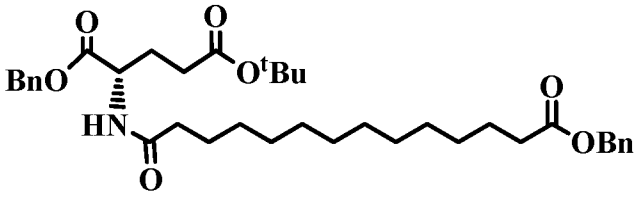
Пример 158. Синтез соединения **313**.



313

К раствору соединения **243** (40 мг, 0,065 ммоль) и соединения **311** (71,1 мг, 0,078 ммоль) в ДМФА (5 мл) при 0 °C добавляли DIPEA (1 мл). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 0,5 ч, а затем при комнатной температуре в течение 4 часов. Затем реакционную смесь концентрировали и очищали препаративной ВЭЖХ (подвижная фаза: ацетонитрил/вода = 10%-80% с 0,1% муравьиной кислоты) с получением соединения **313** (43,0 мг, 51% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{58}H_{83}N_{10}O_{22}S$, 1303,53; найдено, 1303,58.

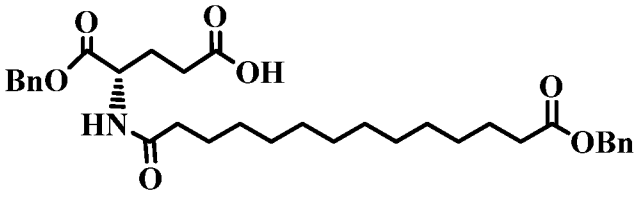
Пример 159. Синтез (S)-1-бензил 5-трет-бутил 2-(14-(бензилокси)-14-оксотетрадеканамидо)пентандиоата (**314**).



314

Раствор (S)-1-бензил 5-трет-бутил 2-аминопентандиоата, HCl соли (8,70 г, 26,39 ммоль), 14-(бензилокси)-14-оксотетрадекановой кислоты (9,19 ммоль), DIPEA (8,0 мл, 46,0 ммоль) и EDC (15,3 г, 80,50 ммоль) в CH_2Cl_2 (200 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 6 часов. Смесь разбавляли водой (100 мл) и разделяли. Водную фазу экстрагировали CH_2Cl_2 (100 мл). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над Na_2SO_4, фильтровали, концентрировали и очищали на колонке с силикагелем (дихлорметан/EtOAc = от 20:1 до 5:1) с получением указанного в заголовке соединения **314** (13,65 г, 83% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{37}H_{54}NO_7$, 624,38; найдено, 624,38.

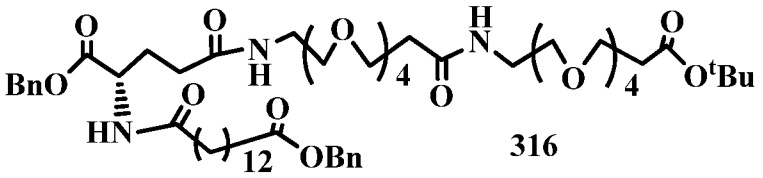
Пример 160. Синтез (S)-5-(бензилокси)-4-(14-(бензилокси)-14-оксотетрадеканамидо)-5-оксопентановой кислоты (**315**).



315

Соединение **214** (12,50 г, 20,05 ммоль) растворяли в диоксане (30 мл) при 4 °C и обрабатывали соляной кислотой (10 мл, 36% conc) в течение 0,5 часа. Реакционную смесь разбавляли толуолом (20 мл) и ДМФА (20 мл), упаривали при 15 °C с получением указанного в заголовке соединения **315** (11,26 г, 99% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{33}H_{46}NO_7$, 568,32; найдено, 568,34.

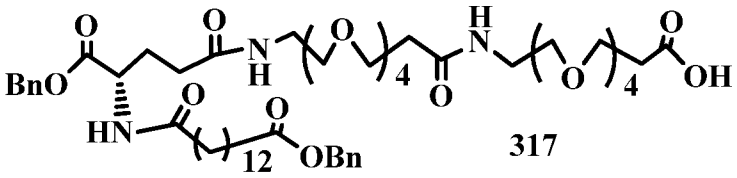
Пример 161. Синтез (S)-35,49-дибензил 1-трет-бутил 16,32,37-триоксо-3,6,9,12,19,22,25,28-октаокса-15,31,36-триазанонатетраконтан-1,35,49-трикарбоксилата (**316**).



316

Смесь соединения **315** (10,70 г, 18,86 ммоль), трет-бутил 1-амино-15-оксо-3,6,9,12,19,22,25,28-октаокса-16-азаентриаконтан-31-оата HCl соли (11,45 г, 18,93 ммоль), EDC (9,51 г, 50,01 ммоль) и DIPEA (4,00 мл, 23,00 моль) в CH_2Cl_2 (200 мл) перемешивали в течение ночи, разбавляли насыщенным водным раствором хлорида натрия (100 мл) и разделяли. Водную фазу экстрагировали CH_2Cl_2 (100 мл). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над Na_2SO_4, фильтровали, концентрировали и очищали на колонке с силикагелем (дихлорметан/EtOAc = от 10:1 до 4:1) с получением указанного в заголовке соединения **316** (18,15 г, 86% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{59}H_{96}N_3O_{17}$, 1118,67; найдено, 1118,80.

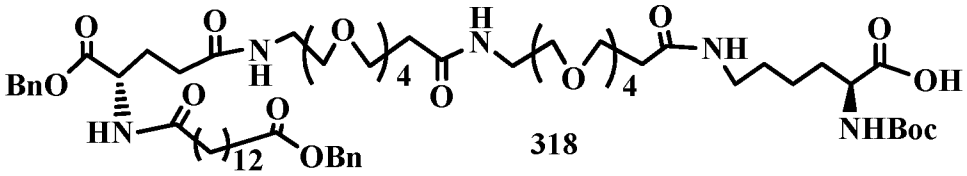
Пример 162. Синтез (S)-18-((бензилокси)карбонил)-3,16,21,37-тетраоксо-1-фенил-2,25,28,31,34,41,44,47,50-нонаокса-17,22,38-триазатрипентаконтан-53-овой кислоты (**317**).



317

Соединение **316** (10,50 г, 9,39 ммоль) растворяли в диоксане (45 мл) при 4 °C и обрабатывали соляной кислотой (15 мл, 36% конц.) в течение 0,5 часа. Реакционную смесь разбавляли толуолом (20 мл) и ДМФА (20 мл), упаривали при 15 °C и очищали на колонке с силикагелем (дихлорметан/MeOH= от 10:1 до 6:1) с получением указанного в заголовке соединения **317** (8,67 г, 87% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{55}H_{88}N_3O_{17}$, 1062,60; найдено, 1062,68.

Пример 163. Синтез (18S,59S)-18-((бензилокси)карбонил)-59-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3,16,21,37,53-пентаоксо-1-фенил-2,25,28,31,34,41,44,47,50-нонаокса-17,22,38,54-тетраазагексаконтан-60-овой кислоты (**318**).

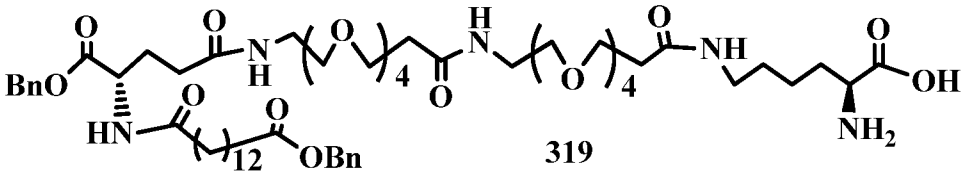


318

Раствор соединения **316** (8,50 г, 8,01 ммоль), N-гидроксисукцинимида (3,20 г, 27,82 ммоль), EDC (10,28 г, 54,10 ммоль) и DIPEA (6,00 мл, 34,51 ммоль) в ТГФ (150 мл) перемешивали в течение 6 часов и упаривали в вакууме с получением неочищенного N-сукцинимидилового сложного эфира (S)-18-((бензилокси)карбонил)-3,16,21,37-тетраоксо-1-фенил-2,25,28,31,34,41,44,47,50-нонаокса-17,22,38-триазатрипентаконтан-53-овой кислоты для использования на следующей стадии без очистки.

К раствору (S)-6-амино-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)гексановой кислоты, HCl соли (2,75 г, 9,73 ммоль) в ДМФА (100 мл) и 1,0 М Na_2PO_4 (pH 7,5, 55 мл), полученный выше N-сукцинимидиловый сложный эфир добавляли четырьмя порциями в течение 1 часа. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. После концентрации, остаток очищали на колонке с силикагелем (дихлорметан/MeOH = от 10:1 до 4:1) с получением указанного в заголовке соединения **318** (8,16 г, 79% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{66}H_{108}N_5O_{20}$, 1289,75; найдено, 1289,90.

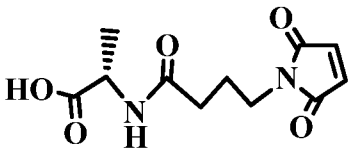
Пример 164. Синтез (18S,59S)-59-амино-18-((бензилокси)карбонил)-3,16,21,37,53-пентаоксо-1-фенил-2,25,28,31,34,41,44,47,50-нонаокса-17,22,38,54-тетраазагексаконтан-60-овой кислоты, HCl соли (**319**).



319

Соединение **318** (8,10 г, 6,28 ммоль) растворяли в диоксане (40 мл) при 4 °C и обрабатывали соляной кислотой (15 мл, 36% конц.) в течение 0,5 часа. Реакционную смесь разбавляли толуолом (20 мл) и ДМФА (20 мл), упаривали при 15 °C с получением неочищенного указанного в заголовке соединения **319** (7,71 г, 100% выход) для следующей стадии без дополнительной очистки. МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{61}H_{88}N_3O_{17}$, 1190,70; найдено, 1190,78.

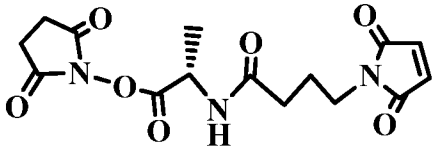
Пример 165. Синтез (S)-2-(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)пропановой кислоты (**320**).



320

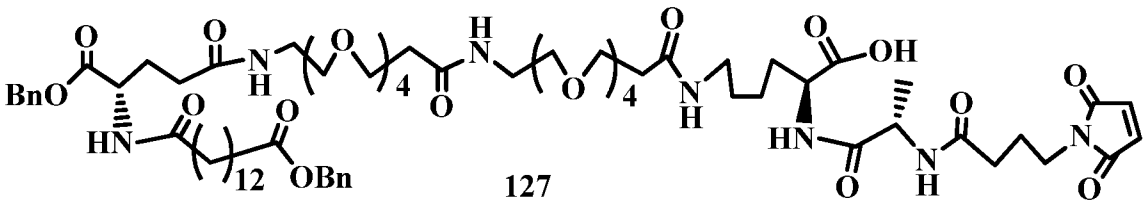
К раствору соединения **301** (7,10 г, 25,35 ммоль) и аланина (3,01 г, 33,80 ммоль) в ДМФА (50 мл) при 0 °C добавляли DIPEA (10 мл). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 0,5 ч, затем при комнатной температуре в течение 1 часа. Затем реакционную смесь концентрировали и очищали на колонке с SiO_2 (подвижная фаза: ДХМ/MeOH = 10:1 с 0,1% муравьиной кислоты) с получением соединения **320** (5,21 г, 81% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{11}H_{14}N_2O_5$, 255,09; найдено, 255,15.

Пример 166. Синтез (S)-2,5-диоксопирролидин-1-ил 2-(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)пропаноата (**126**).



Раствор соединения **320** (5,15 г, 20,26 ммоль), N-гидроксисукцинимида (2,80 г, 24,34 ммоль), EDC (10,28 г, 54,10 ммоль) и DIPEA (5,50 мл, 31,63 ммоль) в ДХМ (70 мл) перемешивали в течение 6 часов, упаривали в вакууме и очищали на колонке с SiO_2 (подвижная фаза: ДХМ / EtOAc = 10:1) с получением соединения **126** (5,83 г, 82% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{15}H_{17}N_3O_7$, 351,11; найдено, 351,20.

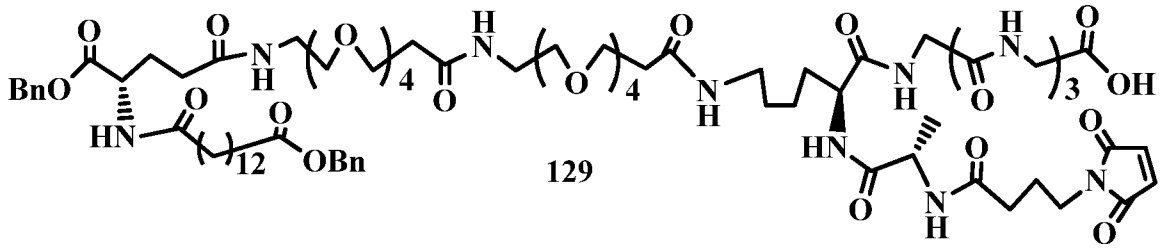
Пример 167. Синтез (18S,59S)-18-((бензилокси)карбонил)-59-((S)-2-(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)пропанамидо)-3,16,21,37,53-пентаоксо-1-фенил-2,25,28,31,34,41,44,47,50-нонаокса-17,22,38,54-тетраазагексаконтан-60-овой кислоты (**127**).



127

К раствору соединения **319** (7,61 г, 6,39 ммоль) и соединения **126** (2,90 г, 8,280 ммоль) в ДМФА (40 мл) при 0 °C добавляли DIPEA (7 мл). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 0,5 ч, затем при комнатной температуре в течение 1 часа. Затем реакционную смесь концентрировали и очищали на колонке с SiO_2 (подвижная фаза: ДХМ / MeOH = 10:1 с 0,1% муравьиной кислоты) с получением соединения **127** (7,10 г, 78% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{72}H_{112}N_7O_{22}$, 1426,7782; найдено, 1426,7820.

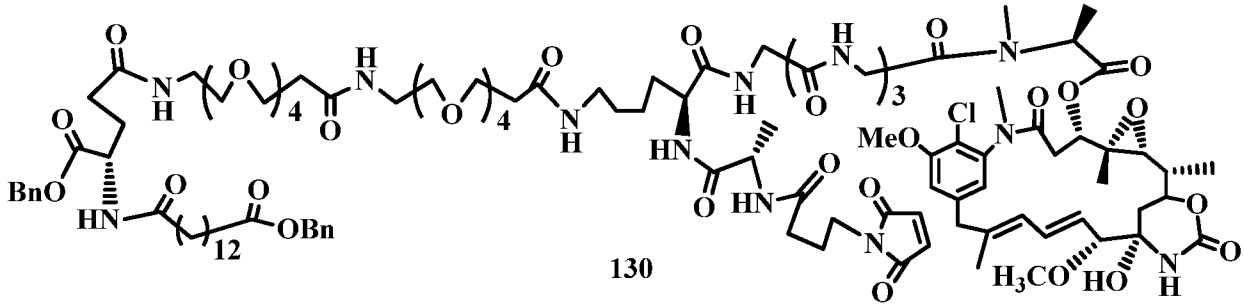
Пример 168. Синтез (18S,59S)-18-((бензилокси)карбонил)-59-((S)-2-(4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)бутанамидо)пропанамидо)-3,16,21,37,53,60,63,66,69-нонаоксо-1-фенил-2,25,28,31,34,41,44,47,50-нонаокса-17,22,38,54,61,64,67,70-октаазадогептаконтан-72-овой кислоты (**129**).



129

Раствор соединения **127** (7,05 г, 4,94 ммоль), N-гидроксисукцинимида (0,92 г, 8,00 ммоль), EDC (3,01 г, 15,84 ммоль) и DIPEA (1,00 мл, 5,75 ммоль) в ТГФ (50 мл) перемешивали в течение 6 ч и упаривали в вакууме, получая неочищенное соединение **128** (N-сукцинимидиловый сложный эфир) для использования на следующей стадии без очистки. К раствору 2-(2-(2-аминоацетамидо)ацетамидо)уксусной кислоты (гли-гли-гли) HCl соли (1,67 г, 7,40 ммоль) в ДМФА (40 мл) и 1,0 М Na_2PO_4 (pH 7,5, 15 мл), указанное выше соединение **128** добавляли четырьмя порциями в течение 1 часа. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 часов. После концентрации, остаток очищали на колонке с силикагелем (дихлорметан/ MeOH = от 10:1 до 7:1) с получением указанного в заголовке соединения **129** (8,16 г, 79% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{78}H_{121}N_{10}O_{25}$, 1597,8426; найдено, 1597,8495.

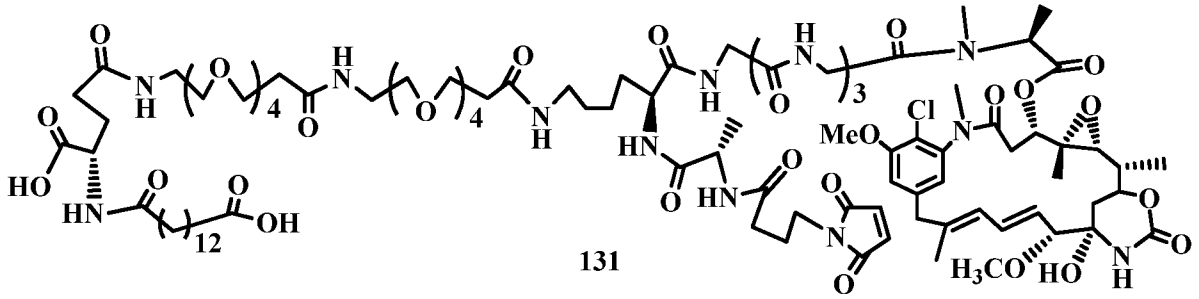
Пример 169. Синтез соединения **130**.



130

К раствору соединения **129** (251 мг, 0,157 ммоль), May-NMA (100 мг, ~0,154 ммоль) и DIPEA (0,10 мл, 0,575 ммоль) в ДМА (10 мл) добавляли BroP (бром трис(диметиламино) фосфоний гексафторфосфат) (451 мг, 1,162 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 часов, упаривали в вакууме и очищали на колонке с силикагелем (дихлорметан/ MeOH = от 10:1 до 7:1) с получением соединения **130** (212,6 мг, 62% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{110}H_{163}ClN_{13}O_{33}$, 2229,1088; найдено, 2229,1175.

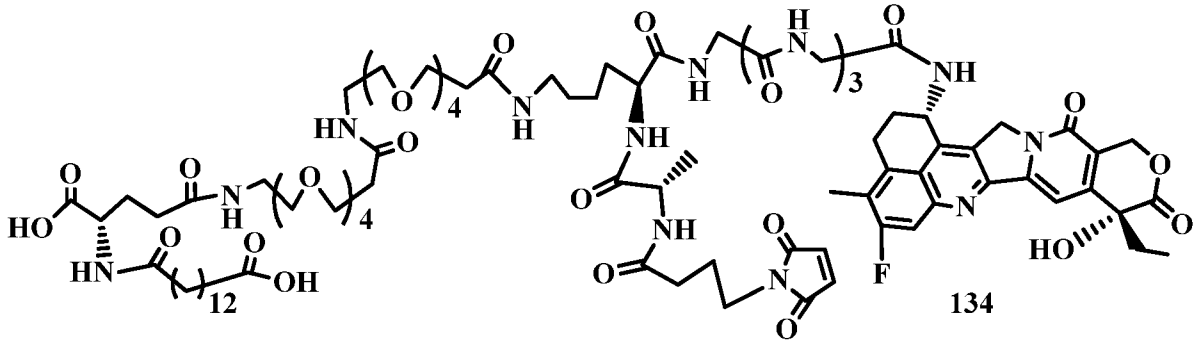
Пример 170. Синтез соединения **131**.



131

Соединение **130** (105 мг, 0,0471 ммоль) в ДХМ (2 мл) обрабатывали ТФК (4 мл) в течение 1 часа. Реакционную смесь разбавляли толуолом (5 мл) и ДМФА (5 мл), упаривали, и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (подвижная фаза: ацетонитрил/вода = 10%-80% с 0,1% муравьиной кислоты) с получением соединения **131** (69,0 мг, 72% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{96}H_{151}ClN_{13}O_{33}$, 2049,0149; найдено, 2049,0285.

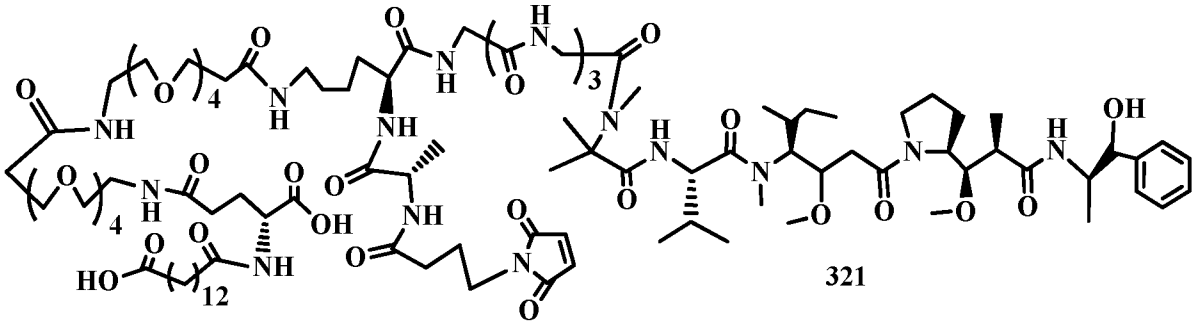
Пример 171. Синтез соединения **134**.



134

К раствору соединения **129** (299,5 мг, 0,187 ммоль), экзатекана HCl соли (80,5 мг, 0,170 ммоль) и DIPEA (0,050 мл, 0,287 ммоль) в ДМА (10 мл) добавляли EDC (200 мг, 1,052 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 часов, упаривали в вакууме, повторно растворяли в EtOAc/ДХМ (1 мл: 4 мл) и пропускали через короткую колонку с силикагелем с элюированием EtOAc/ДХМ (1: 2), упаривали в вакууме с получением неочищенного соединения для следующей стадии. МС-ЭСИ m/z: 2015,01. Неочищенное указанное выше соединение в ДХМ (2 мл) обрабатывали ТФК (4 мл) в течение 1 часа. Реакционную смесь разбавляли толуолом (5 мл) и ДМФА (5 мл), упаривали и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (подвижная фаза: 5%-50% ацетонитрила в воде, содержащая 0,1% муравьиной кислоты) с получением соединения **134** (69,0 мг, 72% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{88}H_{128}FN_{13}O_{28}$, 1834,8980; найдено, 1834,9010.

Пример 172. Синтез соединения **321**.

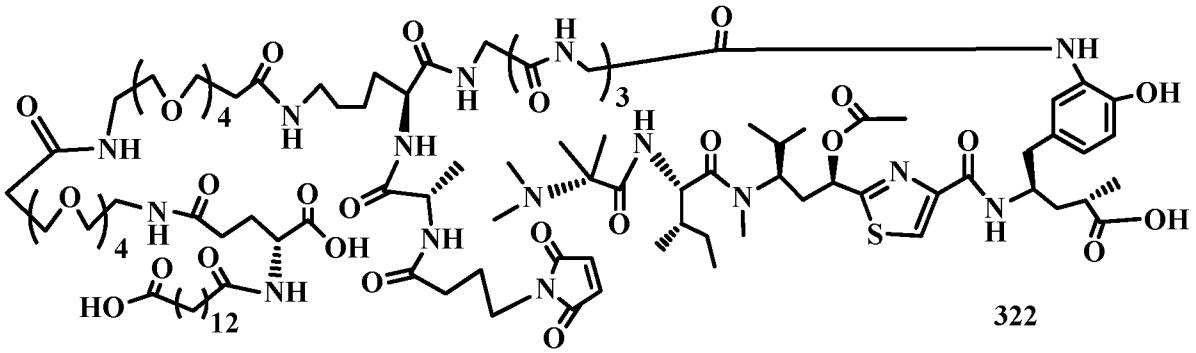


321

К раствору соединения **129** (150,1 мг, 0,0935 ммоль), MMAE HCl соли (50,1 мг, 0,0682 ммоль) и DIPEA (0,030 мл, 0,172 ммоль) в ДМА (5 мл) добавляли BroP (бром трис(диметиламино) фосфоний гексафторфосфат) (180,1 мг, 0,463 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 часов, упаривали в вакууме, повторно растворяли в EtOAc/ДХМ (1 мл: 4 мл) и пропускали через короткую колонку с силикагелем с элюированием EtOAc/ДХМ (1: 2), упаривали в вакууме с получением неочищенного соединения для следующей стадии. МС-ЭСИ m/z: 2283,3290.

Указанное выше неочищенное соединение в ДХМ (1 мл) обрабатывали ТФК (3 мл) в течение 1 часа. Реакционную смесь разбавляли толуолом (3 мл) и ДМФА (2 мл), упаривали и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (подвижная фаза: 5%-50% ацетонитрила в воде, содержащая 0,1% муравьиной кислоты) с получением соединения **321** (84,5 мг, 59% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{102}H_{172}N_{15}O_{31}$, 2103,2343; найдено, 2103,2425.

Пример 173. Синтез соединения **322**.



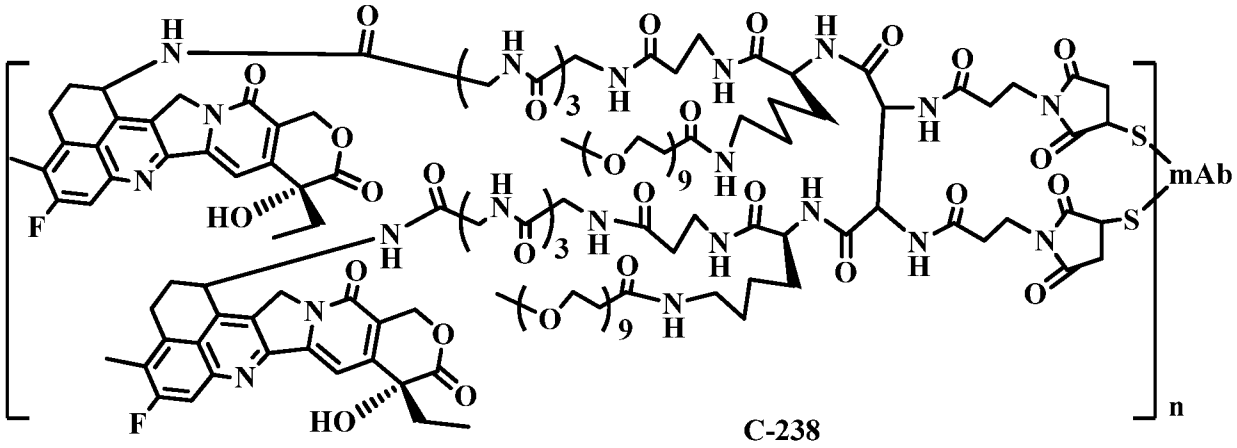
322

К раствору соединения **129** (150,3 мг, 0,0935 ммоль), Tub-039 HCl соли (60,2 мг, 0,0769 ммоль) и DIPEA (0,030 мл, 0,172 ммоль) в ДМА (5 мл) добавляли EDC (100 мг, 0,526 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 часов, упаривали в вакууме, повторно растворяли в MeOH/ДХМ (0,5 мл: 3 мл) и пропускали через короткую колонку с силикагелем при элюировании MeOH/ДХМ (1:3), упаривали в вакууме, получая неочищенное соединение для следующей стадии. МС-ЭСИ m/z: 2326,25.

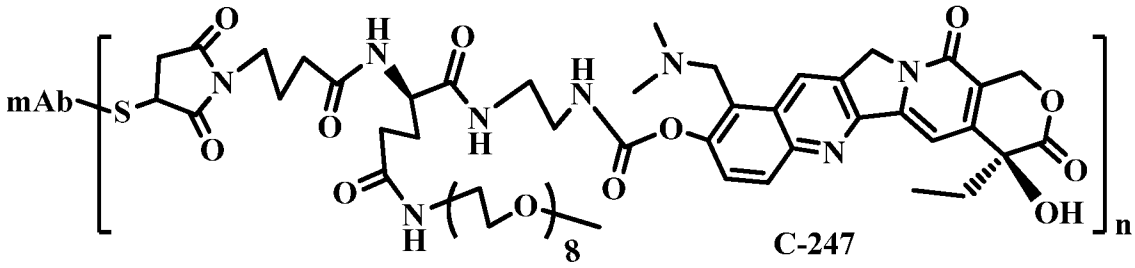
Указанное выше неочищенное соединение в ДХМ (1 мл) обрабатывали ТФК (3 мл) в течение 1 часа. Реакционную смесь разбавляли толуолом (3 мл) и ДМФА (3 мл), упаривали и очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (подвижная фаза: 2%-50% ацетонитрила в воде, содержащая 0,1% муравьиной кислоты) с получением соединения **322** (69,0 мг, 72% выход). МС-ЭСИ m/z: $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{88}H_{128}FN_{13}O_{28}$, 2146,1497; найдено, 2146,1588.

Пример 174. Общий способ получения Конъюгата **49 (C-30), 50 (C-40), 51 (C-48), 174 (C-173), C-238, C-247, C-255, C-260, C-265, C-271, C-273, C-276, C-279, C-280, C-281, C-312, C-313, 132 (C-131), 135 (C-134), C-321** и **C-322**.

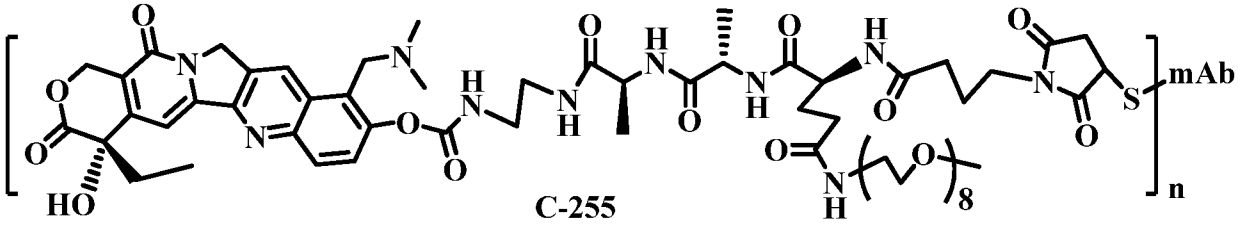
К раствору, содержащему 2,0 мл 10 мг/мл герцептина в буфере PBS с pH 6,0~8,0, 0,70 ~ 2,0 мл 100 мМ NaH_2PO_4, буферы с pH 6,5~8,5 и TCEP (14 ~ 45мкл, 20 мМ в воде), независимо добавляли соединение **30, 40, 48, 173, 238, 247, 255, 260, 265, 271, 273, 276, 279, 281, 312, 313, 131, 134, 321** и **322** (14-60 мкл, 20 мМ в ДМА) с последующим добавлением 4-(азидометил)бензойной кислоты (14-70мкл, 20 мМ в PBS буфере с pH 7,5). Смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 4~18 часов, затем добавляли DHAA (125 ~160 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 буфера с pH 6,0~7,5с получением 11,2~18,5 мг конъюгированных соединений **49 (C-30), 50 (C-40), 51 (C-48), 174 (C-173), C-238, C-247, C-255, C-260, C-265, C-271, C-273, C-276, C-279, C-280, C-281, C-312, C-313, 132 (C-131), 135 (C-134), C-321** и **C-322** (85%~94% выход) соответственно в 13,4~15,8 мл буфера NaH_2PO_4. Соотношение лекарственное средство/антитело (DAR) в конъюгате составляло 3,5~8,2, где DAR определяли с помощью масс-спектра СВЭЖХ-QTOF. Это был 95-99% мономер, проанализированный с помощью ВЭЖХ SEC (Tosoh Bioscience, Tskgel G3000SW, 7,8 мм ID x 30 см, 0,5 мл/мин, 100 мин). Структуры данных конъюгатов: **C-238, C-247, C-255, C-260, C-265, C-271, C-273, C-276, C-279, C-280, C-281, C-312, C-313, C-321** и **C-322,** которые не перечислены в описании графических материалов, показаны ниже:



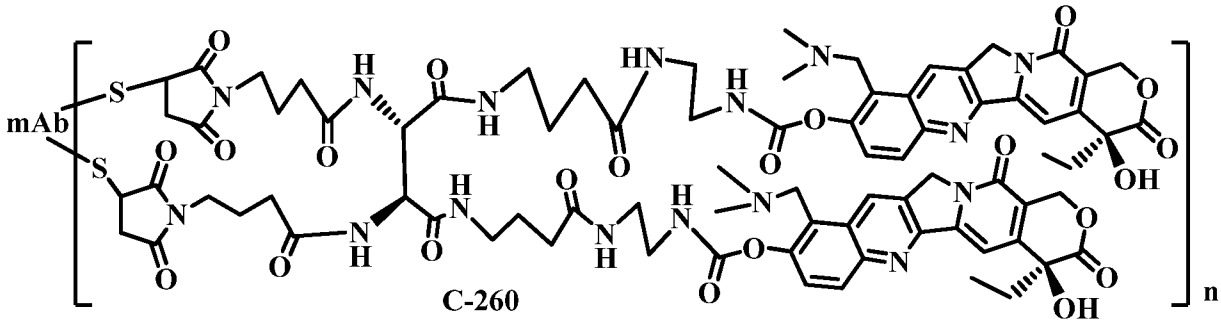
C-238



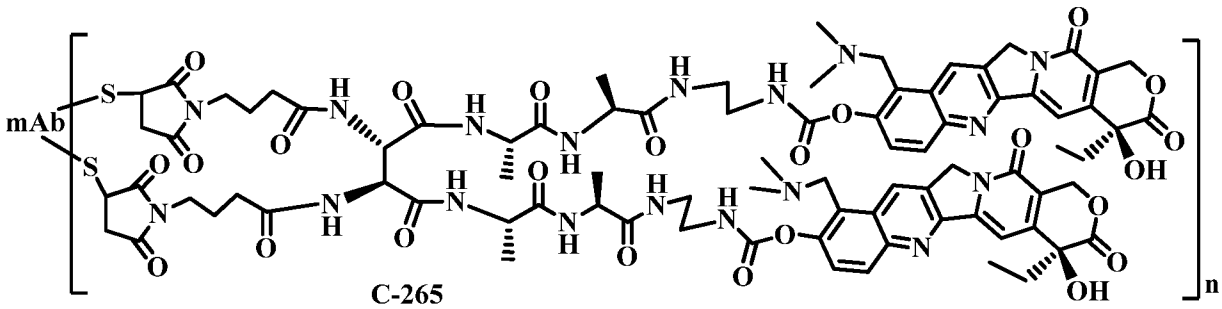
C-247



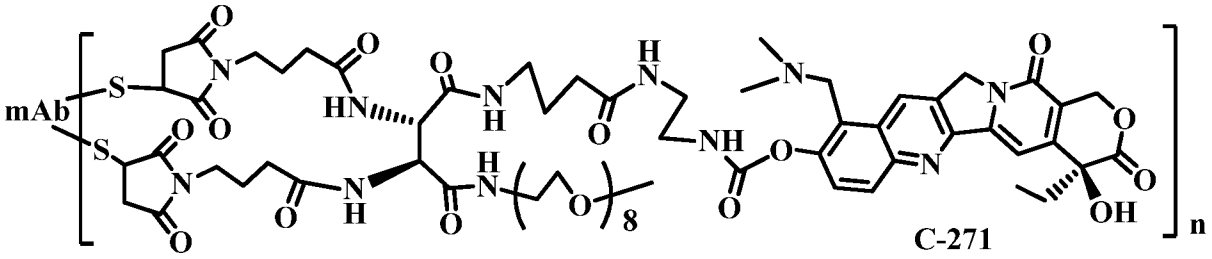
C-255



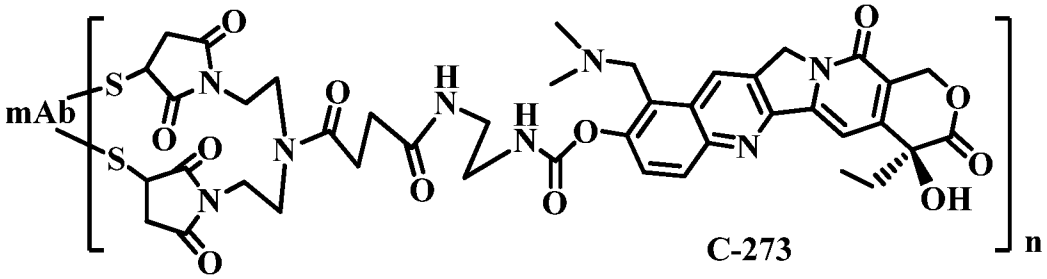
C-260



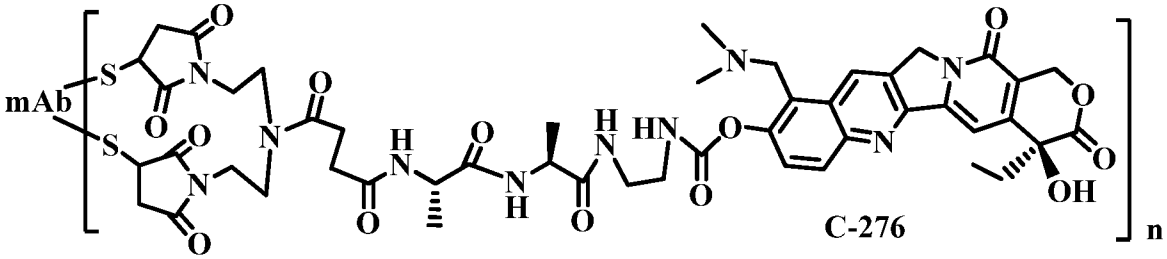
C-265



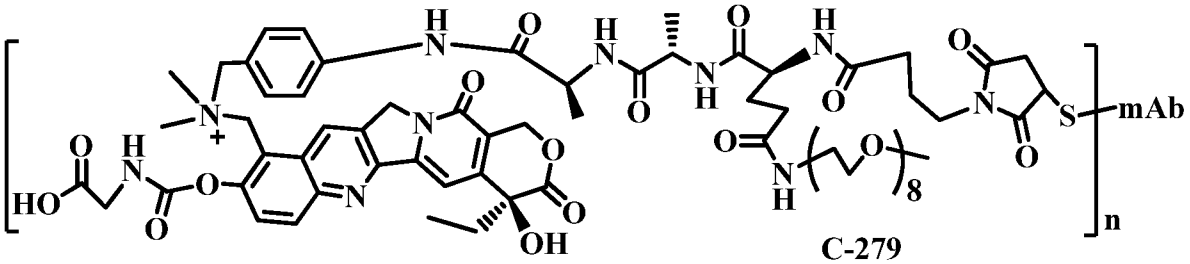
C-271



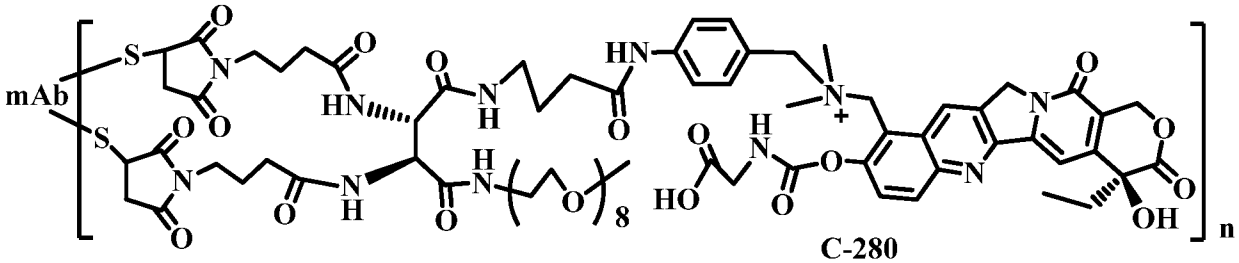
C-273



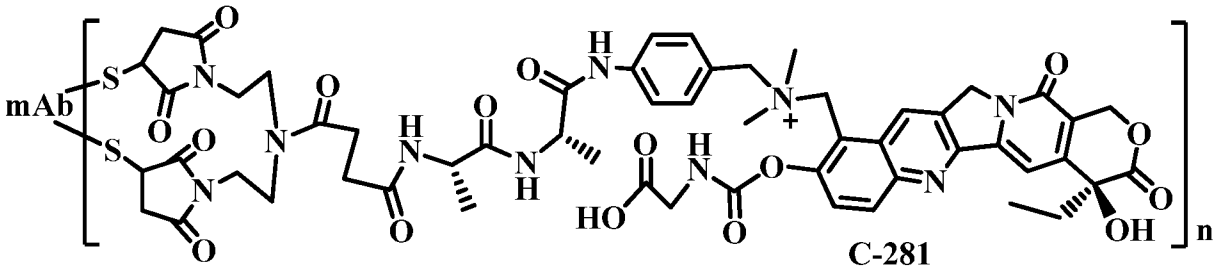
C-276



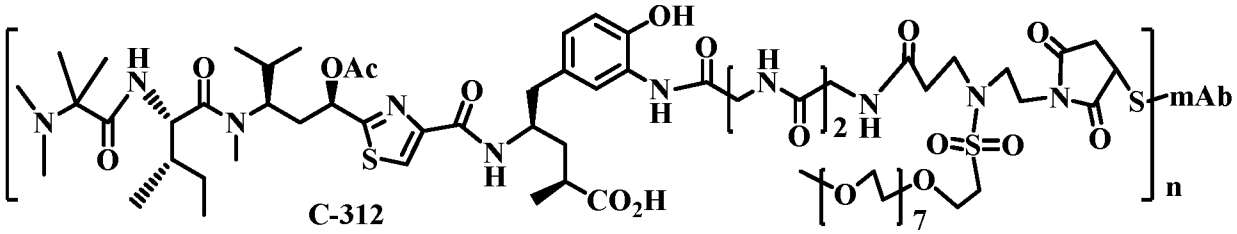
C-279

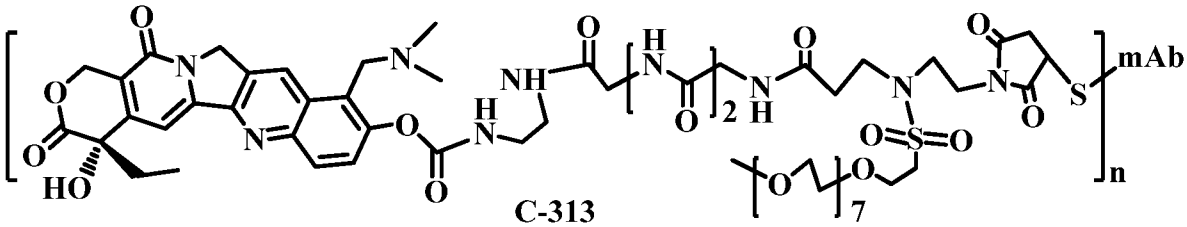


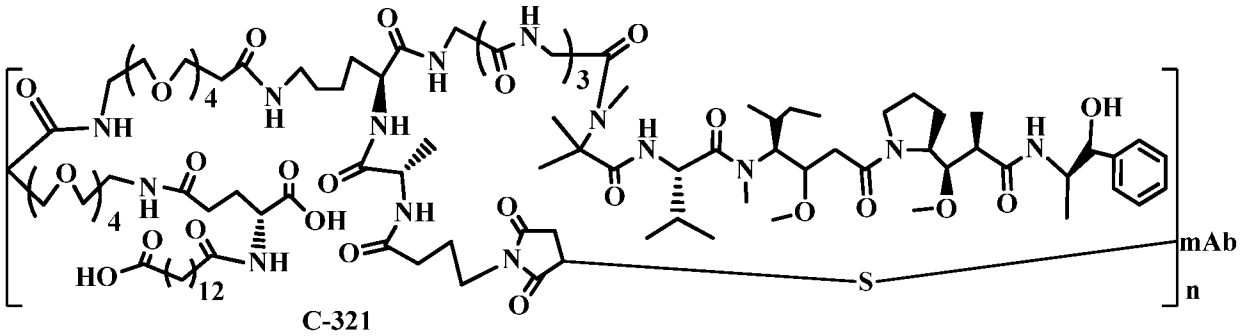
C-280

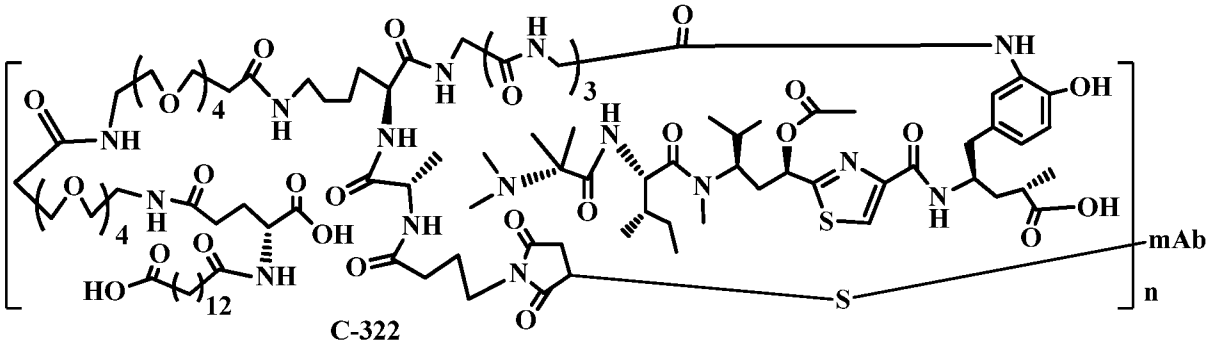


C-281









Пример 175. Оценка цитотоксичности *in vitro* для **49 (C-30), 50 (C-40), 51 (C-48), 174 (C-173), C-238, C-247, C-255, C-260, C-265, C-271, C-273, C-276, C-279, C-280, C-281, C-312, C-313, 132 (C-131), 135 (C-134), C-321** и **C-322** в сравнении с T-DM1:

Клеточная линия, используемая в анализах цитотоксичности, представляла собой NCI-N87, клеточную линию 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 часа при 37 °C. Среду осторожно

удаляли, а затем добавляли ДМСО (180 мкл). После встряхивания в течение 15 минут измеряли оптическую плотность при 490 нм и 570 нм с эталонным фильтром 620 нм. % ингибирования рассчитывали по следующему уравнению: % ингибирования = [1-(проба для анализа)/(проба для контроля)] × 100. Результаты представлены в Таблице 1.

Таблица 1. Структуры конъюгатов Her2-аналога аматоксина по патентной заявке и результаты исследования их цитотоксичности IC_{50}:

Соединение	DAR (соотношение лекарственное средство/мАт)	IC50 (нМ) против клеток NCI-N87
C-30	3,9	0,16
C-40	4,0	0,27
C-48	3,8	0,12
C-173	7,8	6,81
C-238	7,6	1,58
C-247	8,1	29,72
C-255	8,0	21,3
C-260	7,6	72,81
C-265	7,7	16,53
C-271	4,1	185,40
C-273	5,4	121,72
C-276	5,2	82,52
C-279	7,8	7,21
C-280	4,8	27,35
C-281	4,6	29,20
C-312	4,0	0,15
C-313	8,1	11,10
C-131	3,6	0,68
C-134	7,8	1,32
C-321	3,9	0,95
C-322	3,9	0,25
T-DM1	3,5	0,32

Пример 176. Противоопухолевая активность *in vivo* (мыши линии BALB/c Nude, имеющие ксенотрансплантатную опухоль NCI-N87).

Эффективность *in vivo* конъюгатов **49 (C-30), 51 (C-48), C-173, C-238, C-312, 132 (C-131), 135 (C-134), C-321** и **C-322,** наряду с T-DM1 оценивали на моделях ксенотрансплантатной опухоли линии клеток N-87 карциномы желудка человека. Пятинедельным самкам мышей линии BALB/c Nude (66 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 140 мм^3. Затем животные были случайным образом разделены на 10 групп (по 6 животных в группе). Первая группа мышей служила в качестве контрольной группы и получала носитель с фосфатно-солевым буферным раствором (PBS). Животным в 10 группах вводили внутривенно конъюгаты **49 (C-30), 51 (C-48), C-238, C-312, 132 (C-131), 135 (C-134), C-321**, **C-322** и T-DM1 соответственно, в дозе 6 мг/кг. Проводили оценку опухоли в трех измерениях каждые 3–4 дня (два раза в неделю), и объемы опухолей 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 массы тела составляла более чем 20% от массы тела до введения соединения, (2) объем опухоли превышал 1500 мм^3, (3) животные были слишком больны, чтобы самостоятельно добраться до еды и воды или (4) у них наблюдался некроз кожи. Мышь считалась не имеющей опухоль, если опухоль не пальпировалась.

Результаты представлены на Фиг. 20. Все 10 конъюгатов не вызывали потери массы тела животного при дозе 6,0 мг/кг. Все конъюгаты продемонстрировали противоопухолевую активность по сравнению с буферным раствором PBS. Все конъюгаты, кроме **C-173**, обладали лучшей противоопухолевой активностью *in vivo*, чем T-DM1. Конъюгат **C-131**, который имеет такую же полезную нагрузку майтанзиноида, что и T-DM1, задерживал рост опухоли на 40 дней по сравнению с 30 днями T-DM1, демонстрируя способность медленного высвобождения линкера боковой цепи.

У всех 6/6 животных в группах введения тестируемых конъюгатов практически не обнаруживали опухоли, измеряемой с 18 по 32-48 день. Ингибирование роста опухоли при применении дозы 6 мг/кг:

Конъюгат	Задержка роста опухоли
C-173	10
T-DM1	30 дней
C-238	30 дней
C-134	28 дней

C-131	40 дней
C-312	47 дней
C-321	48 дней
C-30	49 дней
C-48	52 дней
C-322	>54 дней

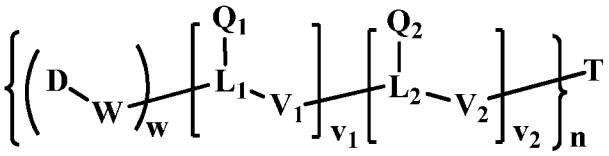
Пример **177**. Исследование токсичности конъюгатов, имеющих боковую связь цепи, по сравнению с T-DM1.

Изменение (обычно снижение) массы тела - это общая реакция животного на токсичность лекарственного средства. 88 самок мышей ICR в возрасте 6-7 недель были разделены на 11 групп. Каждая группа включала 8 мышей и каждой мыши вводили конъюгаты 49 (C-30), 51 (C-48), C-173, C-238, C-312, 132 (C-131), 135 (C-134), C-321 и C-322, и T-DM1, соответственно, в дозе 150 мг/кг на мышь с помощью внутривенной болюсной инъекции. Контрольную группу (n = 8) устанавливали с помощью внутривенной инъекции дозы раствора носителя, фосфатно-солевого буферного раствора (PBS). Масса тела (МТ) контрольных мышей и всех конъюгатов, кроме C-321 и T-DM1, не снизилась более чем на 5% за 12-дневный эксперимент. Максимальное снижение МТ конъюгата C-321 составило 5,5% на 5-й день с последующим быстрым восстановлением. Напротив, МТ в T-DM1 продолжала снижаться с максимальным снижением на 24% от значения до введения дозы, и в конце исследования не наблюдалось тенденции к восстановлению. Эксперименты по изменению МТ продемонстрировали более высокую переносимость этих конъюгатов цитотоксических агентов, содержащих линкер боковой цепи, по сравнению с T-DM1, имеющих обычный моно-линкер, у этих мышей.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение конъюгата, связанного посредством линкера на боковой цепи Формулы (I):



(I)

причем

«——» представляет собой одинарную связь; n равно 1-30;

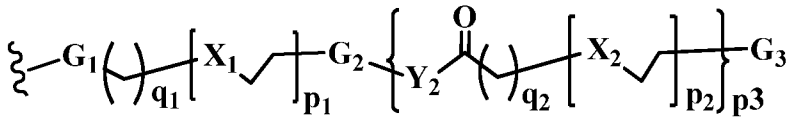
T представляет собой связывающийся с клеткой агент/молекулу, выбранную из группы, состоящей из антитела, одноцепочечного антитела, фрагмента антитела, который связывается с клеткой-мишенью, моноклонального антитела, одноцепочечного моноклонального антитела, фрагмента моноклонального антитела, который связывается с клеткой-мишенью, химерного антитела, фрагмента химерного антитела, который связывается с клеткой-мишенью, доменного антитела, фрагмента доменного антитела, который связывается с клеткой-мишенью, аднектина, который имитирует антитело, белков DARPin, лимфокина, гормона, витамина, фактора роста, колониестимулирующего фактора, переносящей питательные вещества молекулы (трансферрин) и/или связывающегося с клеткой пептида, белка или малой молекулы, прикрепленной к альбумину, полимеру, дендримеру, липосоме, наночастице, везикуле или (вирусному) капсиду;

L_1 и L_2, одинаковые или разные, независимо выбраны из O, NH, N, S, P, NNH, NHNH, $N(R_3)$, $N(R_{12})$, $N(R_{12})N(R_{12'})$, CH, CO, C(O)NH, C(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)O, полиэтиленоксигруппы формулы $(OCH_2CH_2)_pOR_{12}$ или $(OCH_2CH\text{-}(CH_3))_pOR_{12}$, или $NH(CH_2CH_2O)_pR_{12}$, или $NH(CH_2CH(CH_3)O)_pR_{12}$, или $N[(CH_2CH_2O)_pR_{12}]\text{-}[(CH_2CH_2O)_{p'}R_{12'}]$, или $(OCH_2CH_2)_pCOOR_{12}$ или $CH_2CH_2(OCH_2CH_2)_pCOOR_{12}$, где p и p' независимо являются целым числом, выбранным из от 0 до около 1000, или их комбинацией; 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; или $(Aa)_r$, r =1-12(от одного до 12 аминокислотных звеньев), который состоит из природных или неприродных аминокислот, или одинаковых или различных последовательностей дипептидного, трипептидного, тетрапептидного, пентапептидного, гексапептидного, гептапептидного, октапептидного, нонапептидного, декапептидного, ундекапептидного или додекапептидного звена;

W представляет собой удлиняющее звено, содержащее C_1-C_{18}, обычно саморасщепляющийся спейсер, пептидильное звено, гидразоновую, дисульфидную, тиоэфирную, сложноэфирную или амидную связь; w равно 1 или 2, или 3;

V_1 и V_2 независимо представляют собой спейсерное звено и выбраны из O, NH, S, C_1-C_8 алкила, C_2-C_8 гетероалкила, алкенила или алкинила, C_3-C_8 арила, гетероциклила, карбоциклила, циклоалкила, алкилциклоалкила, гетероциклоалкила, гетероаралкила, гетероалкилциклоалкила или алкилкарбонила, или $(Aa)_r$, r =1-12 (от одного до 12 аминокислотных звеньев), который состоит из природных или неприродных аминокислот, или одинаковых или различных последовательностей дипептидного, трипептидного, тетрапептидного, пентапептидного, гексапептидного, гептапептидного, октапептидного, нонапептидного, декапептидного, ундекапептидного или додекапептидного звена; или $(CH_2CH_2O)_p$, p равно 0-1000; и V_1 и V_2 независимо равны 0, 1 или 2, но v_1 и v_2 одновременно равны 0; когда v_1 или v_2 равно 0, это означает, что один из фрагментов боковой цепи Q1 или Q2 отсутствует;

Q_1 и Q_2 независимо представлены Формулой (I-q1):



(I-q1);

причем ∿∿ представляет собой участок, связанный с L_1 или L_2; G_1 и G_2 независимо представляют собой OC(O), NHC(O), C(O), CH_2, NH, OC(O)NH, NHC(O)NH, O, S, B, P(O)(OH), NHP(O)(OH), NHP(O)(OH)NH, $CH_2P(O)(OH)NH$, OP(O)(OH)O, $CH_2P(O)(OH)O$, $NHS(O)_2$, $NHS(O)_2NH$, $CH_2S(O)_2NH$, $OS(O)_2O$, $CH_2S(O)_2O$, Ar, $ArCH_2$, ArO, ArNH, ArS, $ArNR_1$ или $(Aa)_{q1}$; G_3 представляет собой OH, SH, OR_{12}, SR_{12}, $OC(O)R_{12}$, $NHC(O)R_{12}$, $C(O)R_{12}$, CH_3, NH_2, NR_{12}, $^+NH(R_{12})$, $^+N(R_{12})(R_{12'})$, C(O)OH, $C(O)NH_2$, $NHC(O)NH_2$, BH_2, $BR_{12}R_{12'}$, $P(O)(OH)_2$, $NHP(O)(OH)_2$, $NHP(O)(NH_2)_2$, $S(O)_2(OH)$, $(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $(CH_2)_{q1}P(O)(OH)_2$, $C(O)(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $OC(O)(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $NHC(O)(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $CO(CH_2)_{q1}P(O)(OH)_2$, $NHC(O)O(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $OC(O)NH(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $NHCO(CH_2)_{q1}$-$P(O)(OH)_2$, $NHC(O)(NH)(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $CONH(CH_2)_{q1}P(O)(OH)_2$, $NHS(O)_2(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $CO(CH_2)_{q1}S(O)_2(OH)$, $NHS(O)_2NH(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $OS(O)_2NH(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $NHCO(CH_2)_{q1}S(O)_2(OH)$, $NHP(O)(OH)(NH)(CH_2)_{q1}C(O)OH$, $CONH(CH_2)_{q1}S(O)(OH)$, $OP(O)(OH)_2$, $(CH_2)_{q1}P(O)(NH)_2$, $NHS(O)_2(OH)$, $NHS(O)_2NH_2$, $CH_2S(O)_2NH_2$, $OS(O)_2OH$, $OS(O)_2OR_1$, $CH_2S(O)_2OR_{12}$, Ar, ArR_{12}, ArOH, $ArNH_2$, ArSH, $ArNHR_{12}$ или $(Aa)_{q1}$; $(Aa)_{q1}$ представляет собой пептид, содержащий одинаковую или различную последовательность природных или неприродных аминокислот; X_1 и X_2 независимо представляют собой O, CH_2, S, S(O), NHNH, NH, $N(R_{12})$, $^+NH(R_{12})$, $^+N(R_{12})(R_{12'})$, C(O), OC(O), OC(O)O, OC(O)NH, NHC(O)NH; Y_2 представляет собой O, NH, NR_{12}, CH_2. S, NHNH, Ar; p_1, p_2 и p_3 независимо

равны 0 -100, но не равны одновременно 0; q_1 и q_2 независимо равны 0 -24; R_{12}, $R_{12'}$, R_{13} и $R_{13'}$ независимо представляют собой H, C_1~C_8 алкил; C_2~C_8 гетероалкил или гетероциклил; C_3~C_8 арил, Ar-алкил, циклоалкил, алкилциклоалкил, гетероциклоалкил, гетероалкилциклоалкил, карбоциклил или алкилкарбонил;

Y_2 представляет собой O, NH, NR_1, CH_2, S, NHNH, Ar;

p_1, p_2 и p_3 независимо равны 0 -100, но не равны одновременно 0;

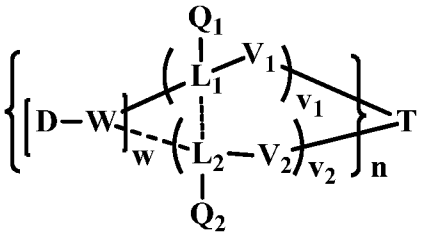
q_1 и q_2 независимо равны 0 -24;

Альтернативно, Q_1 и Q_2 независимо представляют собой линейный или разветвленный C_2-C_{100} поликарбоксилацид, C_2-C_{90} полиалкиламин, C_6-C_{90} олигосахарид или полисахарид, C_6-C_{100} цвиттерионные бетаины или цвиттерионный поли(сульфобетаин)) (PSB), состоящий из катиона четвертичного аммония и сульфонат-аниона, C_6-C_{100} биоразлагаемый полимер, например, состоящий из сополимера (молочной/гликолевой кислоты (PLGA), поли(акрилатов), хитозанов, сополимера N-(2-гидроксипропил)метакриламида, поли[2-(метакрилоилокси)этилфосфорилхолина] (PMPC), поли-L-глутаминовой кислоты, сополимера (лактида и гликолида) (PLG), сополимера (лактида и гликолида), поли(этиленгликоля) (ПЭГ), поли(пропиленгликоля) (PPG), сополимера (лактида и гликолида), модифицированных поли(этиленгликолем) пептидов, содержащих поли(этиленгликоль) аминокислот или пептидов, модифицированных поли(этиленгликолем) липидов, полиглицина, поли-N-метилглицина, модифицированной поли(этиленгликолем) алкилкарбоновой кислоты, модифицированного поли(этиленгликолем) алкиламина, сополимера (лактида и гликолида), гиалуроновой кислоты (ГК) (гликозаминогликана), гепарина/гепарансульфата (HSGAG), хондроитинсульфата/дерматансульфата (CSGAG), модифицированного поли(этиленгликолем) алкилсульфата, модифицированного поли(этиленгликолем) алкилфосфата или модифицированного поли(этиленгликолем) четвертичного алкиламмония;

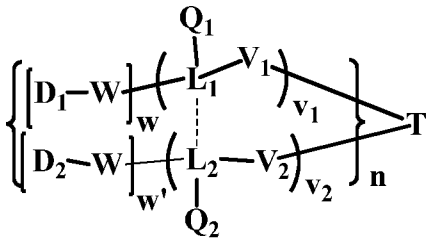
Альтернативно, любой один или более из W, Q_1, Q_2, L_1, L_2, V_1 или V_2 могут независимо отсутствовать, но Q_1 и Q_2 не могут отсутствовать одновременно;

D представляет собой цитотоксический агент, который независимо выбран из калихеамицинов, майтансиноидов, камфотецинов, таксанов, антрациклинов (даунорубицина/доксорубицина), алкалоидов барвинка, ауристатинов, эрубулинов, (пирроло)бензодиазепинов (ПБД), CC-106/дуокармицинов, тубулизинов, аматоксинов (таких как аманитины), ингибиторов протеинкиназы, ингибиторов MEK, ингибиторов KSP, ингибиторов никотинамидфосфорибозилтрансферазы (NAMPT), иммунотоксинов, аналогов или пролекарств указанных выше соединений;

2. Соединение конъюгата, связанного посредством линкера на боковой цепи Формулы (II) и (III):



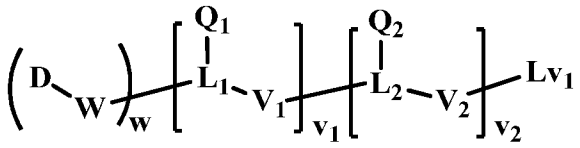
(II),



(III),

где D, W, L_1, L_2, Q_1, Q_2, V_1, V_2, v_1, v_2, n, T имеют такие же определения, как в п. 1; w и w' независимо равны 1, 2 или 3; и ------ представляет собой одинарную связь, двойную связь или отсутствует, D_1 и D_2 являются одинаковыми или разными, и имеют такие же определения, как D.

3. Соединение со связью на боковой цепи Формулы (IV), которое может легко вступать в реакцию с клеточно-связывающей молекулой T, с образованием конъюгата Формулы (I), как определено в п. 1:

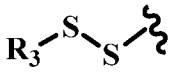
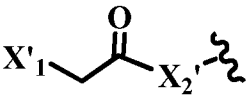
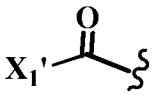
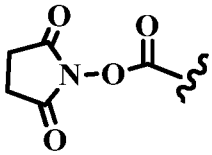
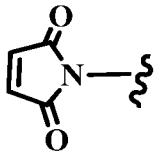
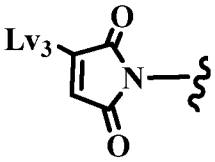
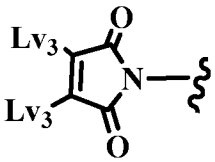
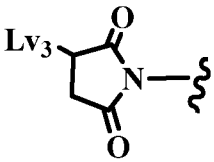
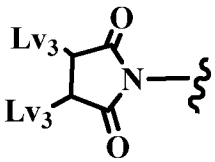
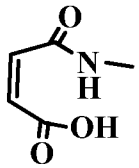
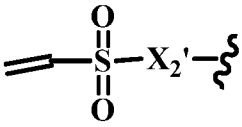
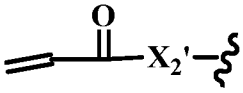
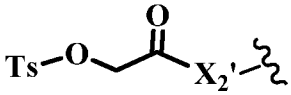
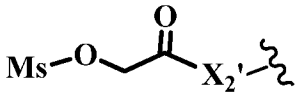
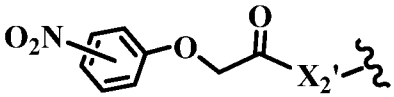
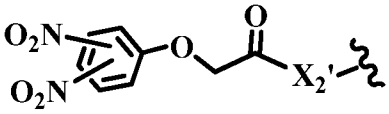
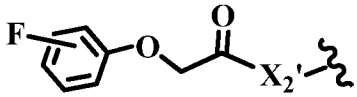
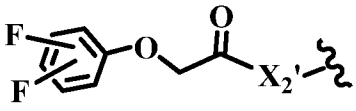
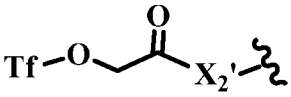


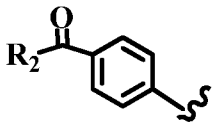
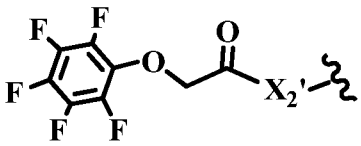
(IV)

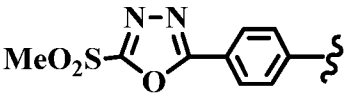
где D, W, w, L_1, L_2, Q_1, Q_2, V_1, V_2, v_1, v_2 и n имеют такие же определения, как в п. 1;

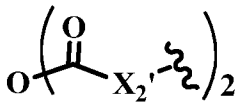
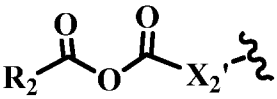
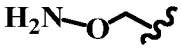
Lv_1 представляет собой реакционноспособную группу, которая может вступать в реакцию с тиолом, амином, карбоновой кислотой, селенолом, фенолом или гидроксильной группой на клеточно-связывающей молекуле. Lv_1 выбран из OH; F; Cl; Br; I; нитрофенола; N-гидроксисукцинимида (NHS); фенола; динитрофенола; 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, формилангидрида; или молекулы промежуточного соединения, полученного с помощью конденсирующего реагента для образования пептидной связи или для реакций Мицунобу. Конденсирующие реагенты выбраны из: EDC (N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимид), DCC (дициклогексилкарбодиимид), N, N'-диизопропилкарбодиимида (DIC), N-циклогексил-N'-(2-морфолино-этил)карбодиимида мето-п-толуолсульфоната (CMC или CME-CDI), 1,1'-карбонилдиимидазола (CDI), TBTU (O-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония тетрафторборат), N,N,N',N'-тетраметил-O-(1H-бензотриазол-1-ил)урония гексафторфосфата (HBTU), (бензотриазол-1-илокси)трис(диметиламино)фосфонийгексафторфосфата (BOP), (бензотриазол-1-илокси)трипирролидинофосфонийгексафторфосфата (PyBOP), диэтилцианофосфоната (DEPC), хлор-N,N,N',N'-тетраметилформамидинийгексафторфосфата, 1-[бис(диметиламино)метилен]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридиния-3-ок-

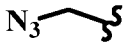
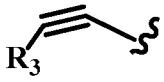
сида гексафторфосфата (HATU), 1-[(диметиламино)(морфолино)метилен]-1H-[1,2,3]триазоло[4,5-b]пиридин-1-ия 3-оксида гексафторфосфата (HDMA), 2-хлор-1,3-диметилимидазолидиния гексафторфосфата (CIP), хлортрипирролидинофосфония гексафторфосфата (PyCloP), фтор-N,N,N',N'-бис(тетраметилен)формамидиния гексафторфосфата (BTFFH), N,N,N',N'-тетраметил-S-(1-оксидо-2-пиридил)тиурония гексафторфосфата, O-(2-оксо-1(2H)пиридил)-N,N,N',N'-тетраметилурония тетрафторбората (TPTU), S-(1-оксидо-2-пиридил)-N,N,N',N'-тетраметилтиурония тетрафторбората, O-[(этоксикарбонил)-цианометиленамино]-N,N,N',N'-тетраметилурония гексафторфосфата (HOTU), (1-циано-2-этокси-2-оксоэтилиденаминокси)диметиламиноморфолинокарбения гексафторфосфата (COMU), O-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-бис(тетраметилен)урония гексафторфосфата (HBPyU), N-бензил-N'-циклогексилкарбодиимида (связанный или не связанный с полимерома), дипирролидино (N-сукцинимидилокси)карбения гексафторфосфата (HSPyU), хлордипирролидинокарбения гексафторфосфата (PyClU), 2-хлор-1,3-диметилимидазолидина тетрафторбирата (CIB), (бензотриазол-1-илокси)дипиперидинокарбения гексафторфосфата (HBPipU), O-(6-хлорбензотриазол-1-ил)-N,N,N′,N′-тетраметилурония тетрафторбората (TCTU), бромтрис(диметиламино)фосфония гексафторфосфата (BroP) пропилфосфонового ангидрида (PPACA, T3P®), 2-морфолиноэтилизоцианида (MEI), N,N,N′,N′-тетраметил-O-(N-сукцинимидил)урония гексафторфосфата (HSTU), 2-бром-1-этилпиридиния тетрафторбората (BEP), O-[(этоксикарбонил)цианометиленамино]-N,N,N′,N′-тетраметилурония тетрафторбората (TOTU), 4-(4,6-диметокси-1,3,5-триазин-2-ил)-4-метилморфолинийхлорида (MMTM, DMTMM), N,N,N′,N′-тетраметил-O-(N-сукцинимидил)урония тетрафторбората (TSTU), O-(3,4-дигидро-4-оксо-1,2,3-бензотриазин-3-ил)-N,N,N′,N′-тетраметилурония тетрафторбората (TDBTU), 1,1'-(азодикарбонил)дипиперидина (ADD), ди-(4-хлорбензил)азодикарбоксилата (DCAD), ди-трет-бутилазодикарбоксилата (DBAD), диизопропилазодикарбоксилата (DIAD), диэтилазодикарбоксилата (DEAD); Lv_1 также представляет собой ангидрид, образованный самой кислотой или образованный другими ангидридами C_1~C_8 кислот; Lv_1 предпочтительно выбран из:


дисульфида; 
галогенацетила; 
ацилгалогенида (галогенангидрида); 
сложного эфира N-гидроксисукцинимида; 
малеимида; 
монозамещенного малеимида; 
дизамещенного малеимида; 
монозамещенного сукцинимида; 
дизамещенного сукцинимида; 
замещенной малеиновой кислоты; -CHO альдегида; 
этенсульфонила; 
акрила (акрилоила); 
2-(тозилокси)ацетила; 
2-(мезилокси)ацетила; 
2-(нитрофенокси)ацетила; 
2-(динитрофенокси)ацетила; 
2-(фторфенокси)ацетила; 
2-(дифторфенокси)ацетила; 
2-(((трифторметил)-сульфонил)окси)ацетила;

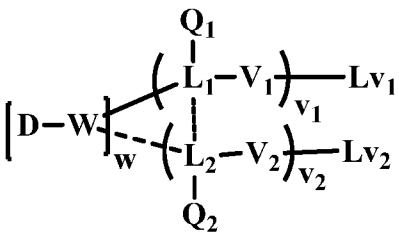
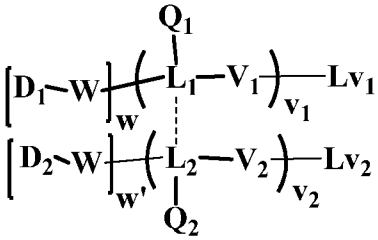

фенилкетона или альдегида, 
2-(пентафторфе-

нокси)ацетила; 
, метилсульфонфенилоксадиазола (ODA);


, 
ангидрида кислоты, 
алкилоксиамино;

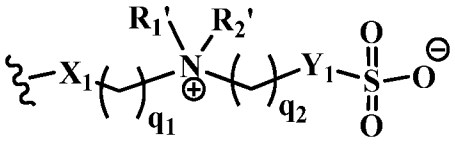

азидо, 
алкинила или 
гидразида; где X_1' представляет собой F, Cl, Br, I или Lv_3; X_2' представляет собой O, NH, $N(R_1)$ или CH_2; R_3 независимо представляют собой H, ароматическую, гетероароматическую или ароматическую группу, где один или более атомов H независимо заменены на $-R_1$, -галоген, $-OR_1$, $-SR_1$, $-NR_1R_2$, $-NO_2$, $-S(O)R_1$,$-S(O)_2R_1$, 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: уксусного ангидрида, формилангидрида; или молекулы промежуточного соединения, полученного с помощьюконденсирующего реагента для образования пептидной связи или для реакций Мицунобу.

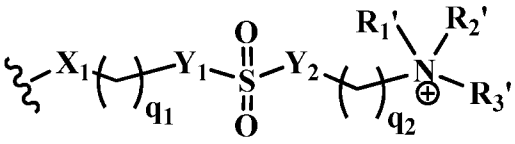
4. Соединение со связью на боковой цепи Формулы (V) и (VI), которое может легко вступать в реакцию с клеточно-связывающей молекулой T, с образованием конъюгата Формулы (II) и (III) соответственно, как определено в п. 2:

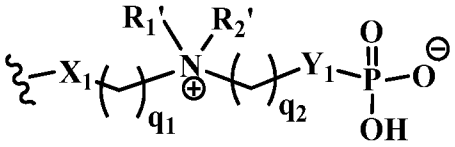

(V), 
(VI),

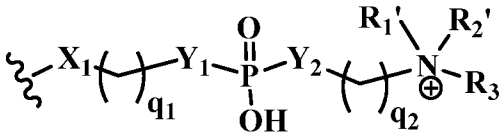
где D, D_1, D_2, W, w, L_1, L_2, Q_1, Q_2, V_1, V_2, v_1, v_2, ------ и n имеют такие же определения, как в пп. 1 и 2; где Lv_1 и Lv_2 имеют независимо такое же определение Lv_1 в п. 3.

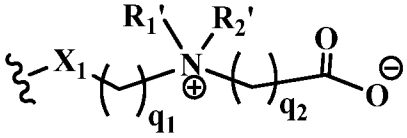
5. Боковая цепь Q_1 и Q_2 по пп. **1, 2, 3** или **4** независимо выбраны из от Iq-01 до Iq-36 ниже:

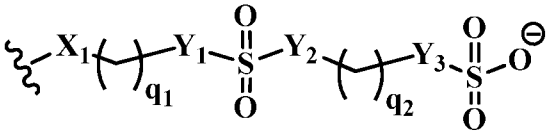

Iq-01,

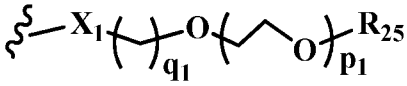

Iq-02,

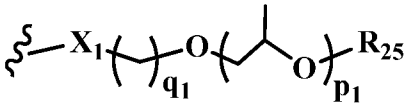

Iq-03,

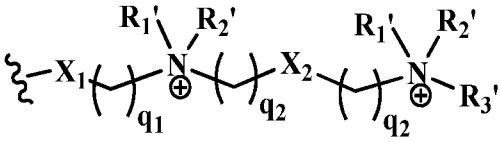

Iq-04,

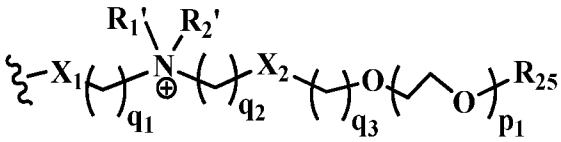

Iq-05,

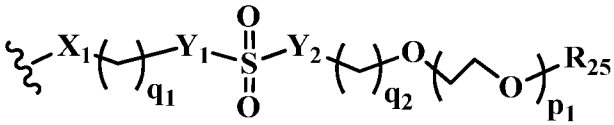

Iq-06,

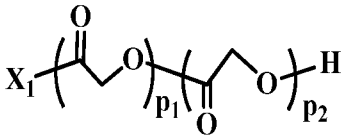

Iq-07,

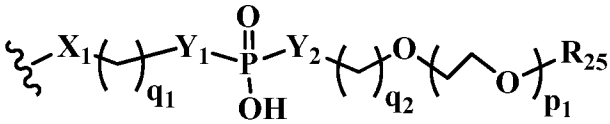

Iq-08,

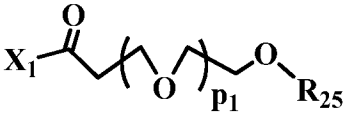

Iq-09,

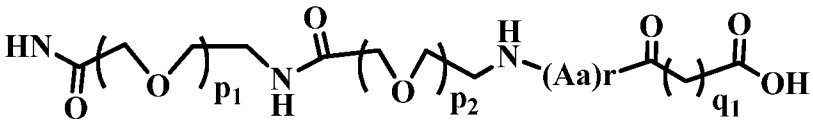

Iq-10,

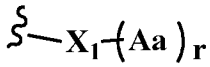

Iq-11,

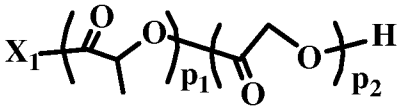

Iq-12,

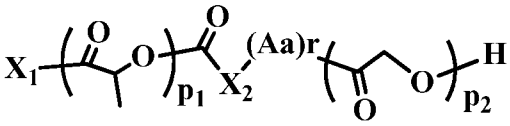

Iq-13,

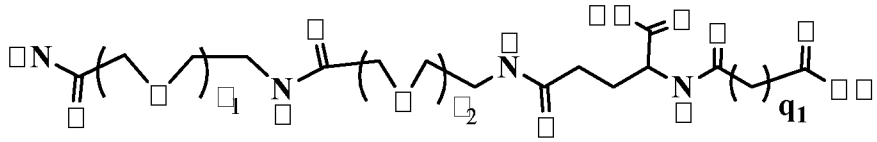

Iq-14,

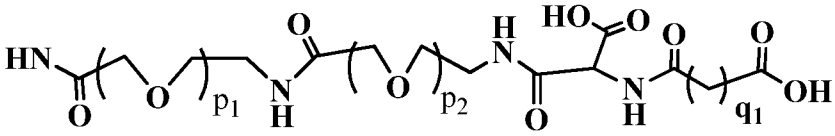

Iq-15,

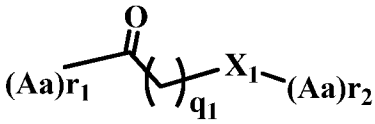

Iq-16,

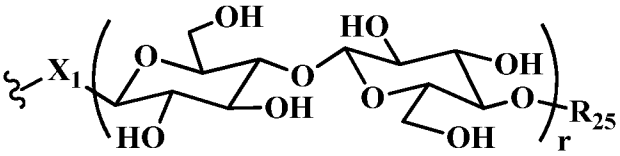

Iq-17,

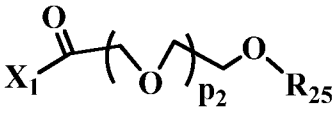

Iq-18,

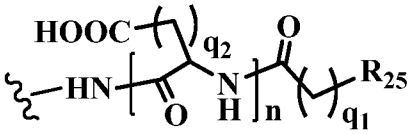

, Iq-19,

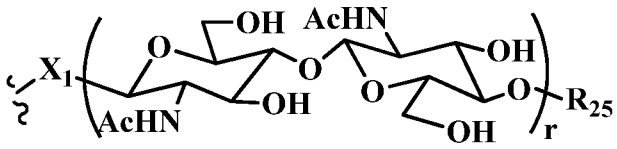

Iq-20,

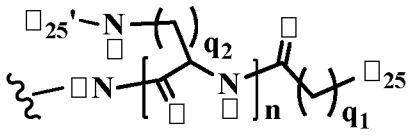

Iq-21,

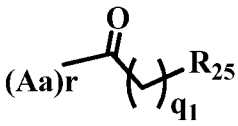

Iq-22,

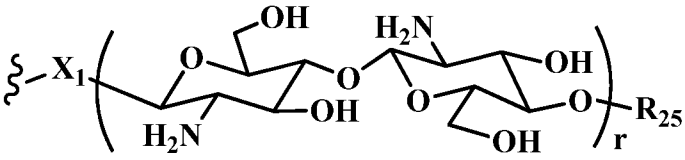

Iq-23,

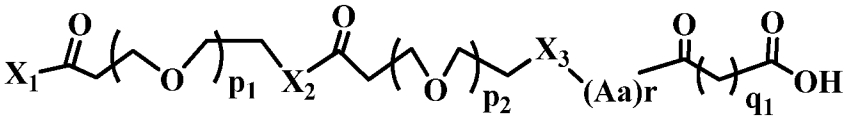

Iq-24,

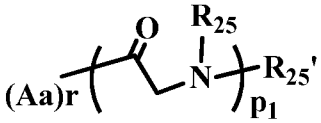

Iq-25,

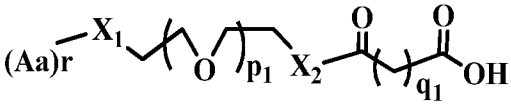

Iq-26,

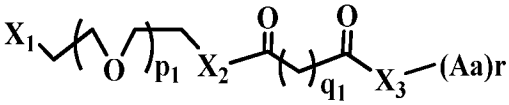

Iq-27,

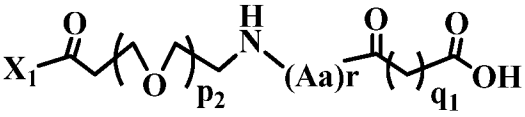

Iq-28,

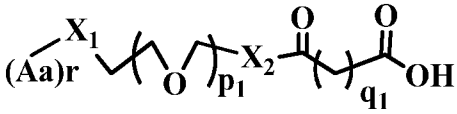

Iq-29,

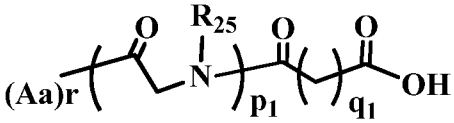

Iq-30,

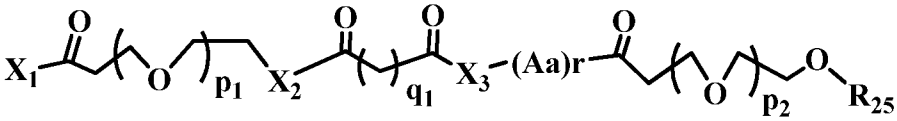

Iq-31,

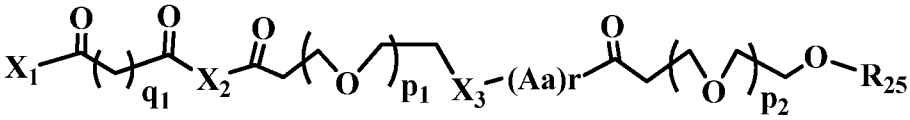

Iq-32,


Iq-33,


Iq-33,


Iq-34,


Iq-35,

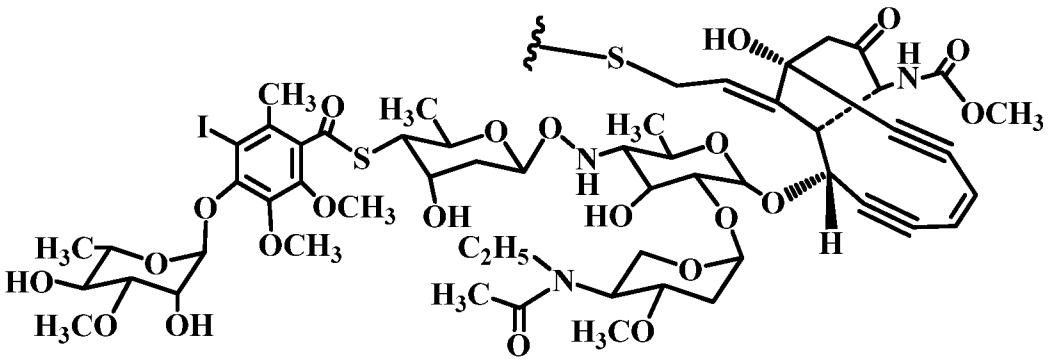

Iq-36,

где R_{25} и $R_{25'}$ независимо выбраны из H; HC(O), $CH_3C(O)$, $CH_3C(NH)$, $NHCH_3$, COOH, $CONH_2$, $CONHCH_3$, C_1-C_{18} алкила, C_1-C_{18} алкила, алкил-Y_1-SO_3H, C_1-C_{18} алкил-Y_1-PO_3H_2, C_1-C_{18} алкил-Y_1-CO_2H, C_1-C_{18} алкил-Y_1-$N^+R_{12}R_{13}R_{13}'R_{14}$, C_1-C_{18} алкил-Y_1-$CONH_2$, C_2-C_{18} алкилена, C_2-C_{18} сложного эфира, C_2-C_{18} простого эфира, C_2-C_{18} амина, C_2-C_{18} алкилкарбоксиламида, C_3-C_{18} арила, C_3-C_{18} циклического алкила, C_3-C_{18}гетероциклила, 1~24 аминокислот;

C_2-C_{18} липида, C_2-C_{18} жирной кислоты или C_2-C_{18} жирного аммониевого липида; X_1 и X_2 независимо выбраны из NH, N(R_{12}'), O, CH_2, S, C(O), S(O), S(O_2), P(O)(OH), NHNH, CH=CH, Ar или (Aa)q_1, q_1 = 0 - 24 (0-24 аминокислот, q_1=0 означает отсутствие); X_1, X_2, X_3, X_4, Y_1, Y_2 и Y_3 независимо выбраны из NH, N(R_{12}'), O, C(O), CH_2, S, S(O), NHNH, C(O), OC(O), OC(O)O, OC(O)NH, NHC(O)NH, Ar или (Aa)q_1, X_1, X_2, X_3, X_4, Y_1, Y_2 и Y_3 могут независимо отсутствовать; p_1, p_2 и p_3 независимо равны 0 -100, но не равны одновременно 0; q_1, q_2 и q_3 независимо равны 0 -24; R_{12}, R_{13}, R_{13}' и R_{14}' независимо выбраны из H и C_1-C_6 алкила; Aa представляет собой природную или неприродную аминокислоту; Ar или (Aa)q_1 представляют собой одинаковые или разные последовательности пептидов; q_1=0 означает отсутствие (Aa)q_1.

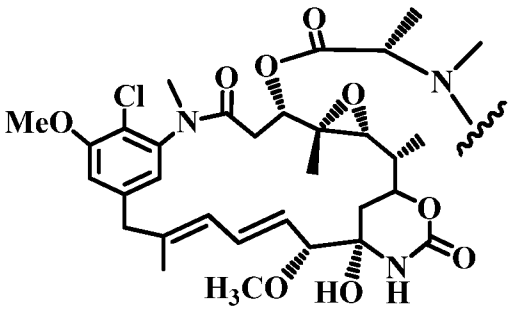
6. Соединение по пп. **1, 2, 3** или **4,** отличающееся тем, что D, D_1 и D_2 независимо выбраны из следующей формулы:

(A) . Аналог калихеамицина:



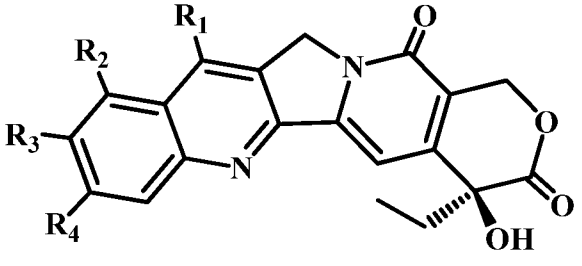
(Ia); где ∿∿ представляет собой участок;

(B). Майтансиноид:

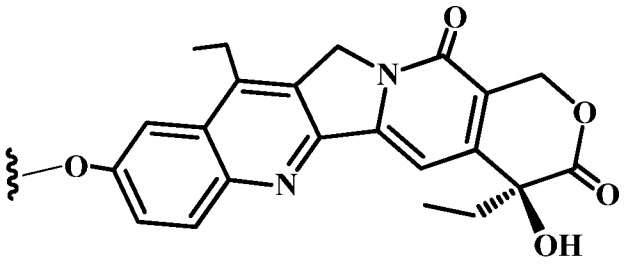


(Ib), где ∿∿ представляет собой участок;

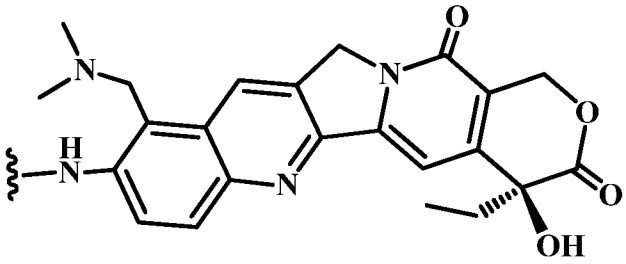
(C). Камптотецин (CPT) и его производные:



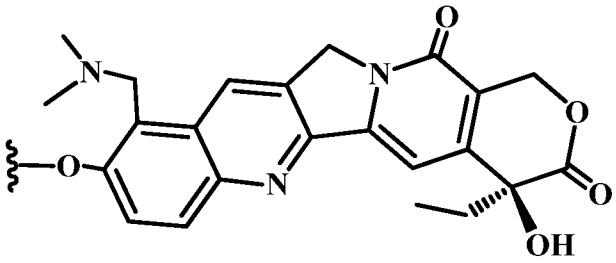
(Ic),



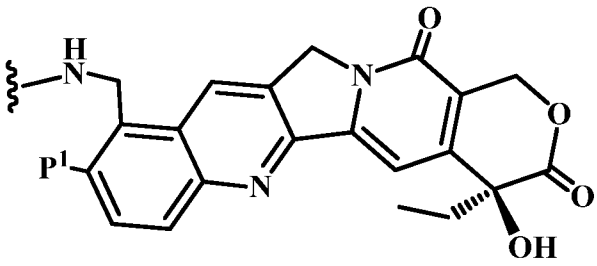
(Ic-01), SN-38,



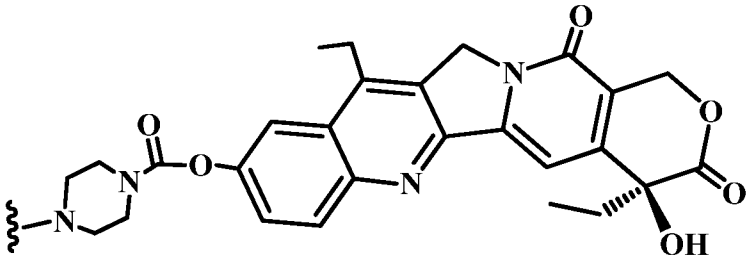
(Ic-02)



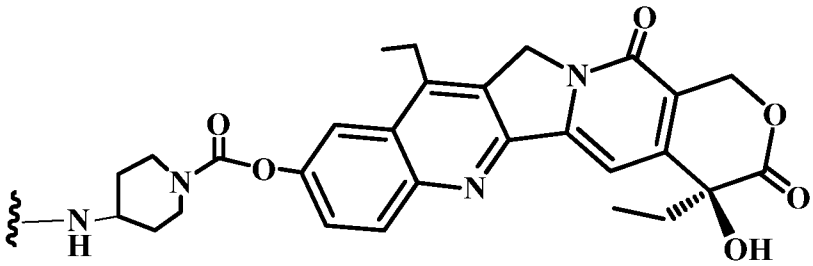
(Ic-03), аналог топотекана,



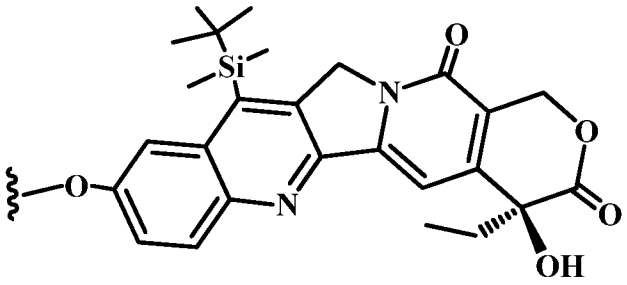
(Ic-04),



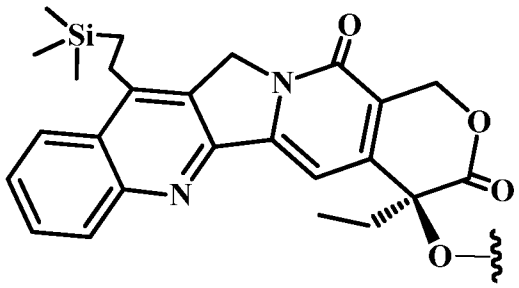
(Ic-05), аналог иринотекана,



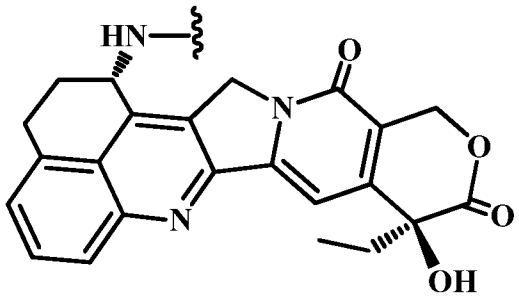
(Ic-06), аналог иринотекана,



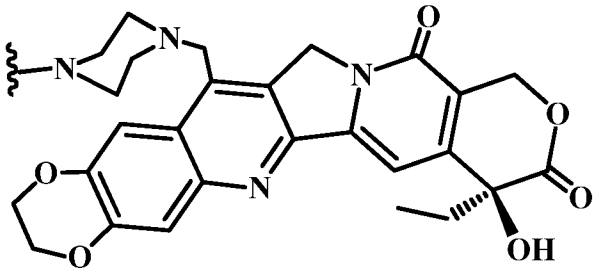
(Ic-07), силатекан,



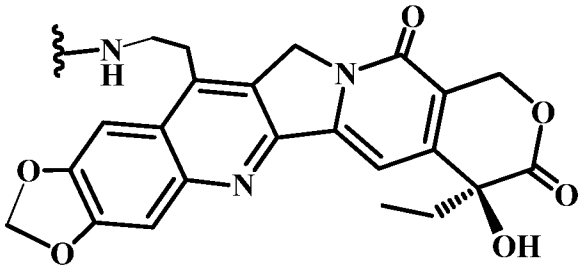
(Ic-08), козитекан,



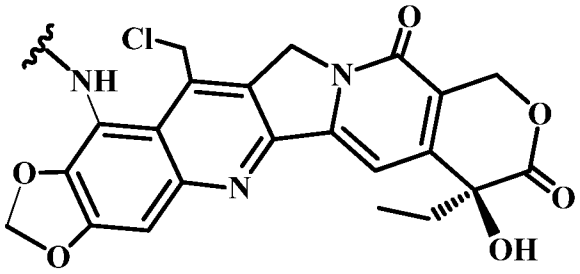
(Ic-09), экзатекан,



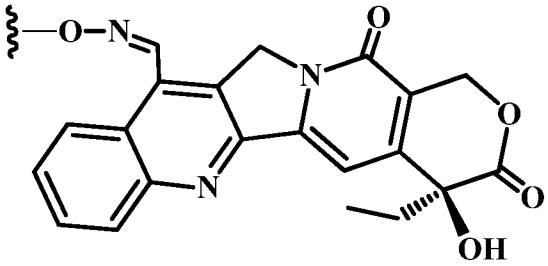
(Ic-10), луртотекан,



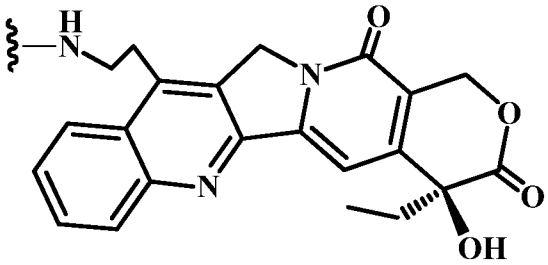
(Ic-11),



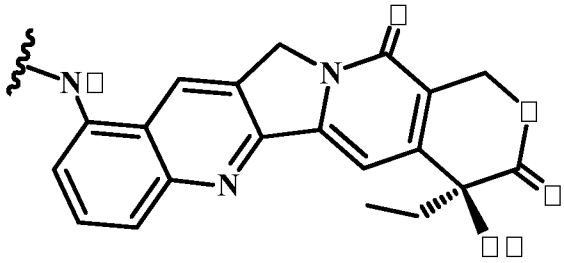
(Ic-12), аналог GI-149893,



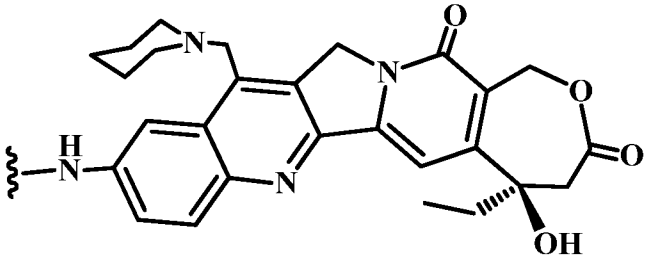
(Ic-13), гиматекан,



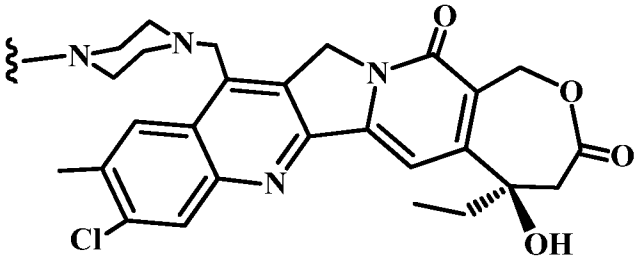
(Ic-14), белотекан,



(Ic-15), рубитекан или аналог IDEC-132,



(Ic-16), аналог BN-80927,

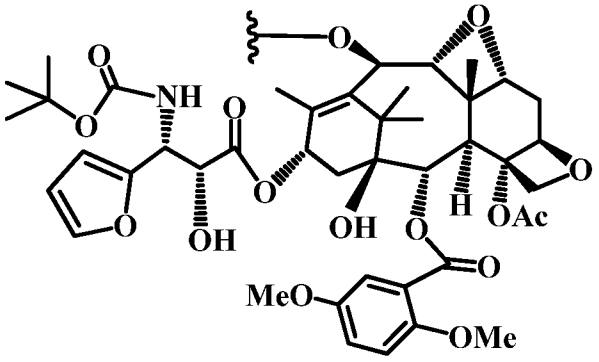


(Ic-17), аналог BN-80927,

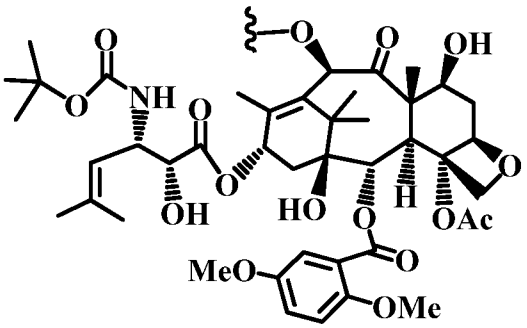
или изотоп одного или более химических элементов, или фармацевтически приемлемые соли, гидраты или гидратированные соли; или полиморфные кристаллические структуры этих соединений; или оптические изомеры, рацематы, диастереомеры или энантиомеры; где ∿∿ представляет собой участок; где R_1, R_2 и R_4 независимо выбраны из H, F, Cl, Br, CN, NO_2, C_1~C_8 алкила; O-C_1~C_8 алкила; NH-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; или сложных эфиров, простого эфира, амида, карбоната, мочевины или карбамата с 2-8 атомами углерода; R_3 пред-

ставляет собой H, OH, NH_2, C_1~C_8 алкил; O-C_1~C_8 алкил; NH-C_1~C_8 алкил; C_2-C_8 гетероалкил, алкилциклоалкил, гетероциклоалкил; или сложных эфиров, простого эфира, амида, карбоната, мочевины или карбамата с 2-8 атомами углерода; или R_1R_2, R_2R_3 и R_3R_4 независимо формируют 5~7-членный карбоциклил, гетероциклил, гетероциклоалкил, ароматическую или гетероароматическую кольцевую систему; P^1 представляет собой H, OH, NH_2, COOH, $C(O)NH_2$, $OCH_2OP(O)(OR^{18})_2$, $OC(O)OP(O)(OR^{18})_2$, $OPO(OR^{18})_2$, $NHPO(OR^{18})_2$, $OC(O)R^{18}$, $OP(O)(OR^{18})OP(O)(OR^{18})_2$, $OC(O)NHR^{18}$, $OC(O)N(C_2H_4)_2NCH_3$, $OSO_2(OR^{18})$, O-(C_4-C_{12}-гликозид), $OC(O)N(C_2H_4)_2CH_2N(C_2H_4)_2CH_3$, C_1-C_8 линейный или разветвленный алкил или гетероалкил; C_2-C_8 линейный или разветвленный алкенил, алкинил, алкилциклоалкил, гетероциклоалкил; C_3-C_8 линейный или разветвленный арил, Ar-алкил, гетероциклил, карбоциклил, циклоалкил, гетероалкилциклоалкил, алкилкарбонил, гетероарил; карбонат (-$C(O)OR^{17}$), карбамат (-$C(O)NR^{17}R^{18}$); R^{17}и R^{18} независимо представляют собой H, линейный или разветвленный алкил или гетероалкил; C_2-C_8 линейный или разветвленный алкенил, алкинил, алкилциклоалкил, гетероциклоалкил; C_3-C_8 линейный или разветвленный арил, Ar-алкил, гетероциклил, карбоциклил, циклоалкил, гетероалкилциклоалкил, алкилкарбонил, гетероарил; карбонат (-$C(O)OR^{17}$), карбамат (-$C(O)NR^{17}R^{18}$).

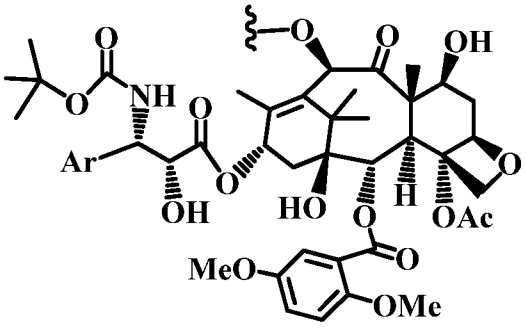
(D). Таксан и его аналоги:



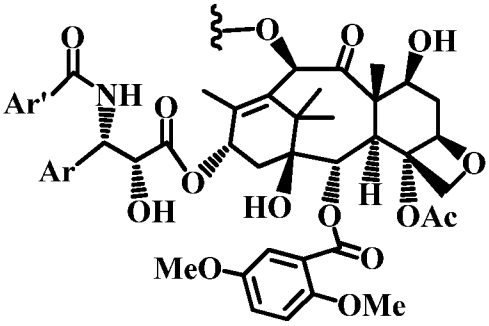
(Id-01),



(Id-02),



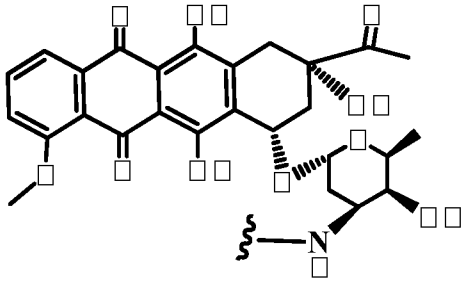
(Id-03),



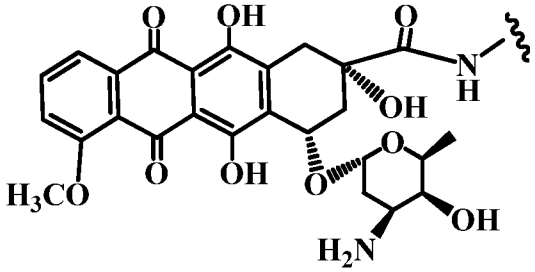
(Id-04),

где ∿∿ представляет собой участок; Ar и Ar' независимо представляют собой арил или гетероарил;

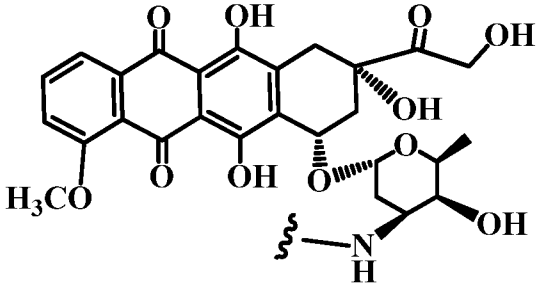
(E). Антрациклин и его аналог:



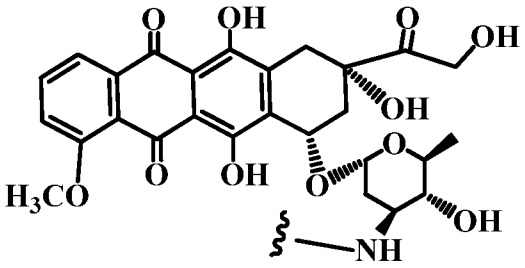
(Ie-01), аналог даунорубицина,



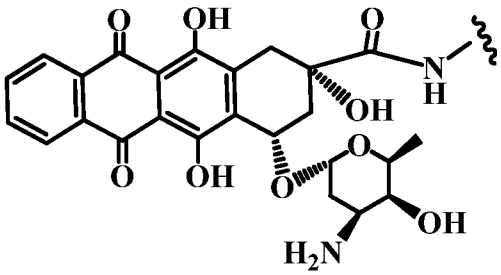
(Ie-02), аналог даунорубицина,



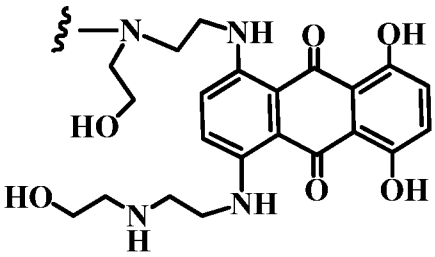
(Ie-03), аналог доксорубицина,



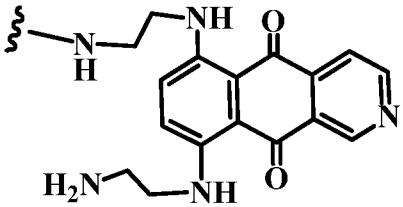
(Ie-04), аналог эпирубицина,



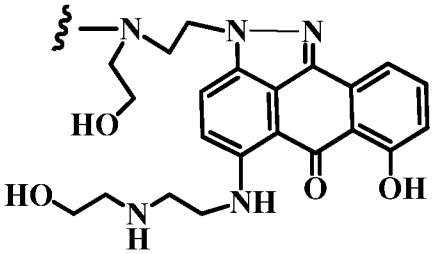
(Ie-05), аналог идарубицина,



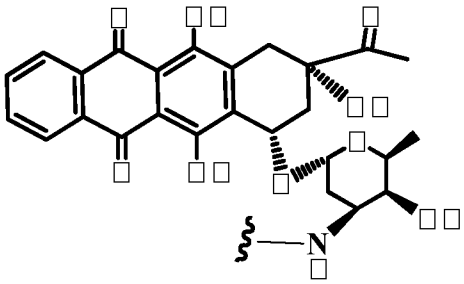
(Ie-06), аналог митоксантрона,



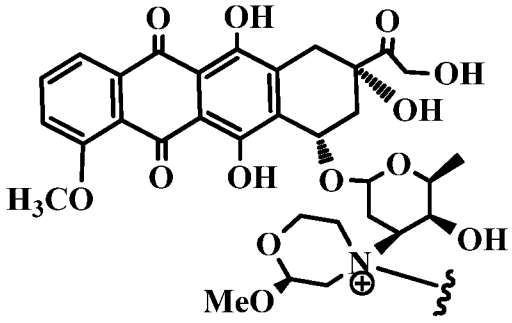
(Ie-07), аналог пиксантрона,



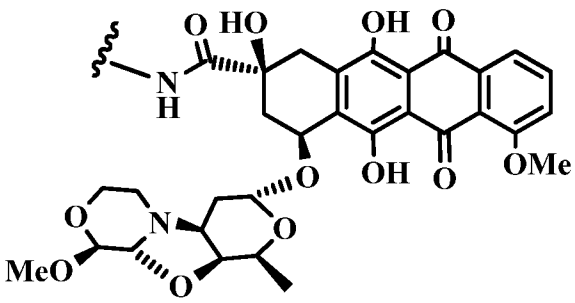
(Ie-08), аналог лозоксантрона, аналог

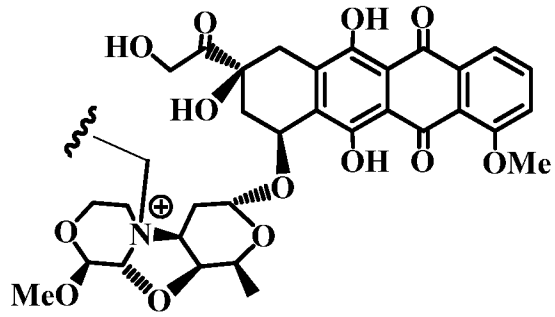


(Ie-09) ,

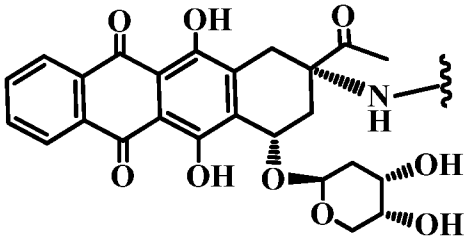


(Ie-10),



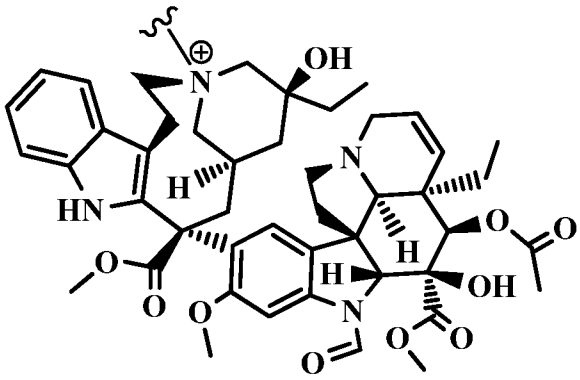


(Ie-11),

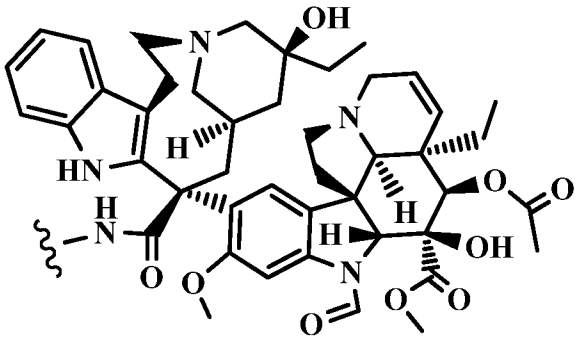


(Ie-12), (Ie-13), аналог амрубицина, причем ∿∿ представляет собой участок;

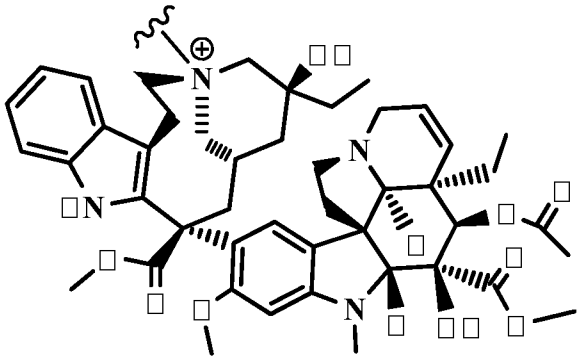
(F). Алкалоид барвинка:



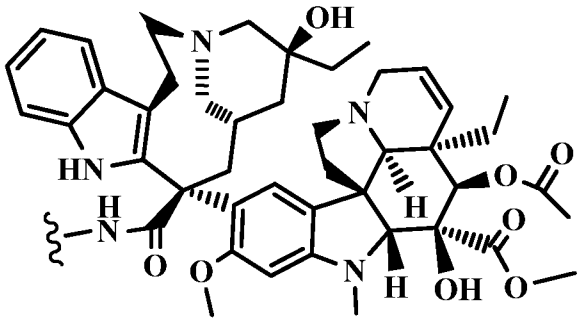
(If-01), винкристин (лейрокристин),



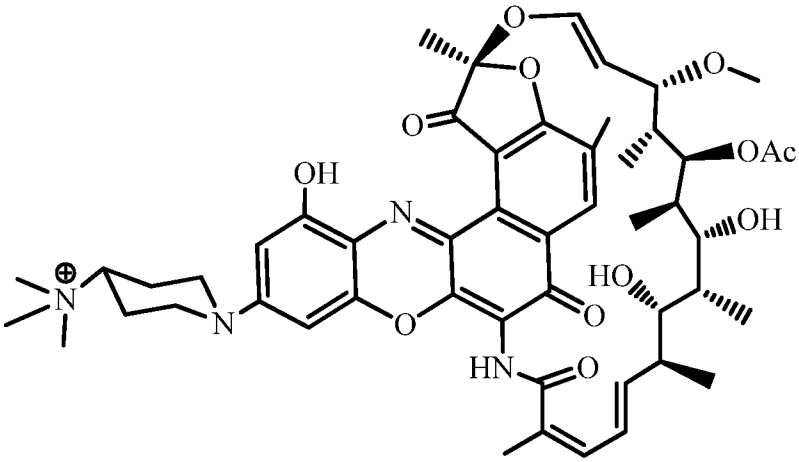
(If-02), винкристин (лейрокристин),



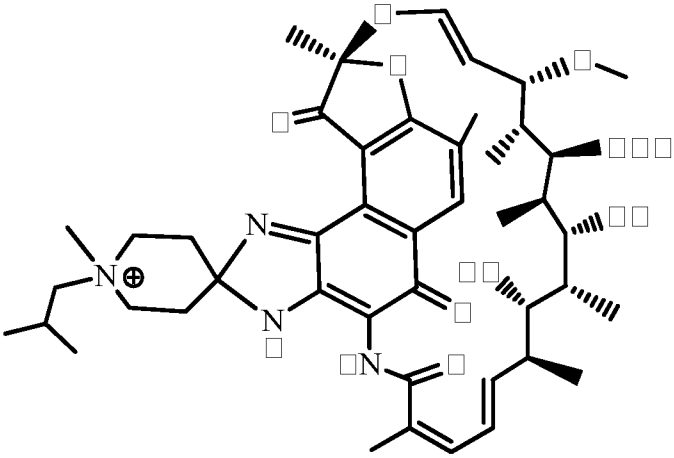
(If-03), винбластин,



(If-04), винбластин;

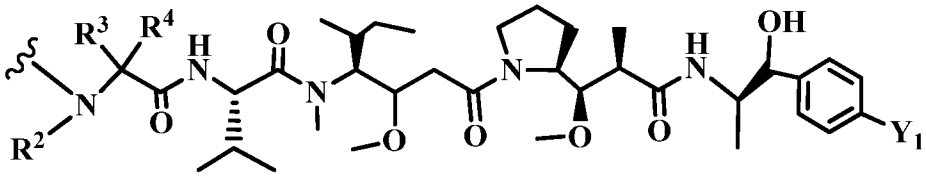


(If-05), аналог рифабутина,

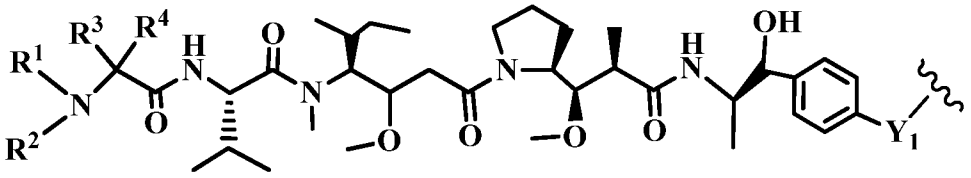


(If-06), аналог рифабутина,

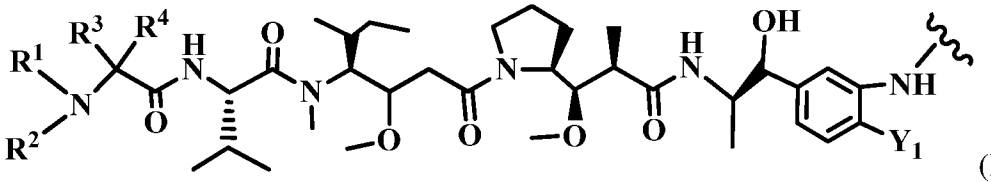
(G). Аналог ауристатина или доластатина:



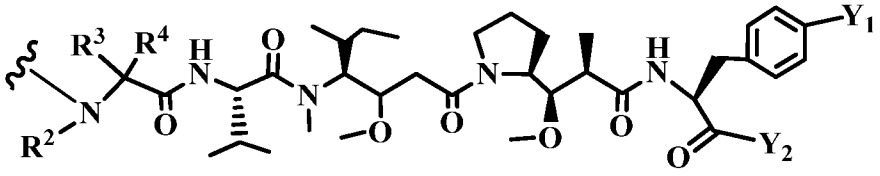
(Ih-01),



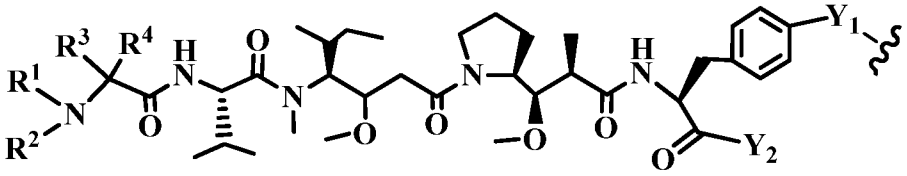
(Ih-02),



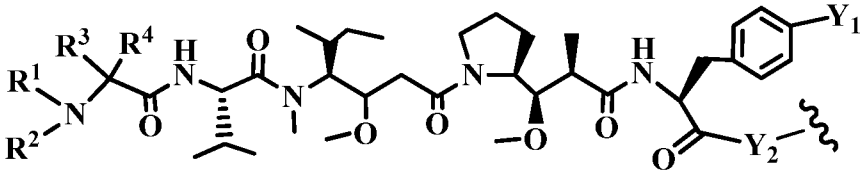
(Ih-03),



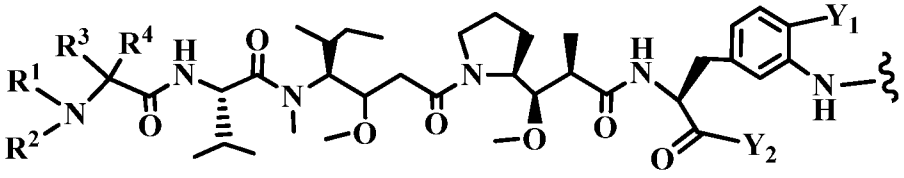
(Ih-04),



(Ih-05),



(Ih-06),

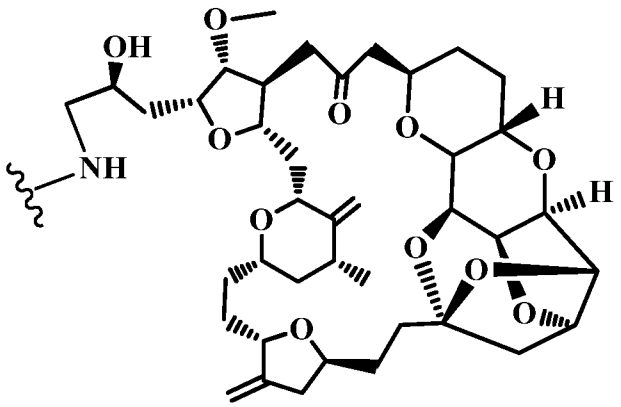


(Ih-07),

или изотоп одного или более химических элементов, или фармацевтически приемлемые соли, гидраты или гидратированные соли; или полиморфные кристаллические структуры этих соединений; или оптические изомеры, рацематы, диастереомеры или энантиомеры; где 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 группу, имеющую 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 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

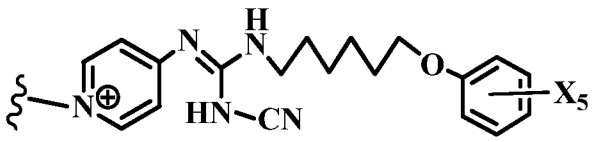
линейный или разветвленный алкил; Z_3' представляет собой H, $COOR_1$, NH_2, NHR_1, OR_1, $CONHR_1$,$NHCOR_1$, $OCOR_1$, $OP(O)(OM_1)(OM_2)$, $OCH_2OP(O)(OM_1)(OM_2)$, OSO_3M_1, R_1 или O-гликозид (глюкозид, галактозид, маннозид, глюкуронозид/глюкуронид, аллозид, фруктозид и др.), NH-гликозид, S-гликозид или CH_2-гликозид; M_1 и M_2 независимо представляют собой H, Na, K, Ca, Mg, NH_4, $NR_1R_2R_3$; 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, $OC(O)N(R_1)$, $N(R_1)C(O)N(R_2)$, C(O)NHNHC(O) и $C(O)NR_1$, когда не связаны с участком связывания « ∿∿ »; или OH, NH_2, $NHNH_2$, NHR_5, SH, C(O)OH, $C(O)NH_2$, $OC(O)NH_2$, OC(O)OH, $NHC(O)NH_2$, NHC(O)SH, $OC(O)NH(R_1)$, $N(R_1)C(O)NH(R_2)$, C(O)NHNHC(O)OH и $C(O)NHR_1$, когда не связаны с участком связывания « ∿∿ »; 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 одинаковых или разных аминокислот; p равно 1 -5000; R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_5', Z_1, Z_2 и n являются такими, как описано выше.

(H). Эрибулин:



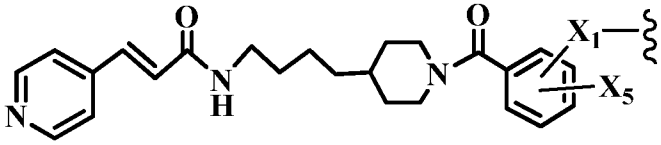
Eb01, Эрибулин;

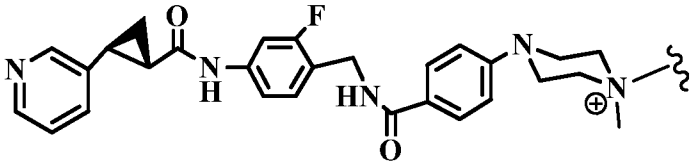
(I). Ингибитор никотинамидфосфорибозилтрансфераз (NAMPT):

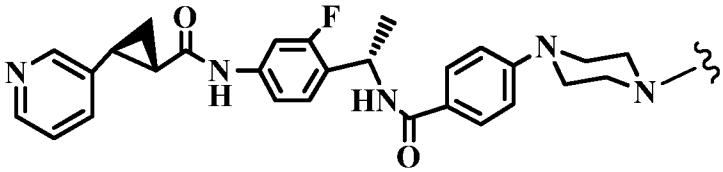


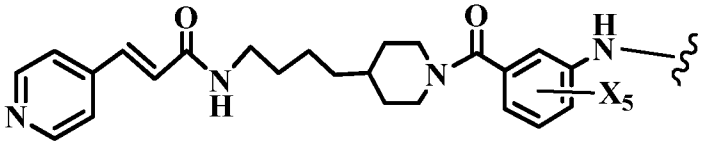
NP01,


NP02,


NP03,

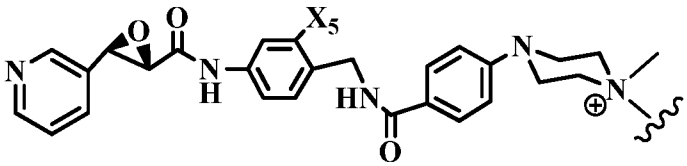

NP04,


NP05,


NP06,

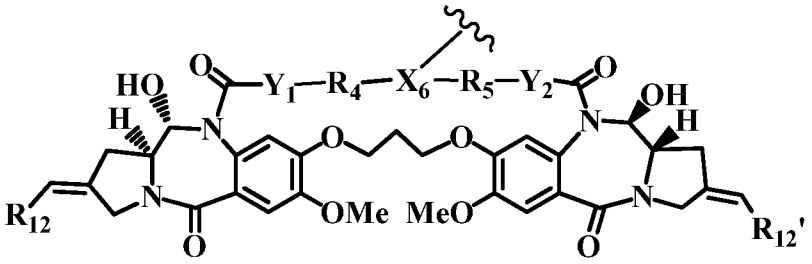

NP07,


NP08,

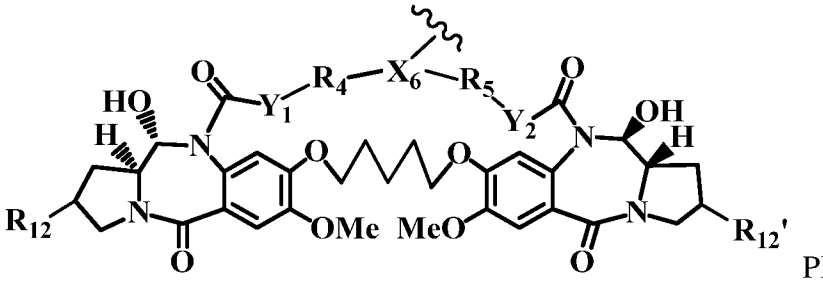

NP09,

или изотоп одного или более химических элементов, или фармацевтически приемлемые соли, гидраты или гидратированные соли; или полиморфные кристаллические структуры этих соединений; или оптические изомеры, рацематы, диастереомеры или энантиомеры; где «∿∿» и X_1 являются такими, так определено в п. 5; X_5 представляет собой F, Cl, Br, I, OH, OR_1, R_1, OPO_3H_2, OSO_3H, NHR_1, $OCOR_1$, $NHCOR_1$;

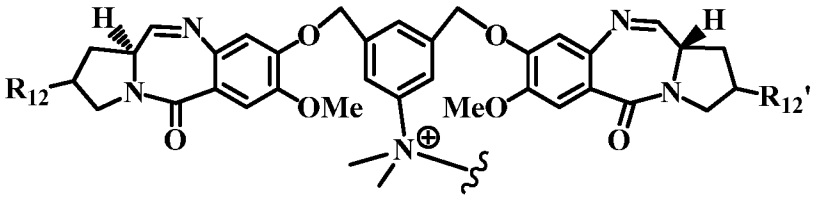
(J). Димер бензодиазепина и его аналог:



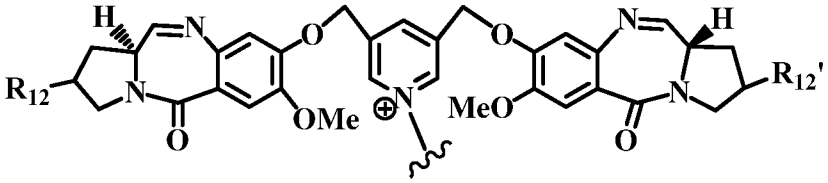
PB01,



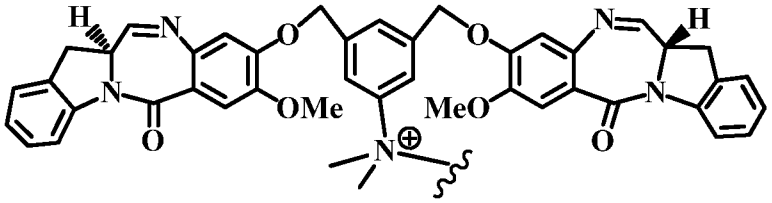
PB02,



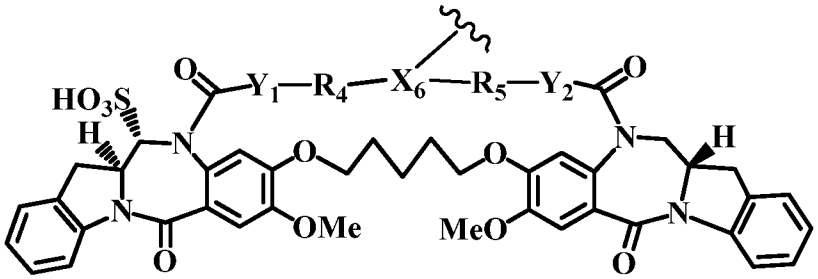
PB03,



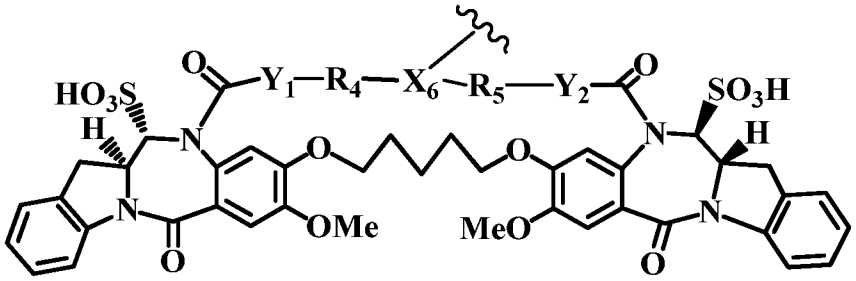
PB04,



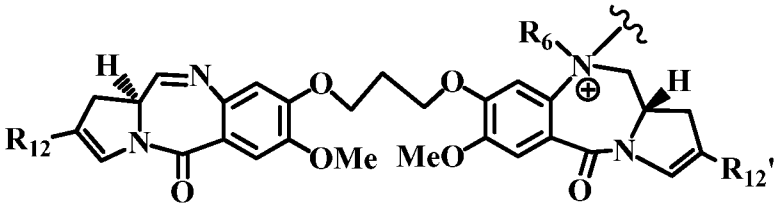
PB05,

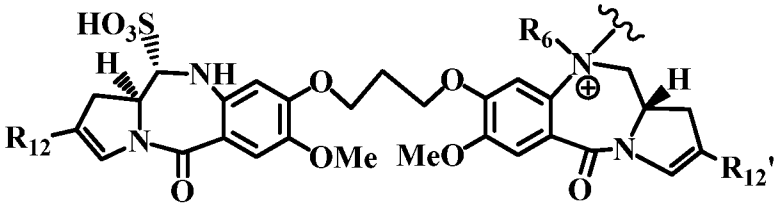


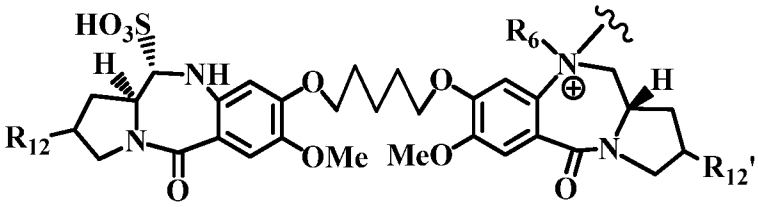
PB06,

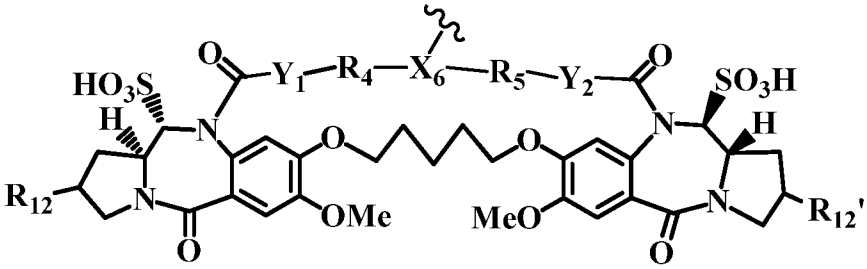


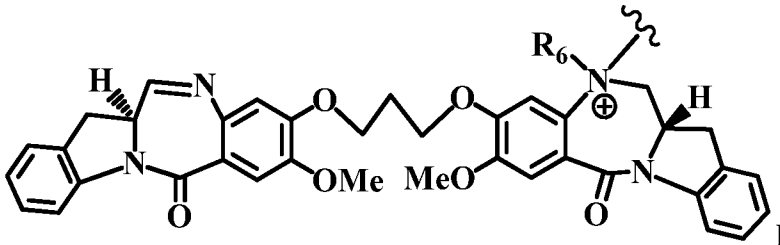
PB07,

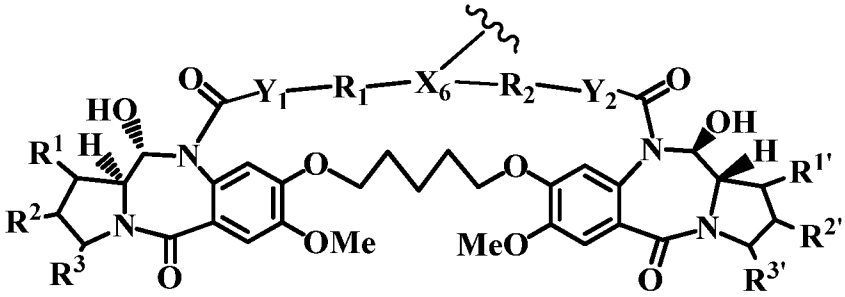

PB08,

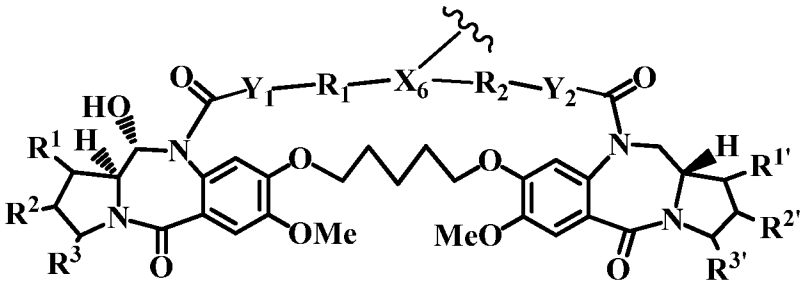

PB09,

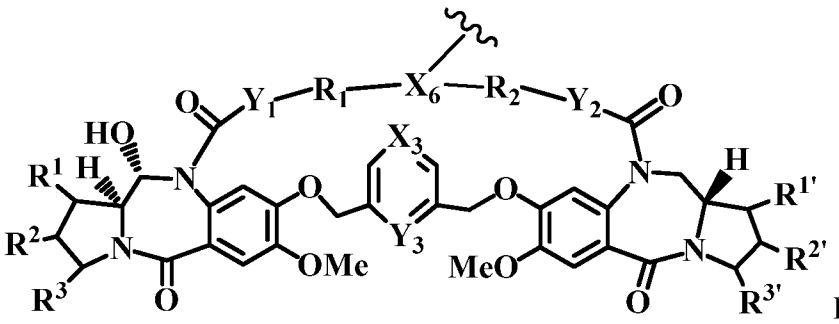

PB10,


PB11,

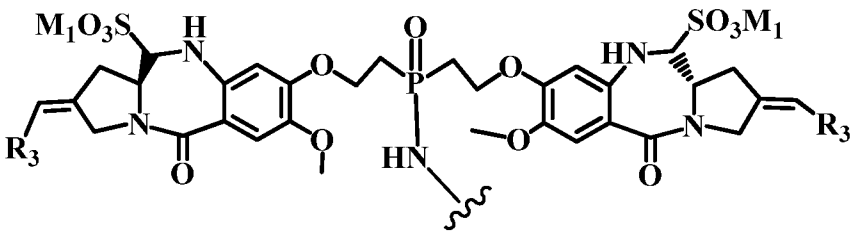

PB12,


PB13,


PB14,



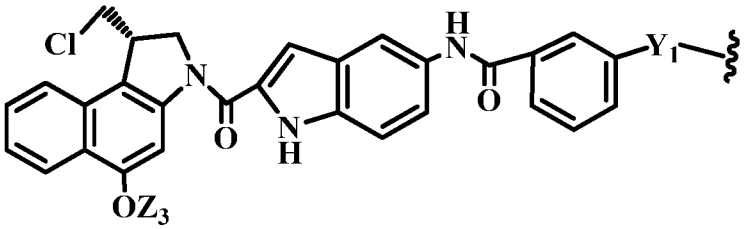
PB15,



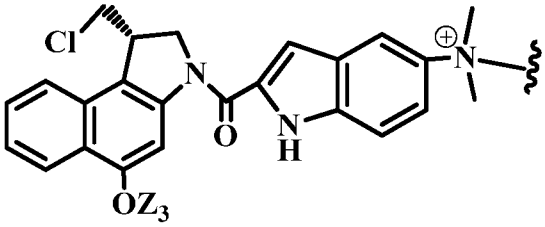
PB16,

или изотоп одного или более химических элементов, или фармацевтически приемлемые соли, гидраты или гидратированные соли; или полиморфные кристаллические структуры этих соединений; или оптические изомеры, рацематы, диастереомеры или энантиомеры; где 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 группу формулы $(OCH_2CH_2)_p$ или $(OCH_2CH(CH_3))_p$, где p является целым числом 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_4, 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, $NR_1R_2R_3$.

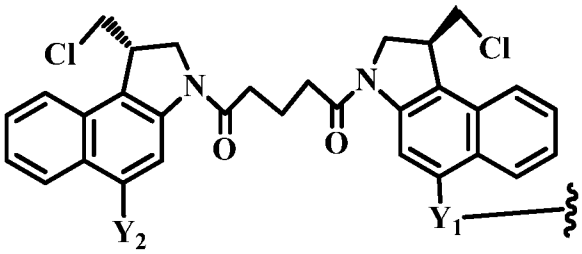
(K). CC-1065 аналог и аналоги дуокармицина:



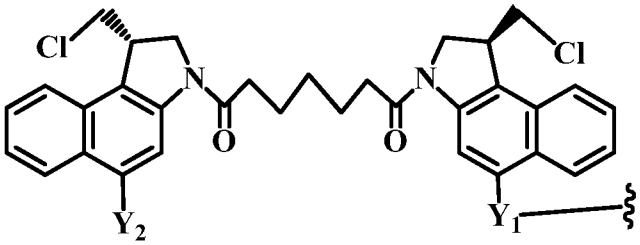
CC01,



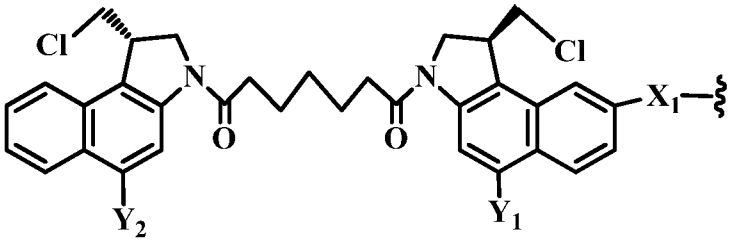
CC02,



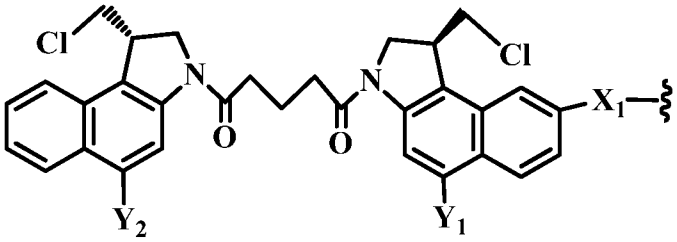
CC03,



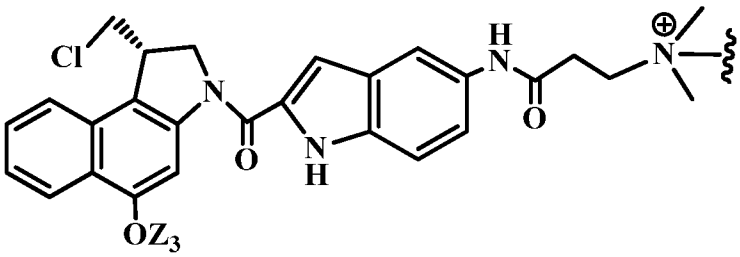
CC04,



CC05,



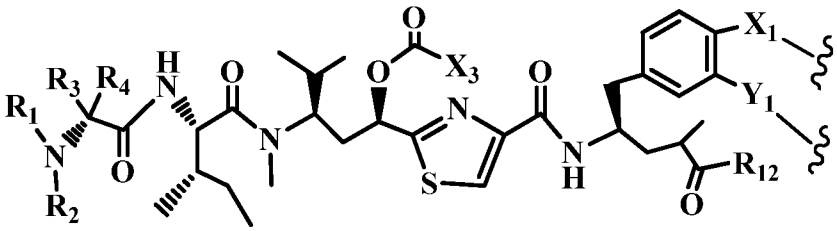
CC06,



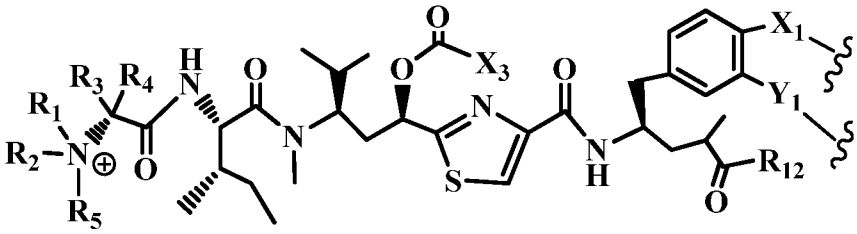
CC07,

где 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_2), C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1, когда связаны с участком связывания « ∿∿ »; или OH, NH_2, $NHNH_2$, NHR_1, SH, C(O)OH, C(O)NH_2, OC(O)NH_2, OC(O)OH, NHC(O)NH_2, NHC(O)SH, OC(O)NH(R_1), N(R_1)C(O)NH(R_2), C(O)NHNHC(O)OH и C(O)NHR_1, когда не связаны с участком связывания « ∿∿ »; 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_1 или гликозид; где R_1, R_2, R_3, M_1, M_2 и n такие как, определено выше;

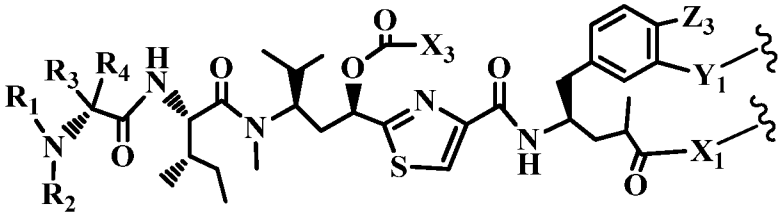
(L). Тубулизин и его аналоги:



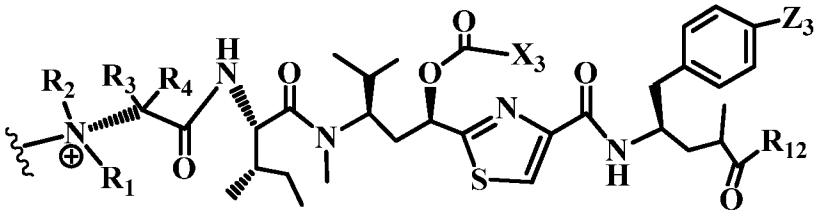
Tb01,



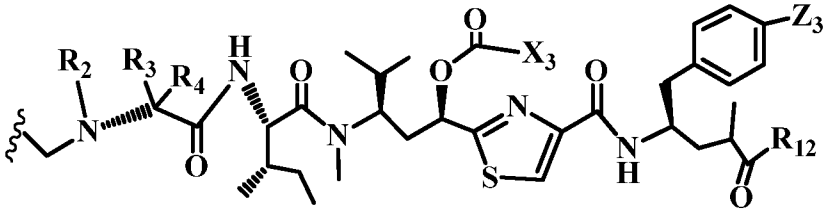
Tb02,



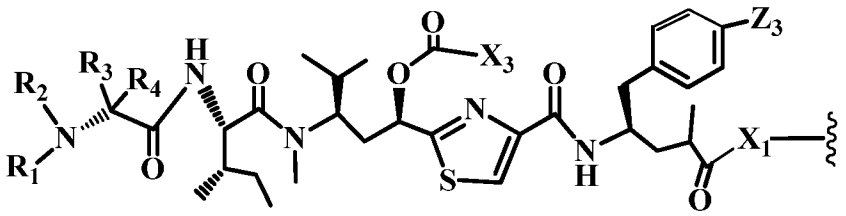
Tb03,



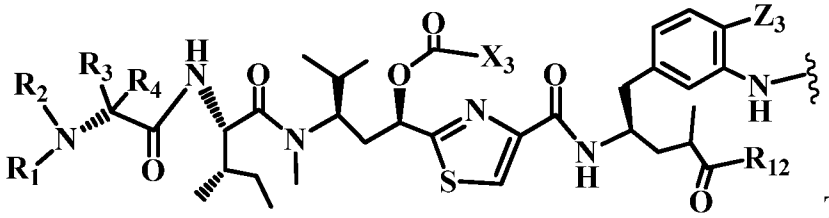
Tb04,



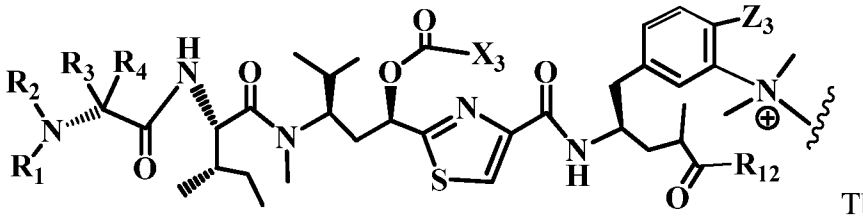
Tb05,



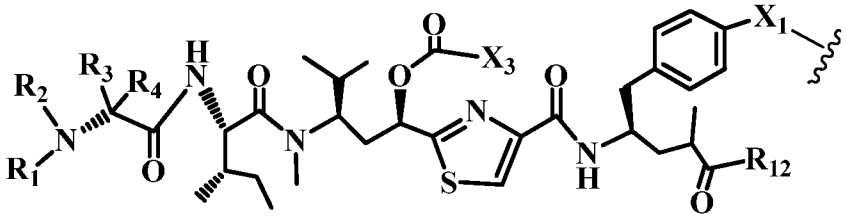
Tb06,



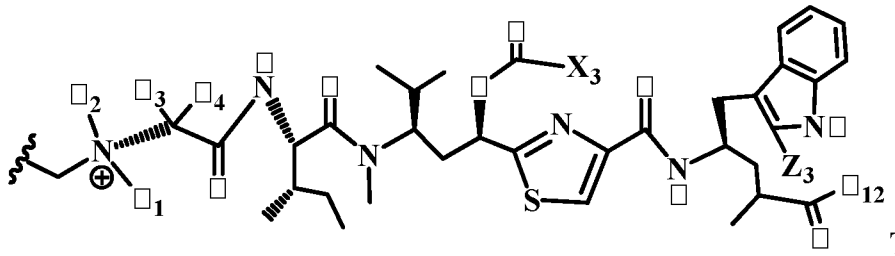
Tb07,



Tb08,



Tb09,

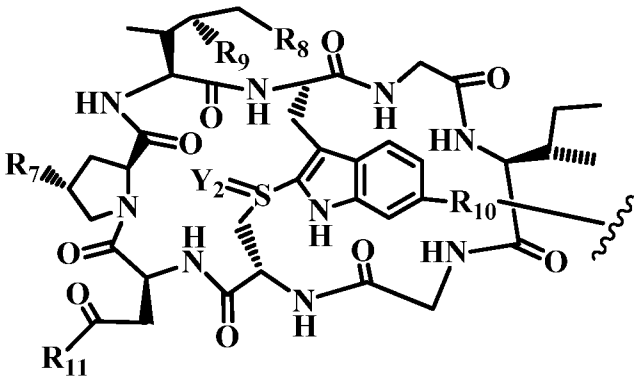


Tb10,

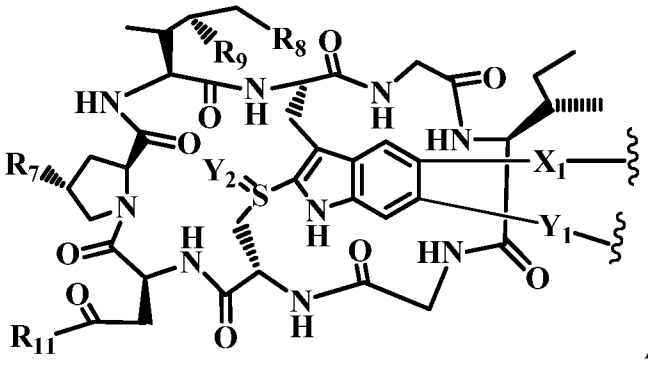
или изотоп одного или более химических элементов, или фармацевтически приемлемые соли, гидраты или гидратированные соли; или полиморфные кристаллические структуры этих соединений; или оптические изомеры, рацематы, диастереомеры или энантиомеры; где X_1 и Y_1 независимо представляют собой O, NH, NHNH, 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, NH_1, NH_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$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, N$R_1R_1$', NHOH, NHO$R_1$, 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, $O(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2OPO_3H_2$, 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 $NH(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, где Аа представляет собой 1-8 аминокислоты; n и m_1 независимо равны 1-20; p равно 1 -5000; R_1, R_1', R_2, R_3 и R_4 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 полиэтиленоксигруппу, имеющую формулу $(OCH_2CH_2)_p$ или $(OCH_2CH(CH_3))_p$, где p является целым числом 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, $NR_1R_2R_3$;

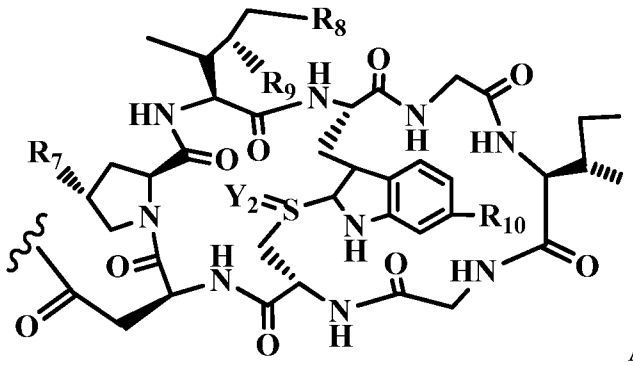
(M). Аматоксин и его аналоги:



Am01,



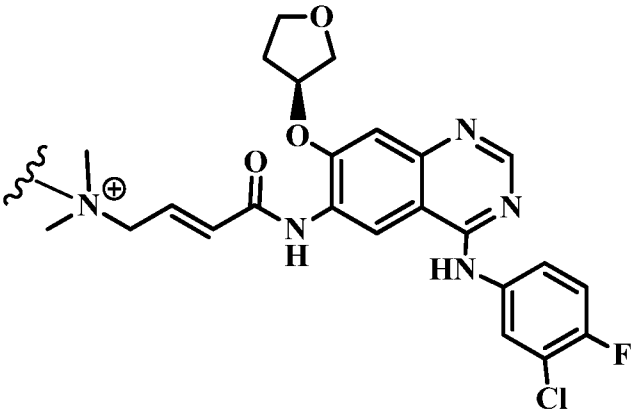
Am02,



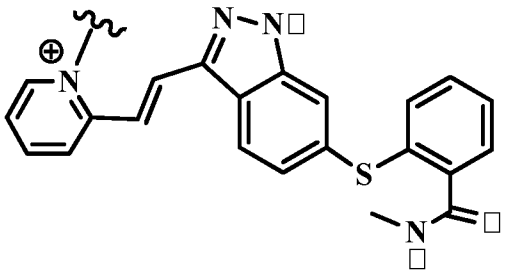
Am03,

или изотоп одного или более химических элементов, или фармацевтически приемлемые соли, гидраты или гидратированные соли; или полиморфные кристаллические структуры этих соединений; или оптические изомеры, рацематы, диастереомеры или энантиомеры; где X_1 и Y_1 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_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-$(Aa)_r$COOH, O$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2OH$, O$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, NH$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH_2$, N$R_1R_1$', 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$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NH$-PO_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$(CH_2CH_2O)_pCH_2$-$CH_2OPO_3H_2$, OR_1-$NHPO_3H_2$, NH-R_1-$NHPO_3H_2$ или NH$(CH_2CH_2O)_pCH_2CH_2NHPO_3H_2$, где $(Aa)_r$ представляет собой 1-8 аминокислот; n и m_1 независимо равны 1-20; p равно 1 -5000; R_1 и Ar являются такими, как определено в п. 1.

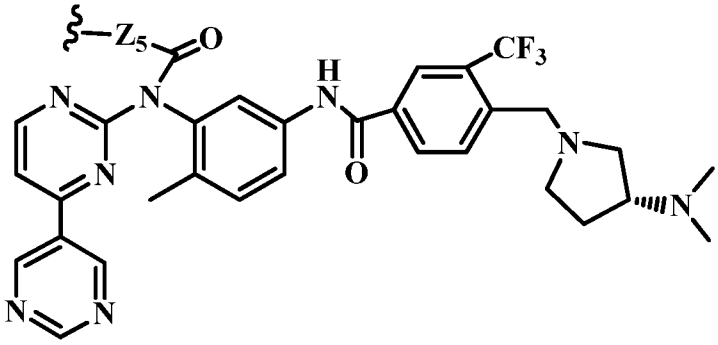
(N). Ингибитор протеинкиназы:



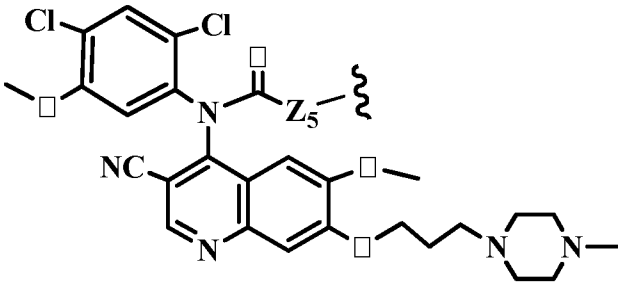
PK01, **Афатиниб**,



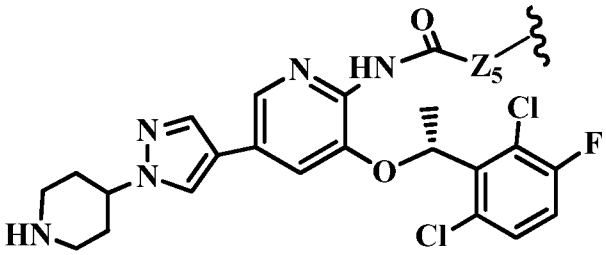
РК02, **Акситиниб,**



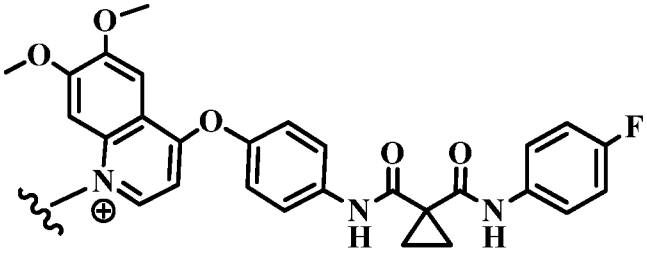
РК03, Бафетиниб



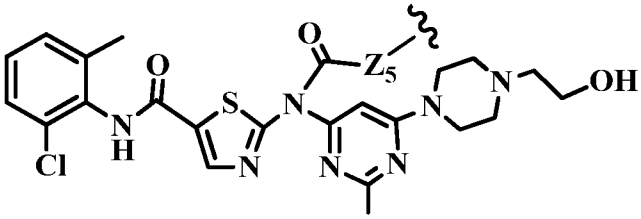
РК04, **Бозутиниб,**



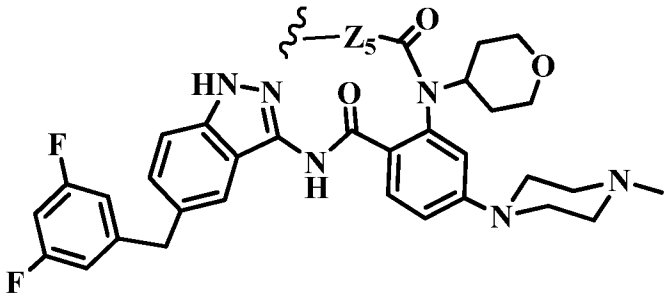
РК05, **Кризотиниб,**



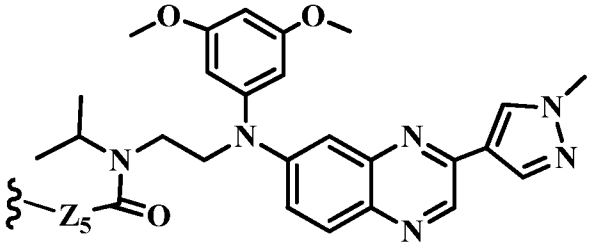
РК06, **Кабозантиниб,**



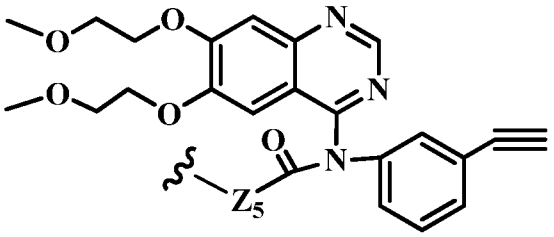
РК07, **Дазатиниб,**



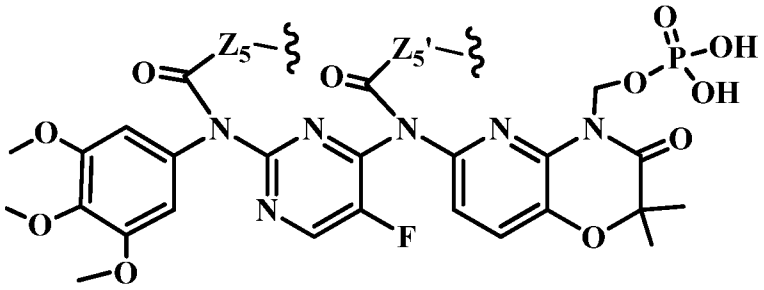
РК08, **Энтректиниб,**



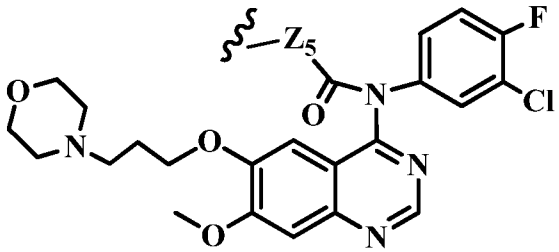
РК09, **Эрдафитиниб,**



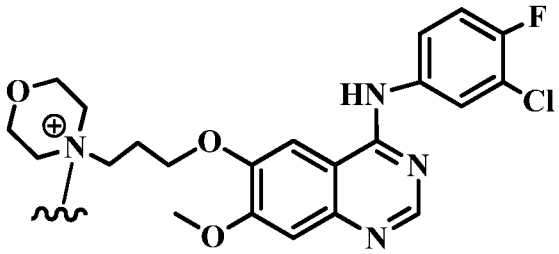
РК10, **Эрлотиниб,**



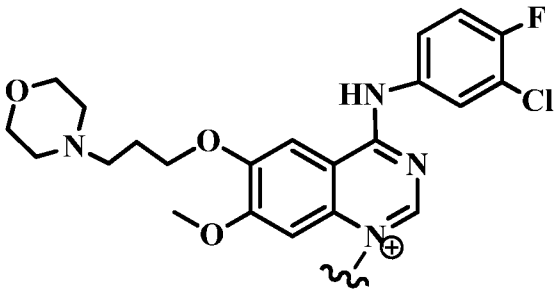
РК11, **Фостаматиниб,**



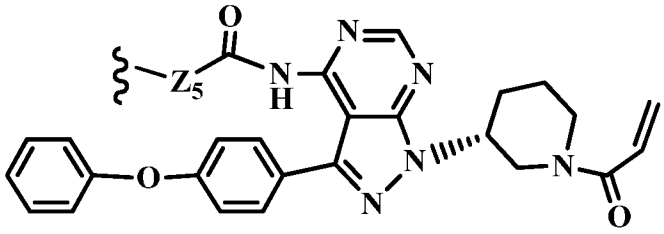
РК12, **Гефитиниб,**



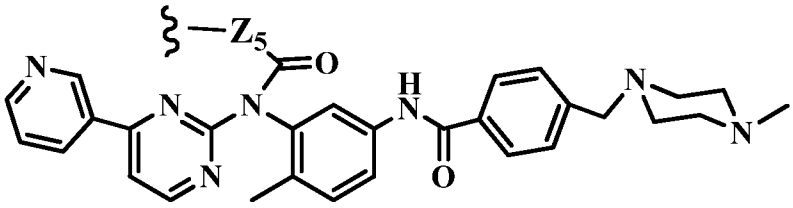
РК13, **Гефитиниб,**



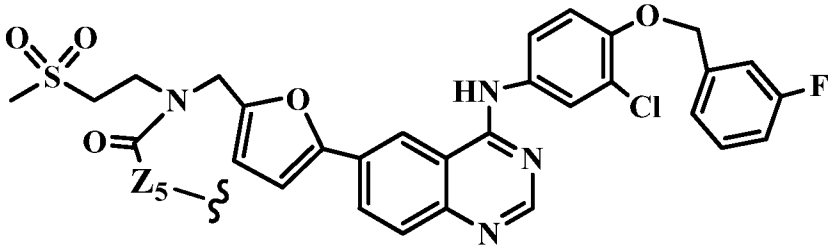
РК14, **Гефитиниб,**



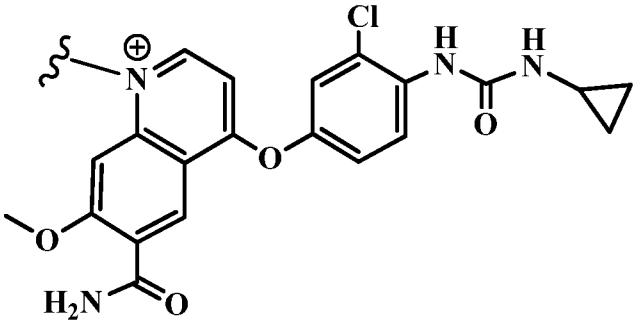
РК15, Ибрутиниб,



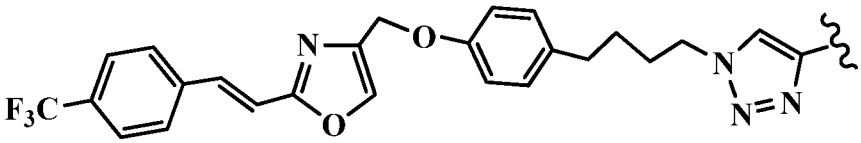
РК16, Иматиниб,



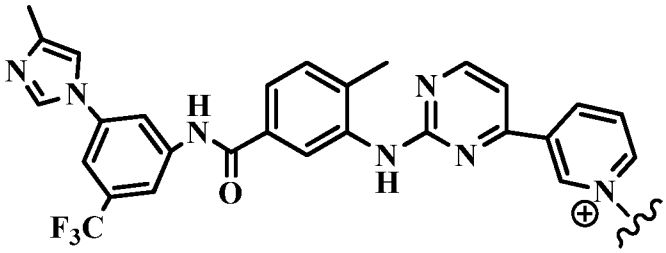
РК17, Лапатиниб,



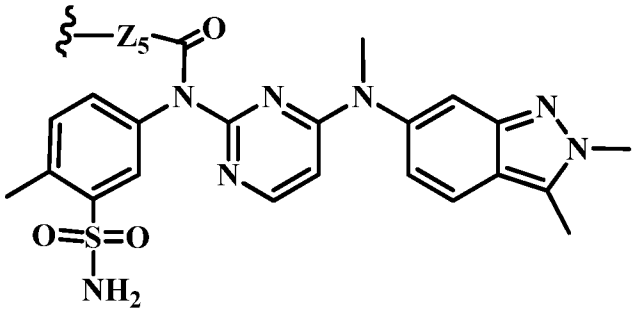
РК18, Ленватиниб,



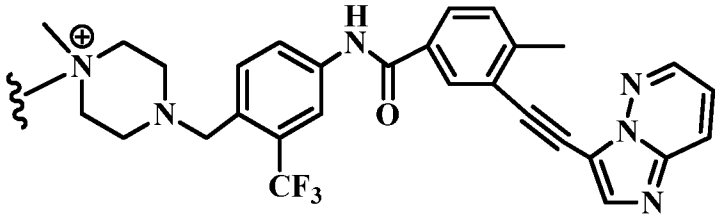
РК19, Мубритиниб,



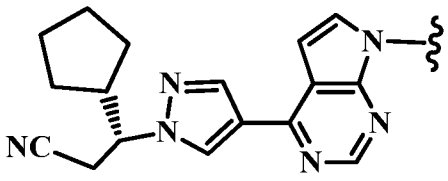
РК20, Нилотиниб,



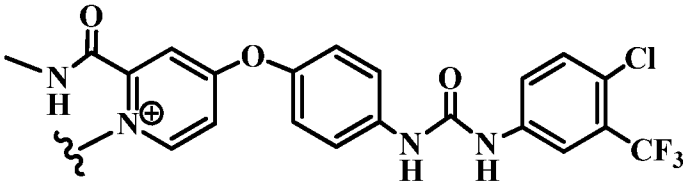
PK21, Пазопаниб,



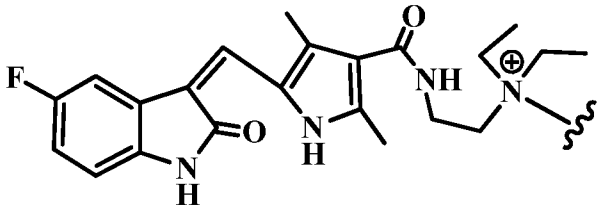
PK22, Понатиниб,



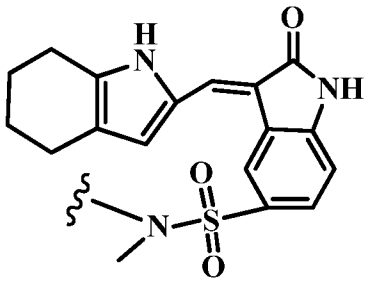
PK23, Руксолитиниб,



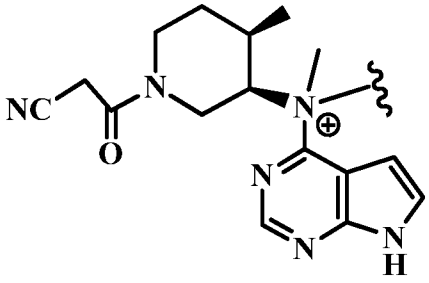
PK24, Сорафениб,



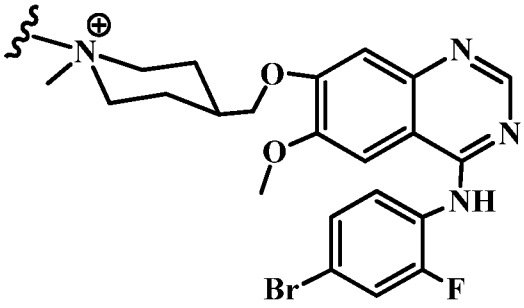
PK25, Сунитиниб,



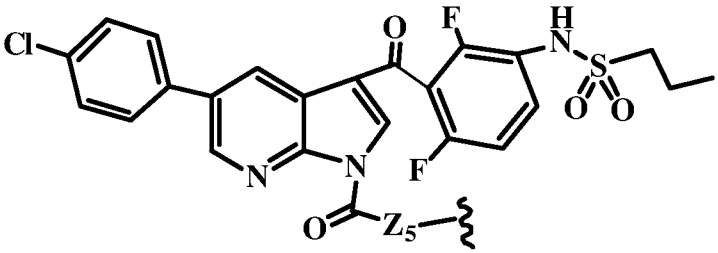
PK26, SU6656,



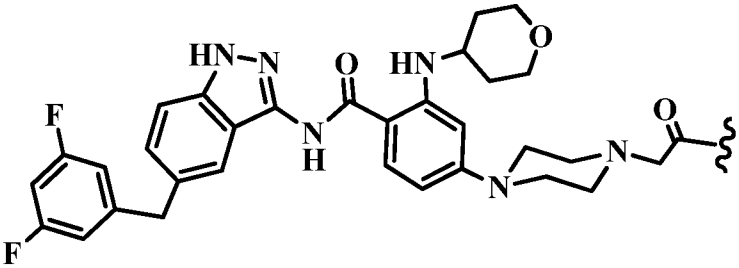
PK27, Тофацитиниб,



PK28, Вандетаниб,

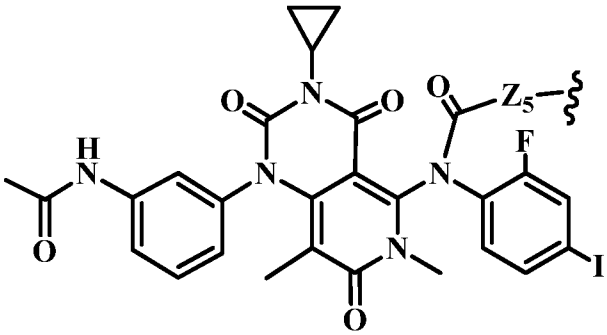


PK29, Вемурафениб;

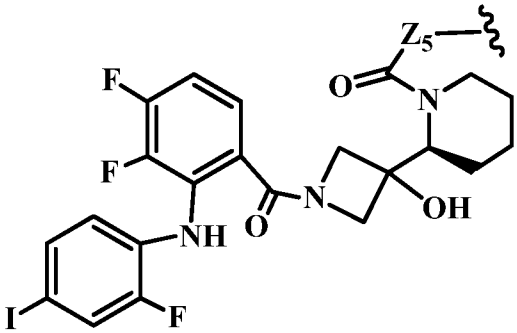


PK 30, Энтректиниб;

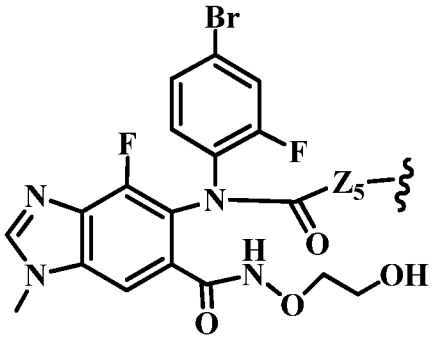
(O). Ингибитор MEK:



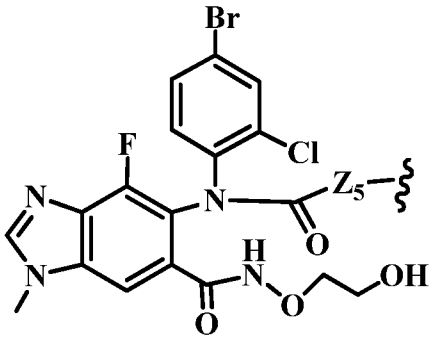
MEK01, Траметиниб,



MEK02, Кобиметиниб,



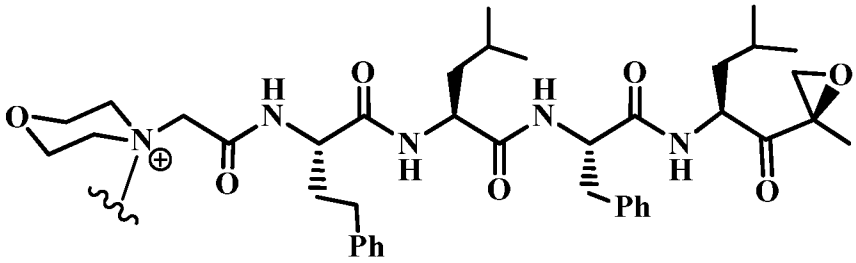
MEK03, Биниметиниб,



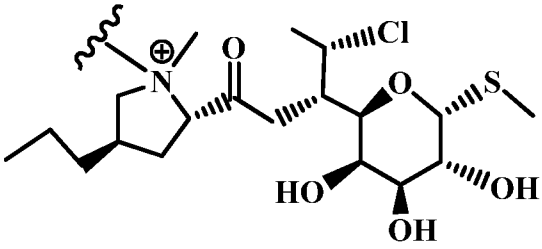
MEK04, селуметиниб,

где Z_5 выбран из O, NH, NHNH, NR_5, S, C(O)O, C(O)NH, OC(O)NH, OC(O)O, NHC(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)S, OC(O)N(R_1), N(R_1)C(O)N(R_2), C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1;

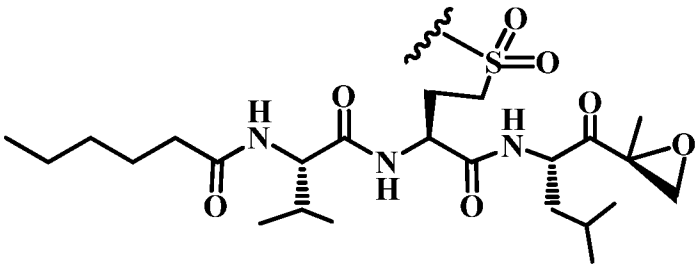
(P). Ингибитор протеиназы:



PI01, Карфилзомиб,



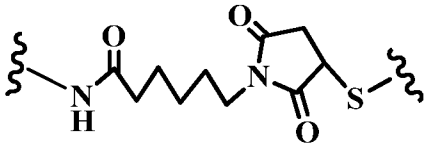
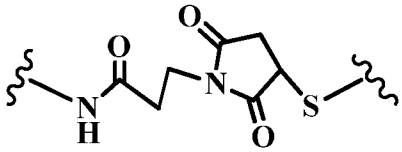
PI02, Клиндамицин,

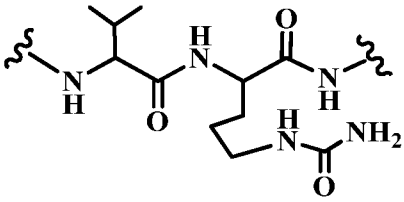


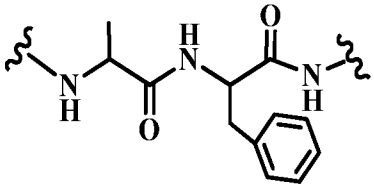
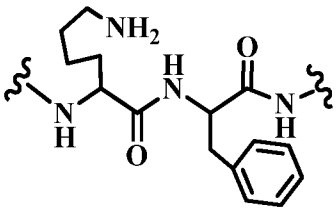
PI03, Аналог кармафицина,

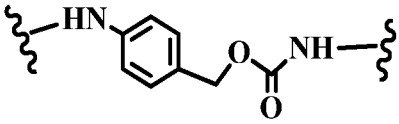
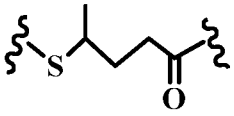
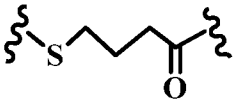
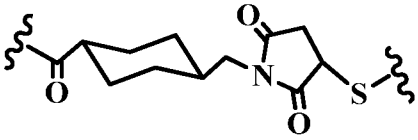
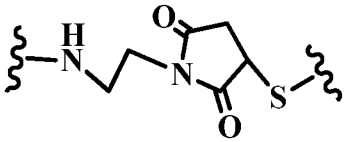
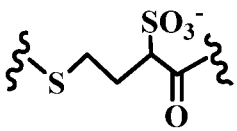
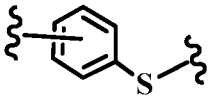
(Q). Иммунотоксин в данном документе представляет собой макромолекулярное лекарственное средство, которое обычно представляет собой цитотоксический белок, полученный из бактериального или растительного белка, выбранного из дифтерийного токсина (DT), холерного токсина (CT), трихосантина (TCS), диантина, экзотоксина Pseudomonas A (ETA'), эритрогенных токсинов, дифтерийного токсина, токсинов AB, экзотоксинов типа III, проаэролизина, топсализина и он конъюгируется посредством линкера боковой цепи через свою аминокислоту, имеющую аминогруппу, группу тиола или карбоксильную группу.

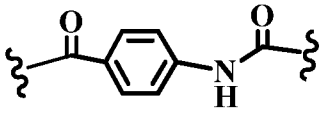
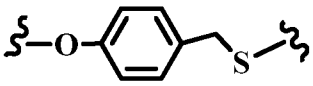
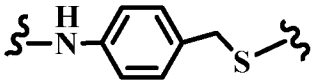
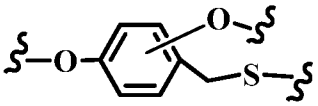
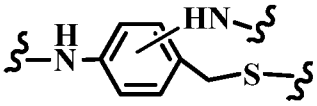
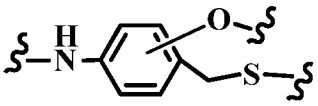
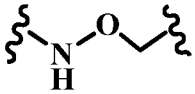
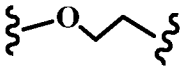
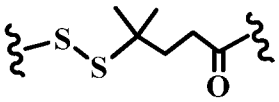
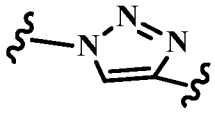
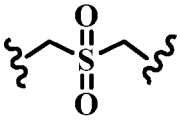
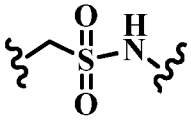
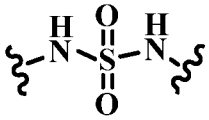
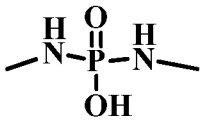
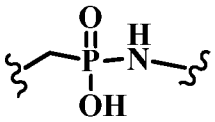
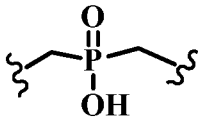
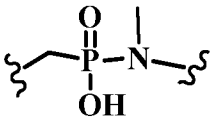
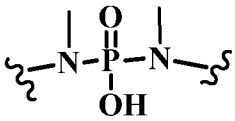
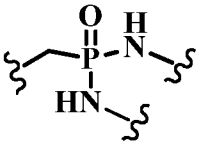
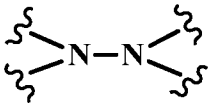
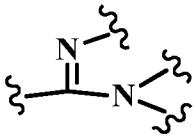
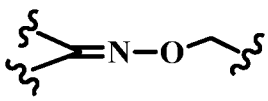
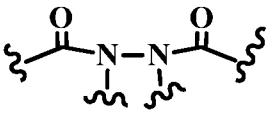
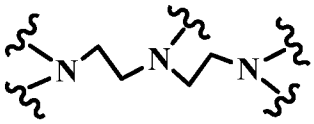
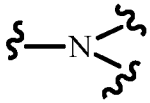
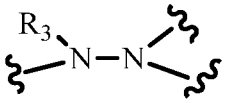
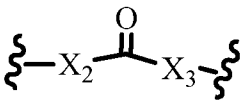
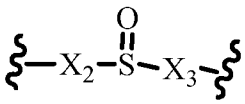
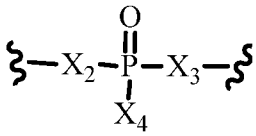
7. Соединение по п. **1, 2, 3** или **4,** отличающееся тем, что W, L_1, L_2, V_1 и V_2 независимо содержат один или более линкерных компонентов следующих структур:

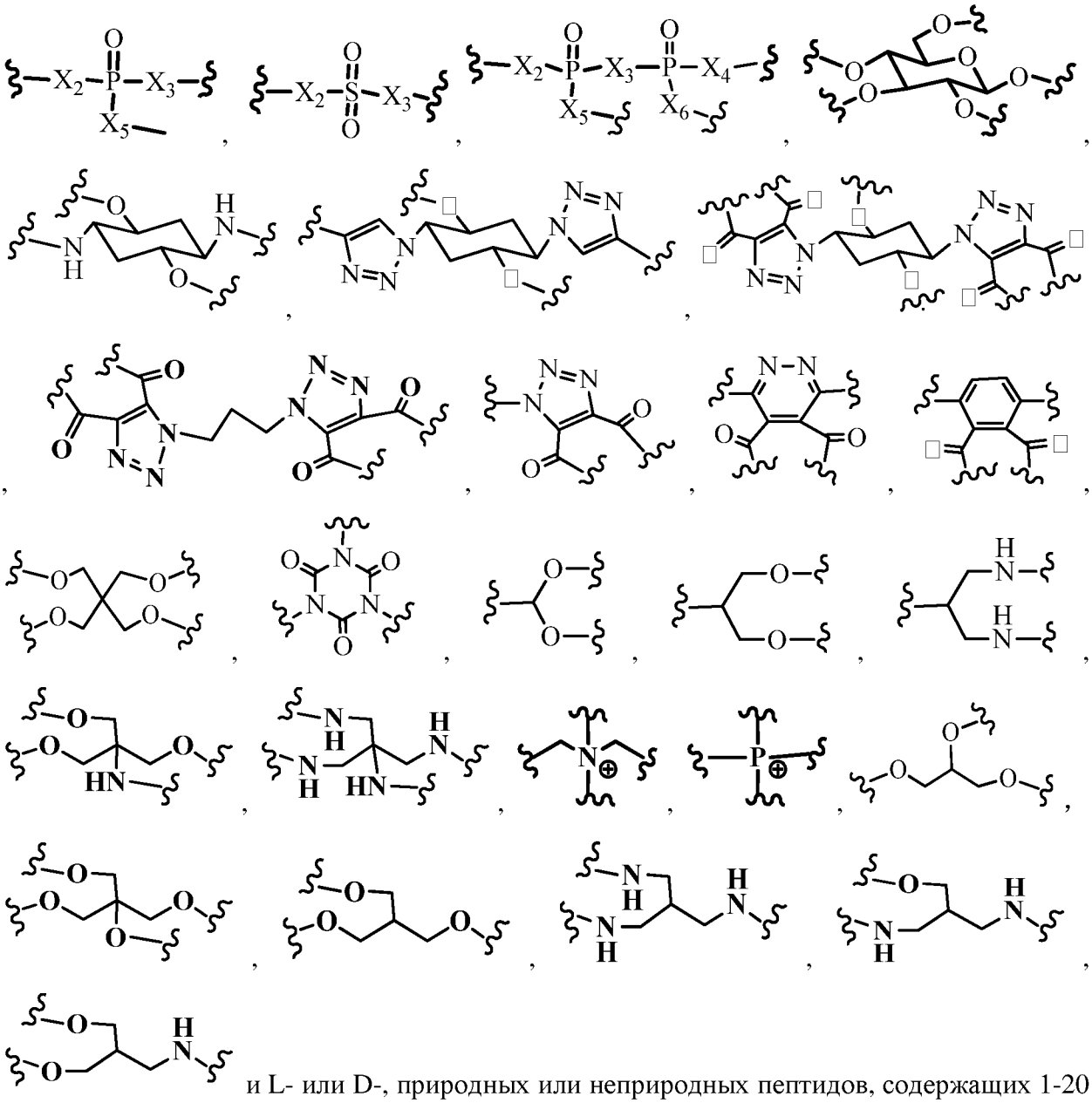

6-малеимидокапроила (MC),



малеимидопропаноила (MP), валин-цитруллина (val-cit),


аланин-фенилаланина (ala-phe),



лизин-фенилаланина (lys-phe), п-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),

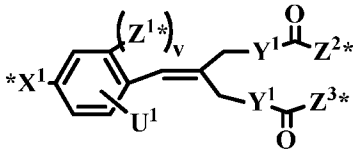
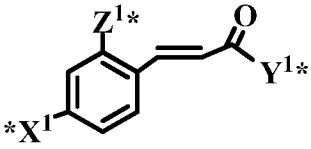
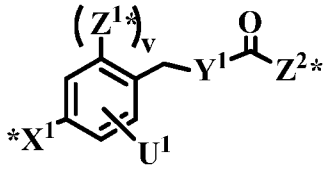

(4-ацетил)аминобензоата (SIAB),  , окси-
лбензилтио,  аминобензилтио,  диоксилбен-
зилтио,  диаминобензилтио,  амино-
оксилбензилтио,  алкоксиамино (AOA),  этиленокси (EO),

4-метил-4-дитиопентаноила (MPDP),  триазола,
 дитио,  алкилсульфонила,  алкилсульфонамида,
 сульфонбисамида,  фосфондиамида,  алкил-
фосфонамида,  фосфиновой кислоты,  N-метилфосфонамид-
ной кислоты,  N,N'-диметилфосфонамидной кислоты, 
N,N'-диметилфосфонамида,  гидразина,  ацетимидамида;
 оксима,  ацетилацетогидразида, 
аминоэтиламина,  аминоэтиламиноэтиламина,  ,
 ,  ,  ,  ,

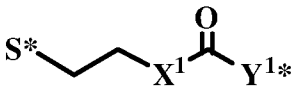
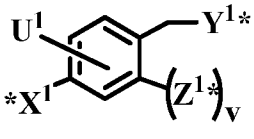


и L- или D-, природных или неприродных пептидов, содержащих 1-20 одинаковых или разных аминокислот; где ξ представляет собой участок связывания; X_2, X_3, X_4, X_5 или X_6 независимо выбраны из NH; NHNH; $N(R_{12})$; $N(R_{12})N(R_{12'})$; O; S; C_1-C_6 алкила; C_2-C_6 гетероалкила, алкилциклоалкила, гетероциклоалкила; C_3-C_8 арила, Ar-алкила, гетероциклила, карбоциклила, циклоалкила, гетероалкилциклоалкила, алкилкарбонила, гетероарила; CH_2OR_{12}, CH_2SR_{12}, CH_2NHR_{12} или 1 ~ 8 аминокислот; причем R_{12} и $R_{12'}$ независимо представляют собой H; C_1-C_8 алкил; C_2-C_8 гетероалкил, алкилциклоалкил, гетероциклоалкил; C_3-C_8 арил, Ar-алкил, гетероциклил, карбоциклил, циклоалкил, гетероалкилциклоалкил, алкилкарбонил, гетероарил; или сложные эфиры, простой эфир или амид с 1-8 атомами углерода; или полиэтиленоксигруппу формулы $(OCH_2CH_2)_p$ или $(OCH_2CH(CH_3))_p$, при этом p является целым числом от 0 до около 1000 или комбинацией вышеуказанного;

8. Соединение по п. **1, 2, 3** или **4**, отличающееся тем, что W, L_1, L_2, V_1 и V_2 независимо содержат:

(A): саморасщепляющийся компонент, пептидные звенья, гидразоновую связь, дисульфидную, сложноэфирную, оксимную, амидную или тиоэфирную связь. Саморасщепляющееся звено включает ароматические соединения, которые по электронной конфигурации являются сходными с пара-аминобензилкарбамоильными (PAB) группами, производными 2-аминоимидазол-5-метанола, гетероциклическими аналогами PAB, бета-глюкуронидом и орто- или пара-аминобензилацеталями; или одной из следующих структур:

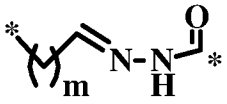


; 
;.

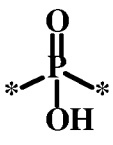
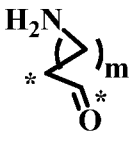
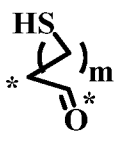
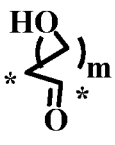
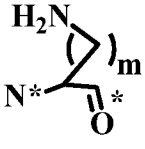
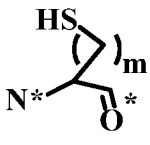
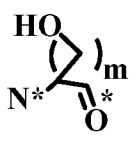

; или 
где (*) атом представляет собой точку присоединения

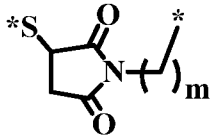
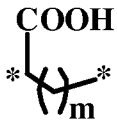
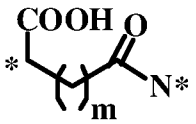
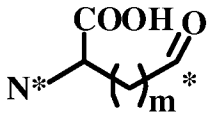
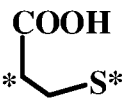
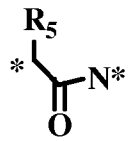
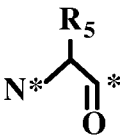
другого компонента; X^1, Y^1, Z^2 и Z^3 независимо представляют собой NH, O или S; Z^1 независимо представляет собой H, NHR_1, OR_1, SR_1, COX_1R_1, где X_1 и R_1 являются такими, как определено выше; v равно 0 или 1; U^1 независимо представляет собой H, OH, C_1~C_6 алкил, $(OCH_2CH_2)_n$, F, Cl, Br, 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 солей катионов;

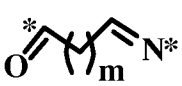
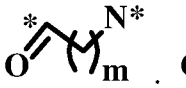
(B): несаморасщепляющийся линкерный компонент, имеющий одну из следующих структур:

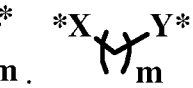
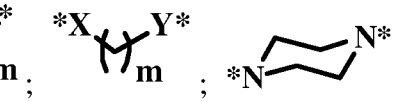
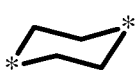
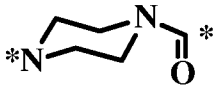
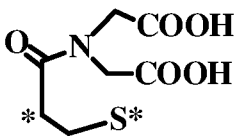
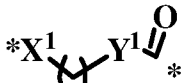
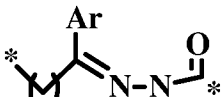
$*(CH_2CH_2O)_r*$; $*CH(CH_2)_nCO(OCH_2CH_2)_rOCH_3*$; $*CH(CH_2)_nCON(CH_2CH_2O)_rCOCH_3*$;

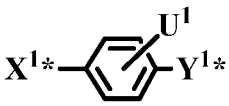
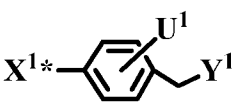
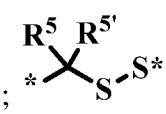
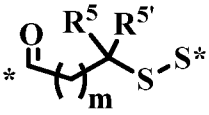
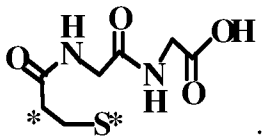
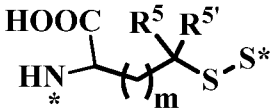
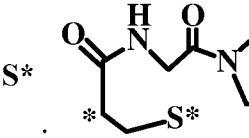
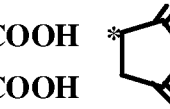
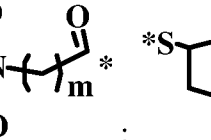
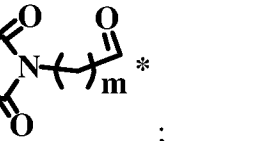
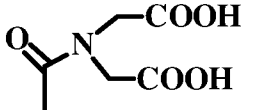
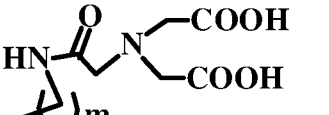
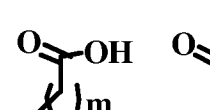
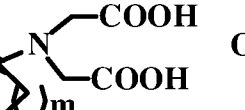
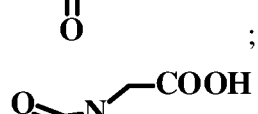
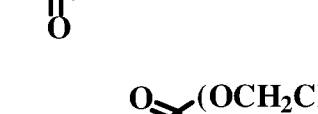
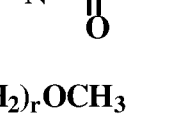
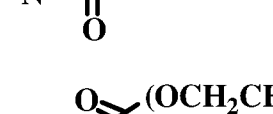
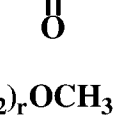
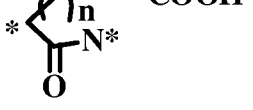
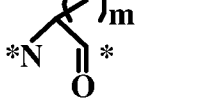
$*CH(CH_2)_n(OCH_2CH_2)_rOCOCH_3*$; $*CH(CH_2)_nCO(OCH_2CH_2)_rOCOCH_3*$; 
;

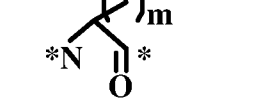

; 
; 
; 
; 
; 
; 
; 
;

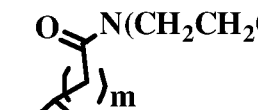
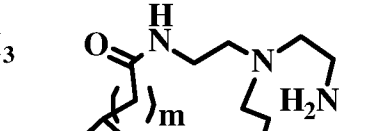

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

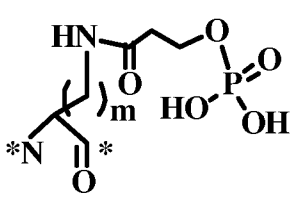
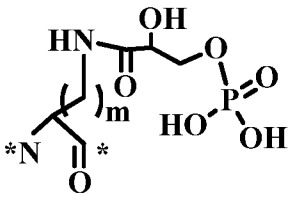
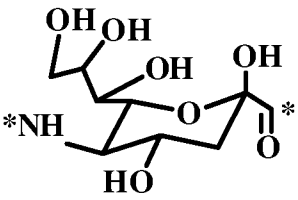
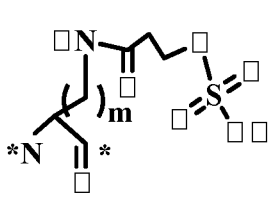
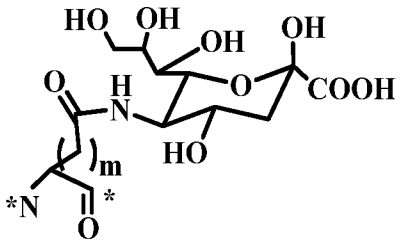
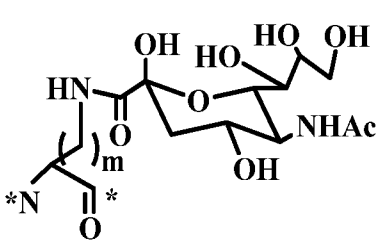
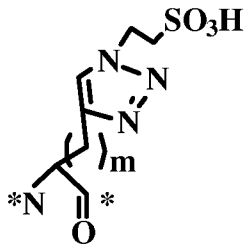
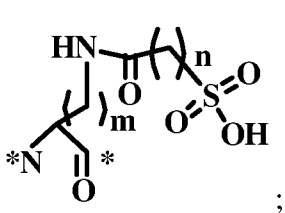
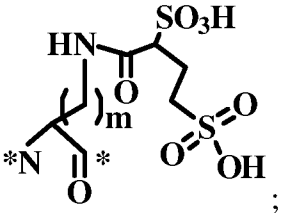
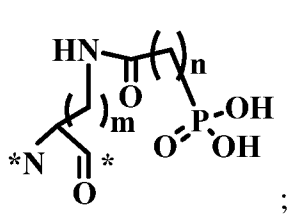
;

;

;

;

;

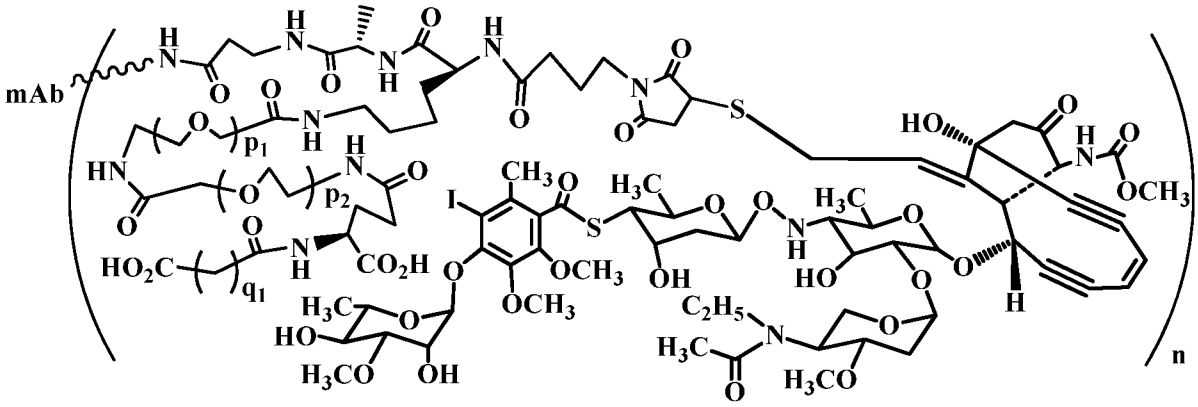

;

;

;

;

;

;

;

;

;

;

где (*) атом представляет собой точку присоединения дополнительных спейсерных или высвобождаемых линкеров, цитотоксических агентов и/или связывающих 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 0~20;

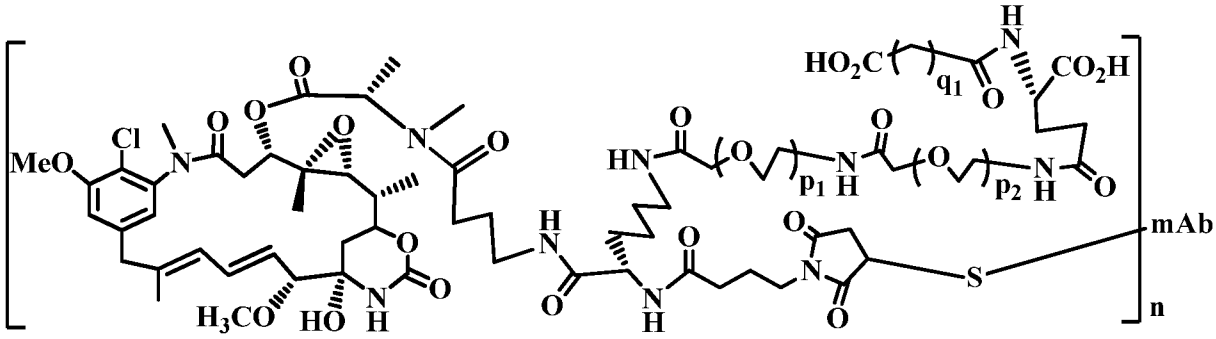
(C): высвобождаемый компонент, который включает по меньшей мере одну связь, которая может быть разорвана в физиологических условиях: pH-лабильная, кислотно-лабильная, щелочно-лабильная, окислительно-лабильная, метаболически лабильная, биохимически лабильная или фермент-лабильная связь, которая имеет одну из следующих структур: $-(CR_{15}R_{16})_m(Aa)r(CR_{17}R_{18})_n(OCH_2CH_2)_t-$, $-(CR_{15}R_{16})_m(CR_{17}R_{18})_n(Aa)_r(OCH_2CH_2)_t-$, $-(Aa)_r-(CR_{15}R_{16})_m(CR_{17}R_{18})_n(OCH_2CH_2)_t-$, $-(CR_{15}R_{16})_m(CR_{17}R_{18})_n(OCH_2CH_2)_r(Aa)_t-$, $-(CR_{15}R_{16})_m(CR_{17}=CR_{18})(CR_{19}R_{20})_n(Aa)_t(OCH_2CH_2)_r-$, $-(CR_{15}R_{16})_m(NR_{11}CO)(Aa)_t(CR_{19}R_{20})_n-(OCH_2CH_2)_r-$, $-(CR_{15}R_{16})_m(Aa)_t(NR_{21}CO)(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r-$, $-(CR_{15}R_{16})_m(OCO)(Aa)_t-(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r-$, $-(CR_{15}R_{16})_m(OCNR_{17})(Aa)_t(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r-$, $-(CR_{15}R_{16})_m-(CO)(Aa)_t-(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r-$, $-(CR_{15}R_{16})_m(NR_{21}CO)(Aa)_t(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r-$, $-(CR_{15}R_{16})_m-(OCO)(Aa)_t(CR_{19}R_{20})_n-(OCH_2CH_2)_r-$, $-(CR_{15}R_{16})_m(OCNR_{17})(Aa)_t(CR_{19}R_{20})_n-(OCH_2CH_2)_r-$, $-(CR_{15}R_{16})_m(CO)(Aa)_t(CR_{19}R_{20})_n-(OCH_2CH_2)_r-$, $-(CR_{15}R_{16})_m$-фенил-$CO(Aa)_t-(CR_{17}R_{18})_n-$, $-(CR_{15}R_{16})_m$-фурил-$CO(Aa)_t(CR_{17}R_{18})_n-$, $-(CR_{15}R_6)_m$-оксазолил-$CO(Aa)_t(CR_{17}R_{18})_n-$, $-(CR_{15}R_{16})_m$-тиазолил-$CO(Aa)_t(CCR_{17}R_{18})_n-$, $-(CR_{15}R_{16})_t$-тиенил-$CO(CR_{17}R_{18})_n-$, $-(CR_{15}R_{16})_t$-имидазолил-$CO-(CR_{17}R_{18})_n-$, $-(CR_{15}R_{16})_t$-морфолино-$CO(Aa)_t-(CR_{17}R_{18})_n-$, $-(CR_{15}R_{16})_t$-пиперазино-$CO(Aa)_t(CR_{17}R_{18})_n-$, $-(CR_{15}R_{16})_t$-N-метилпиперазин-$CO(Aa)_t(CR_{17}R_{18})_n-$, $-(CR_{15}R_{16})_m-(Aa)_t$фенил-, $-(CR_{15}R_{16})_m-(Aa)_t$фурил-, $-(CR_{15}R_{16})_m$-оксазолил$(Aa)_t-$, $-(CR_{15}R_{16})_m$-тиазолил$(Aa)_t-$, $-(CR_{15}R_{16})_m$-тиенил-$(Aa)_t-$, -

$(CR_{15}R_{16})_m$-имидазолил$(Aa)_t$-, -$(CR_{15}R_{16})_m$-морфолино-$(Aa)_t$-, -$(CR_{15}R_{16})_m$-пиперазино-$(Aa)_t$-, -$(CR_{15}R_{16})_m$-N-метилпиперазино-$(Aa)_t$-, -K$(CR_{15}R_{16})_m(Aa)r(CR_{17}R_{18})_n(OCH_2CH_2)_t$-, -K$(CR_{15}R_{16})_m(CR_{17}R_{18})_n(Aa)_r(OCH_2CH_2)_t$-, -K$(Aa)_r$-$(CR_{15}R_{16})_m(CR_{17}R_{18})_n(OCH_2CH_2)_t$-, -K$(CR_{15}R_{16})_m(CR_{17}R_{18})_n(OCH_2CH_2)_r(Aa)_t$-, -K$(CR_{15}R_{16})_m$-$(CR_{17}=CR_{18})(CR_{19}R_{20})_n(Aa)_t(OCH_2CH_2)_r$, -K$(CR_{15}R_{16})_m(NR_{11}CO)(Aa)_t$-$(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -K$(CR_5R_6)_m(Aa)_t(NR_{21}CO)(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -K$(CR_{15}R_{16})_m(OCO)(Aa)_t(CR_{19}R_{20})_n$-$(OCH_2CH_2)_r$-, -K$(CR_{15}R_{16})_m(OCNR_{17})(Aa)_t(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -K$(CR_{15}R_{16})_m(CO)(Aa)_t$-$(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -K$(CR_{15}R_{16})_m(NR_{21}CO)(Aa)_t(CR_{19}R_{20})_n$-$(OCH_2CH_2)_r$-, -K$(CR_{15}R_{16})_m$-$(OCO)(Aa)_t(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -K$(CR_{15}R_{16})_m(OCNR_{17})(Aa)_t$-$(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -K-$(CR_{15}R_{16})_m(CO)(Aa)_t(CR_{19}R_{20})_n(OCH_2CH_2)_r$-, -K$(CR_{15}R_{16})_m$-фенил-CO$(Aa)_t(CR_{17}R_{18})_n$-, -K-$(CR_{15}R_{16})_m$-фурил-CO$(Aa)_t(CR_{17}R_{18})_n$-, -K$(CR_{15}R_{16})_m$-оксазолил-CO$(Aa)_t(CR_{17}R_{18})_n$-, -K$(CR_{15}R_{16})_m$-тиазолил-CO$(Aa)_t$-$(CR_{17}R_{18})_n$-, -K$(CR_{15}R_{16})_t$-тиенил-CO$(CR_{17}R_{18})_n$-, -K$(CR_{15}R_{16})_t$имидазолил-CO-$(CR_{17}R_{18})_n$-, -K$(CR_5R_6)_t$морфолино-CO$(Aa)_t$-$(CR_{17}R_{18})_n$-, -K$(CR_{15}R_{16})_t$-пиперазино-CO$(Aa)_t$-$(CR_{17}R_{18})_n$-, -K$(CR_{15}R_{16})_t$-N-метилпиперазин-CO$(Aa)_t(CR_{17}R_{18})_n$-, -K$(CR_{15}R_{16})_m$-$(Aa)_t$фенил, -K-$(CR_{15}R_{16})_m$-$(Aa)_t$фурил-, -K$(CR_{15}R_{16})_m$-оксазолил-$(Aa)_t$-, -K$(CR_{15}R_{16})_m$-тиазолил$(Aa)_t$-, -K$(CR_{15}R_{16})_m$-тиенил-$(Aa)_t$-, -K$(CR_{15}R_{16})_m$-имидазолил$(Aa)_t$-, -K$(CR_{15}R_{16})_m$-морфолино$(Aa)_t$-, -K$(CR_{15}R_{16})_m$-пиперазино$(Aa)_t$G, -K$(CR_5R_6)_m$-N-метил-пиперазино$(Aa)_t$-; где m, Aa, m, n, R_{13}, R_{14}, и R_{15} являются такими, как описано выше; t и r в данном документе независимо равны 0 – 100; R_{16}, R_{17}, R_{18}, R_{19} и R_{20} независимо выбраны из H; галогенида; C_1~C_8 алкила или гетероалкила, C_2~C_8 арила, алкенила, алкинила, простого эфира, сложного эфира, амина или амида, C_3~C_8 арила, который необязательно замещен одним или более из галогенида, CN, $NR_{12}R_{12'}$, CF_3, OR_{12}, арила, гетероциклила, $S(O)R_{12}$, SO_2R_{12}, $-CO_2H$, $-SO_3H$, $-OR_{12}$, $-CO_2R_{12}$, $-CONR_{12}$, $-PO_2R_{12}R_{13}$, $-PO_3H$ или $P(O)R_{12}R_{12'}R_{13}$; K представляет собой NR_{12}, -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_{12}); или пептиды, содержащие одинаковые или разные 1-20 аминокислот.

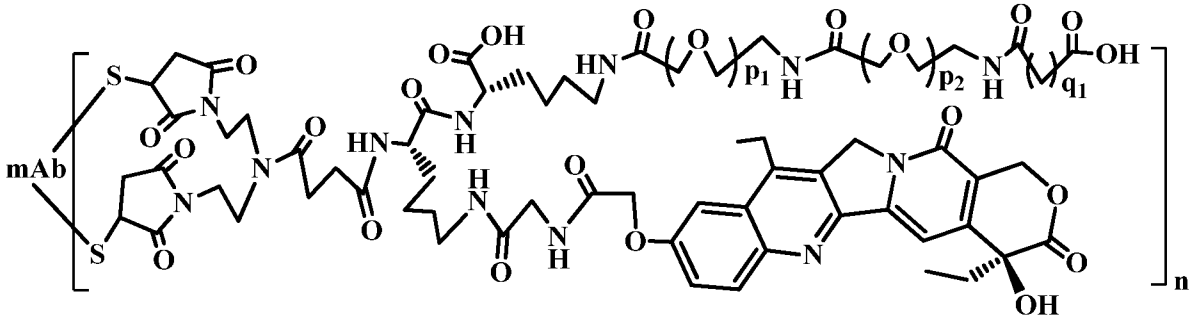
9. Соединение конъюгата по пп. 1 и 2, имеющее следующие структуры a001-a198, 49 (C-30), 50 (C-40), 51 (C-48), 78, 125, 141, 149, 163, 171, 174 (C-173), 179, 187, C-238, C-247, C-255, C-271, C-279, C-312, C-313, 132 (C-131), 135 (C-134), C-321 и C-322, проиллюстрированные ниже:



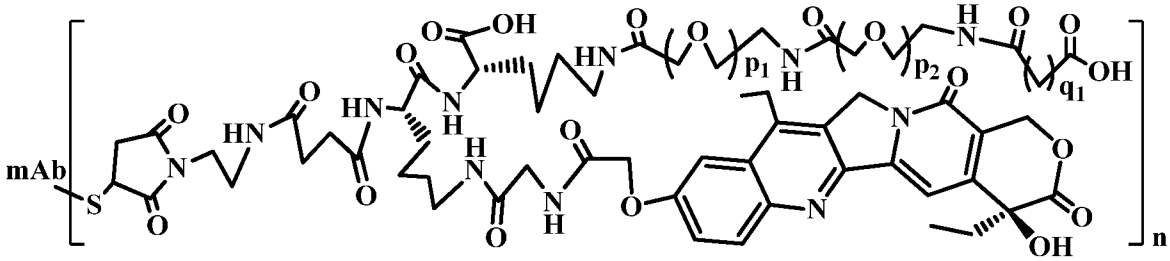
a001,



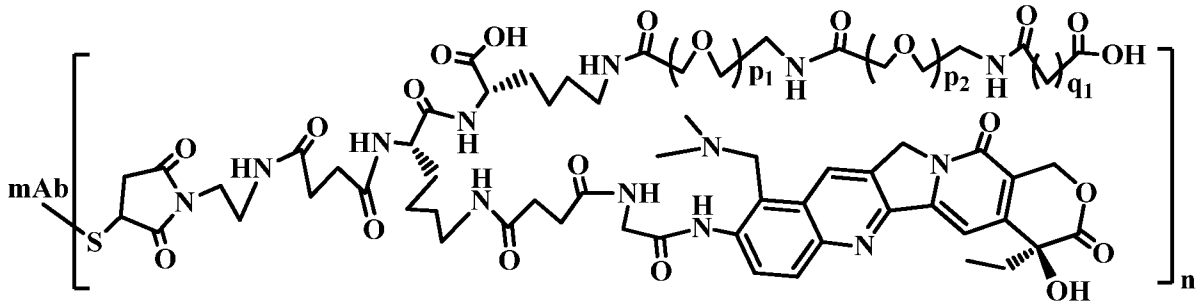
a002,



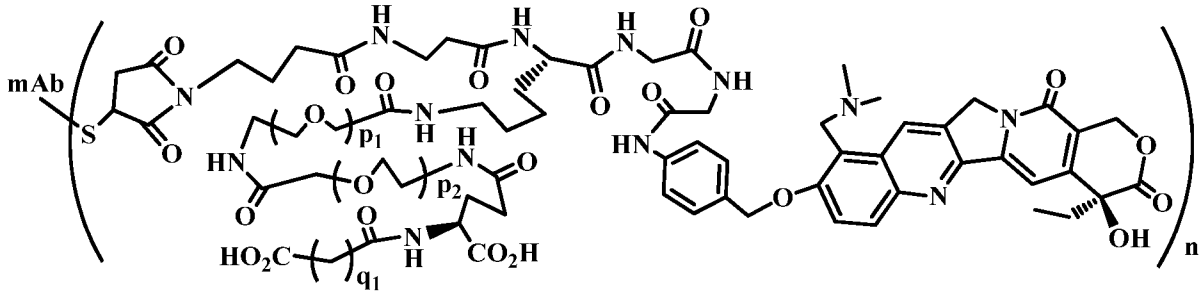
a003,



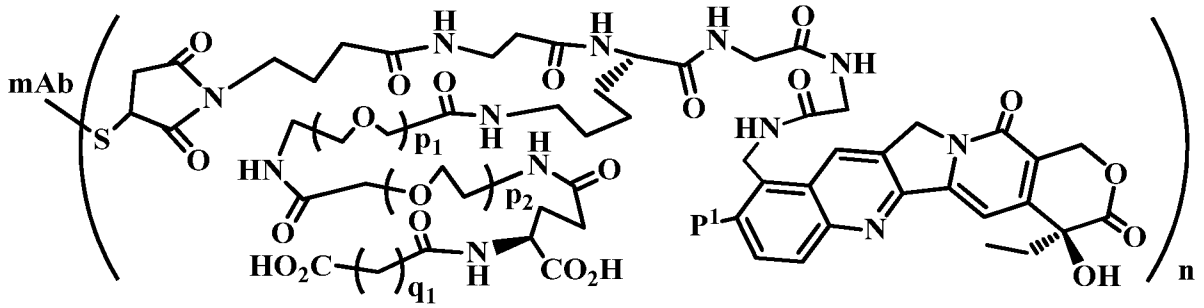
a004,



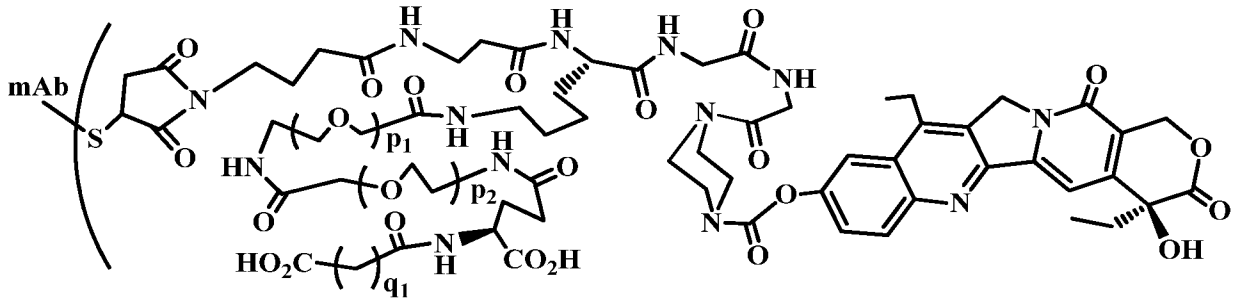
a005,



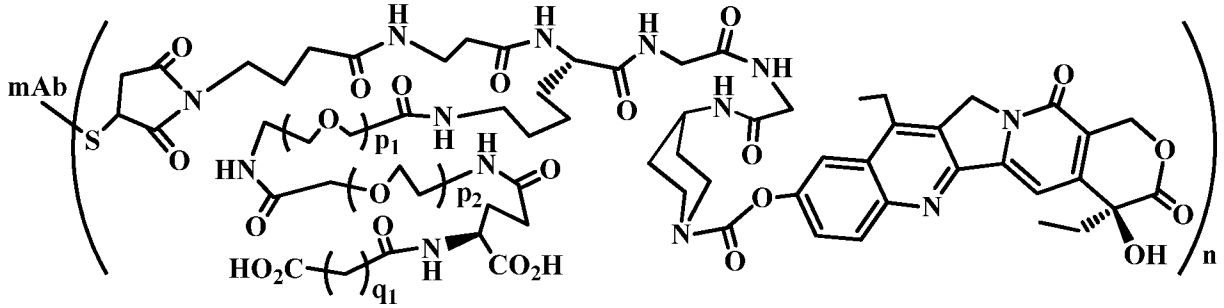
a006,



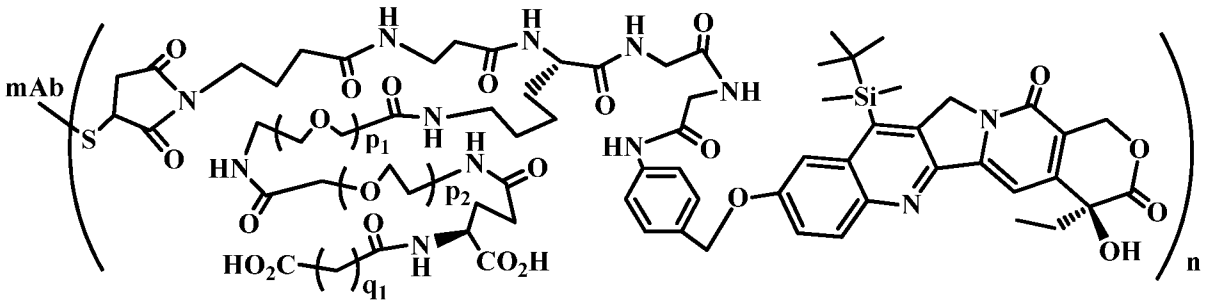
a007,



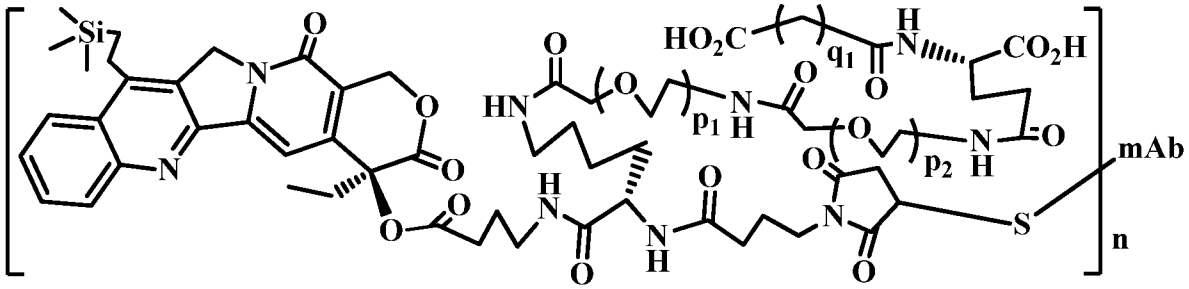
a008,



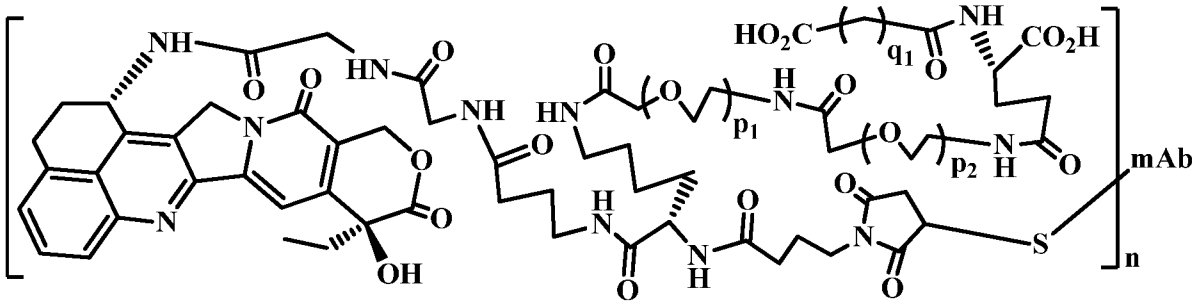
a009,



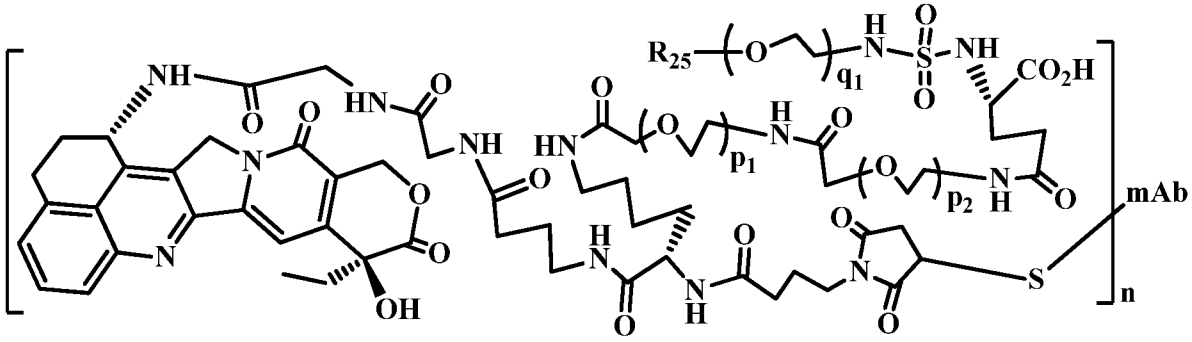
a010,



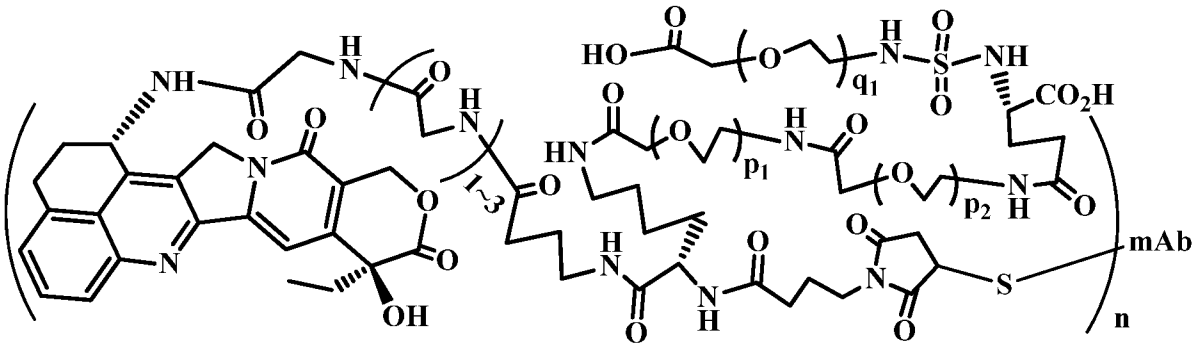
a011,



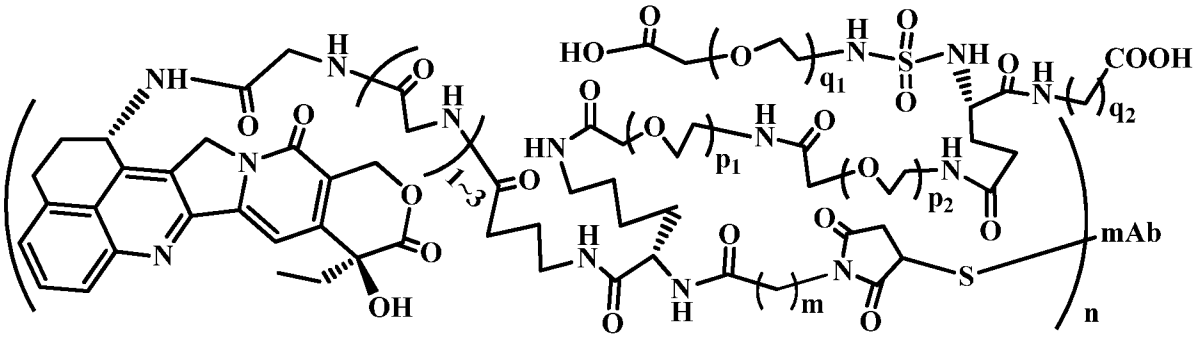
a012,



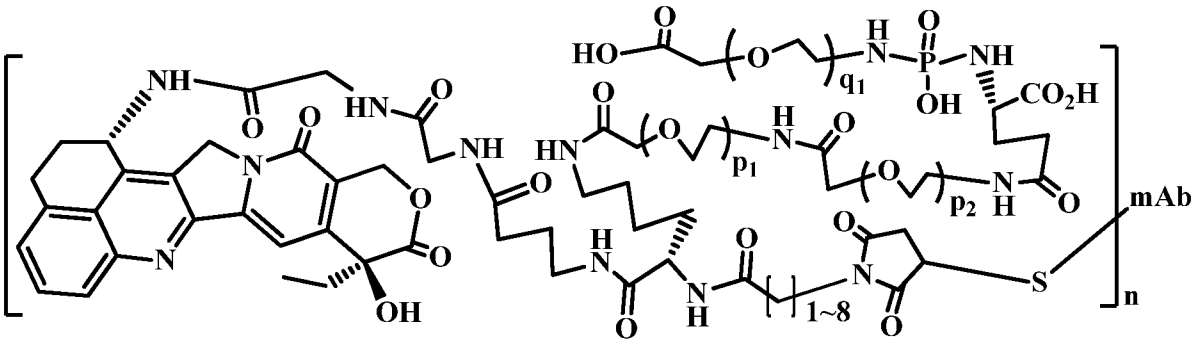
a013,



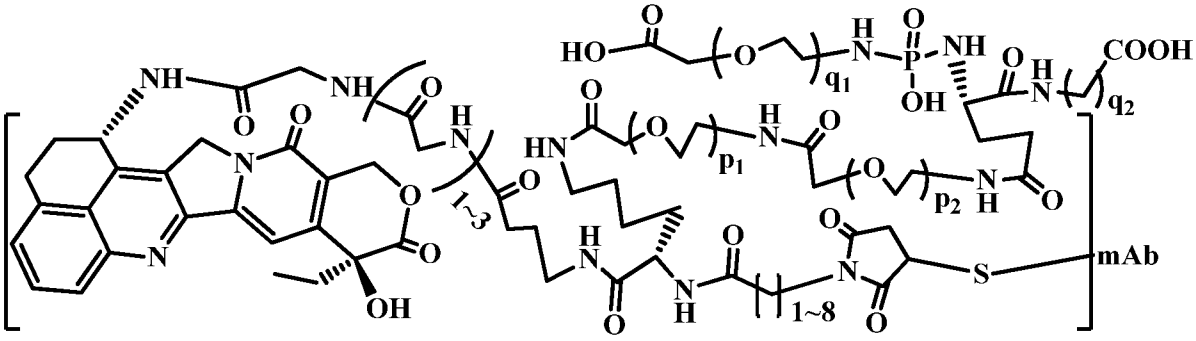
a014,



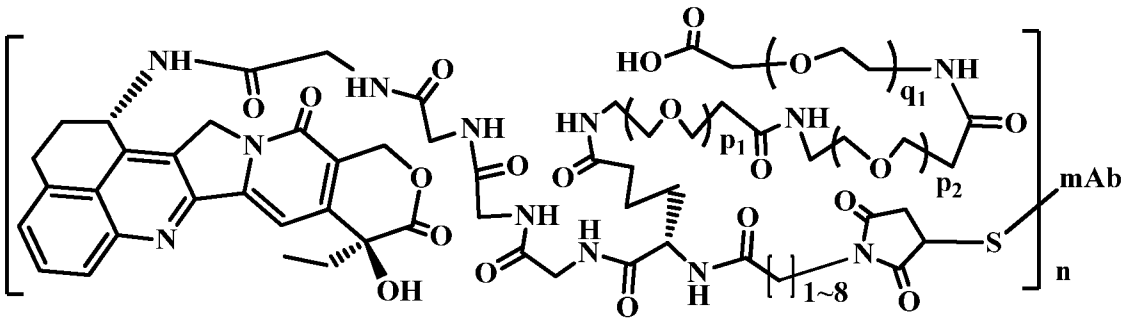
a015,



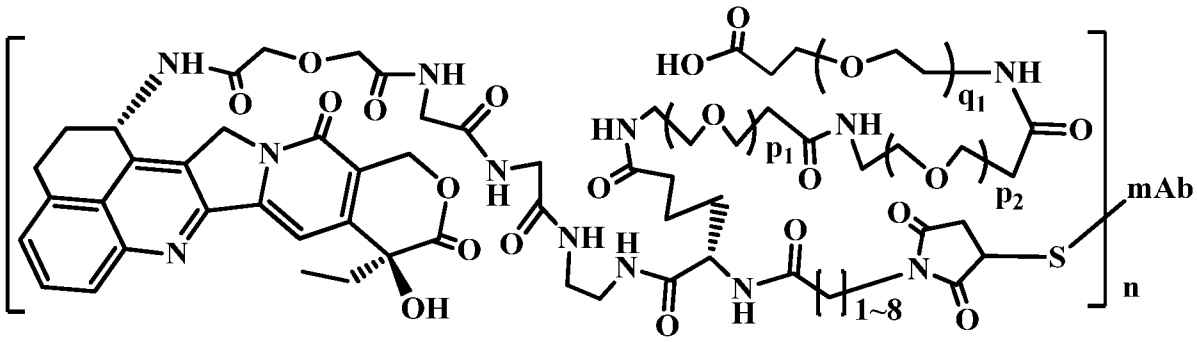
a016,



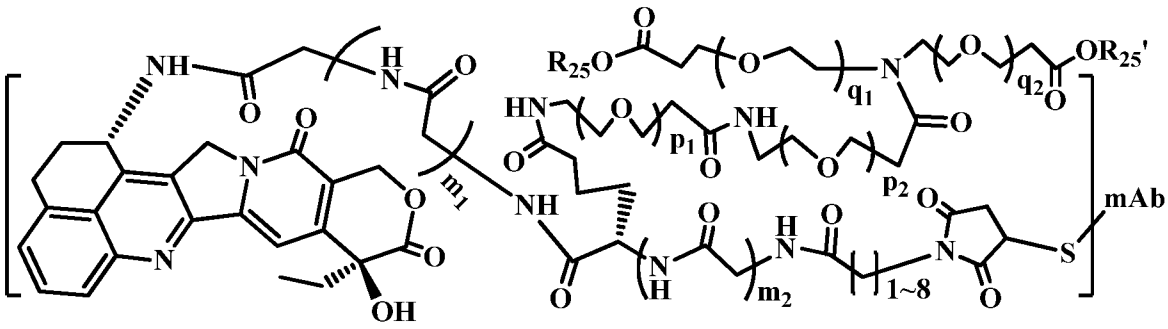
a017,



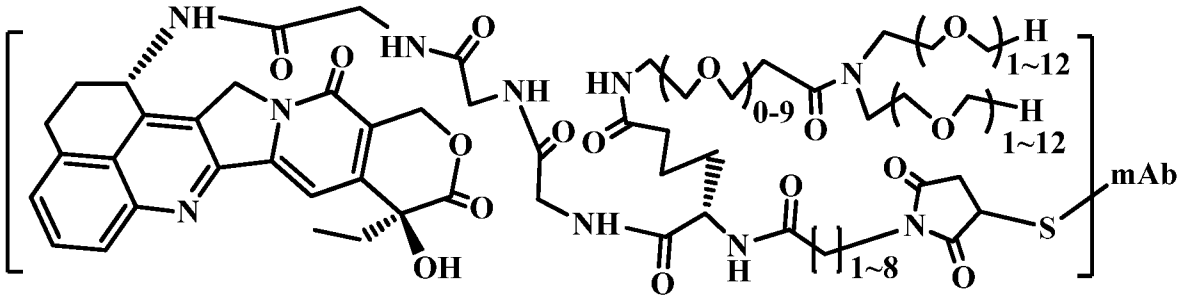
a018,



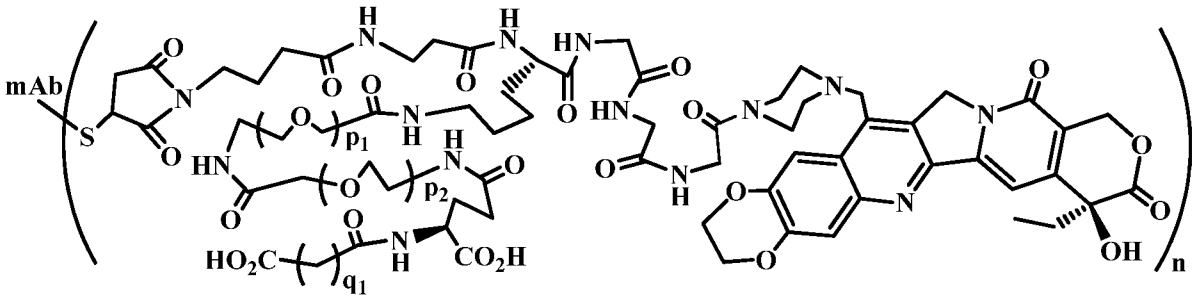
a019,



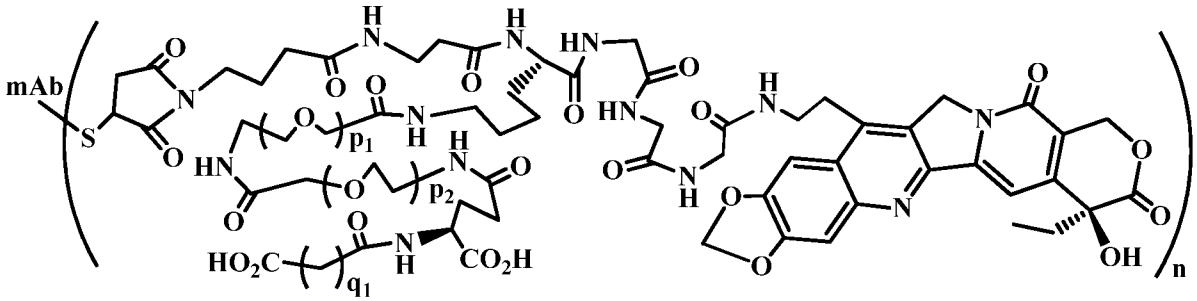
a020,



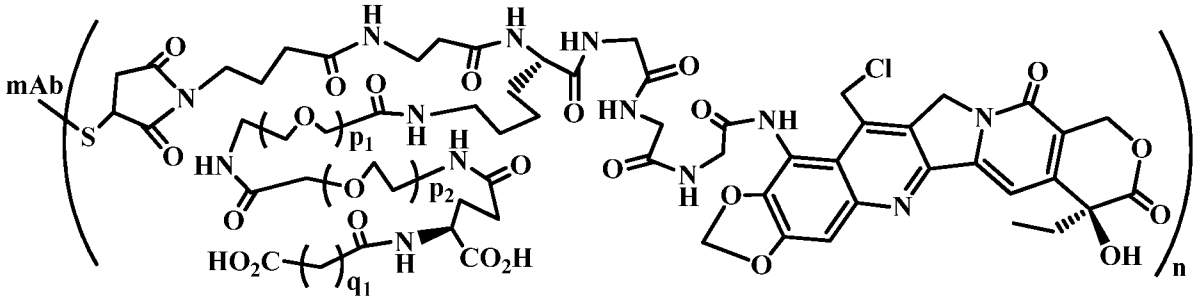
a021,



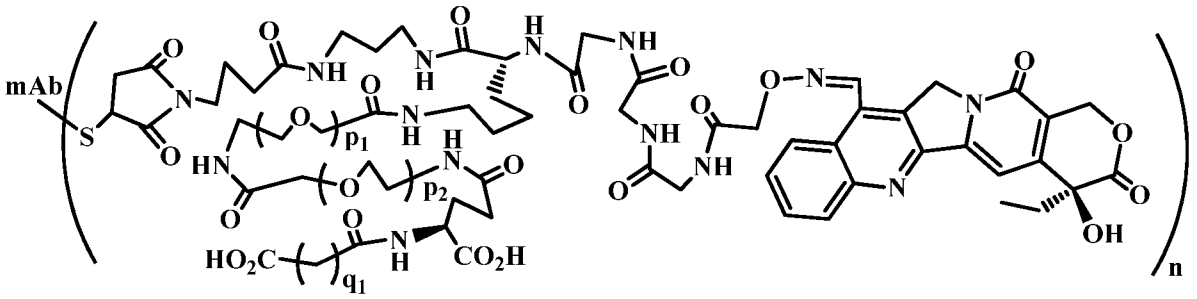
a022,



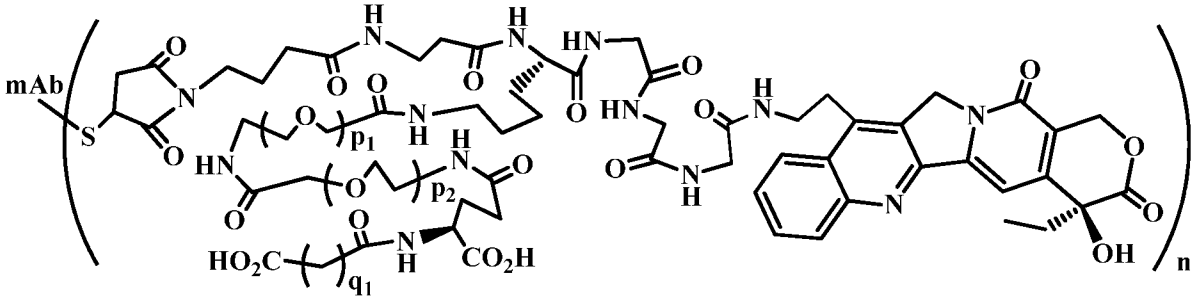
a023,



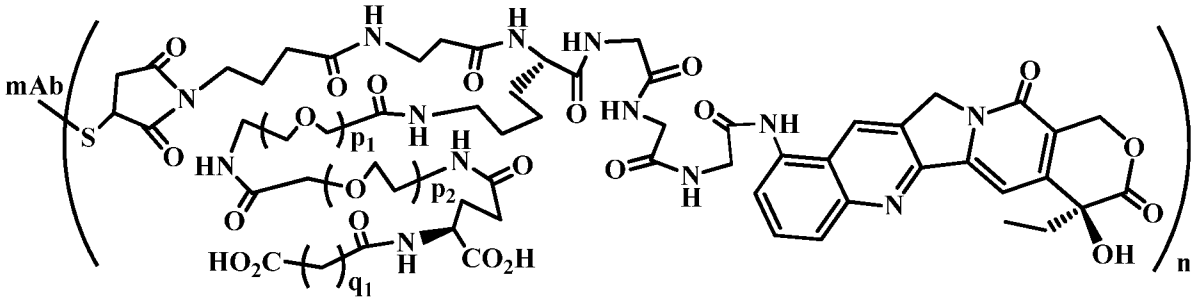
a024,



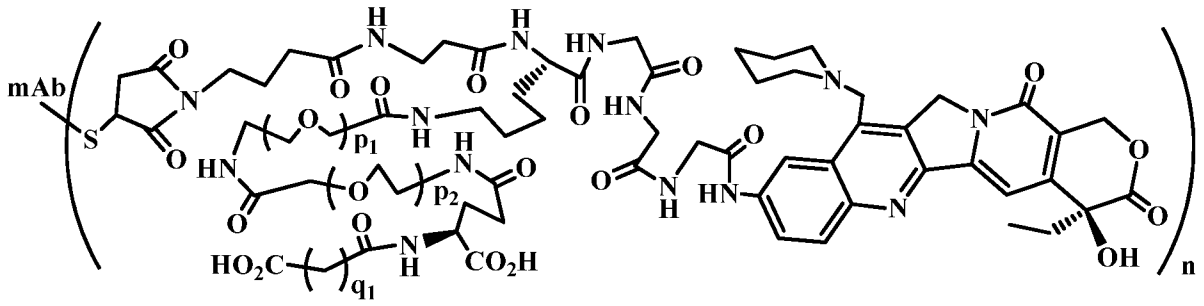
a025,



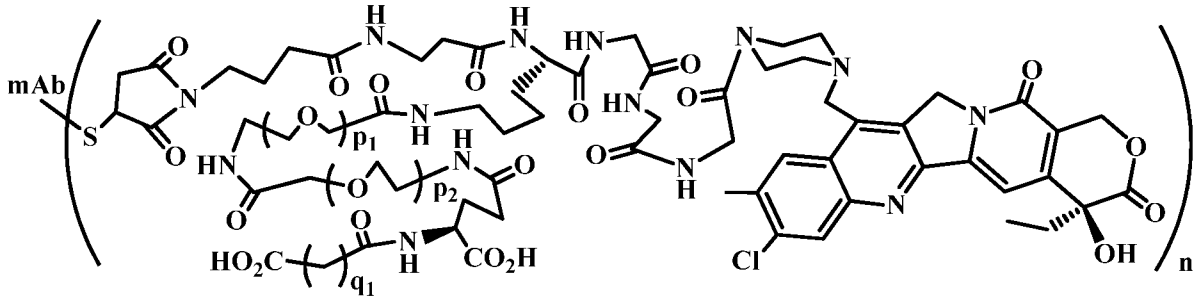
a026,



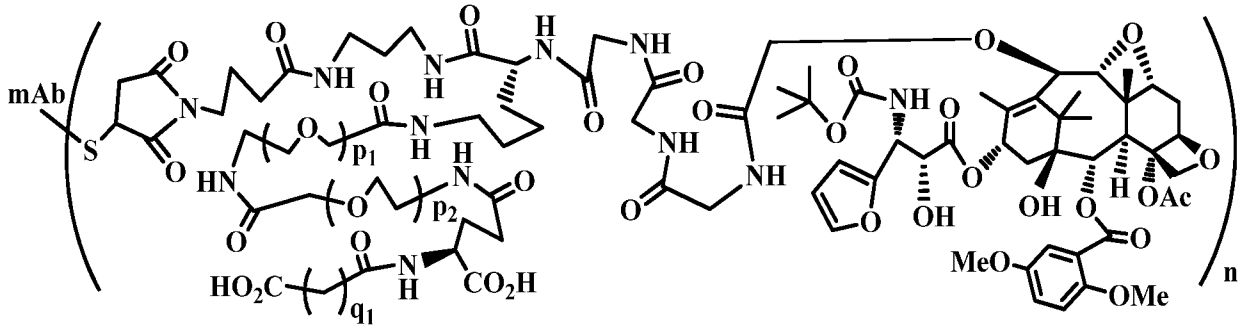
a027,



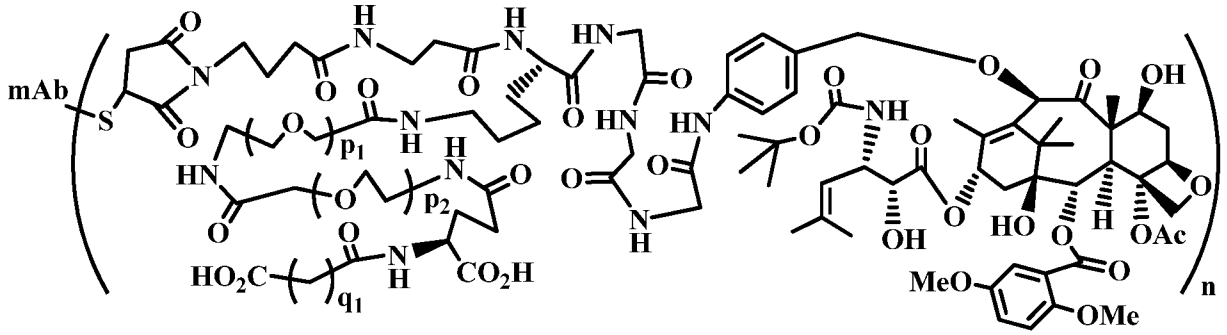
a028，



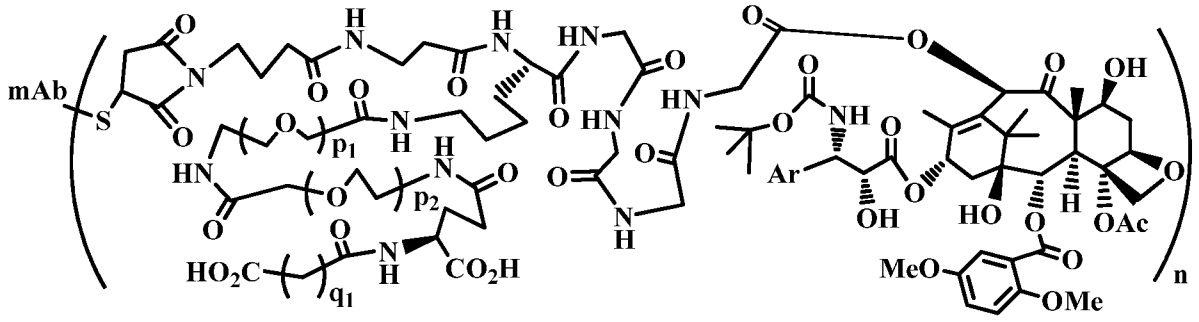
a029,



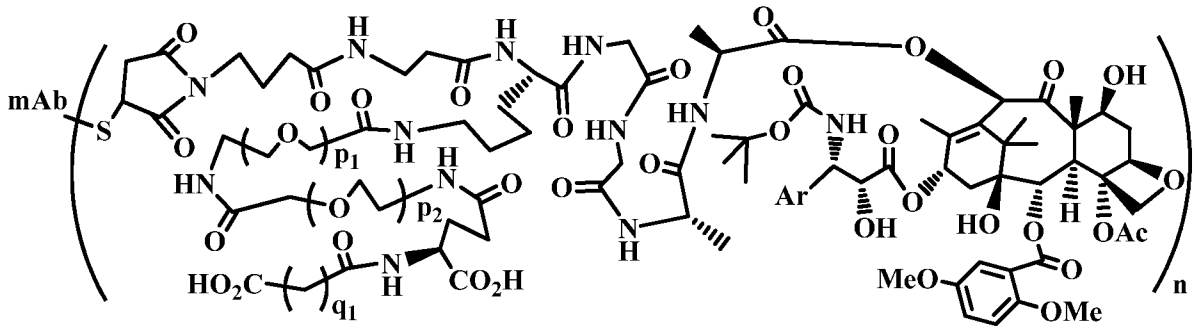
a030,



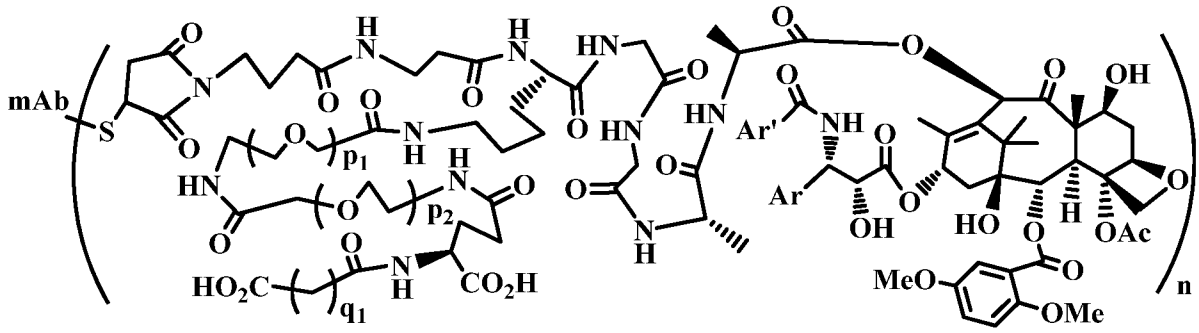
a031,



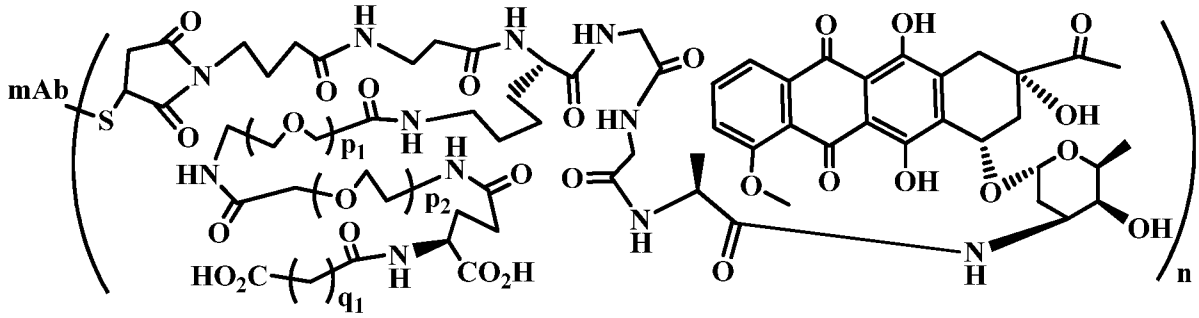
a032,



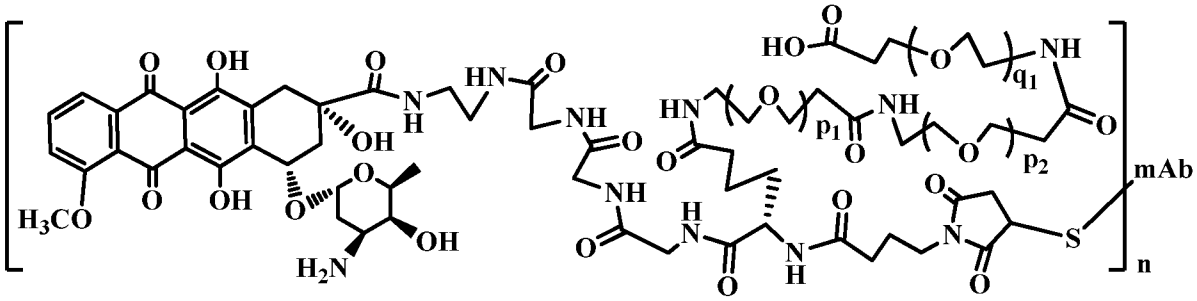
a033,



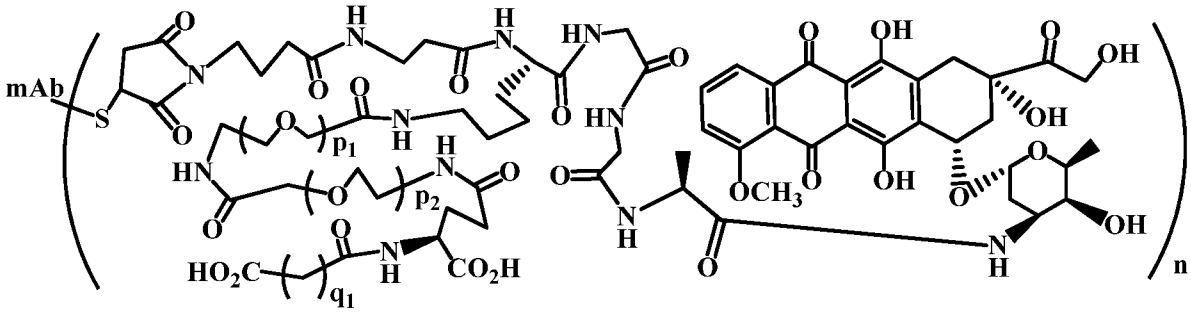
a034,



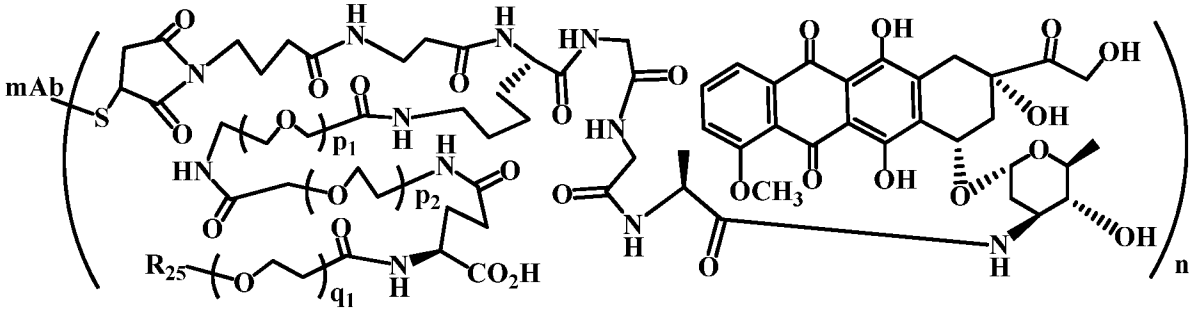
a035,



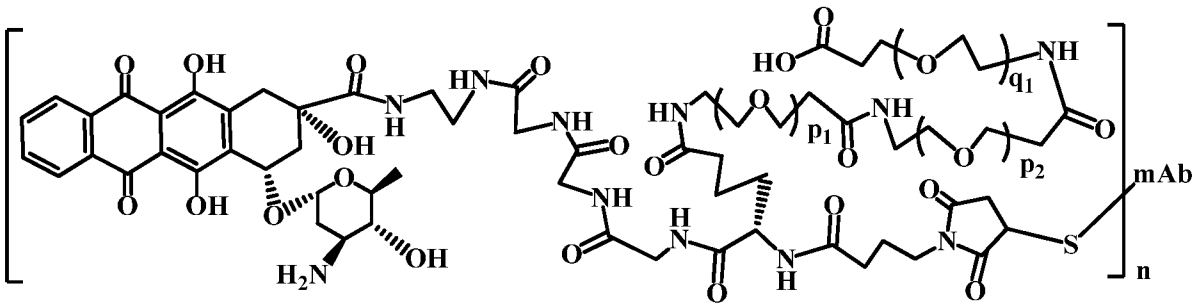
a036,



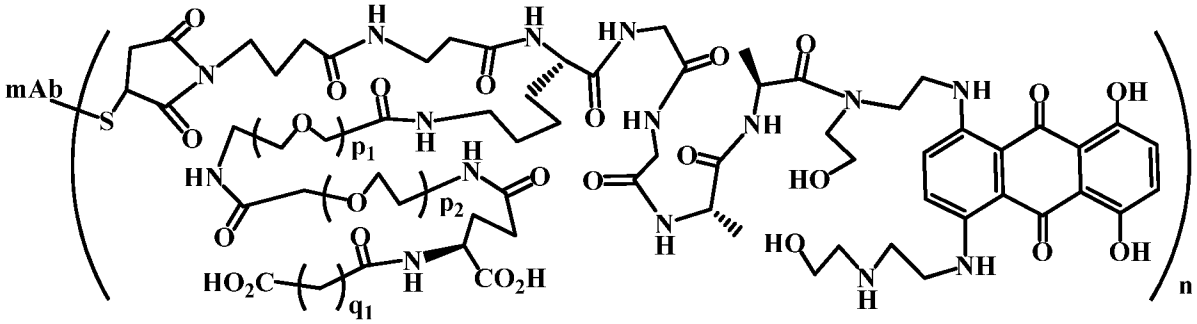
a037,



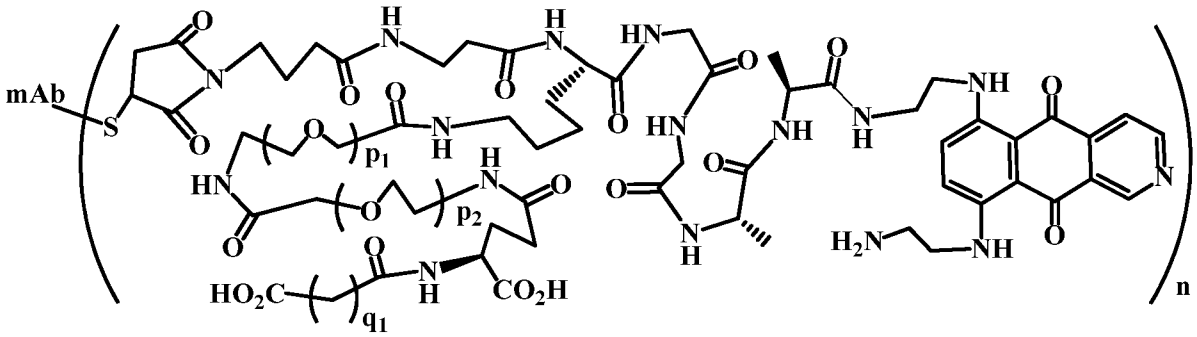
a038,



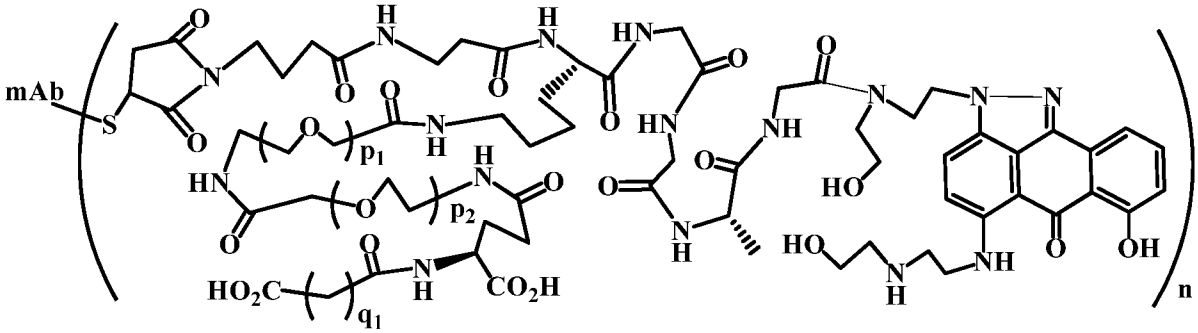
a039,



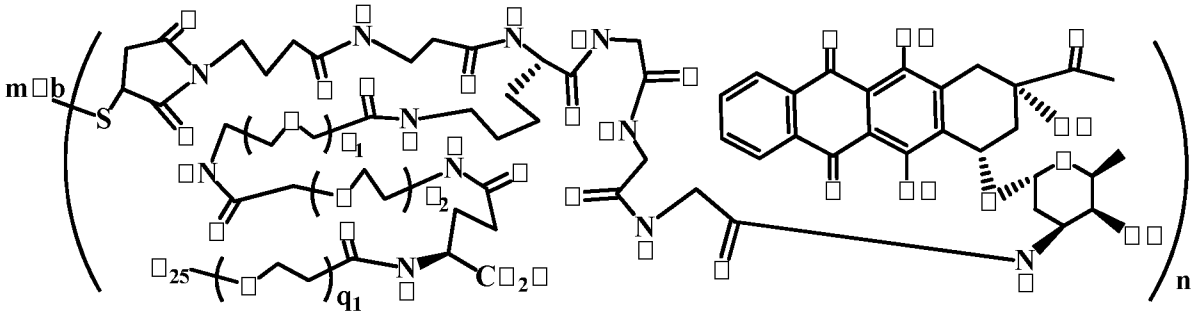
a040,



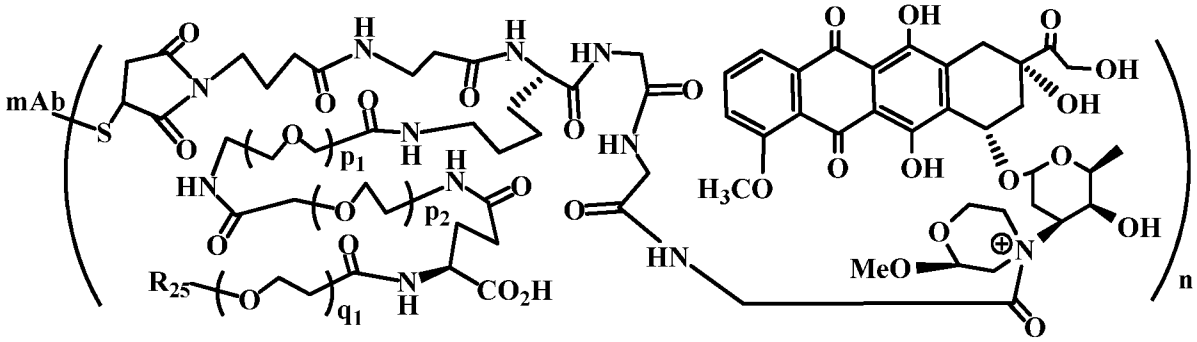
a041,



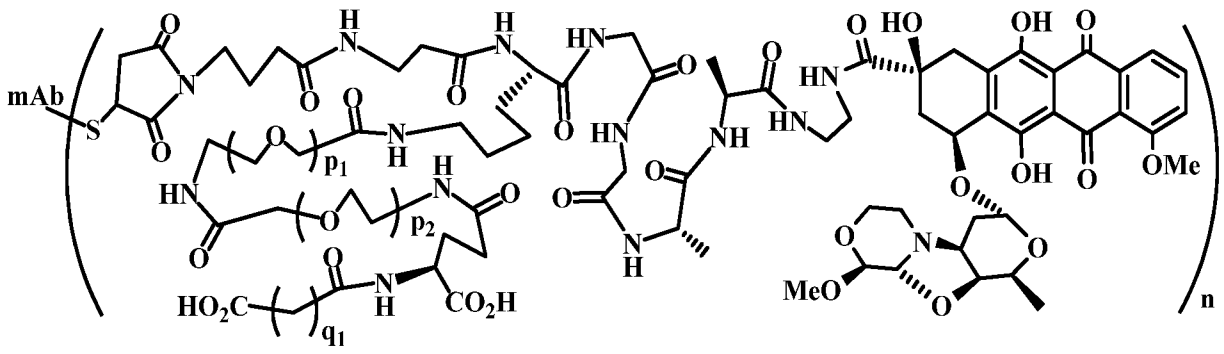
a042,



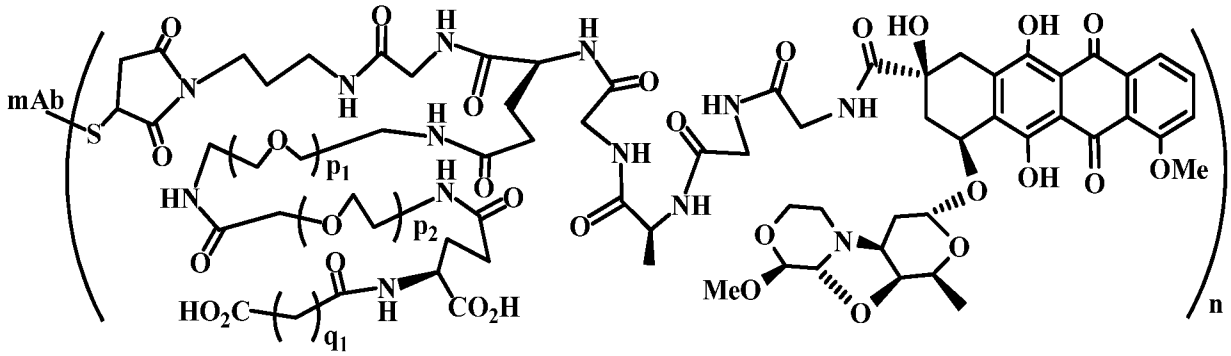
a043,



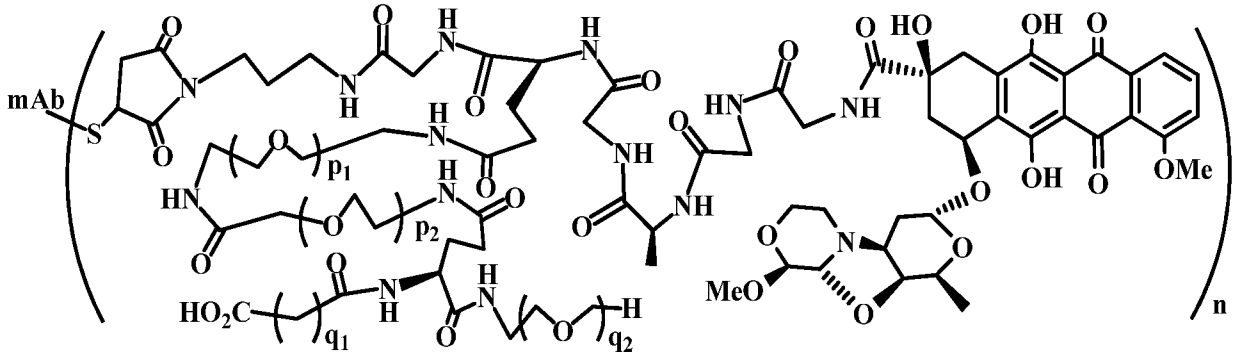
a044,



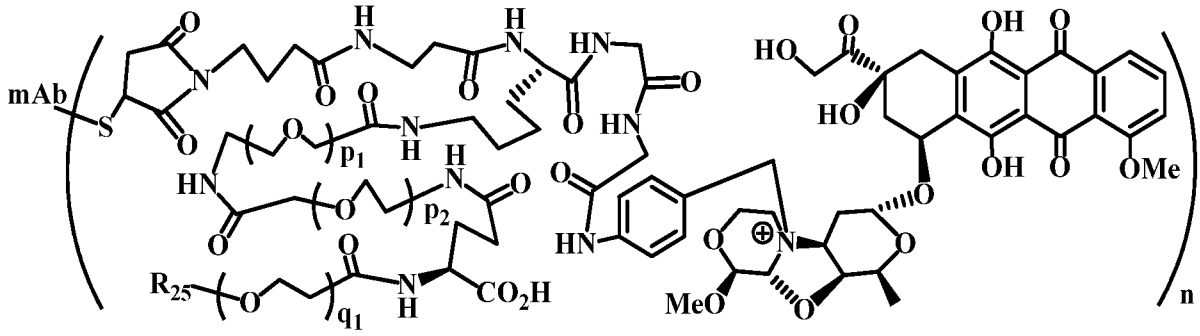
a045,



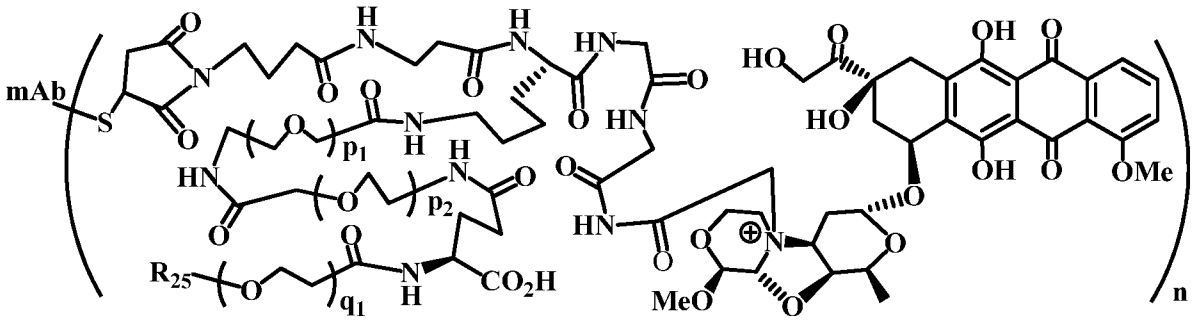
a046,



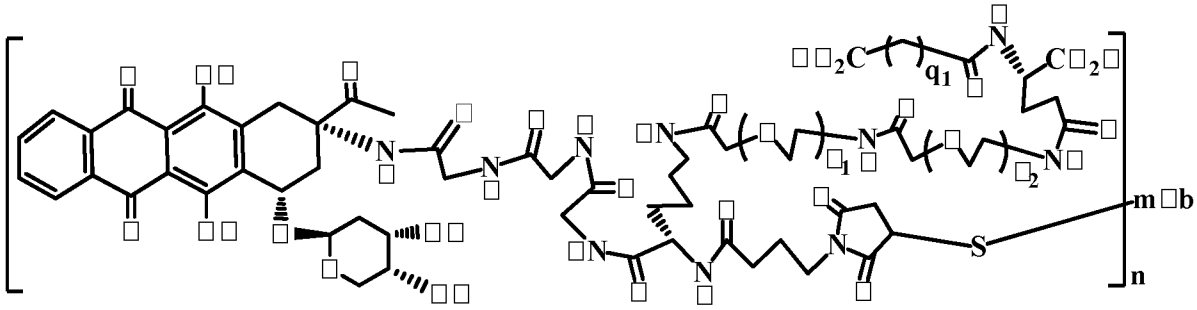
a047,



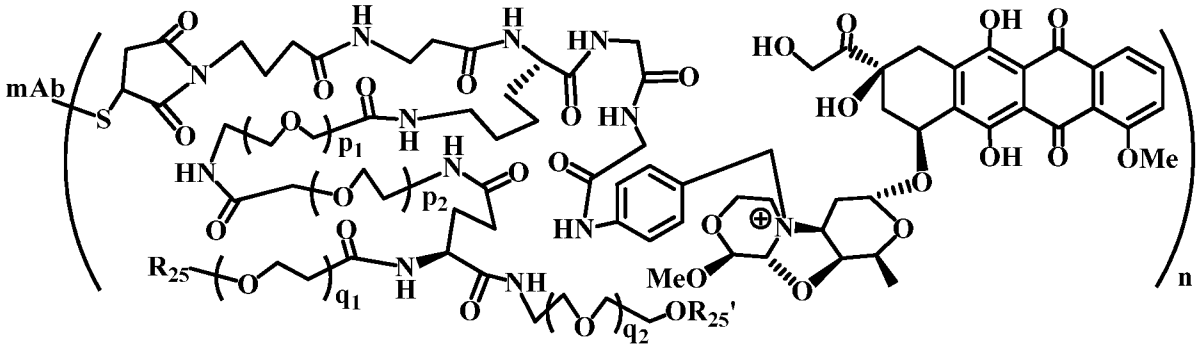
a048,



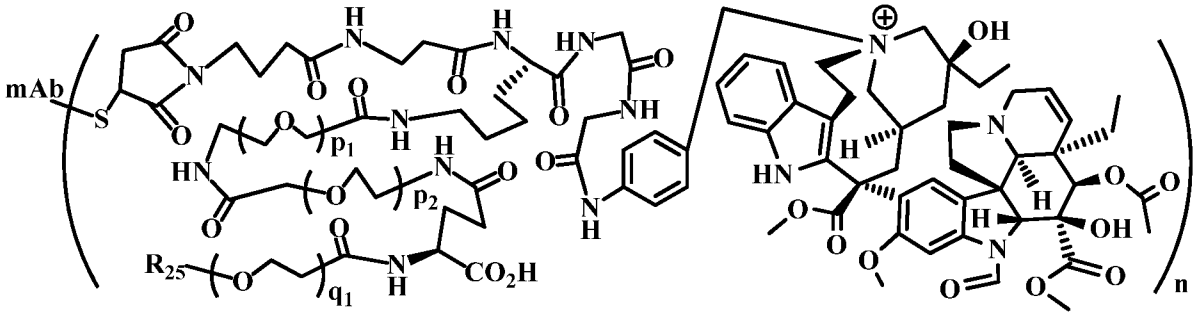
a049,



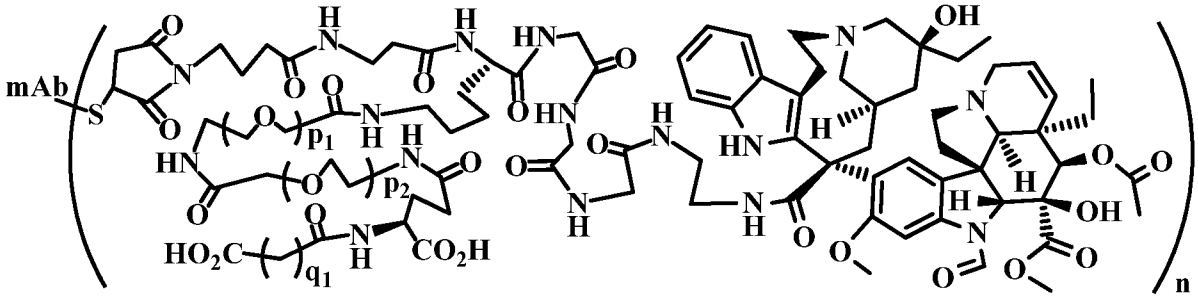
a050,



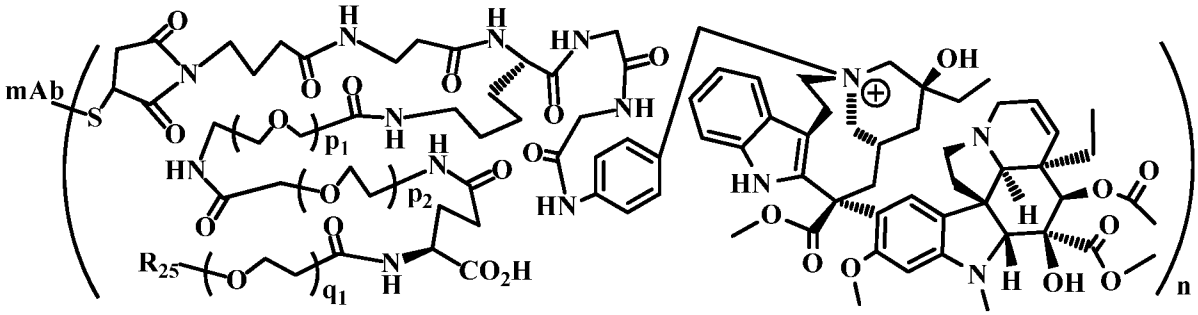
a051,



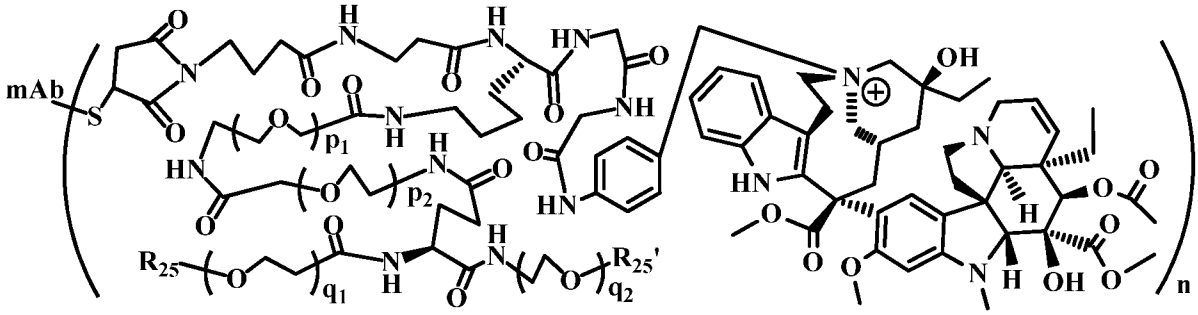
a052,



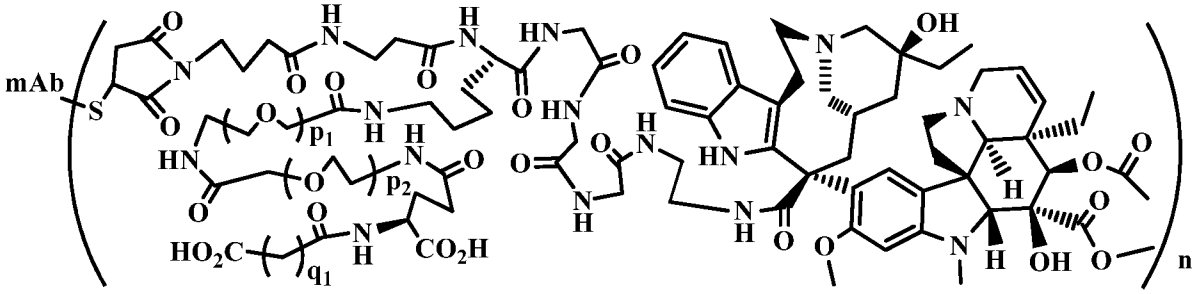
a053,



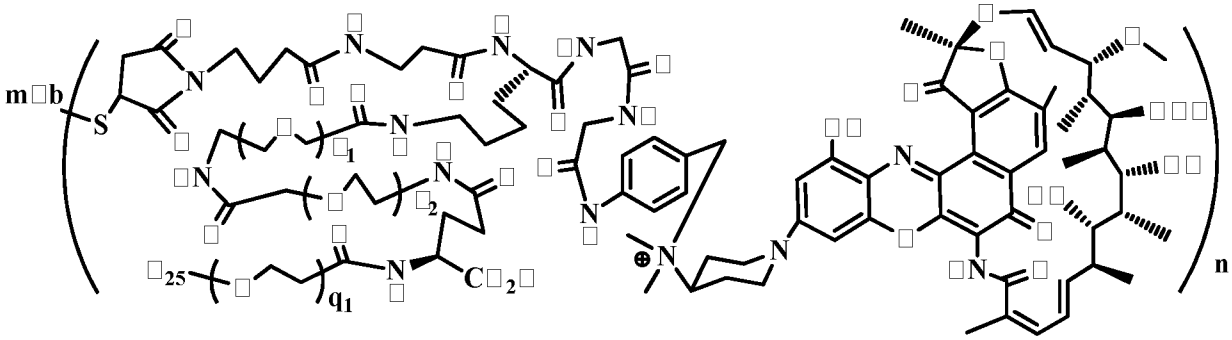
a054,



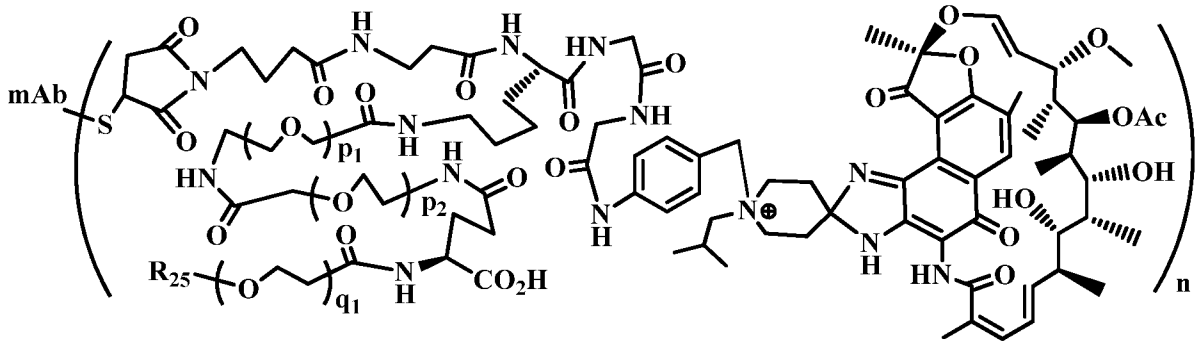
a055,



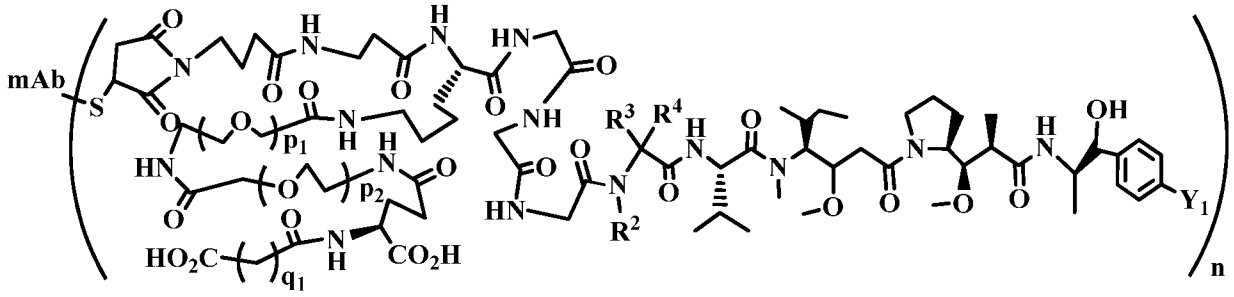
a056,



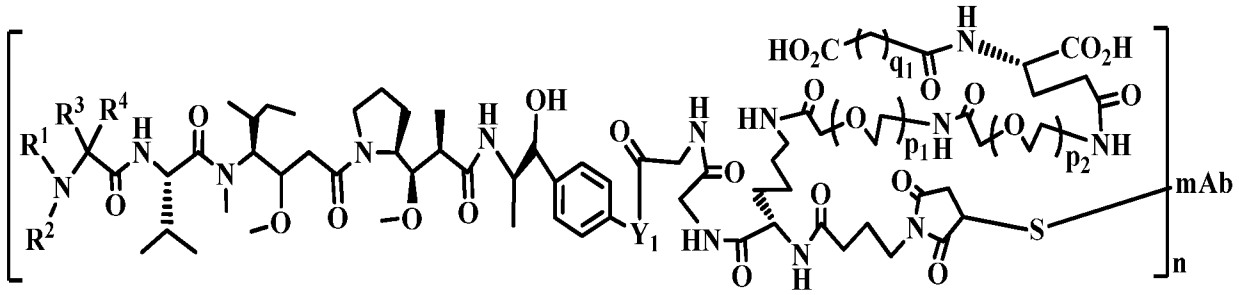
a057,



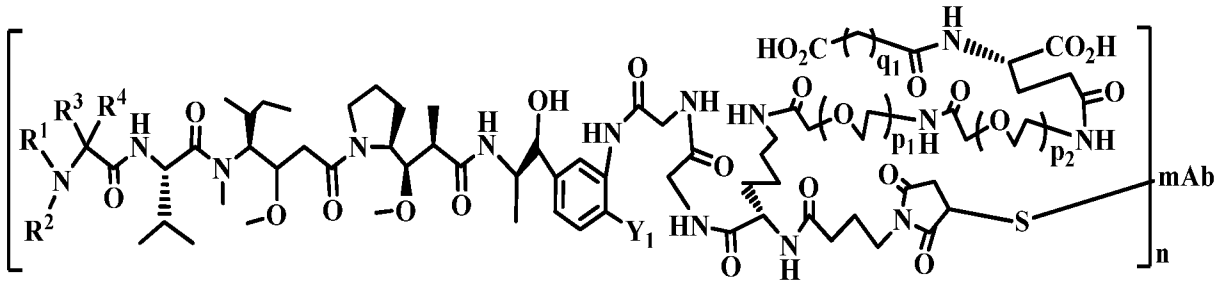
a058,



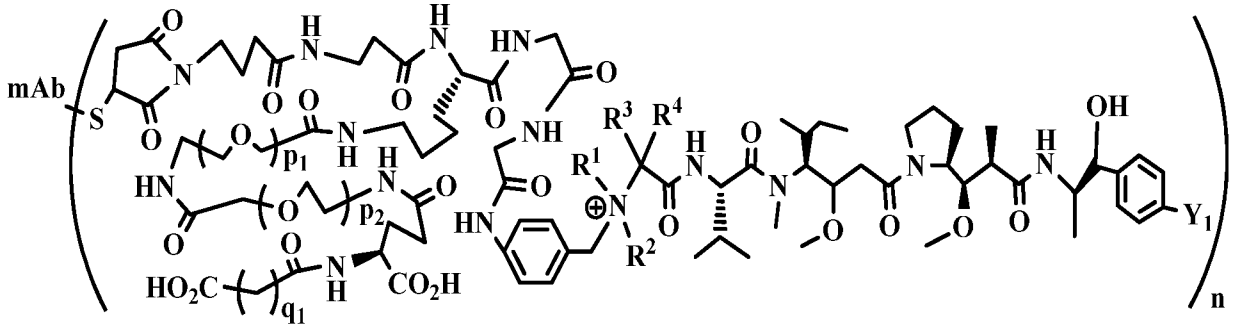
a059,



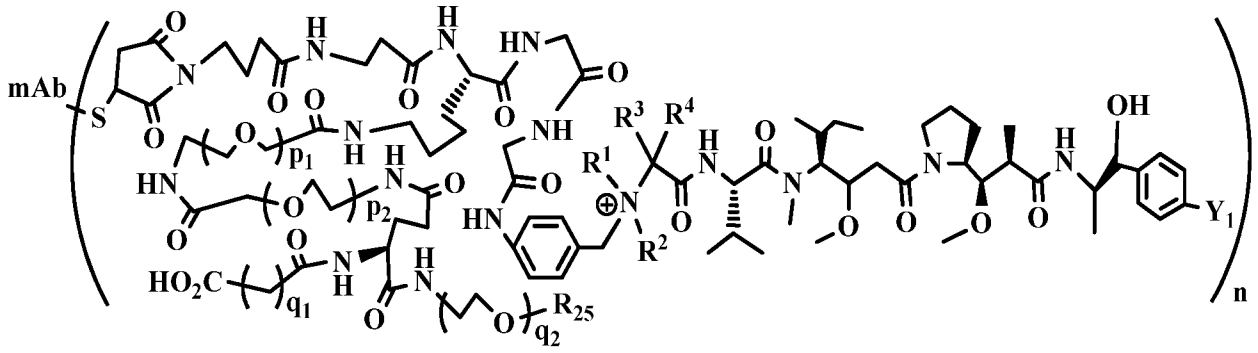
a060,



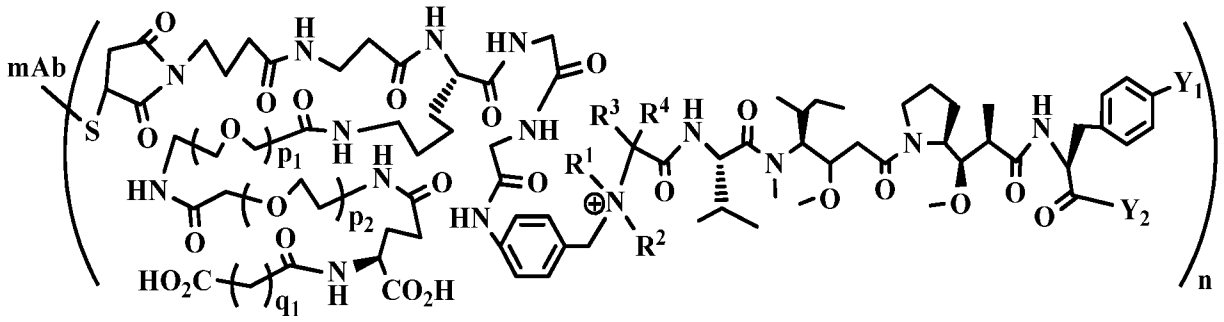
a061,



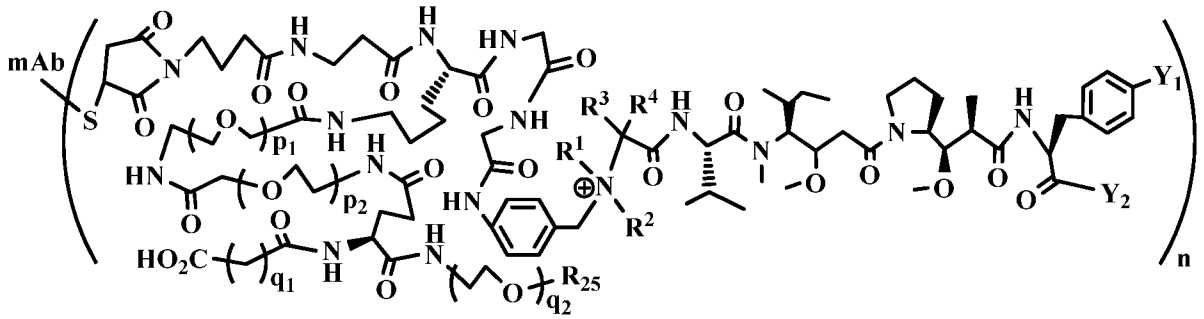
a062,



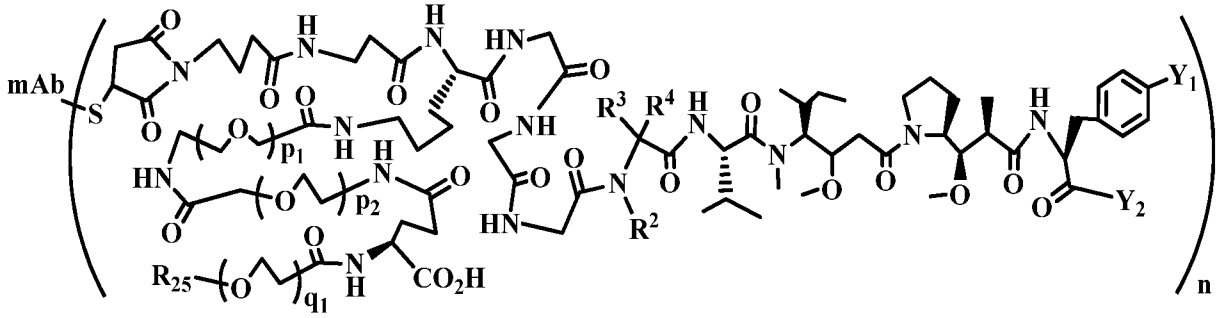
a063,



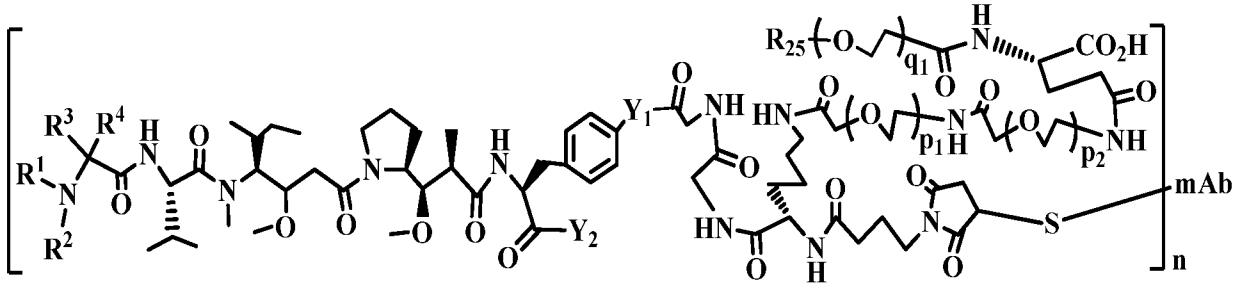
a064,



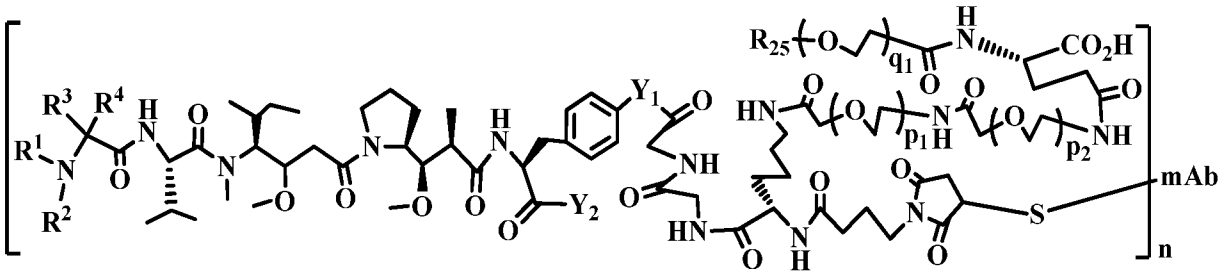
a065,



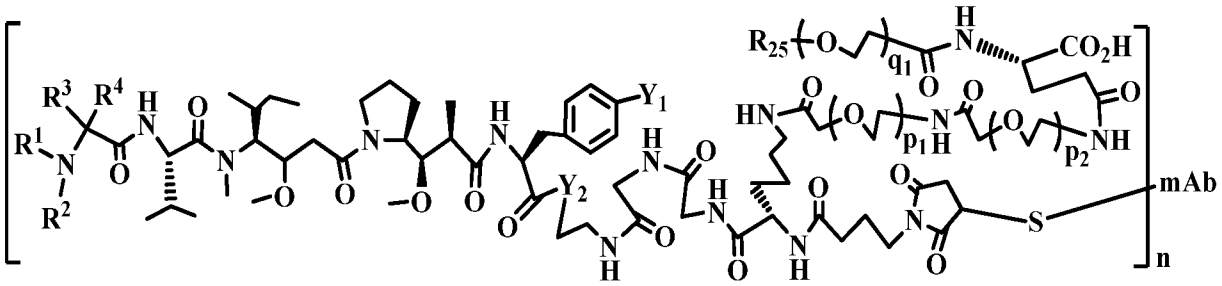
a066,



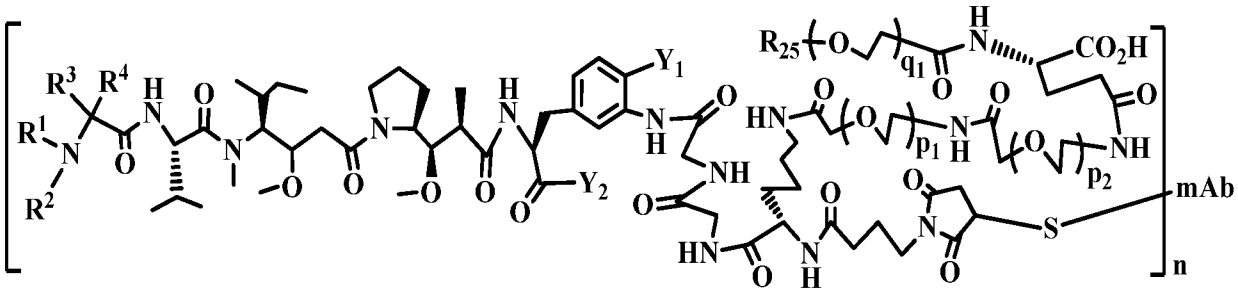
a067,



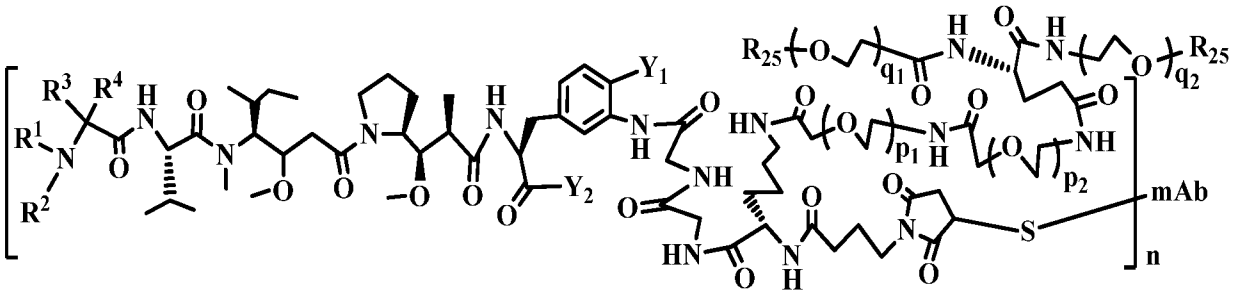
a068,



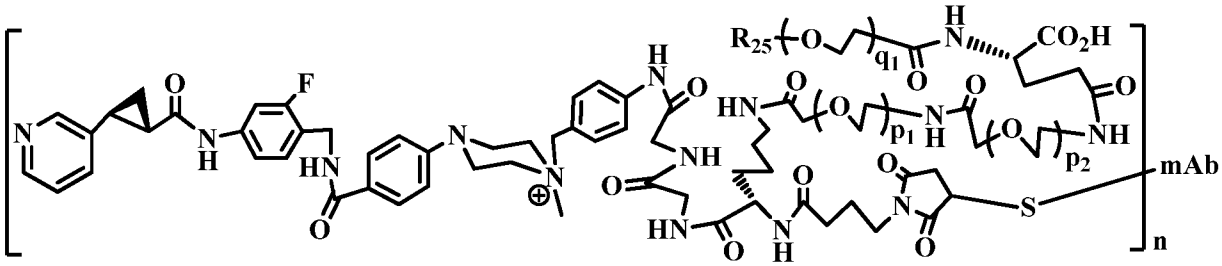
a069,



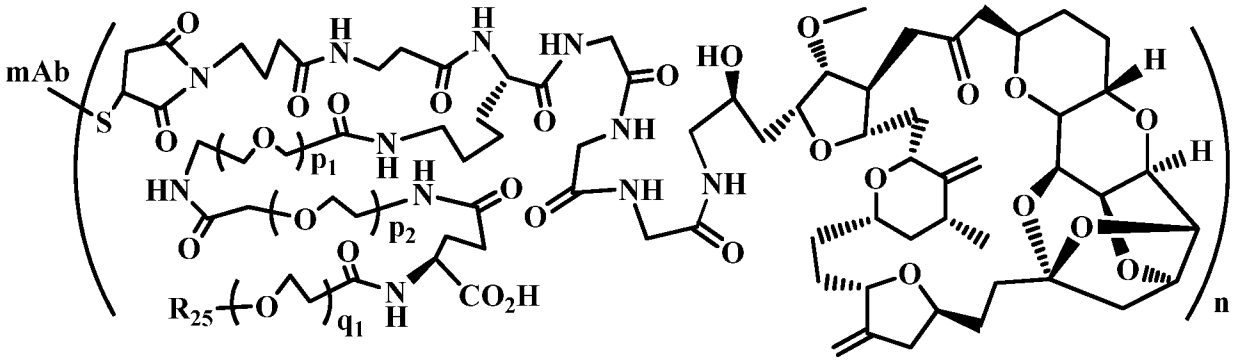
a070,



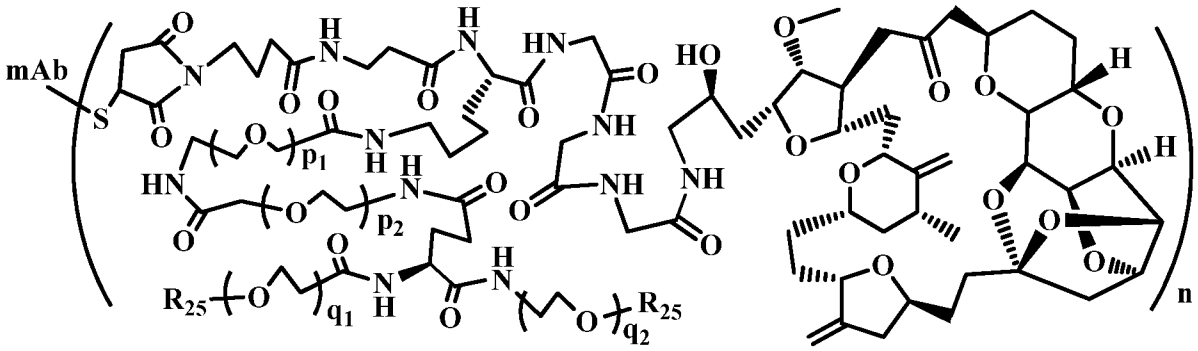
a071,



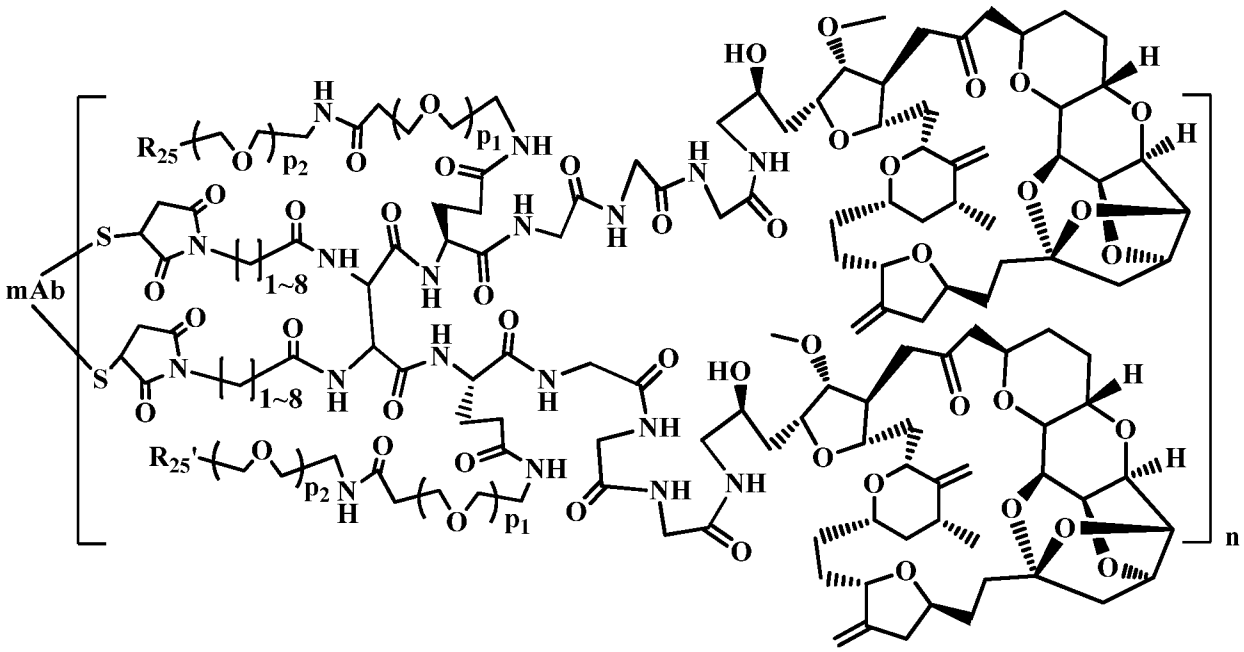
a072,



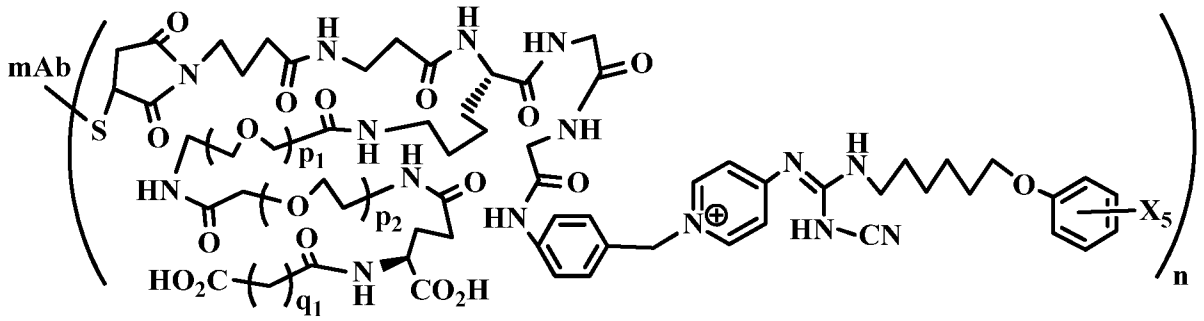
a073,



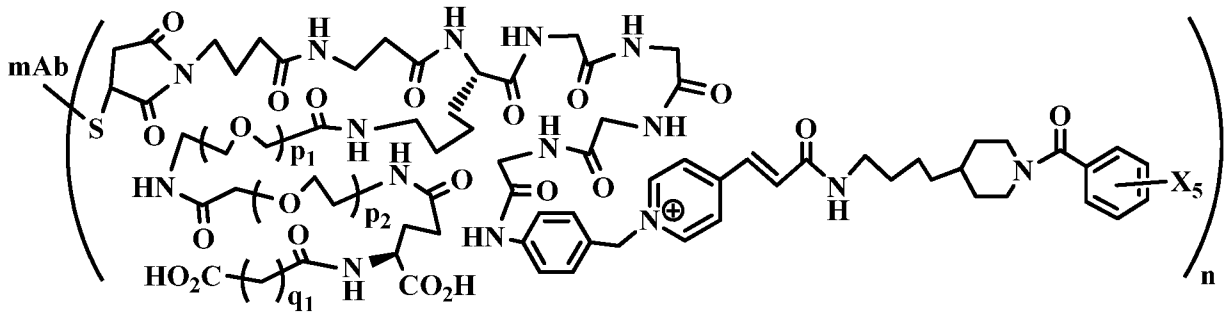
a074,



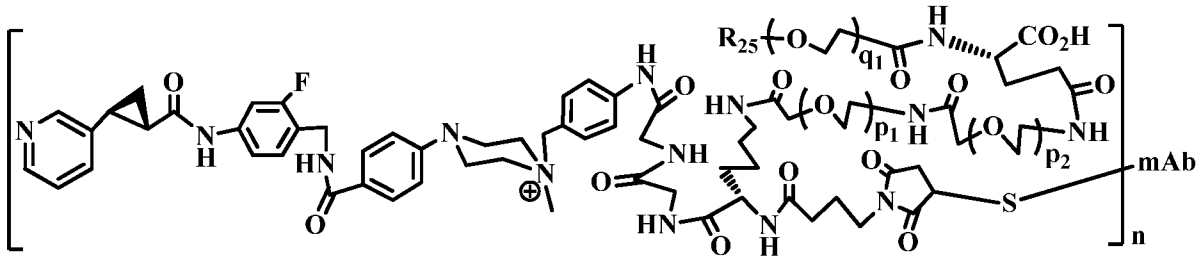
a075,



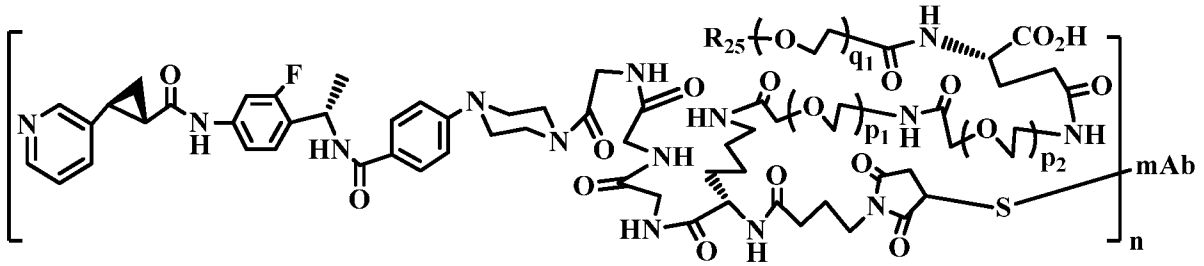
a076,



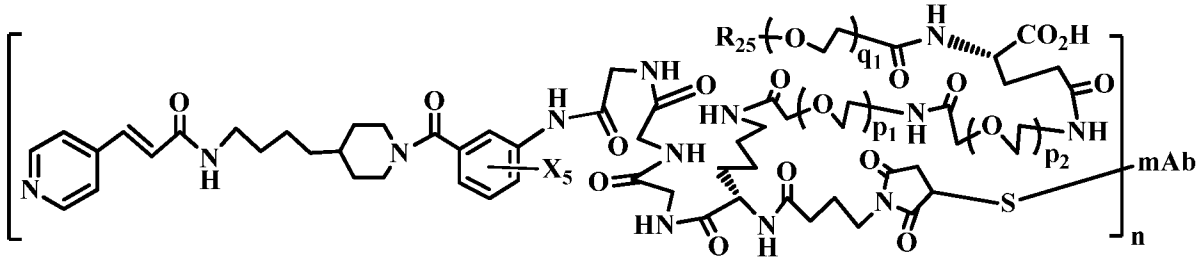
a077,



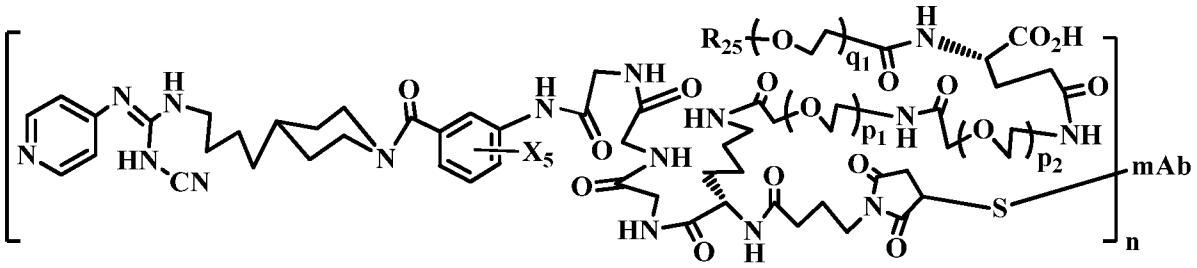
a078,



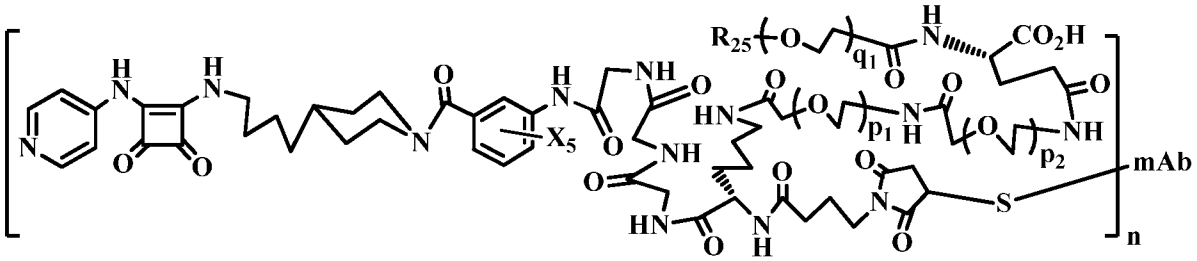
a079,



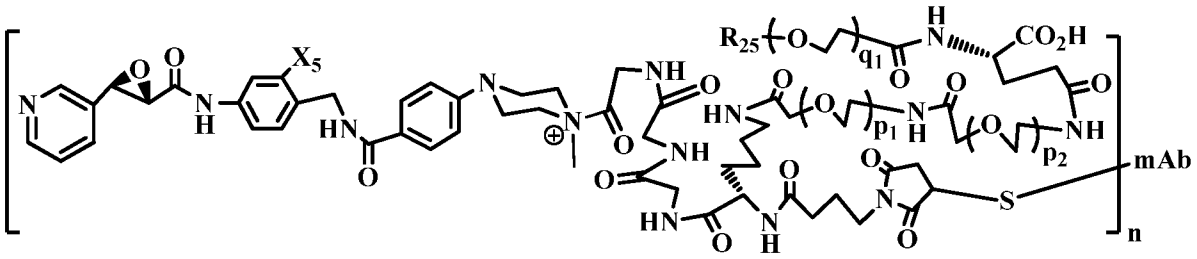
a080,



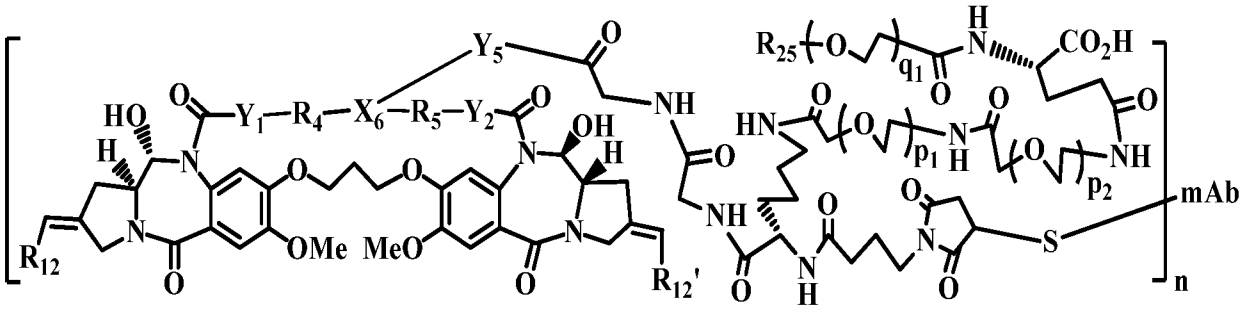
a081,



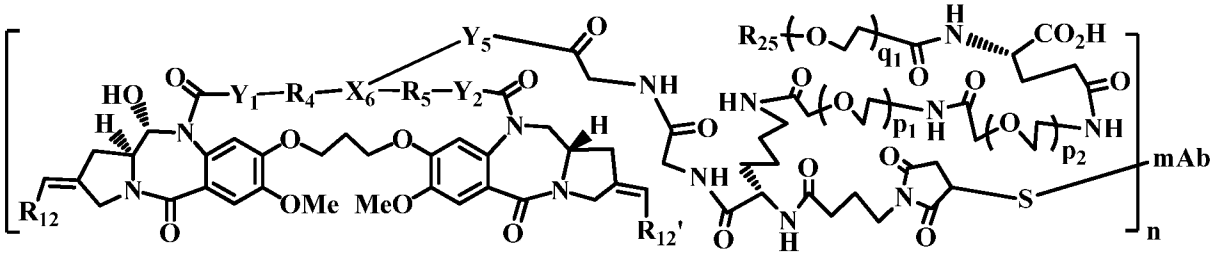
a082,



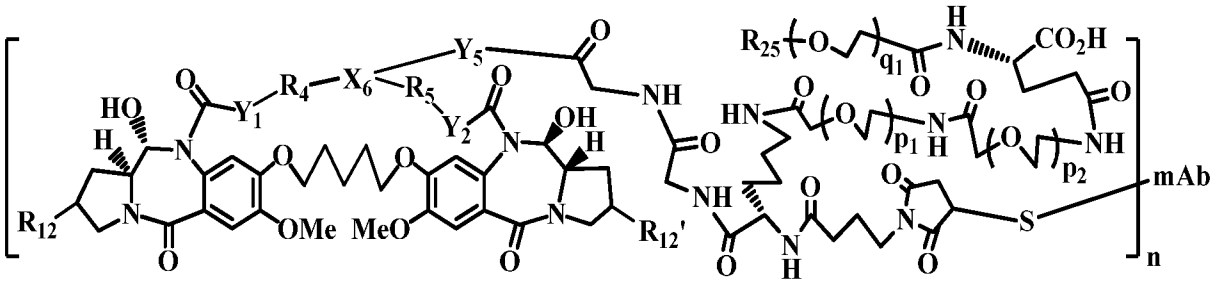
a083,



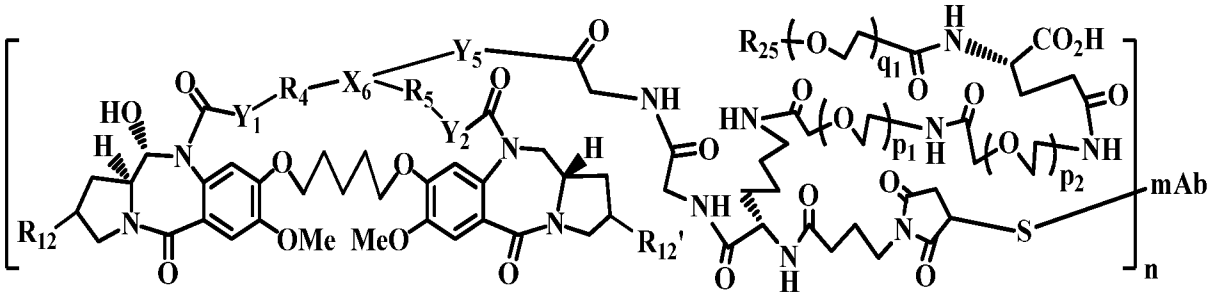
a084,



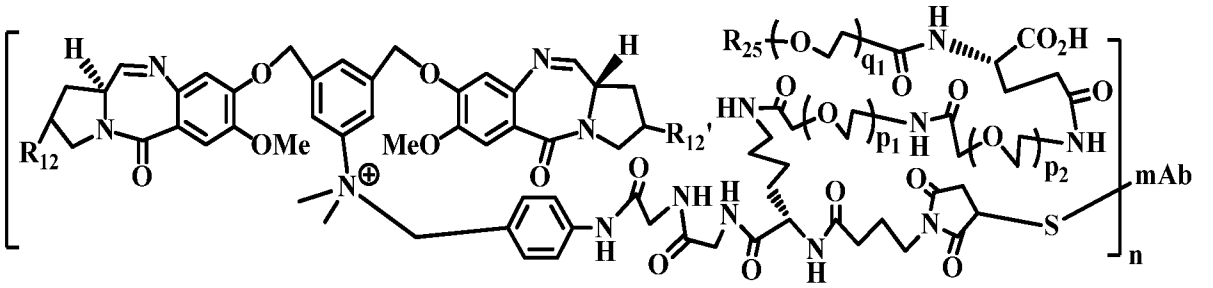
a085,



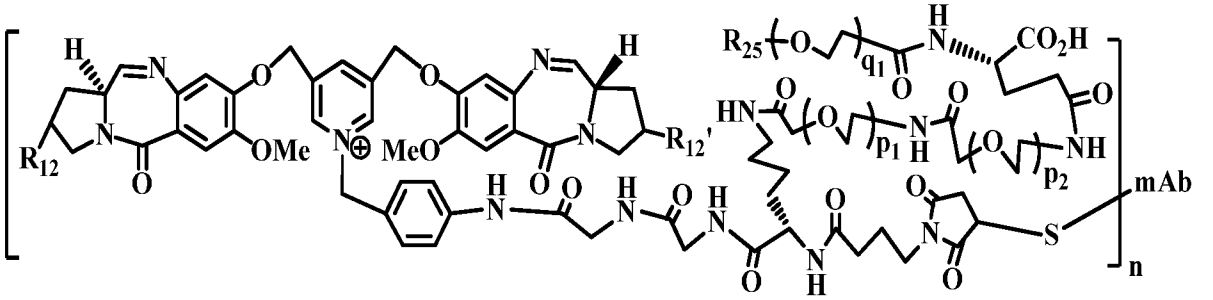
a086,



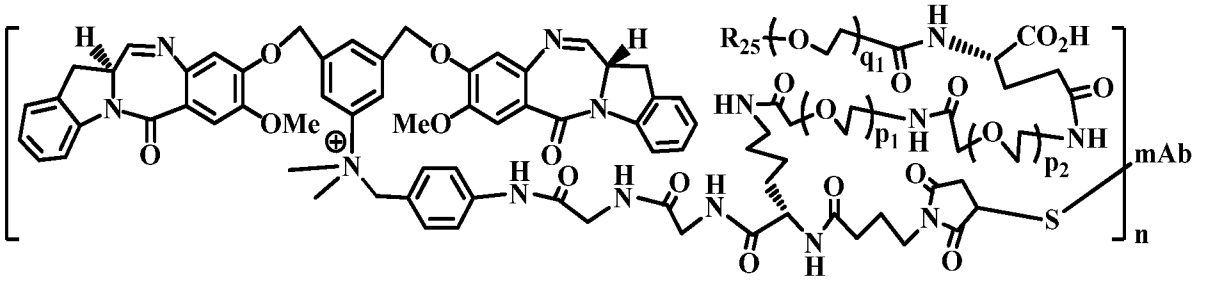
a087,



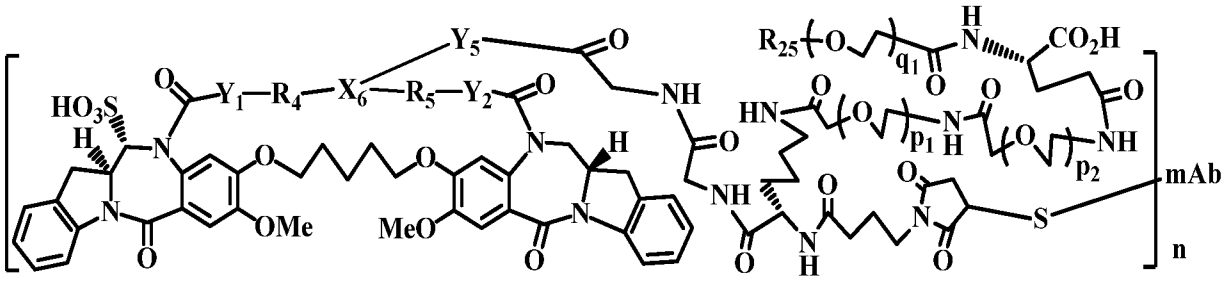
a088,



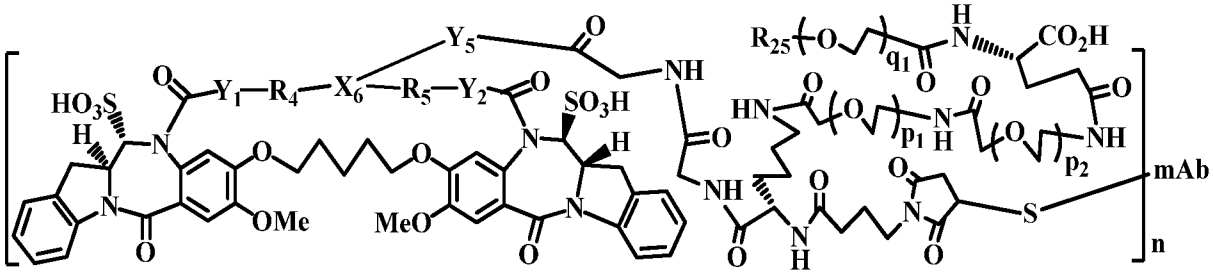
a089,



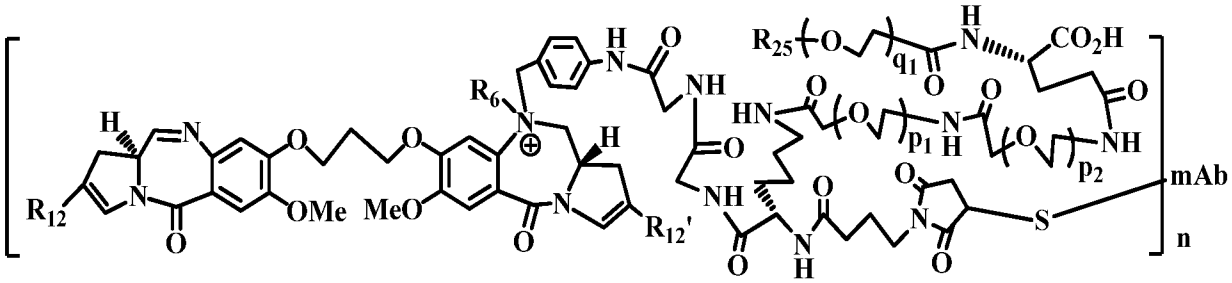
a090,



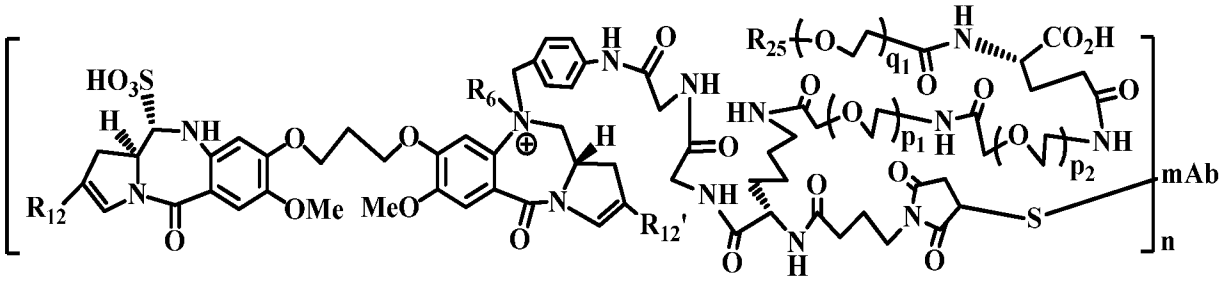
a091,



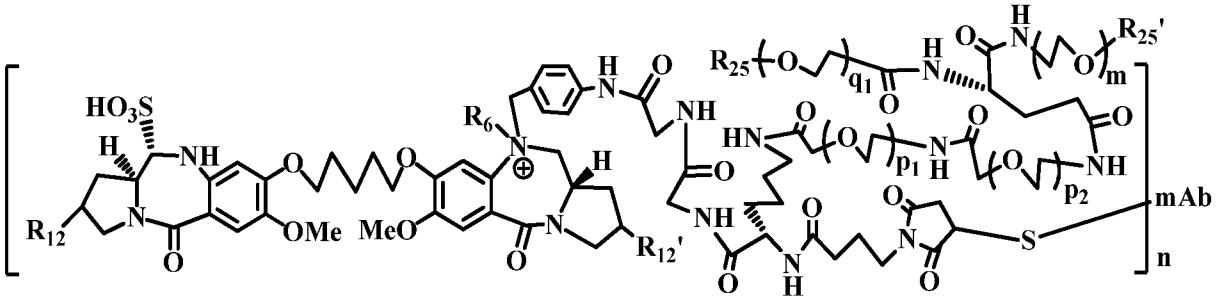
a092,



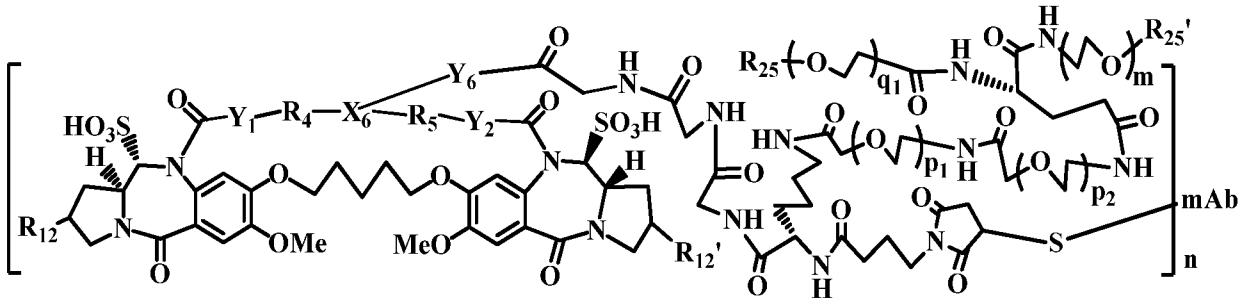
a093,



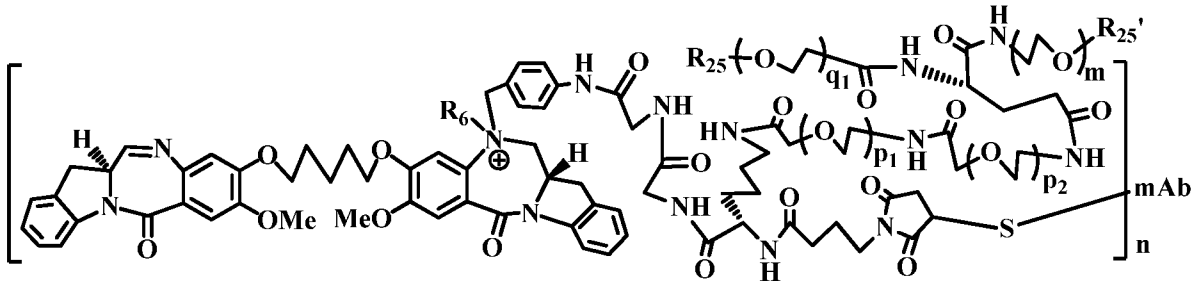
a094,



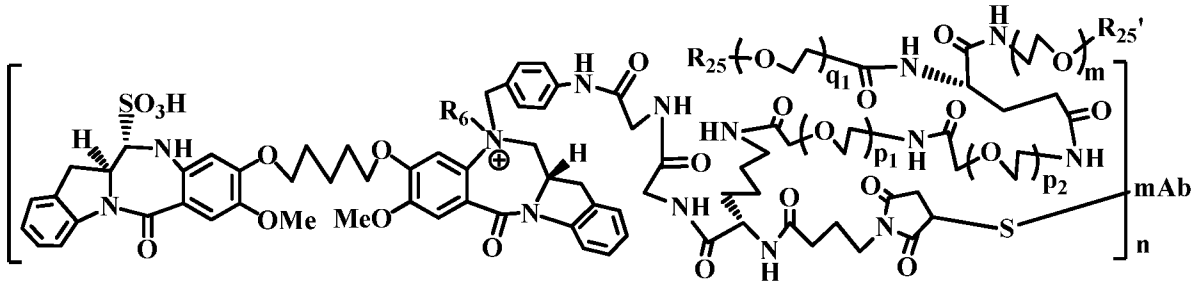
a095,



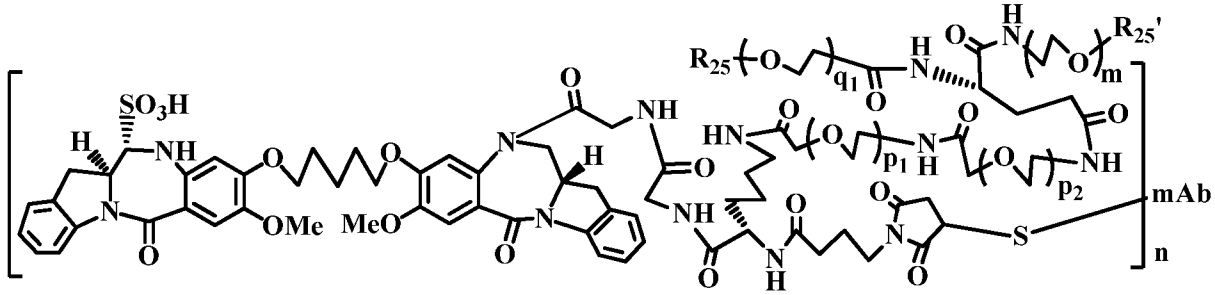
a096,



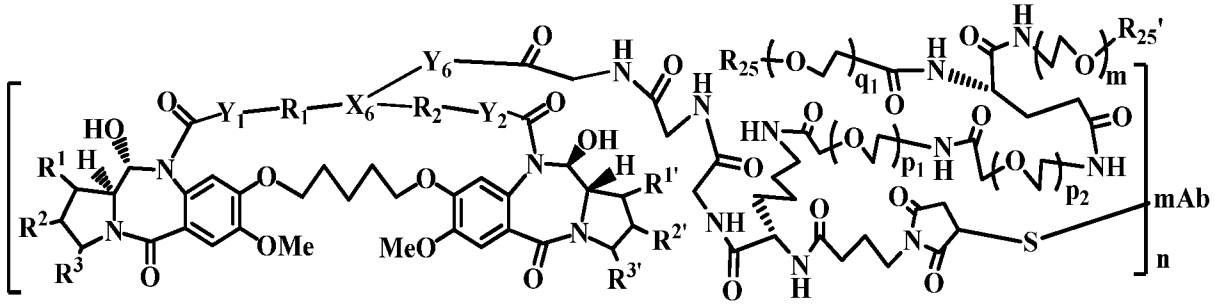
a097,



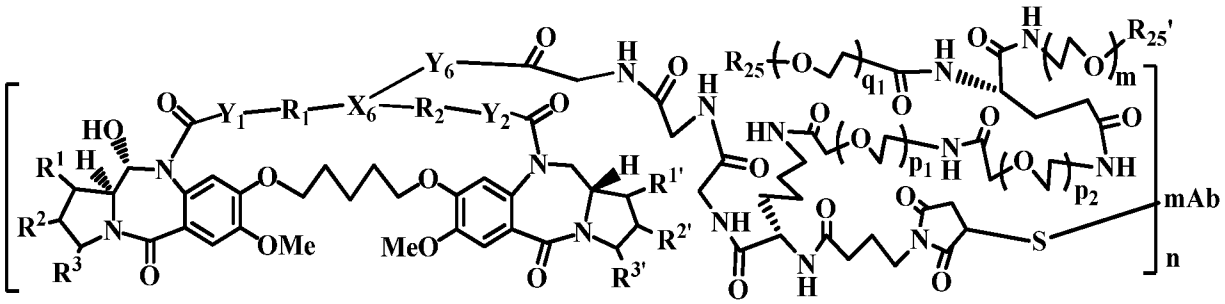
a098,



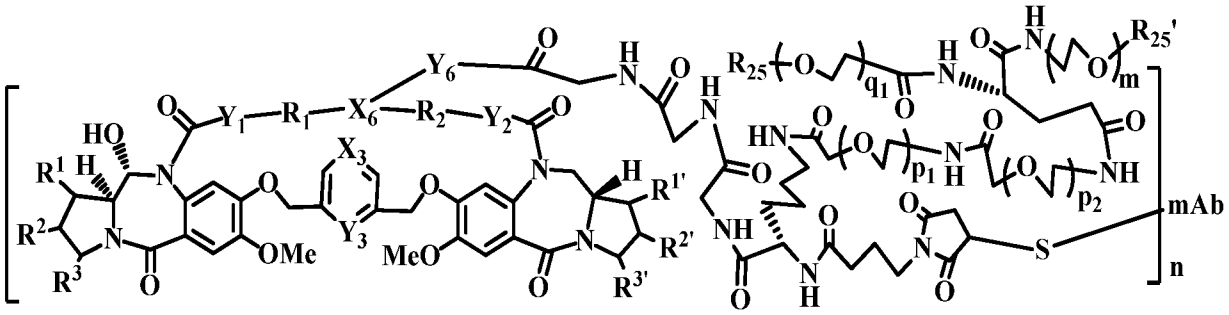
a099,



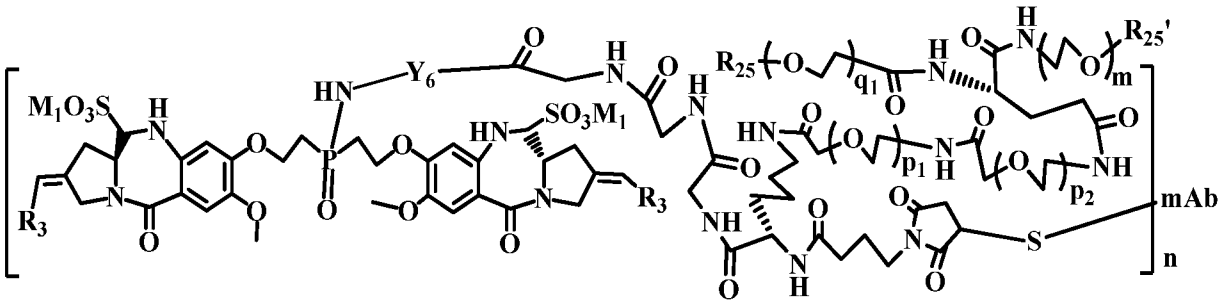
a100,



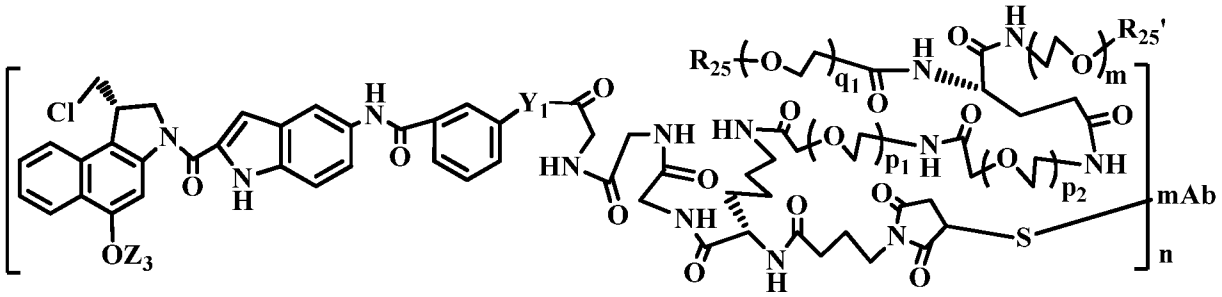
a101,



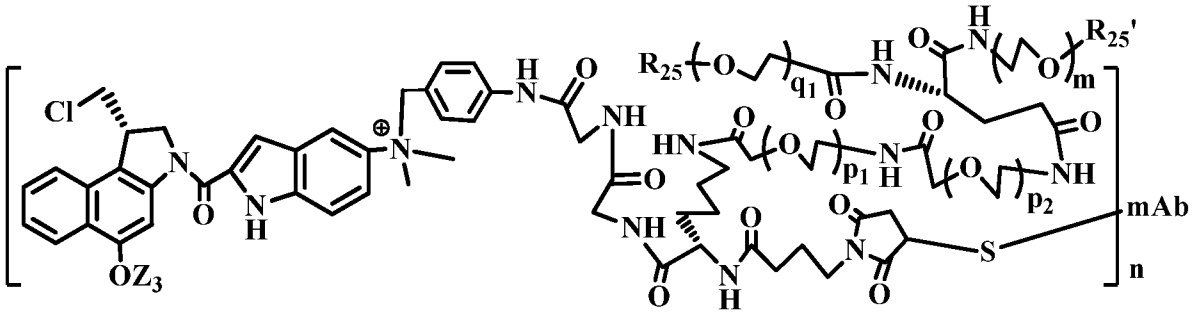
a102,



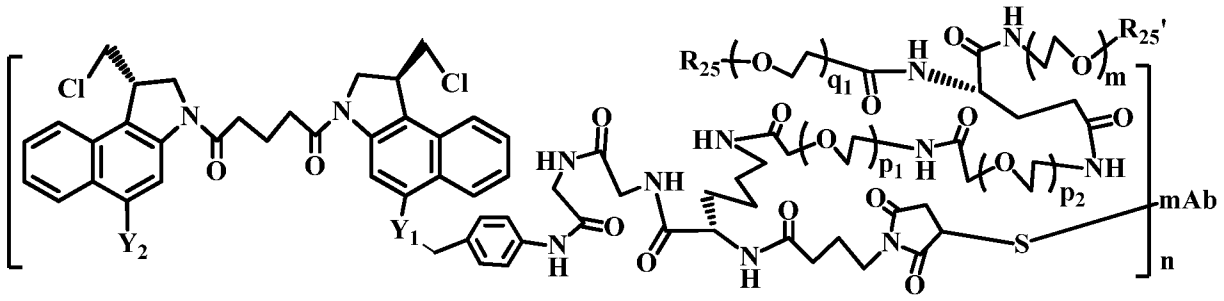
a103,



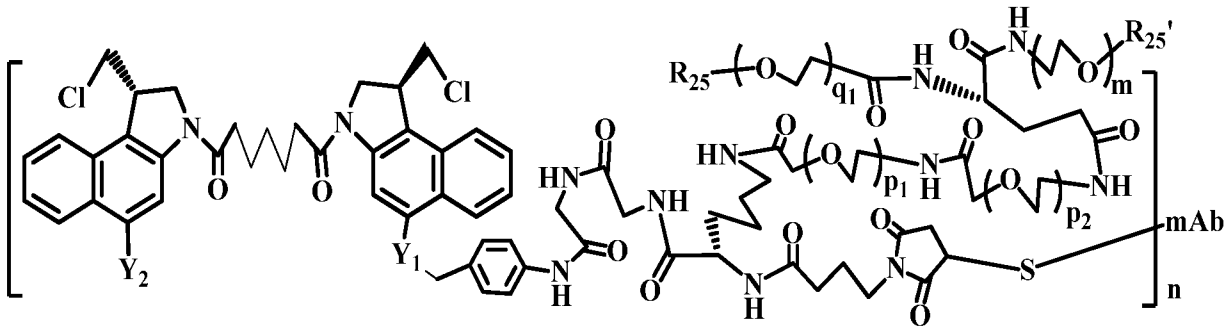
a104,



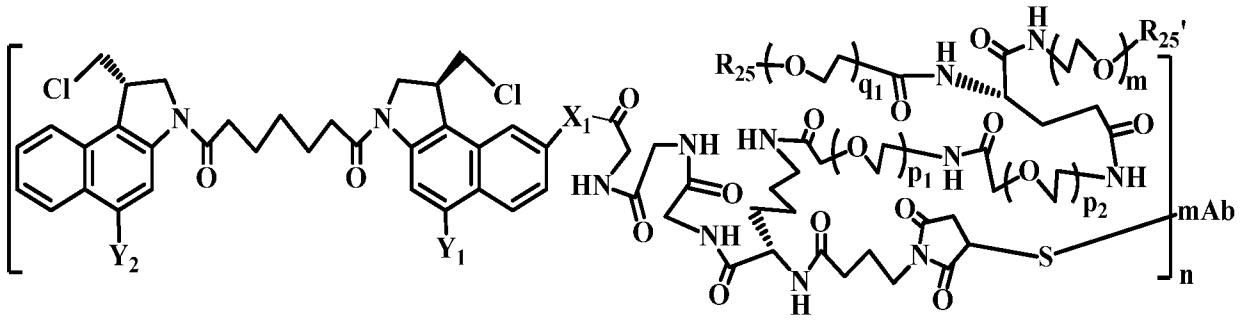
a105,



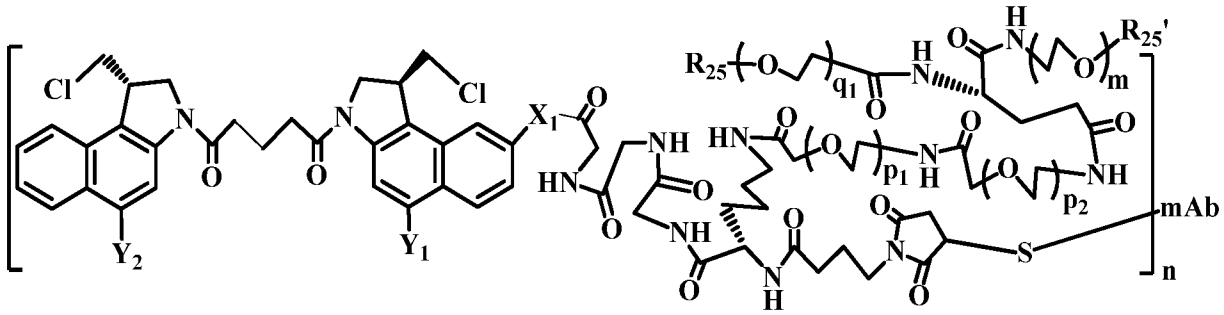
a106,



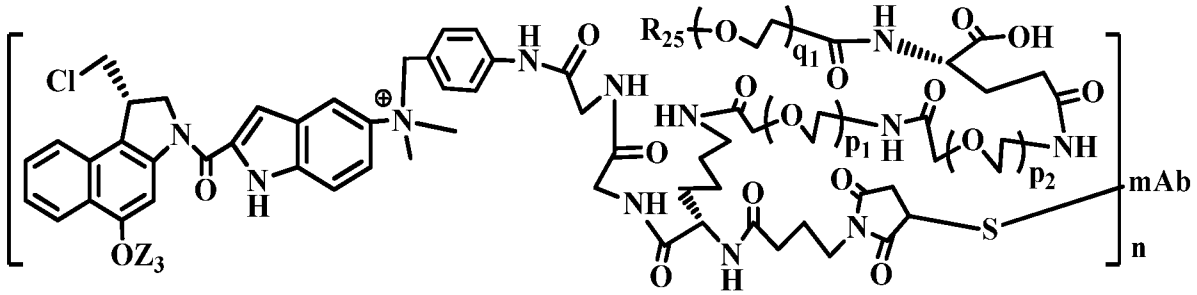
a107,



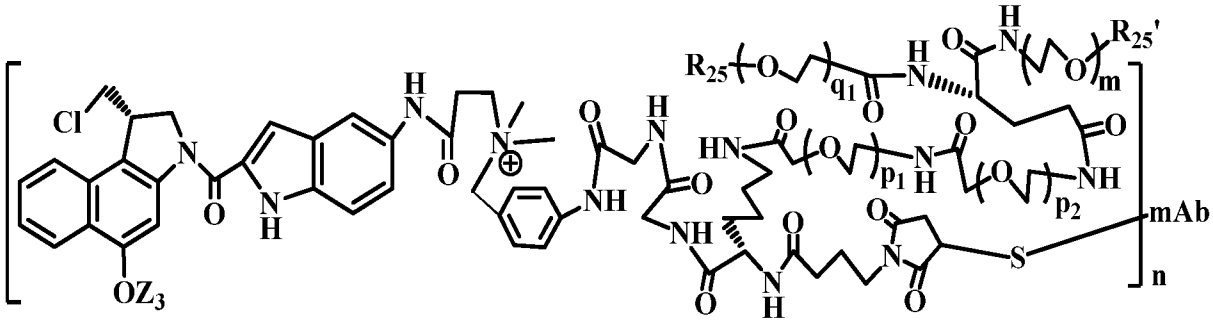
a108,



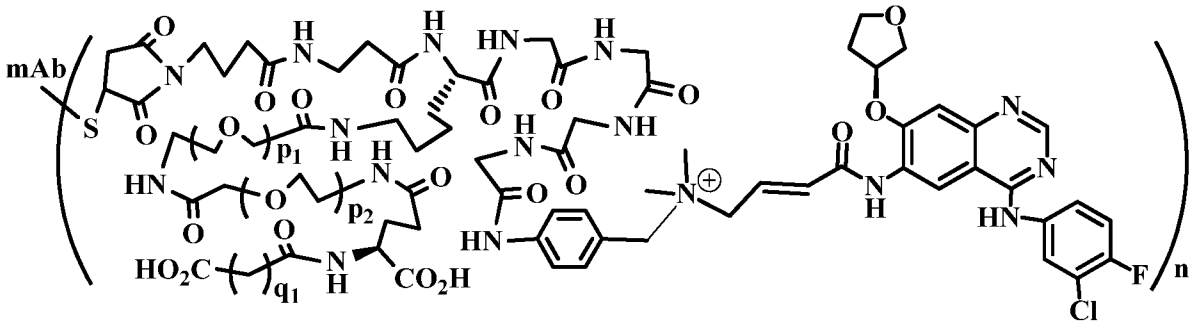
a109,



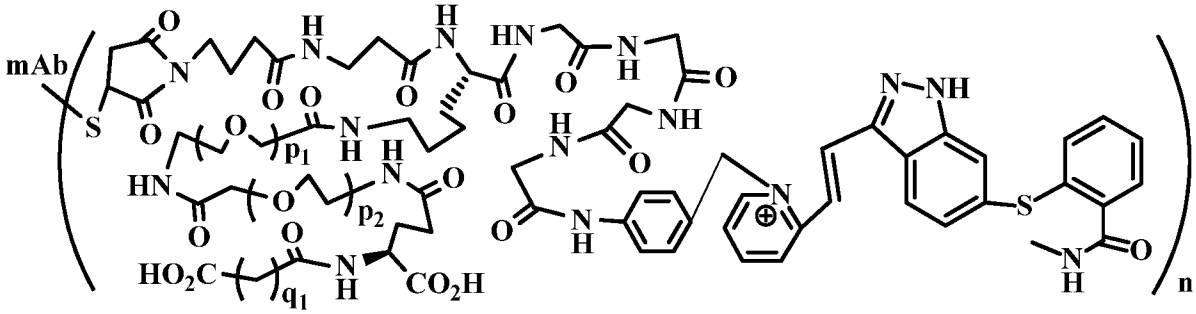
a110,



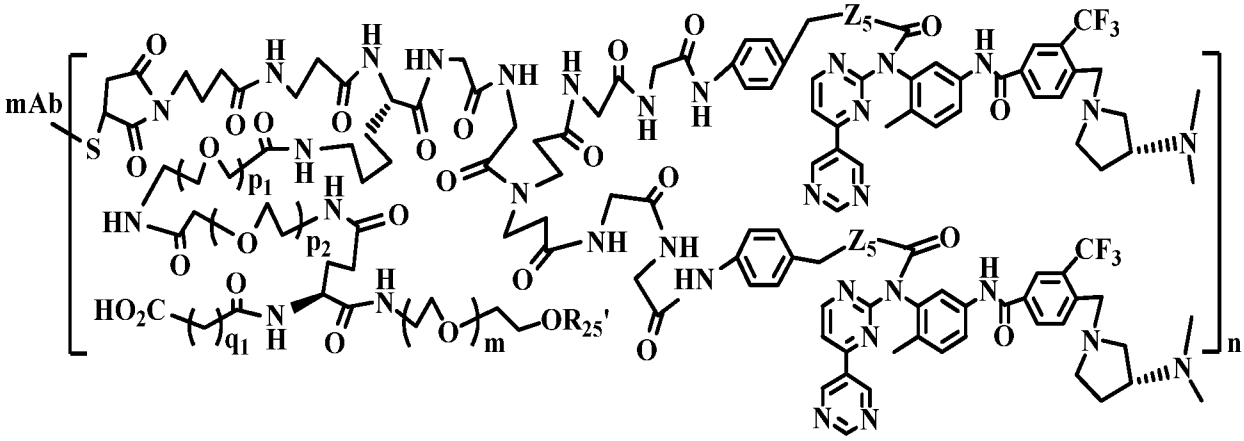
a111,



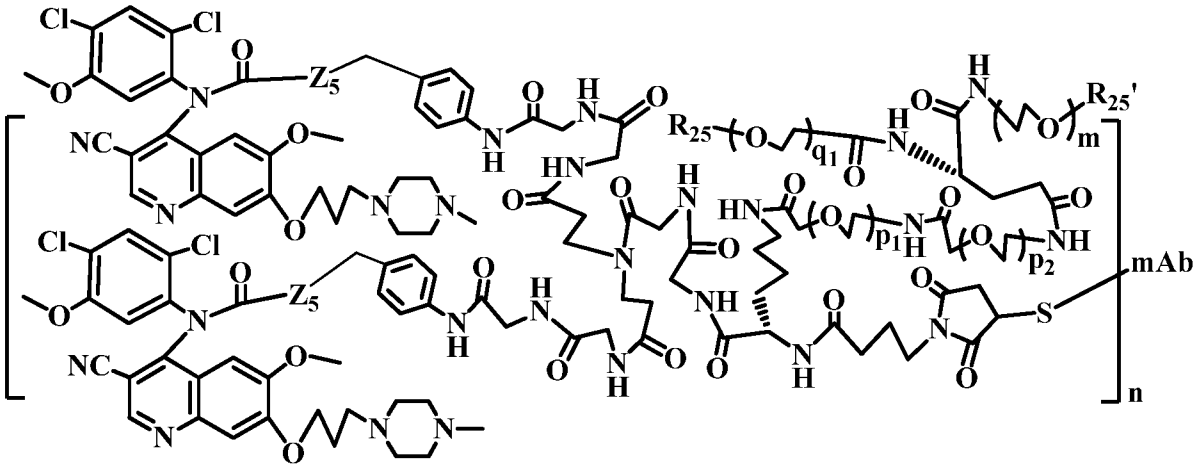
a112,



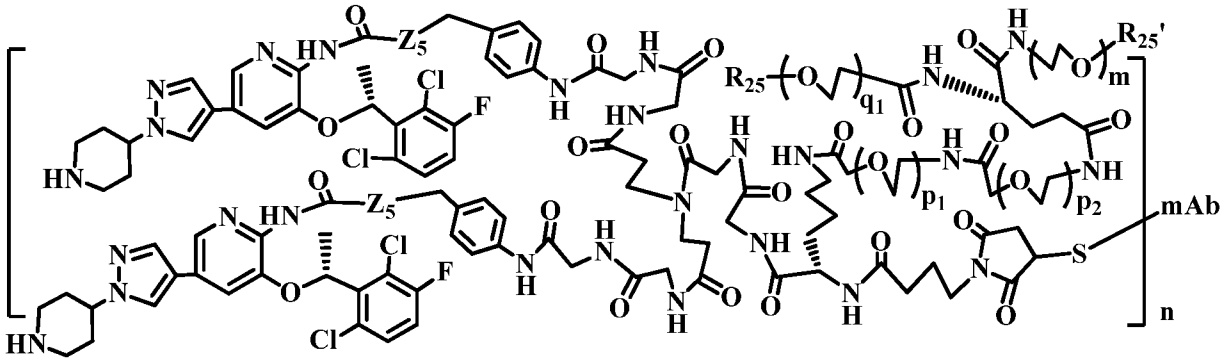
a113,



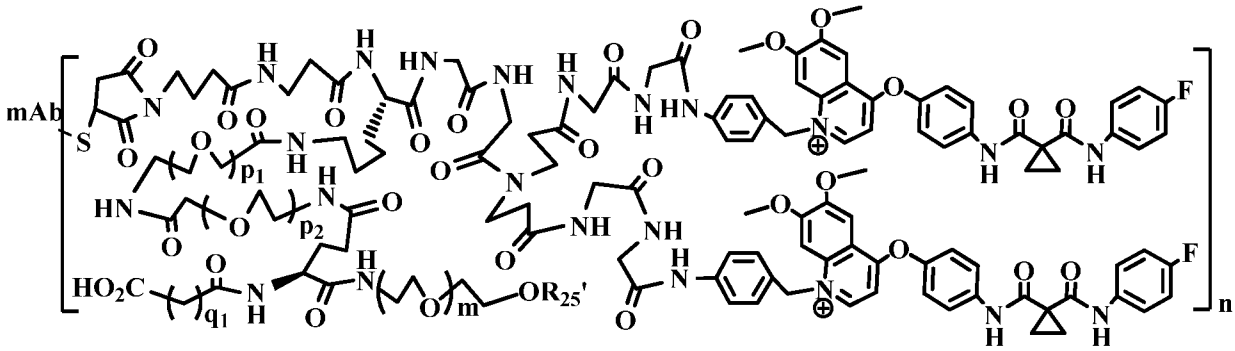
a114,



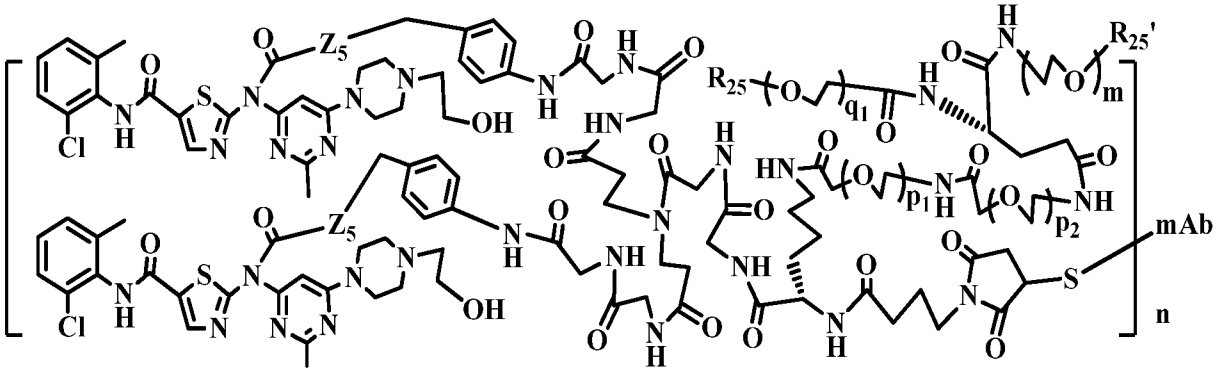
a114,



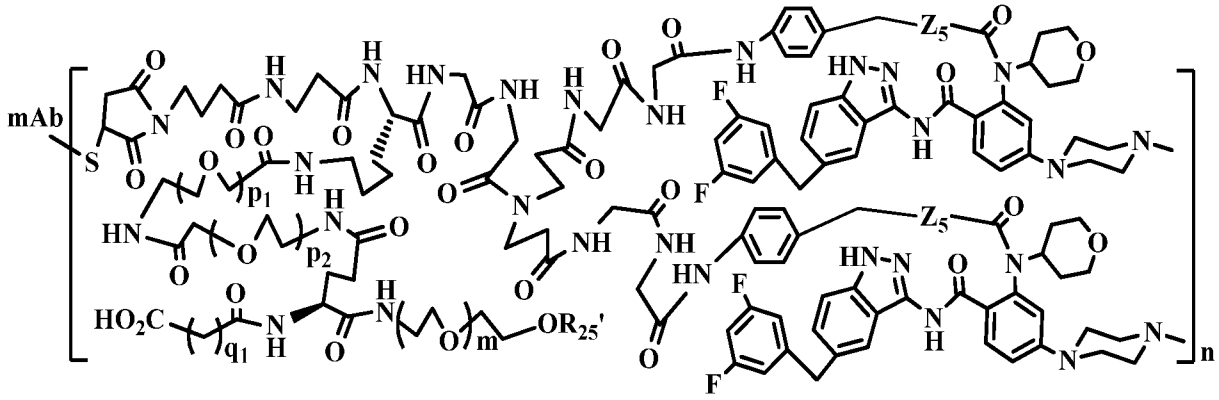
a115,



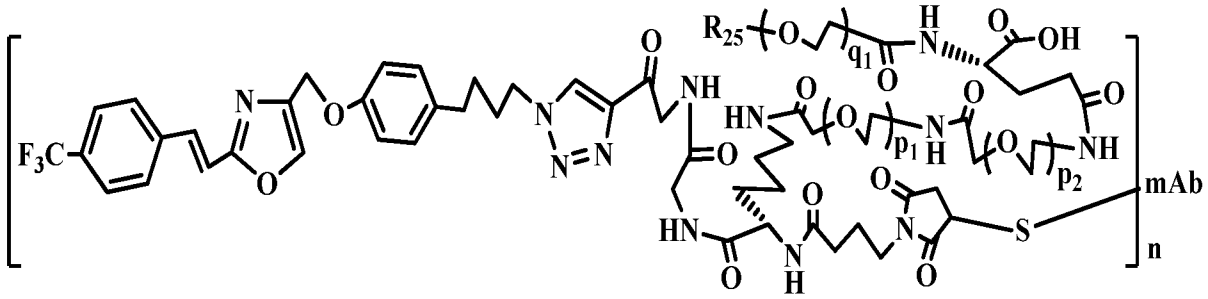
a116,



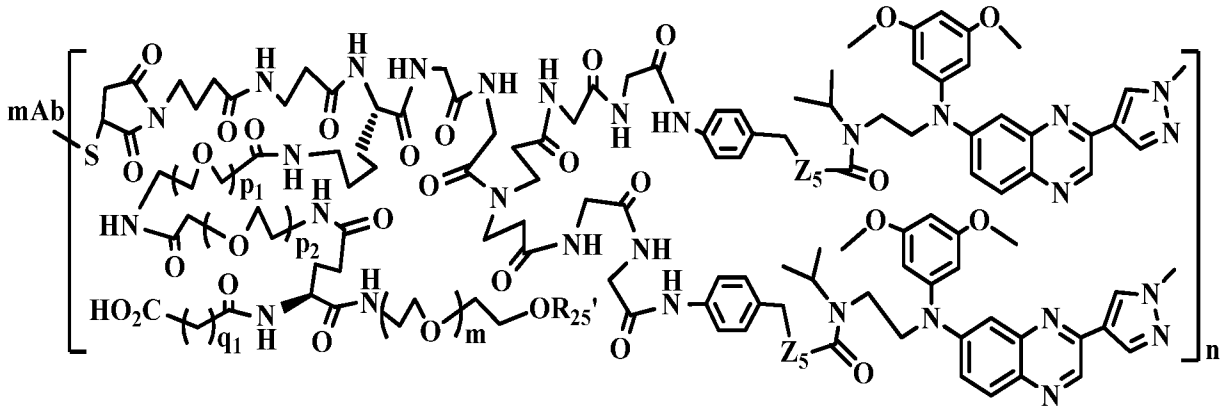
a117,



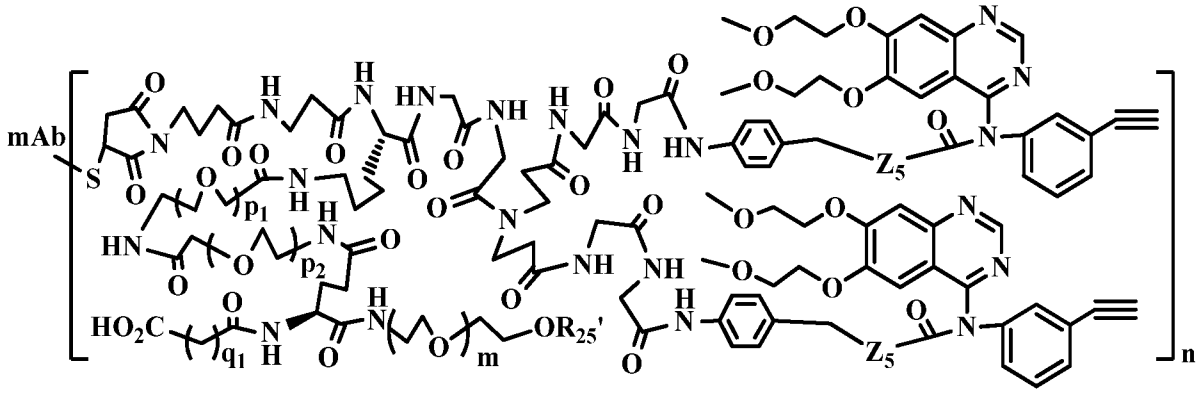
a118,



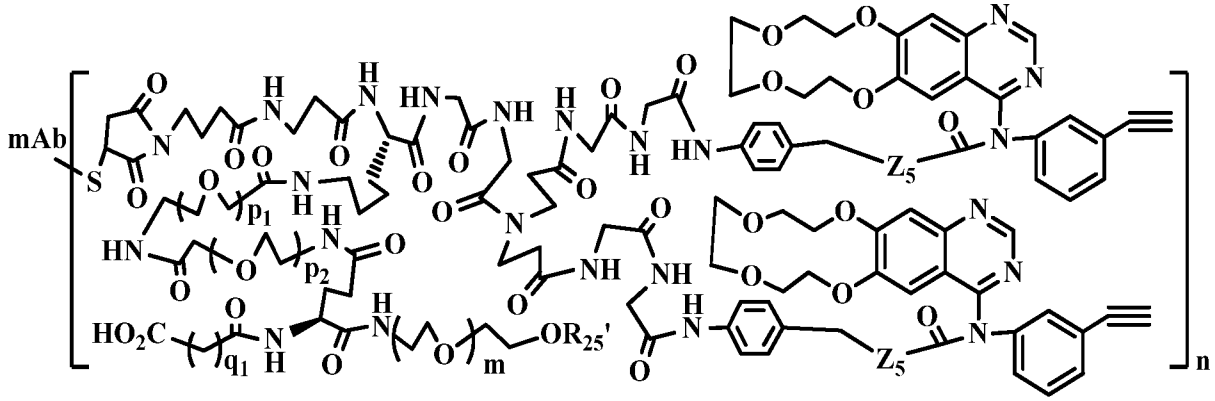
a119,



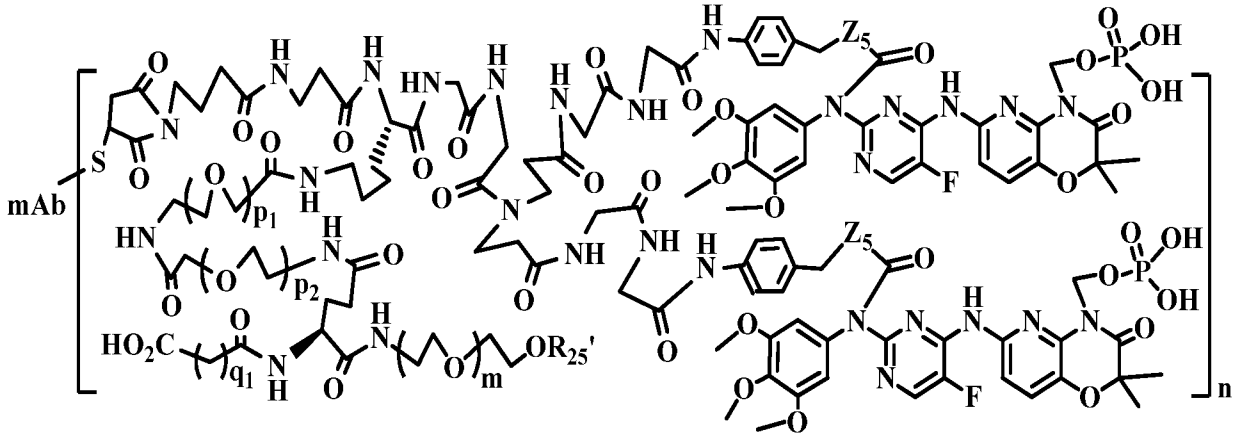
a120,



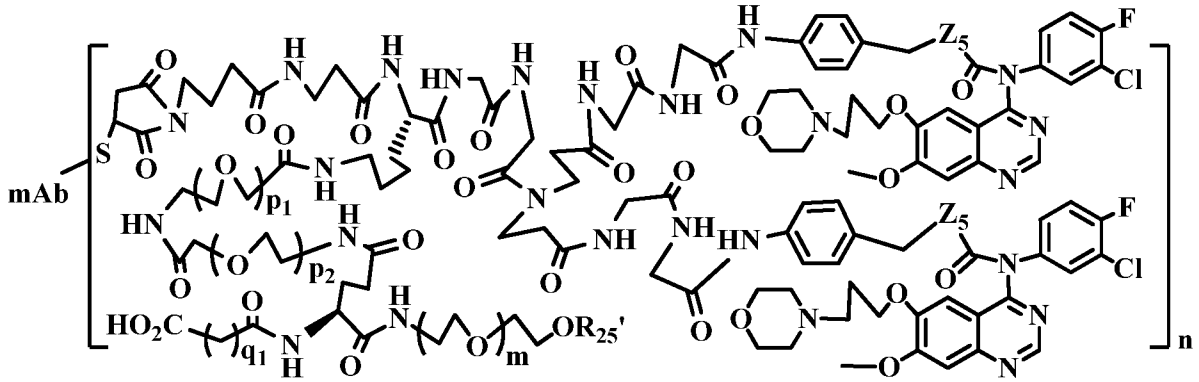
a121,



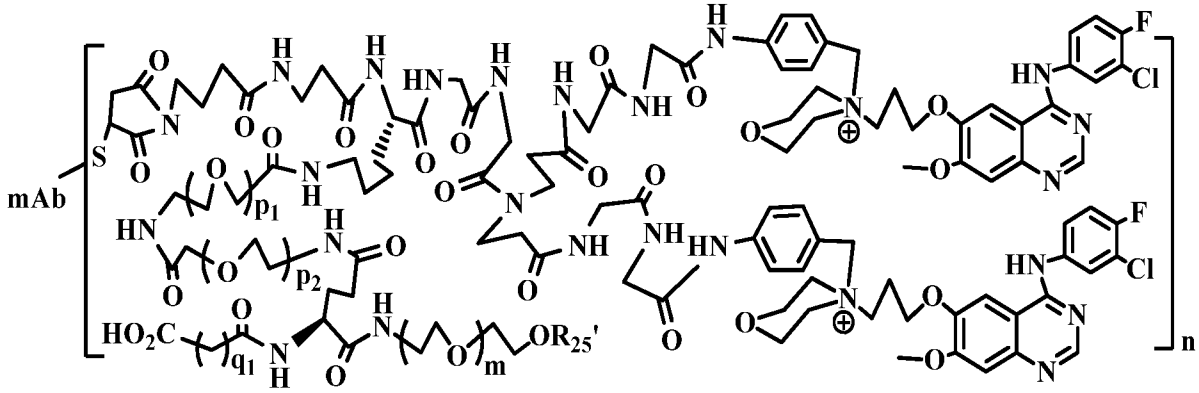
a122,



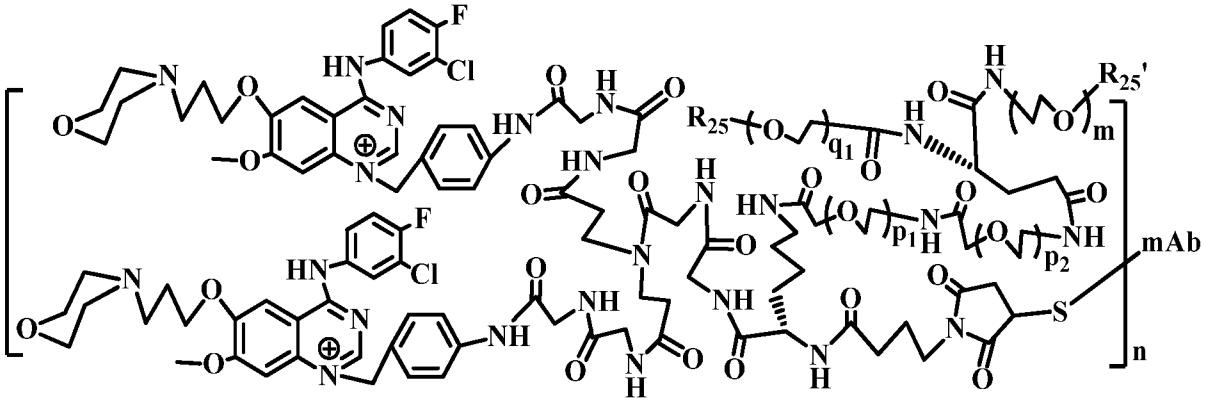
a123,



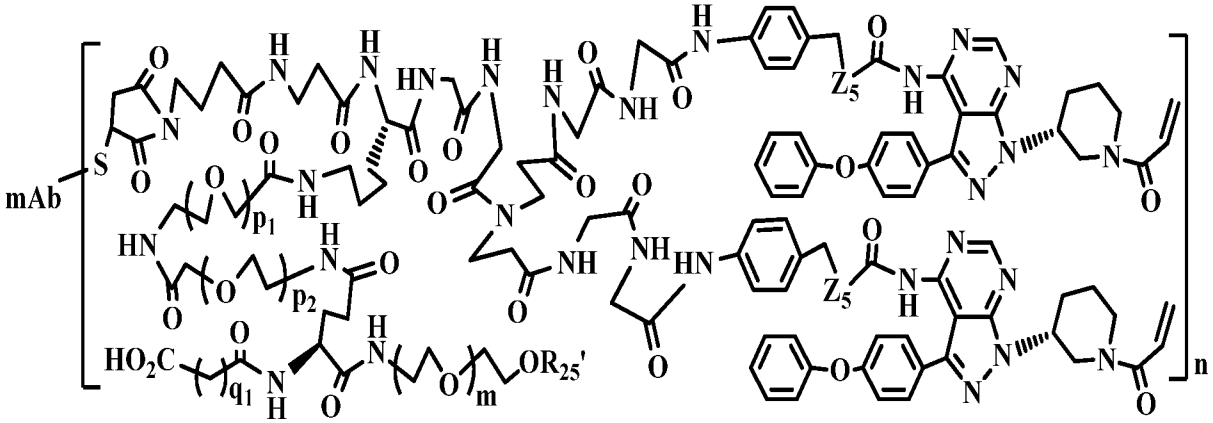
a124,



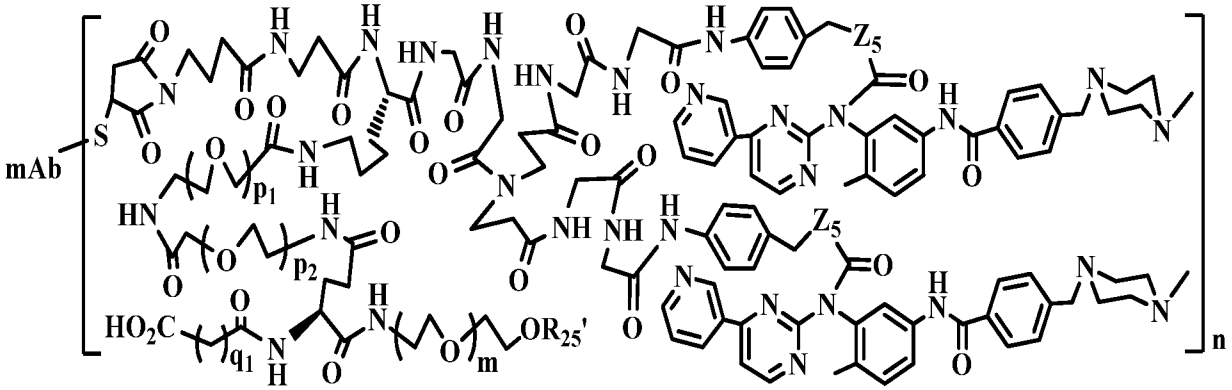
a125,



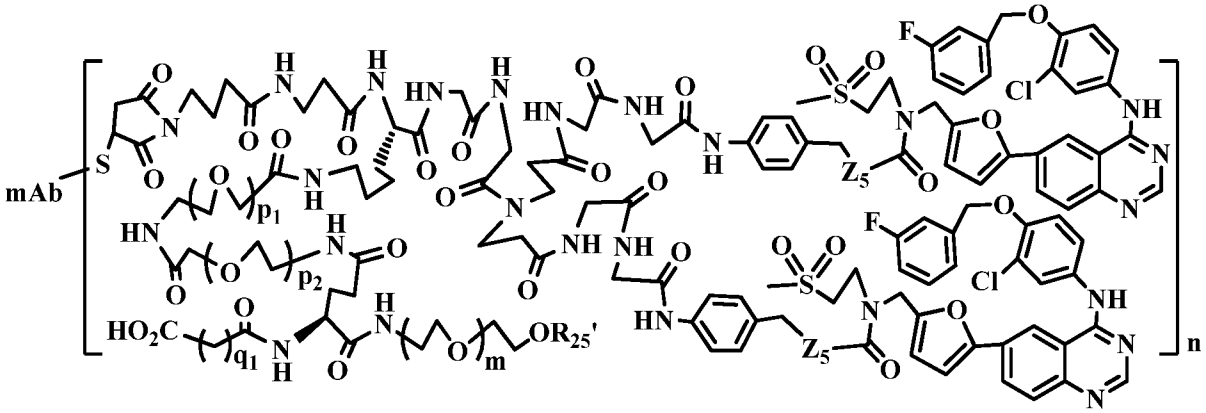
a126,



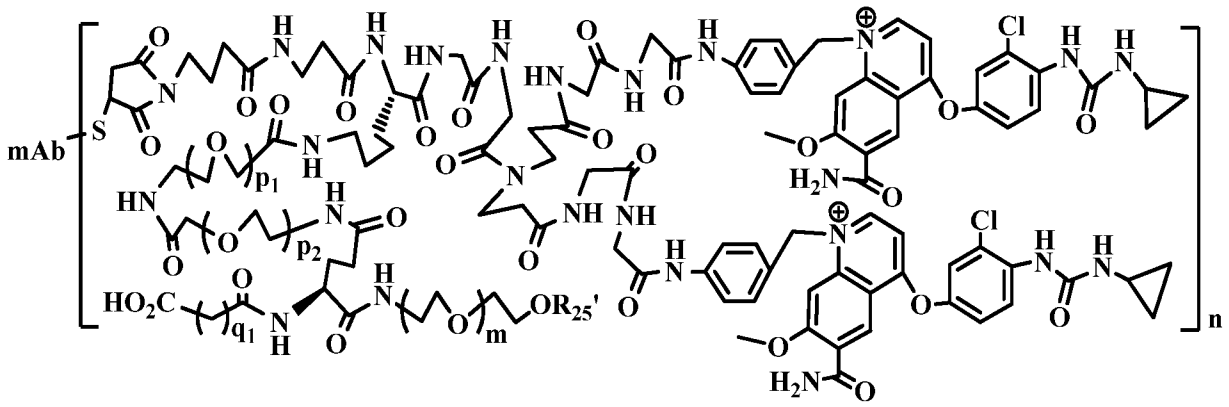
a127,



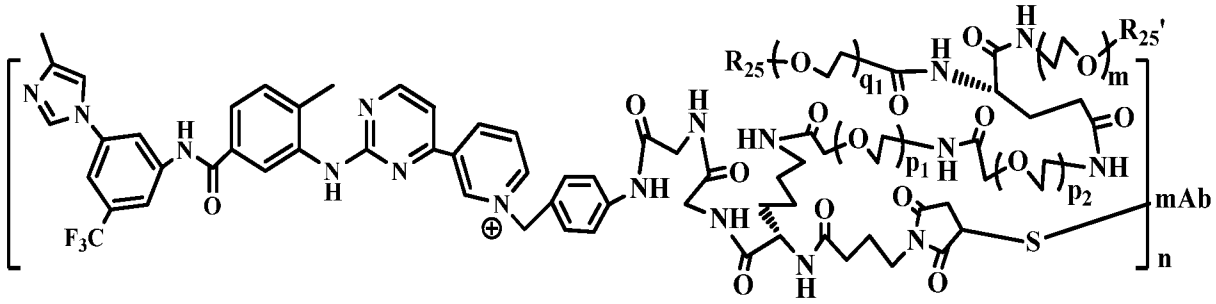
a128,



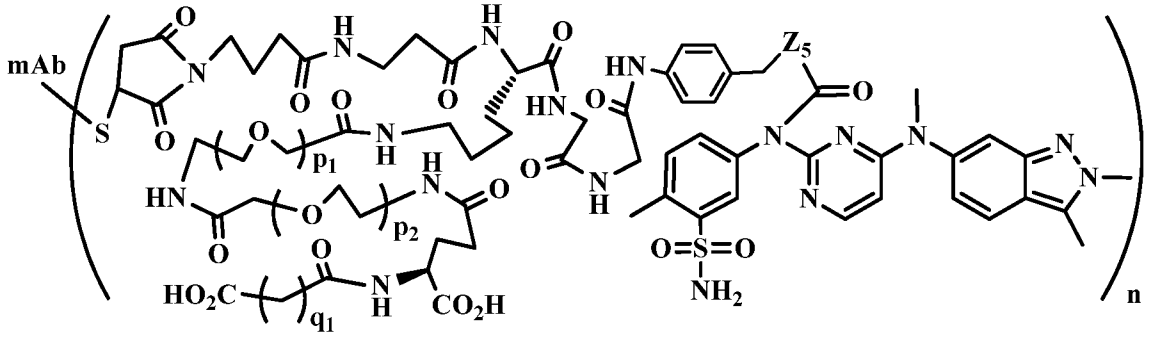
a129,



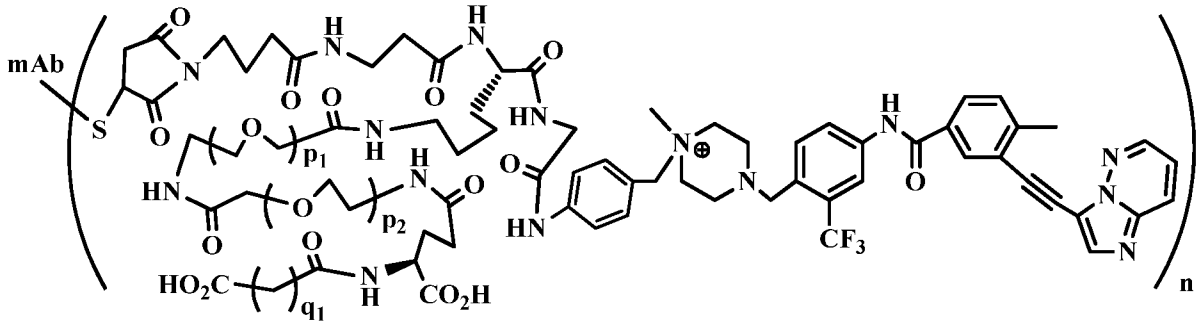
a130,



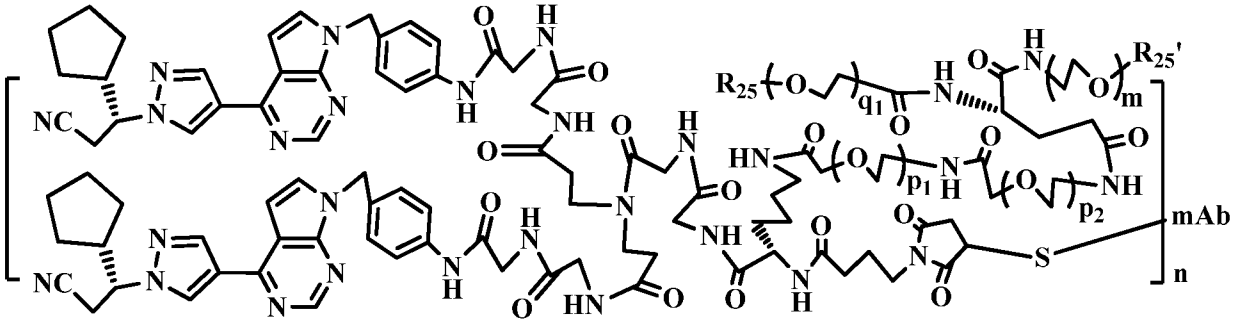
a131,



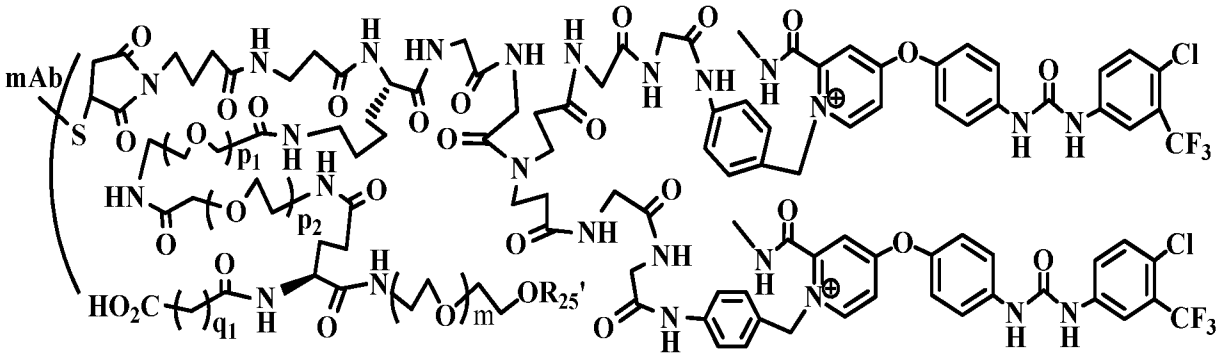
a132,



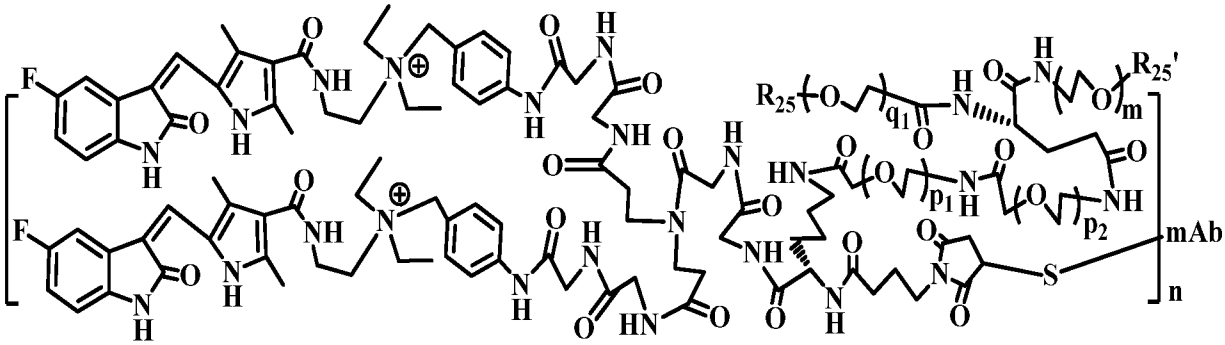
a133,



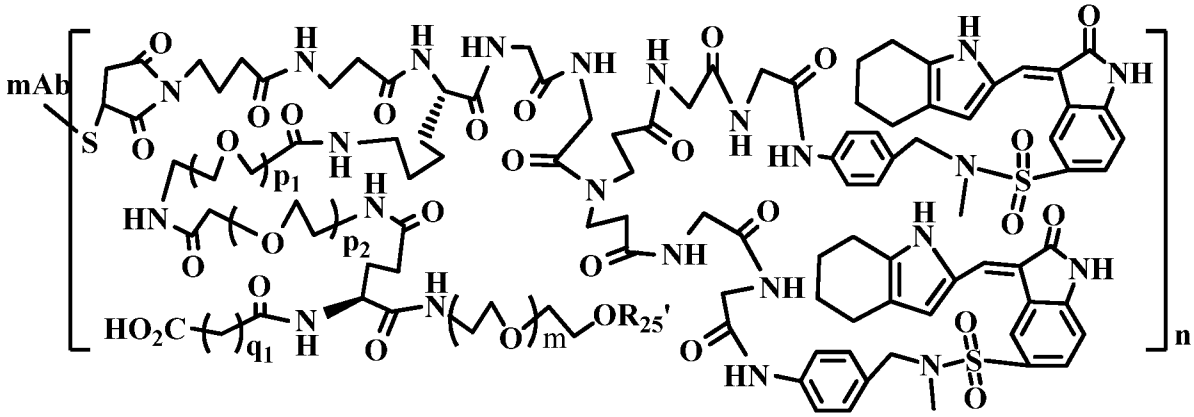
a134,



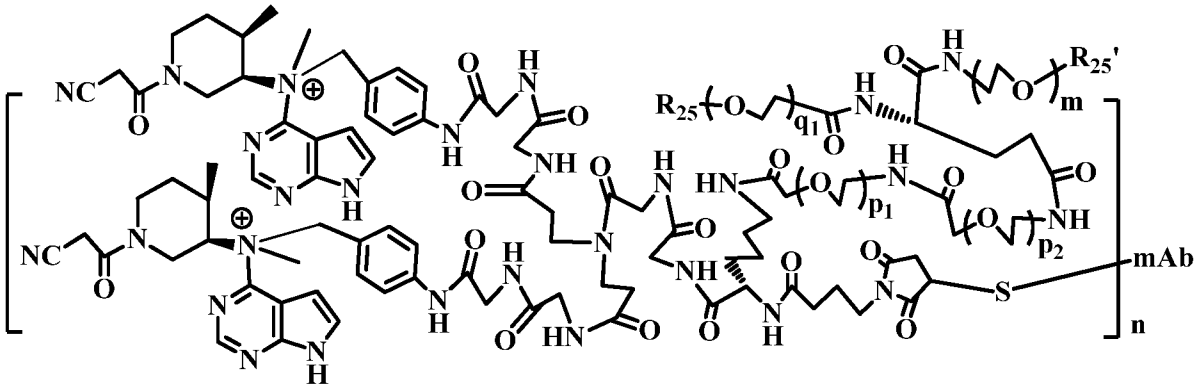
a135,



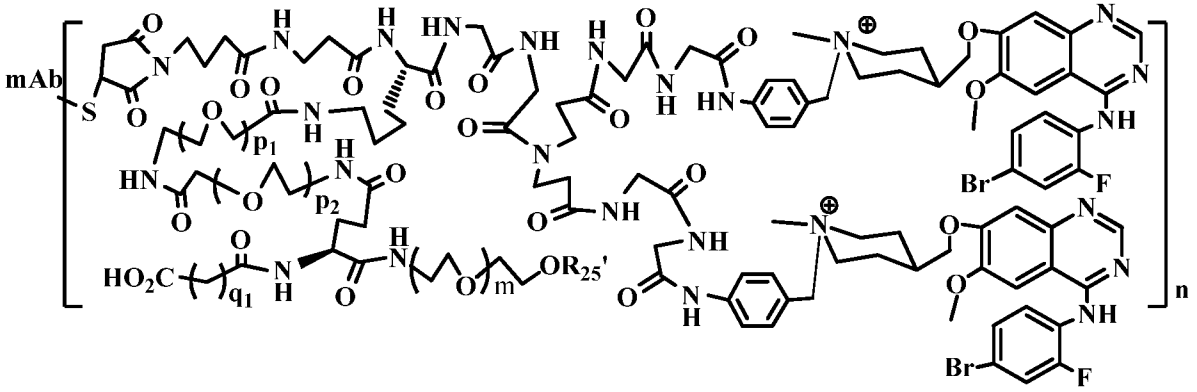
a136,



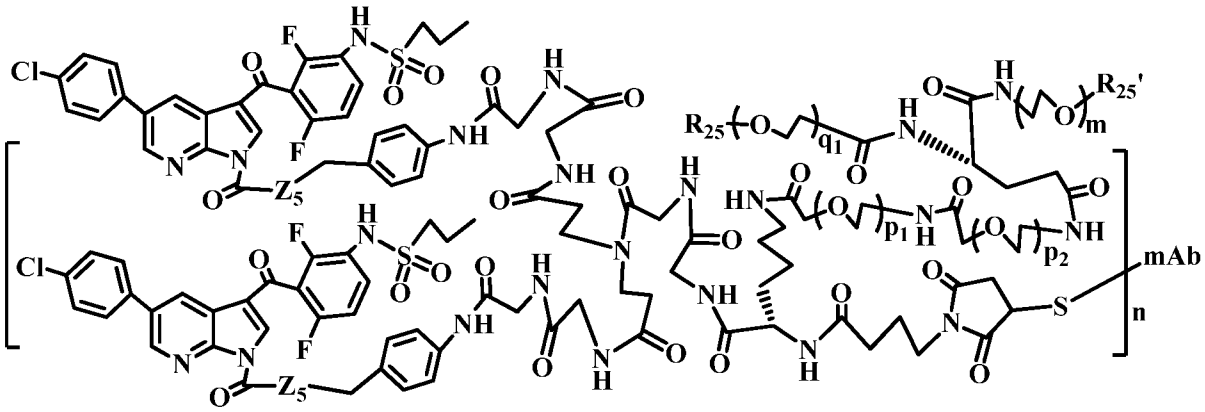
a137,



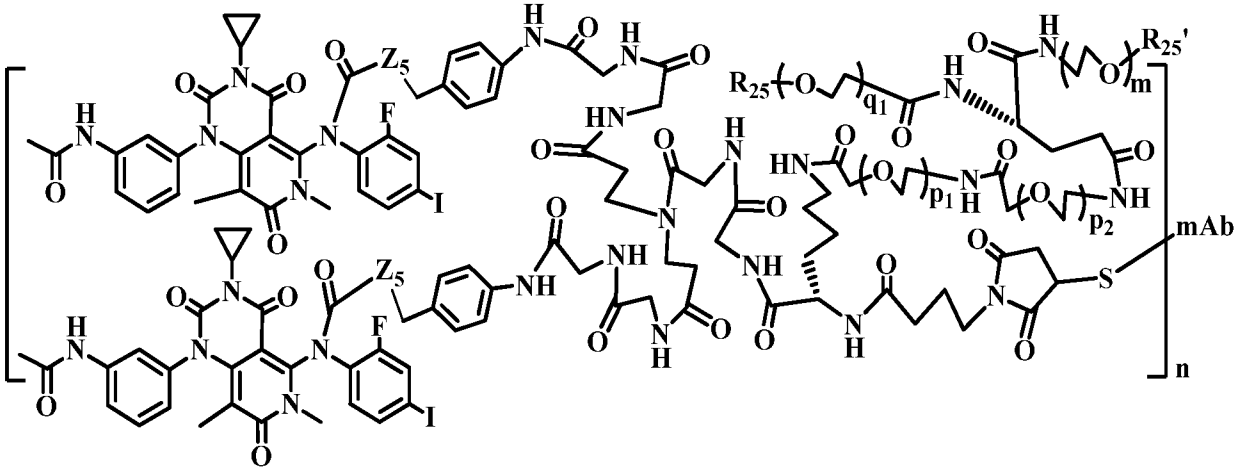
a138,



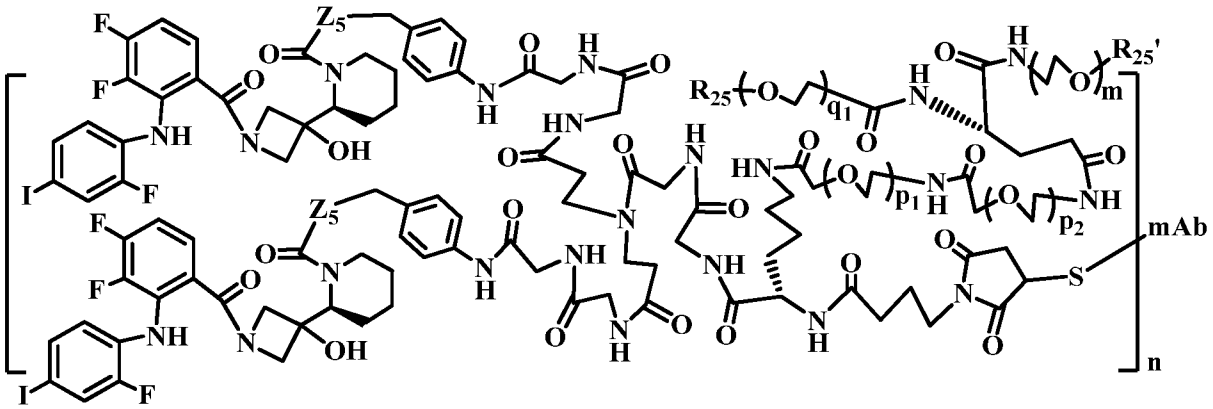
a139,



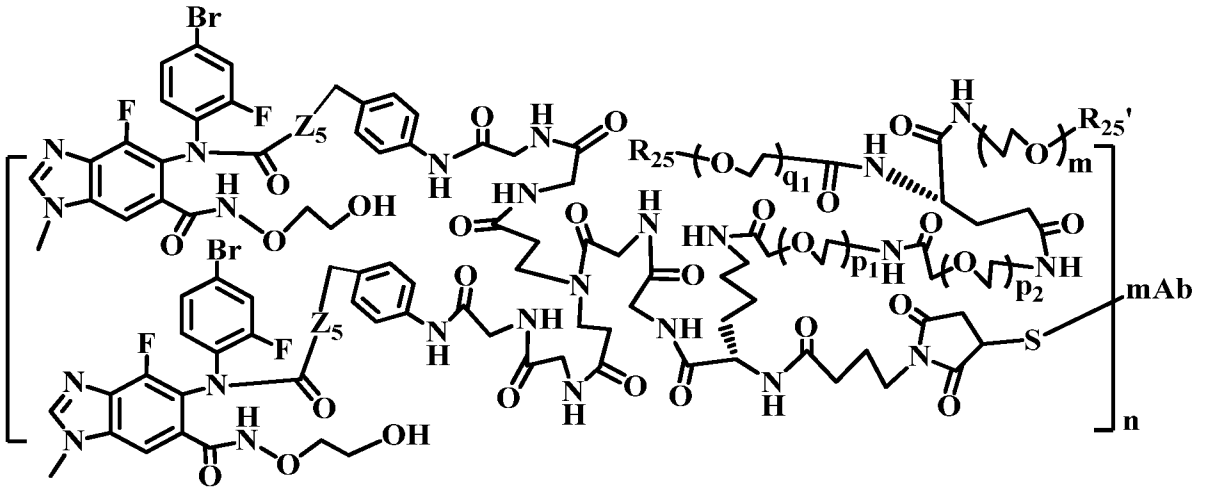
a140,



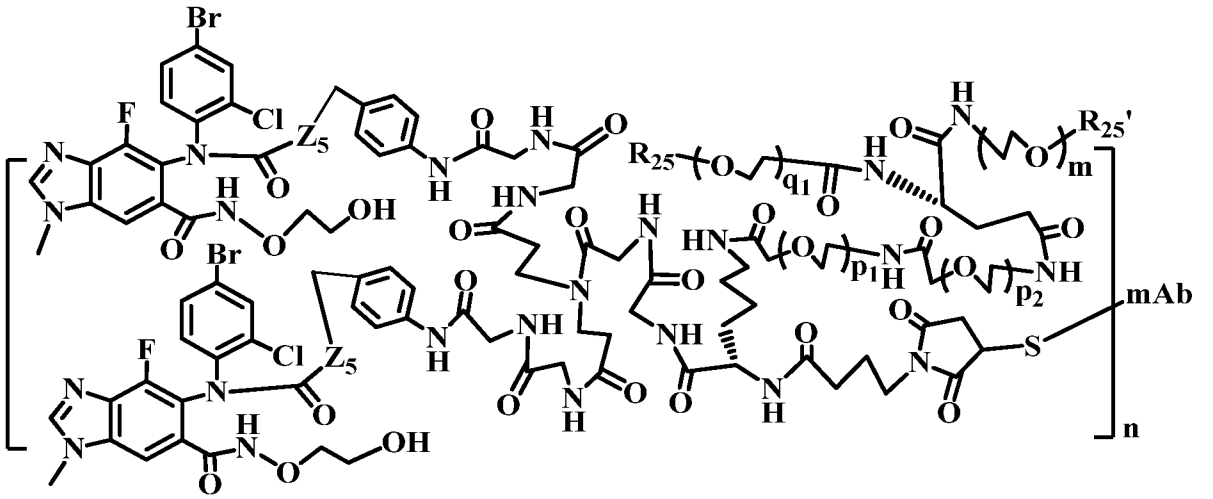
a141,



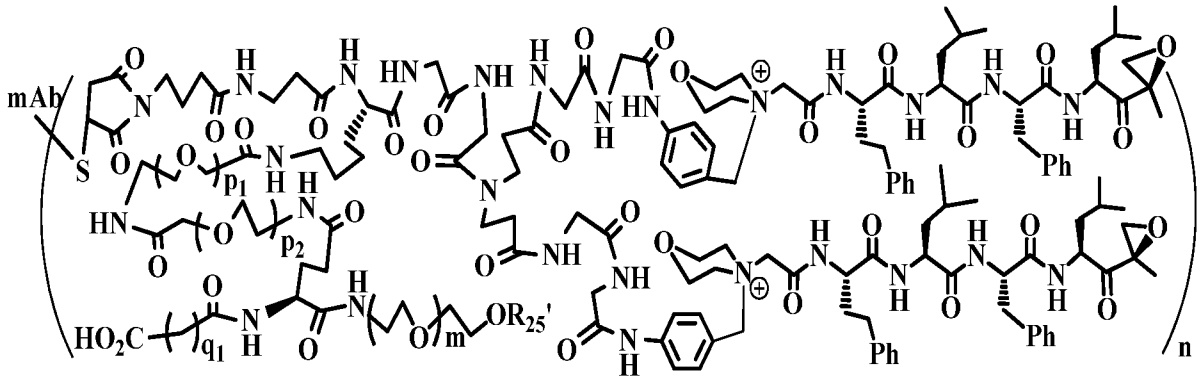
a142,



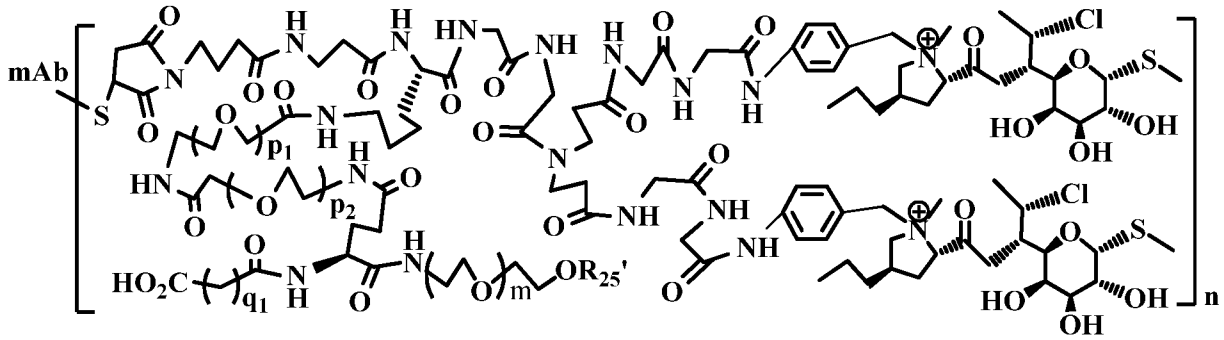
a143,



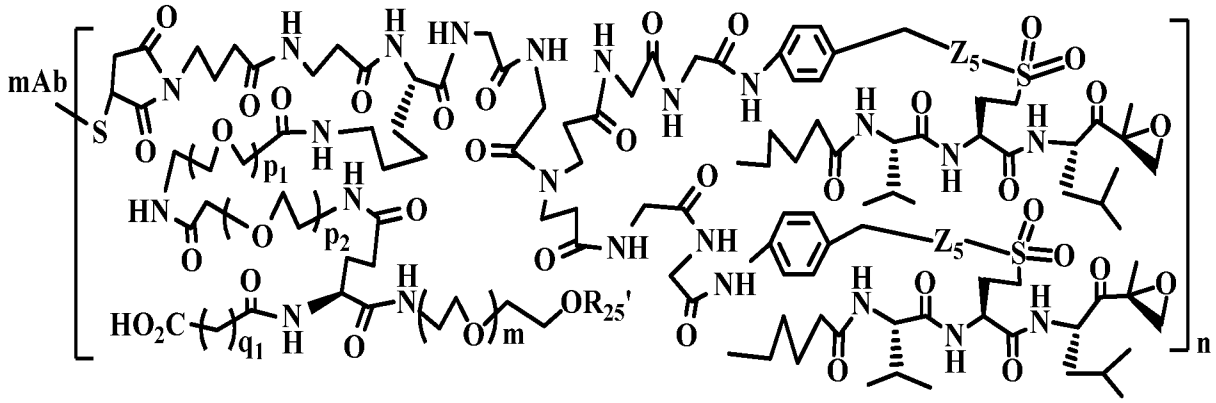
a144,



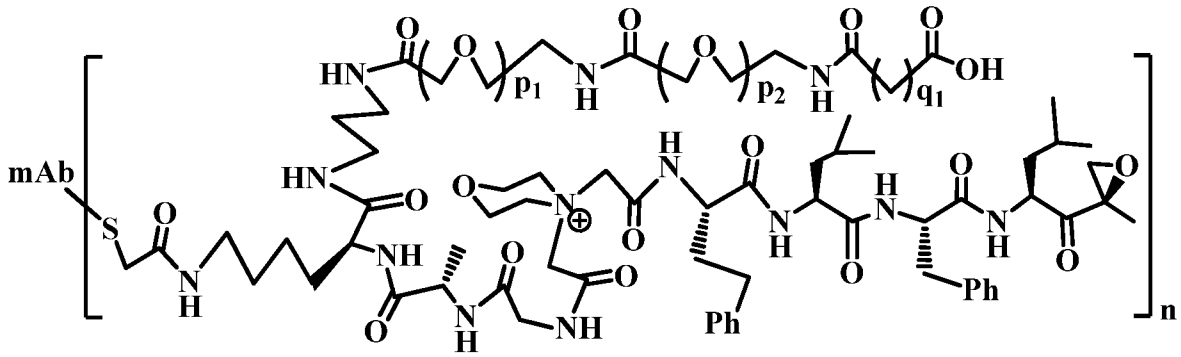
a145,



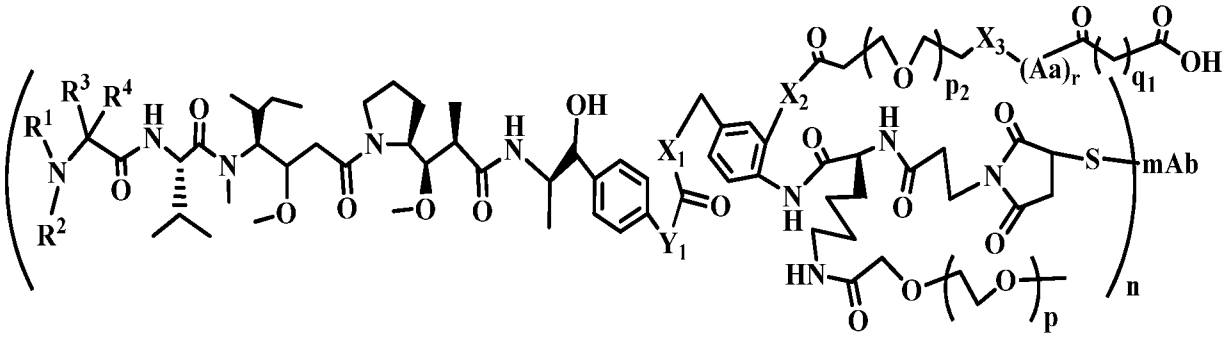
a146,



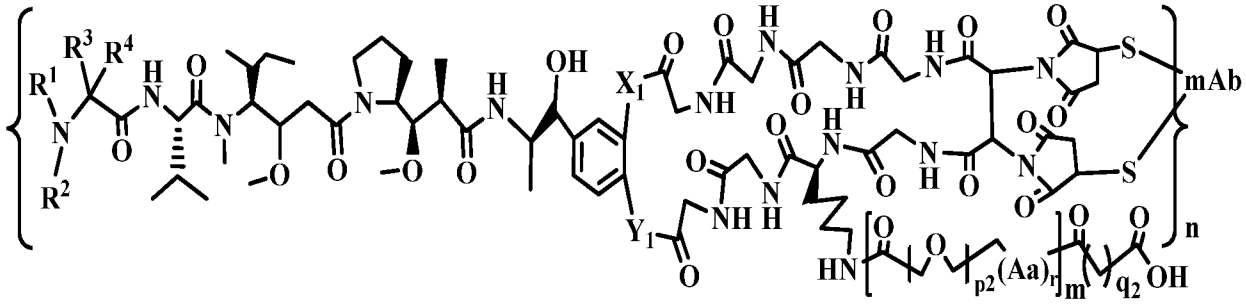
a147,



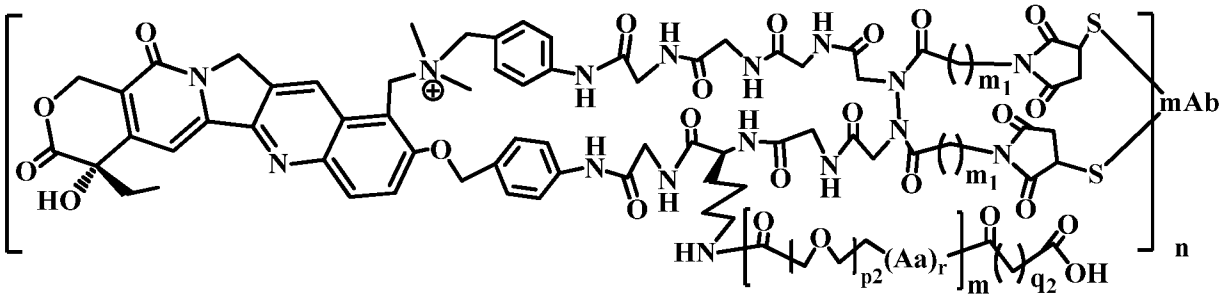
a148,



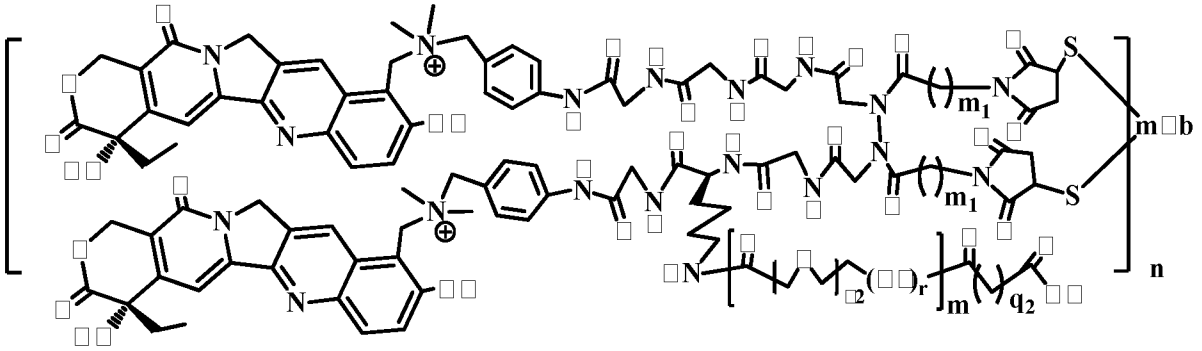
a149,



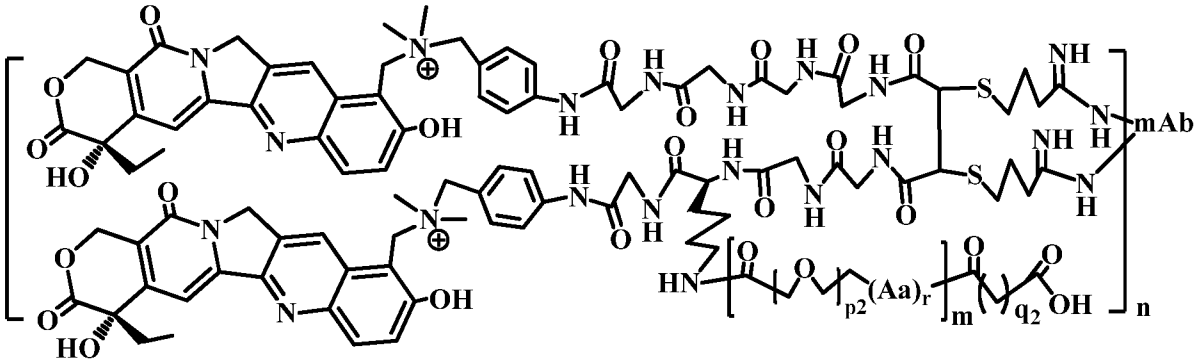
a150,



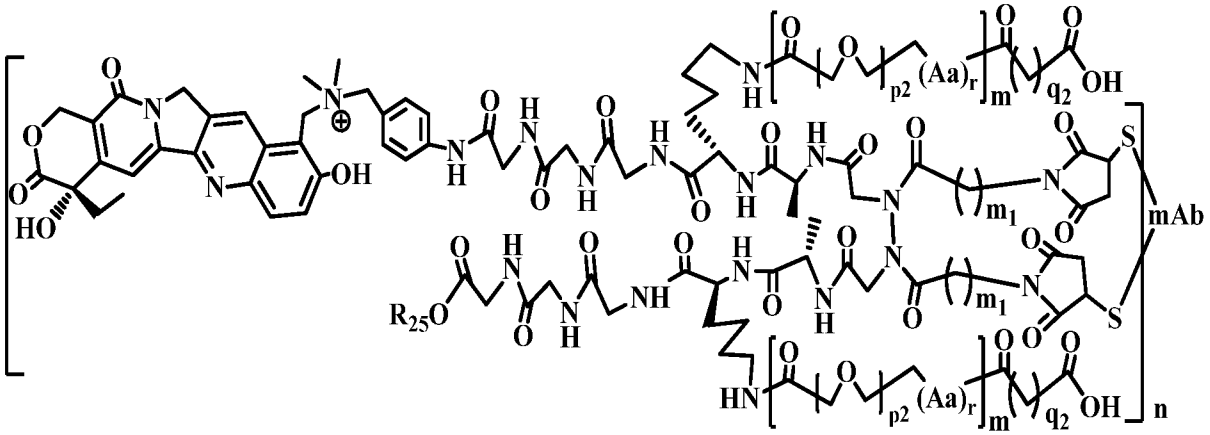
a151,



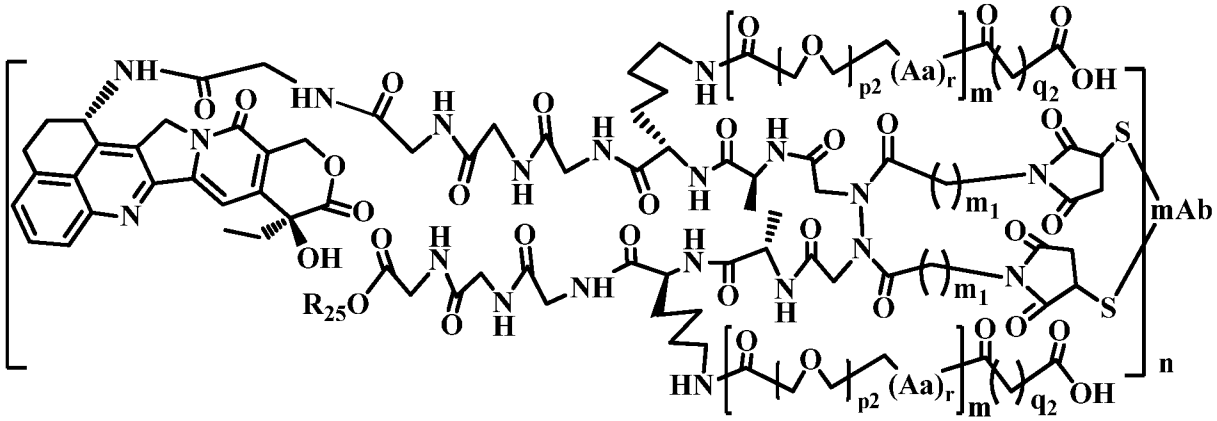
a152,



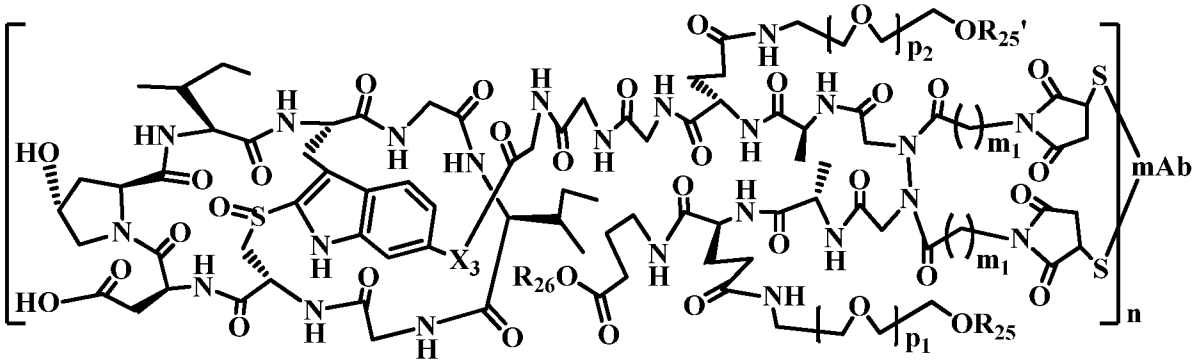
a153,



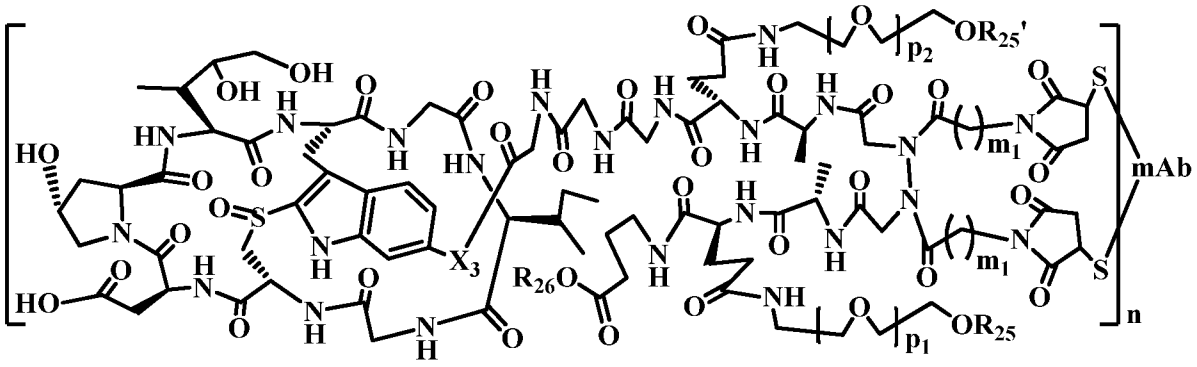
a154,



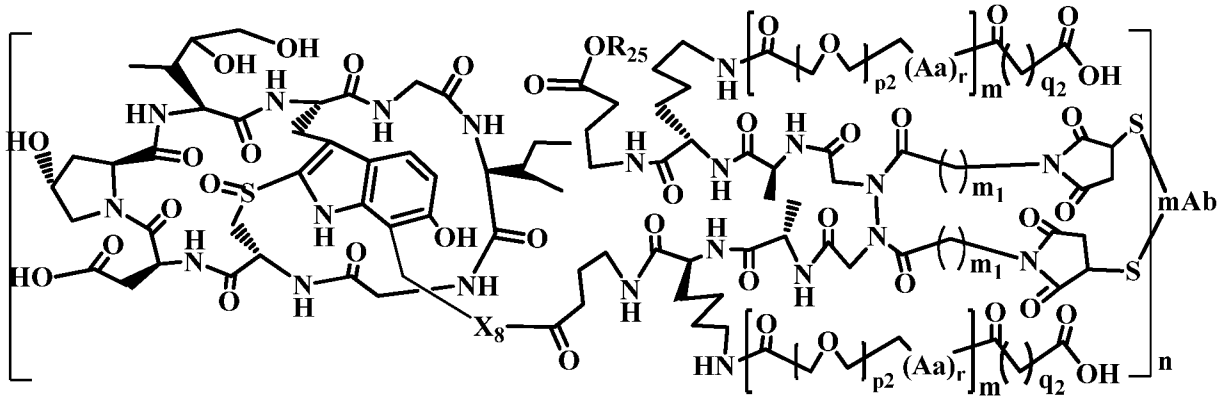
a155,



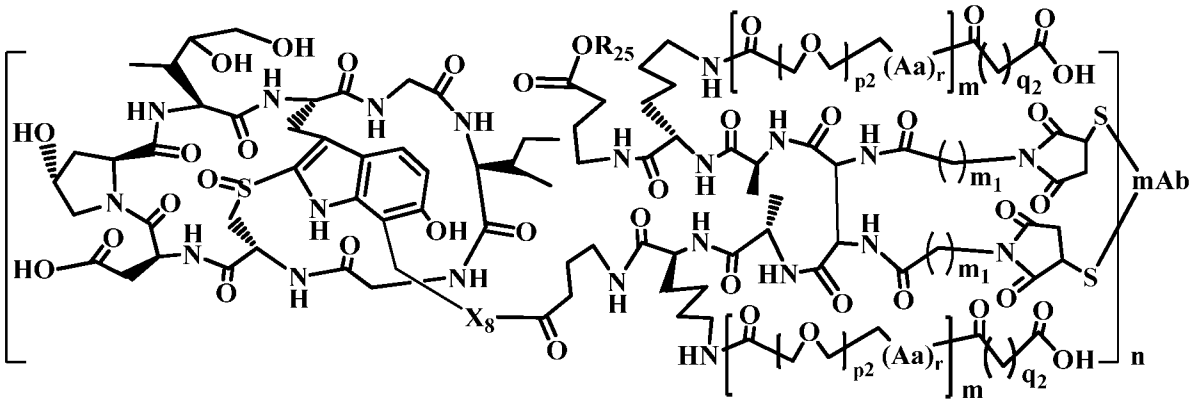
a156,



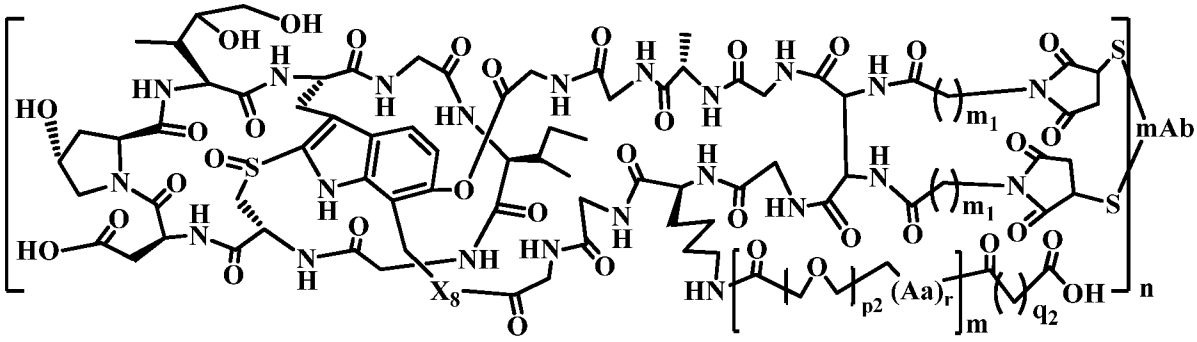
a157,



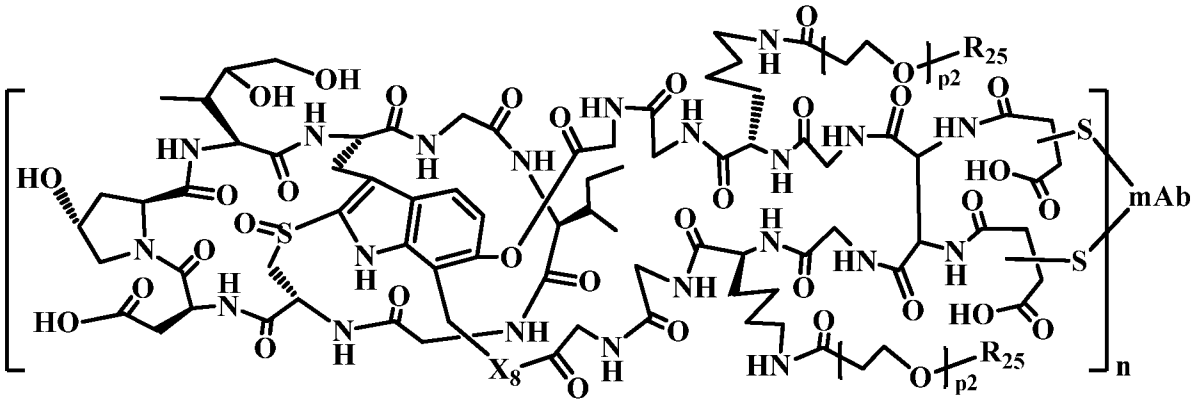
a158,



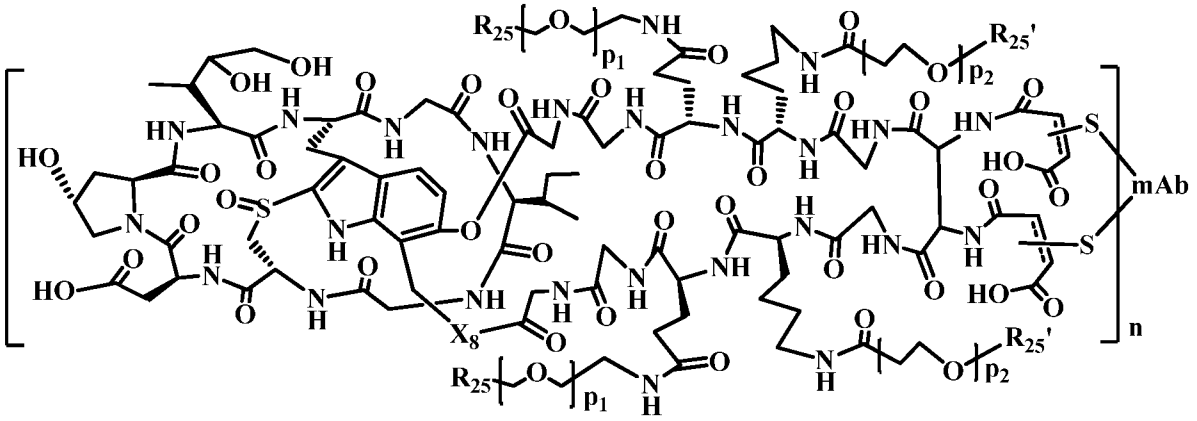
a159,



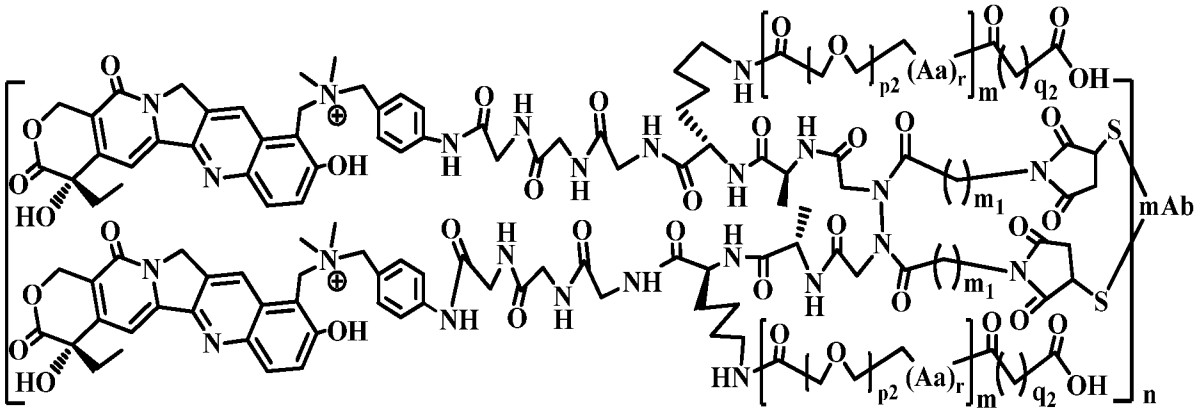
a160,



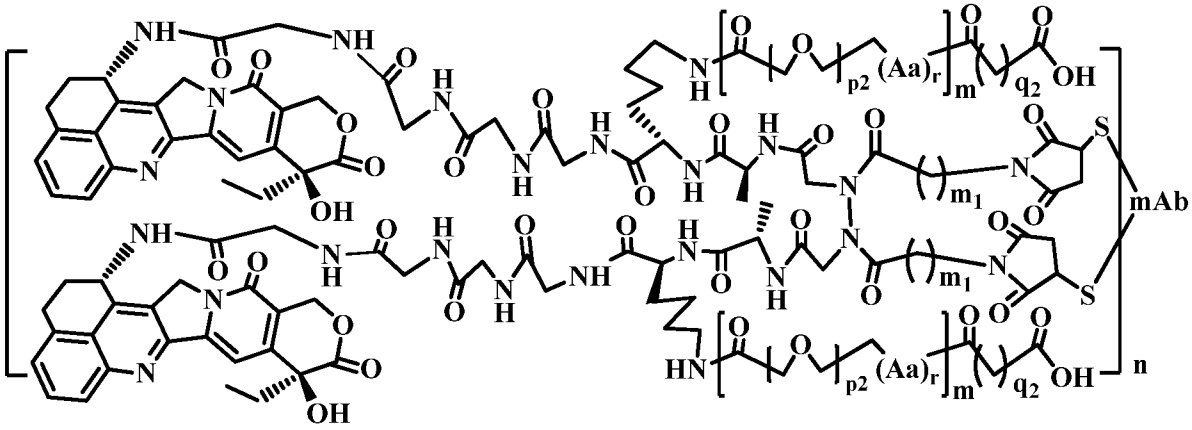
a161,



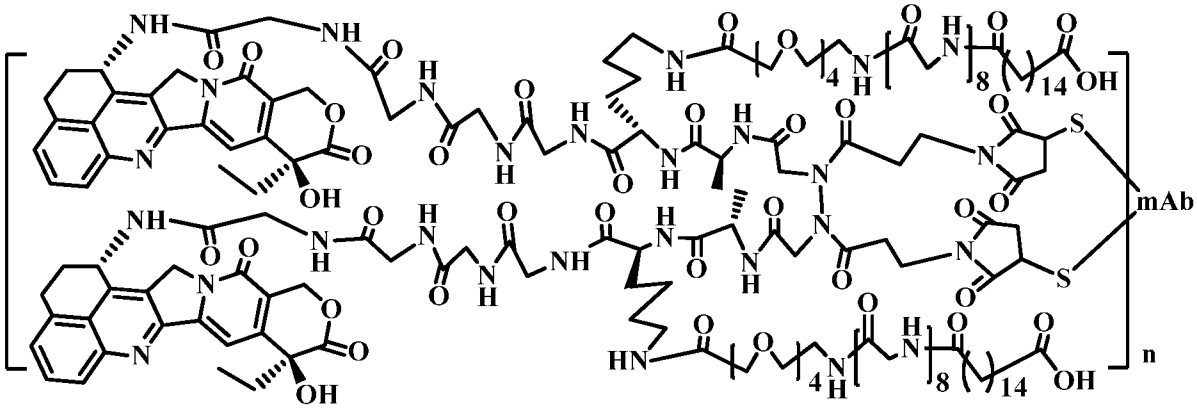
a162,



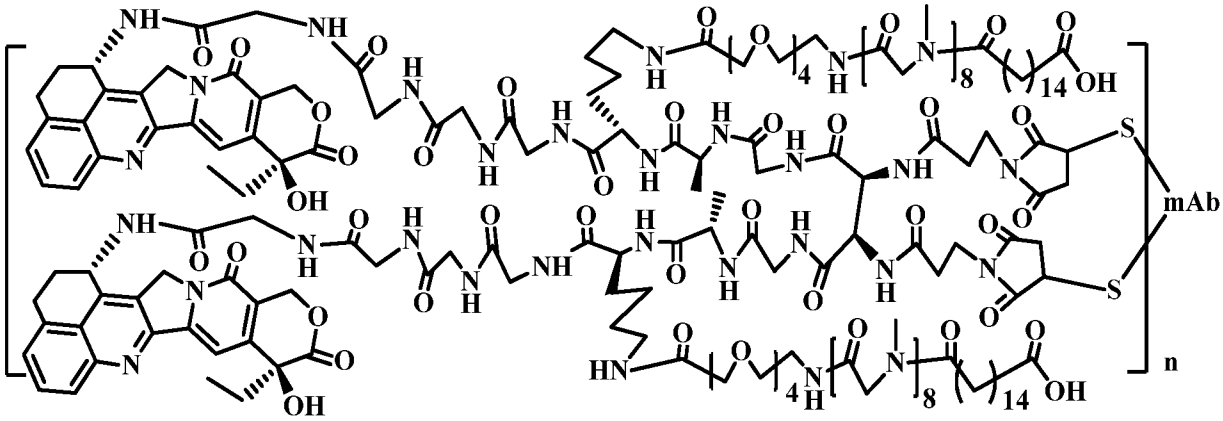
a163,



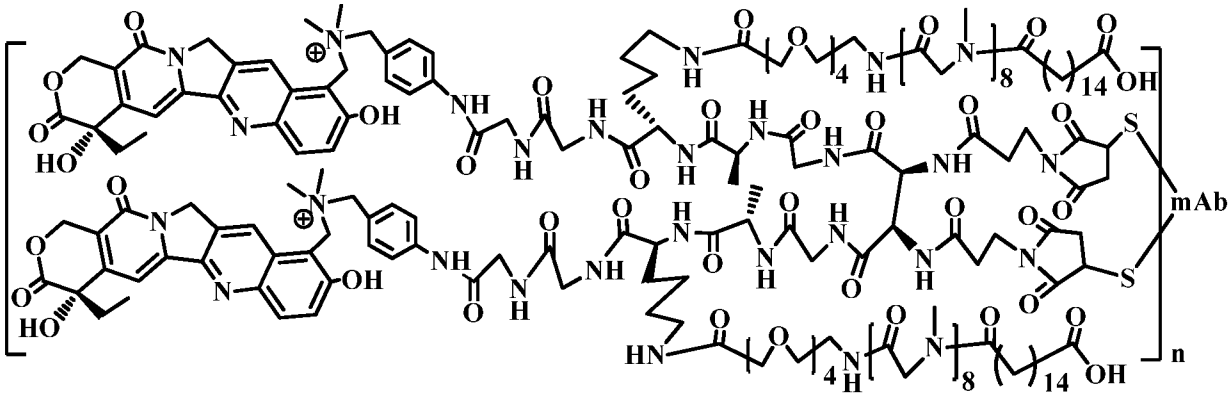
a164,



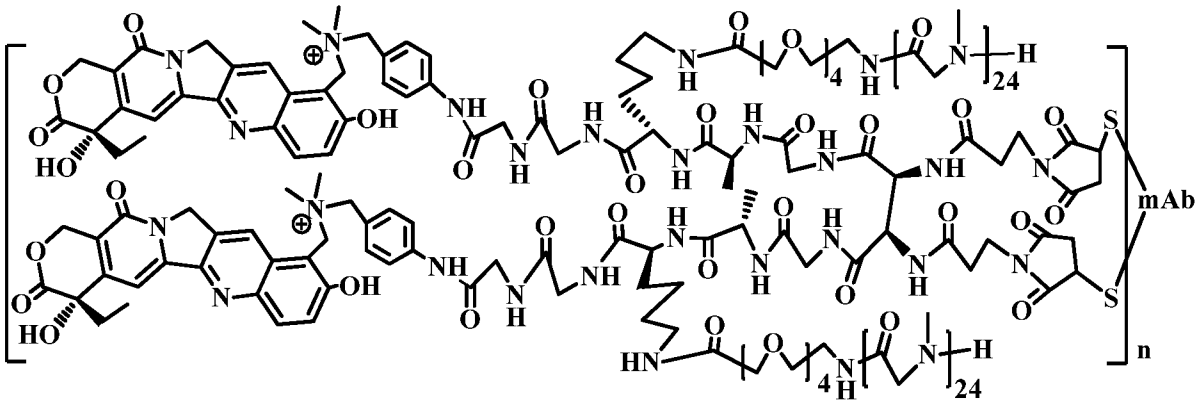
a165,



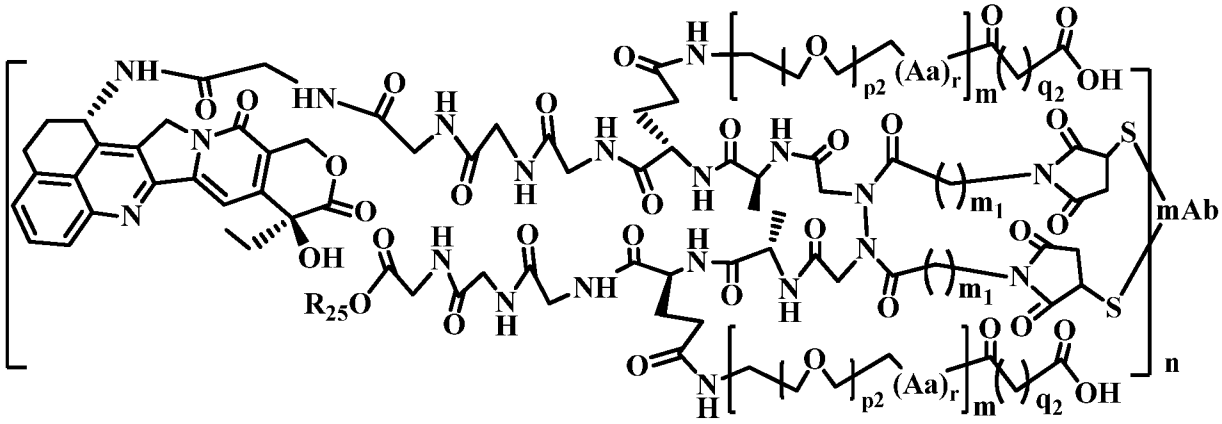
a166,



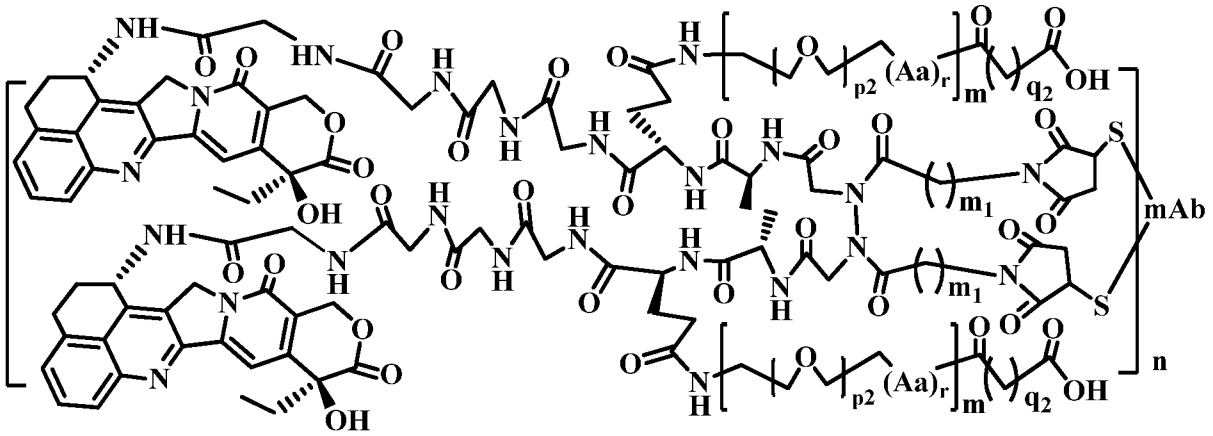
a167,



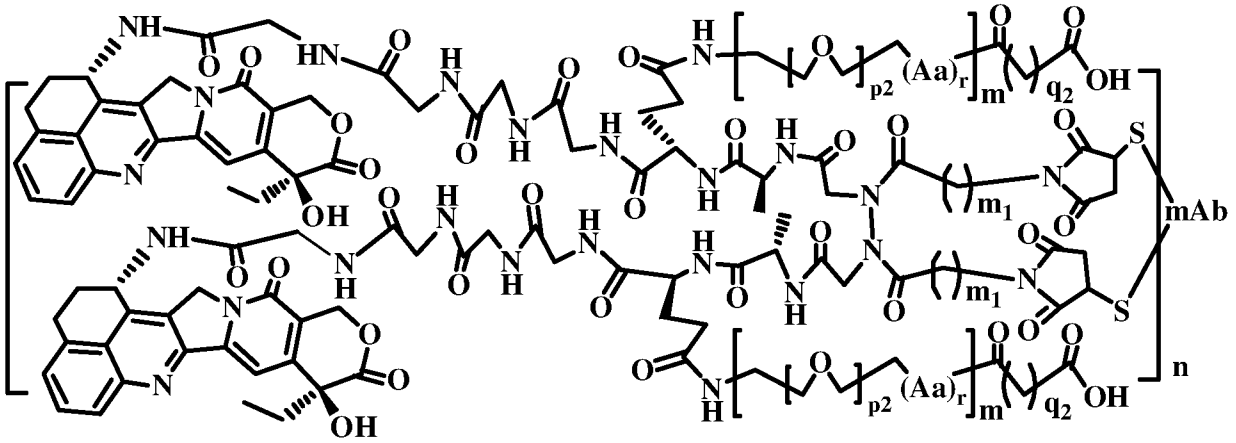
a168,



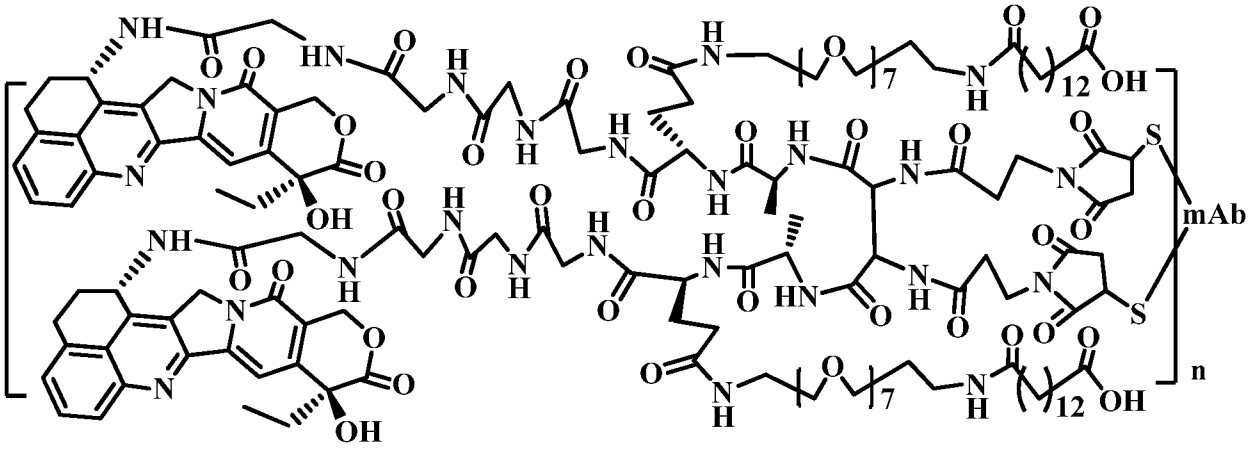
a169,



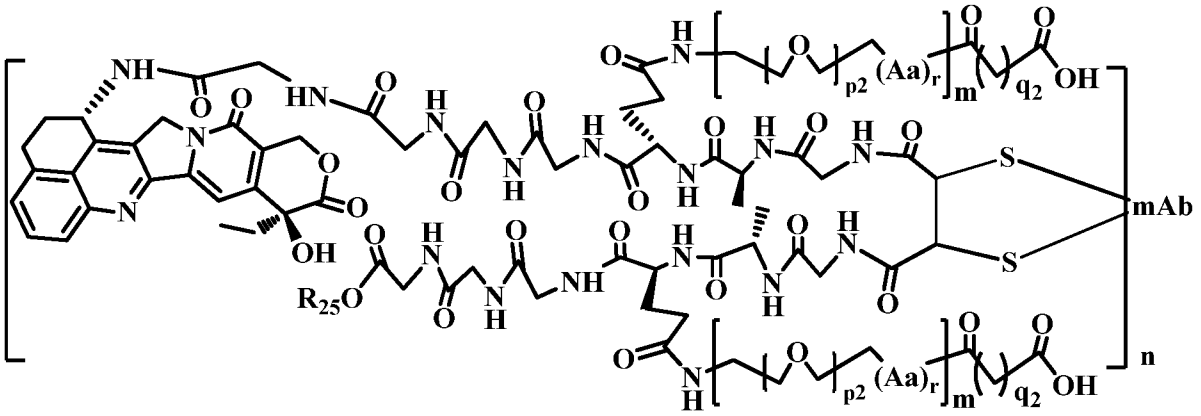
a170,



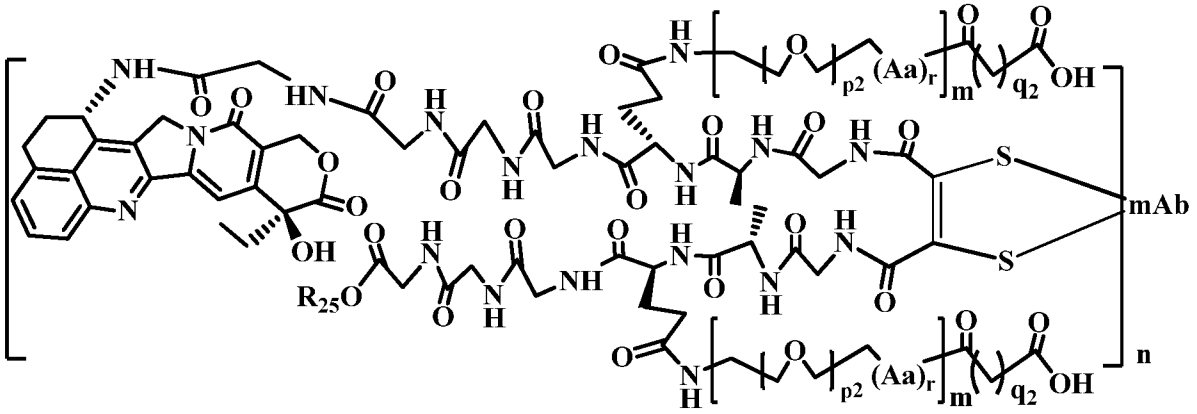
a171,



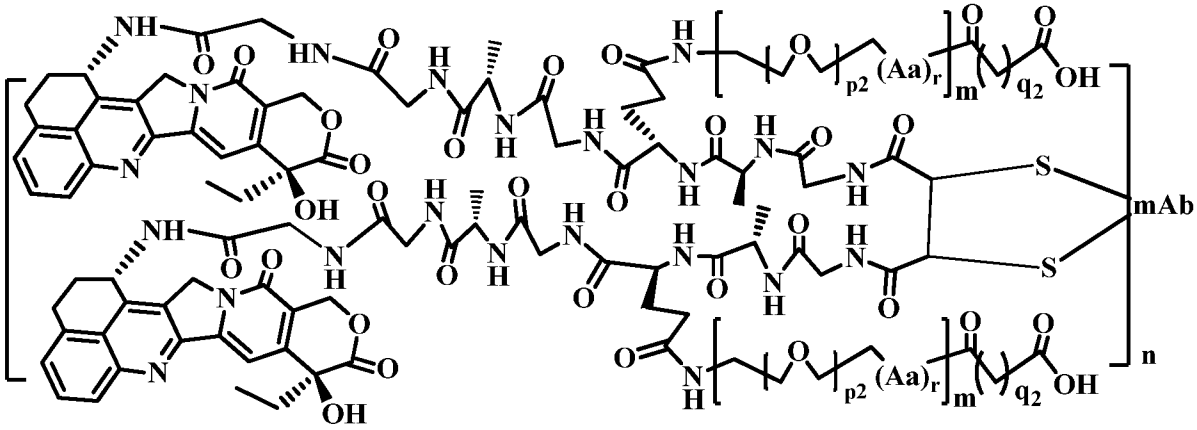
a172,



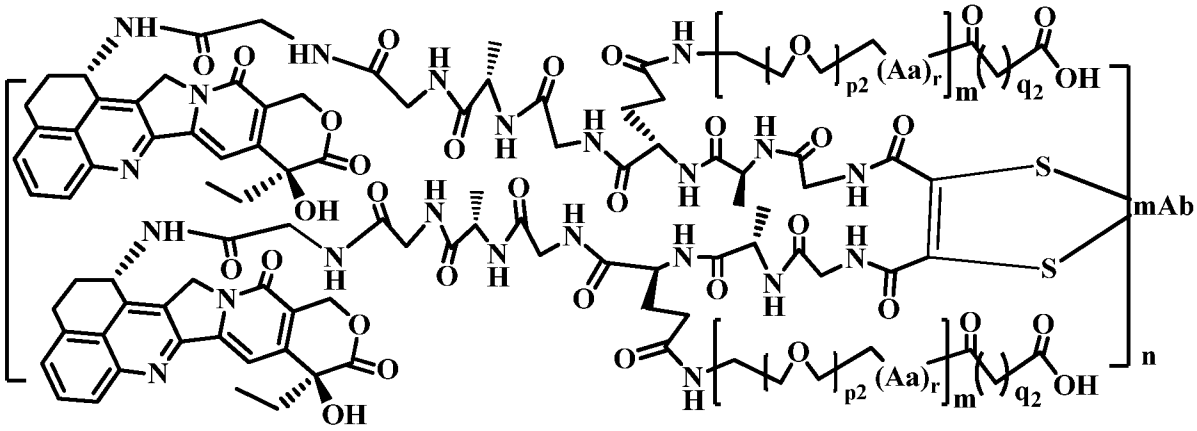
a173,



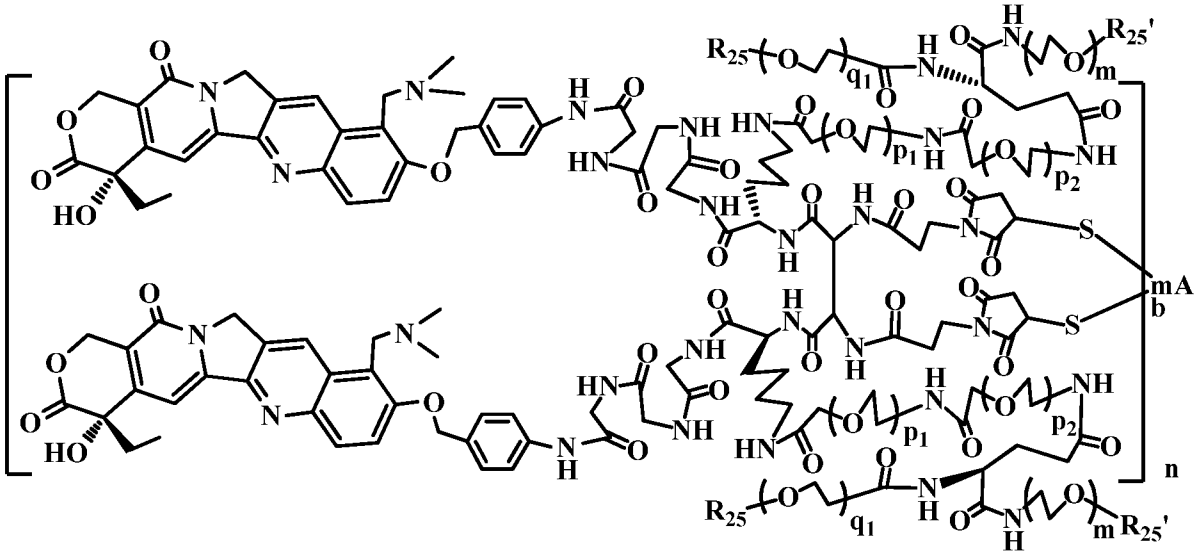
a174,



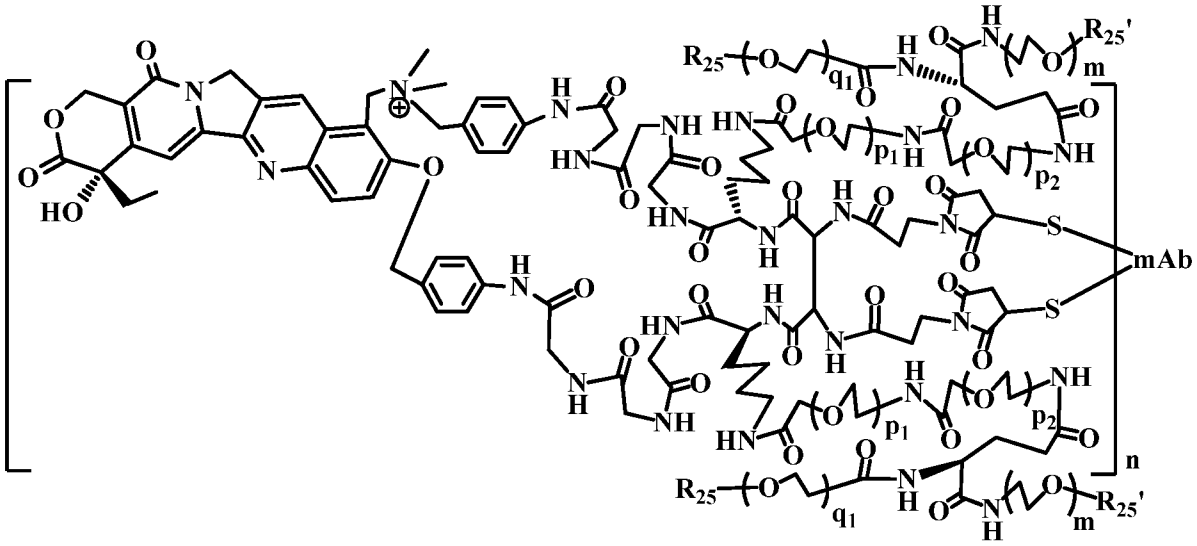
a175,



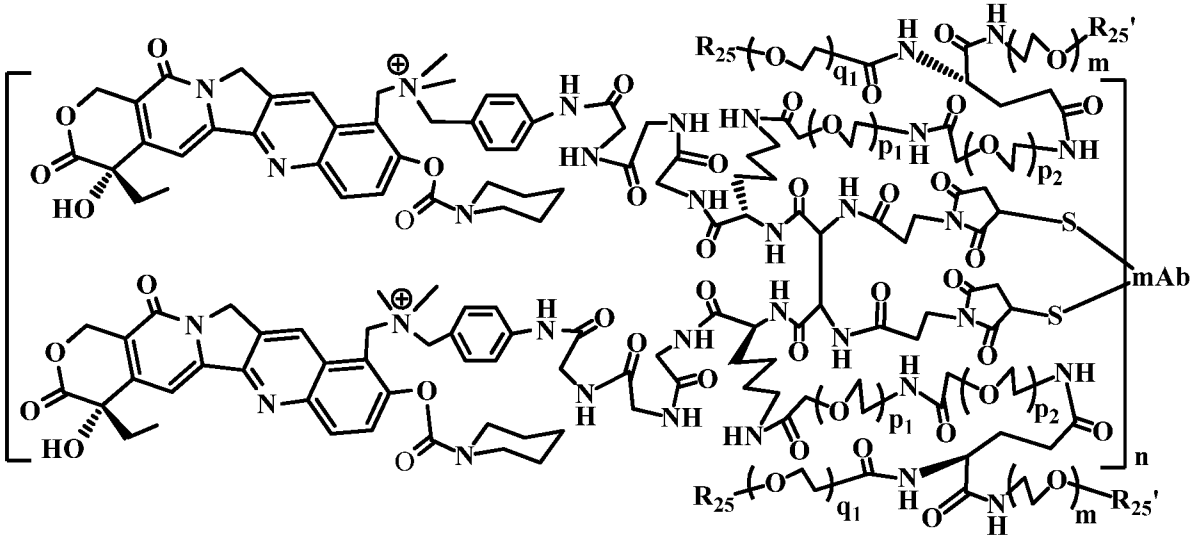
a176,



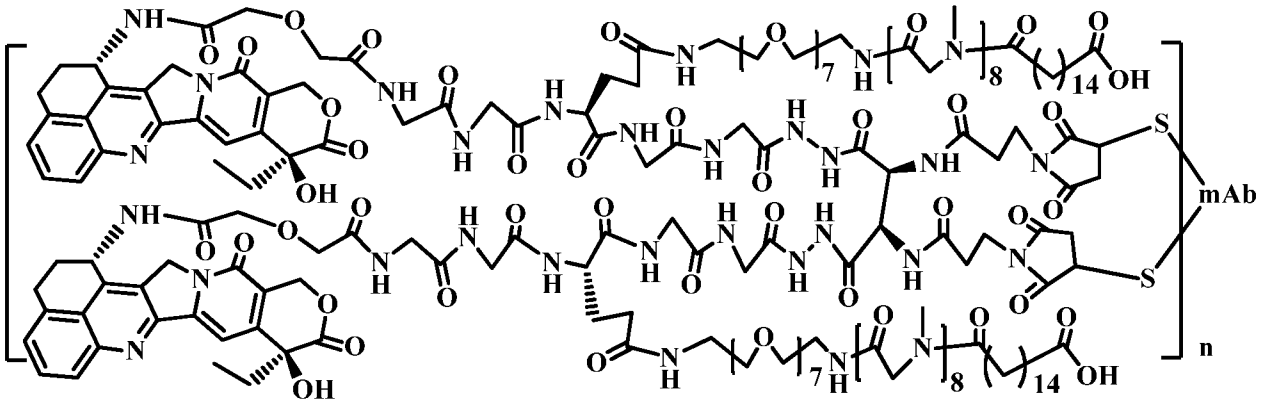
a177,



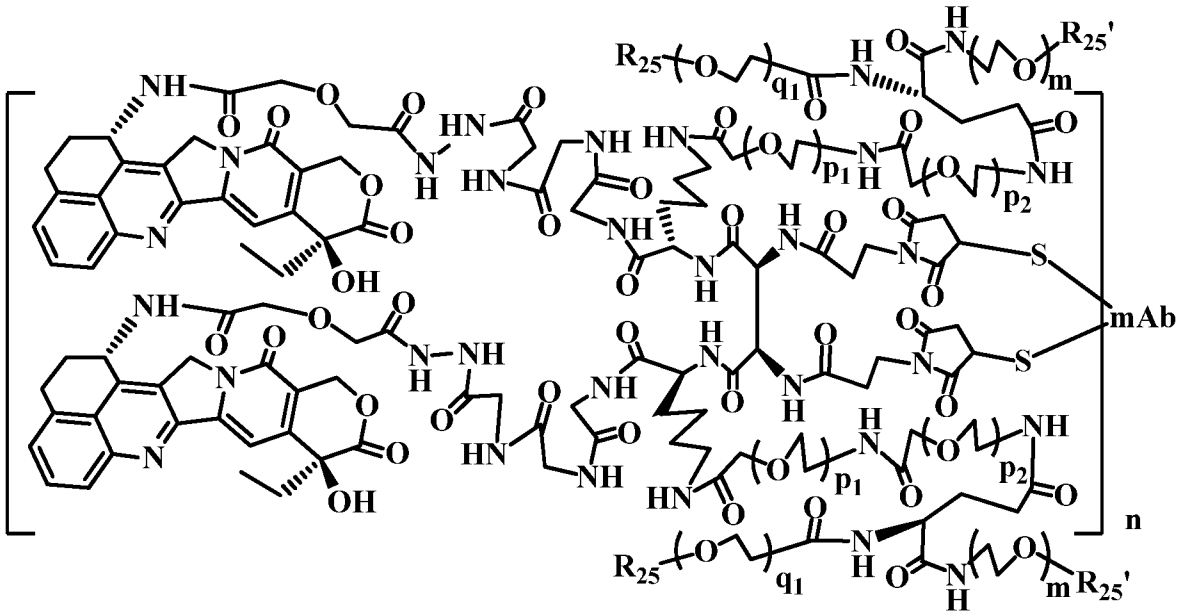
a178,



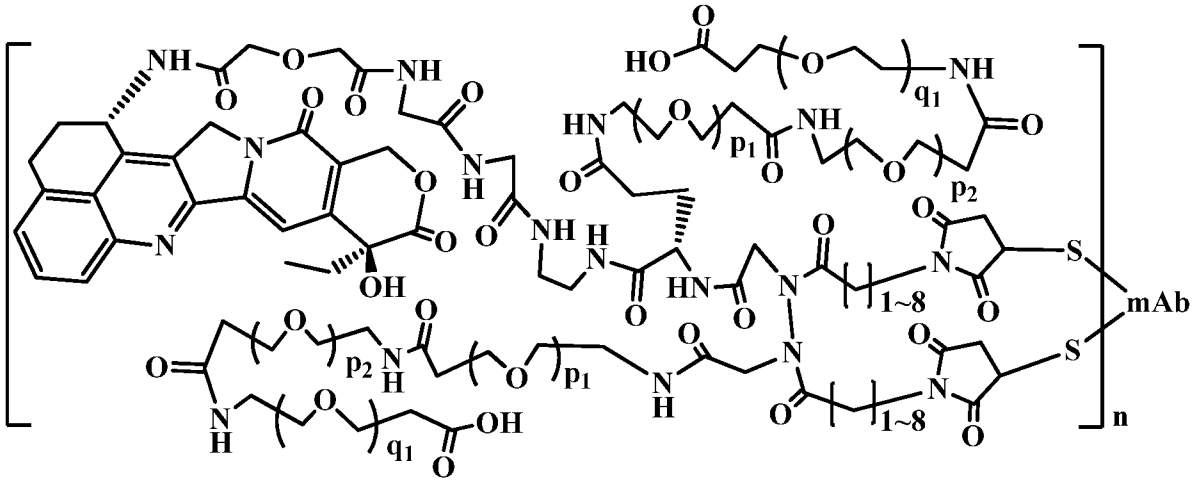
a179,



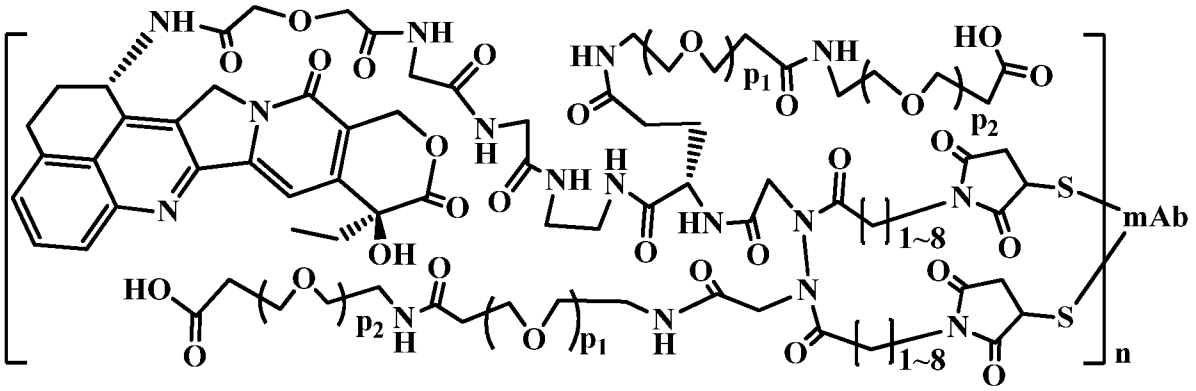
a180,



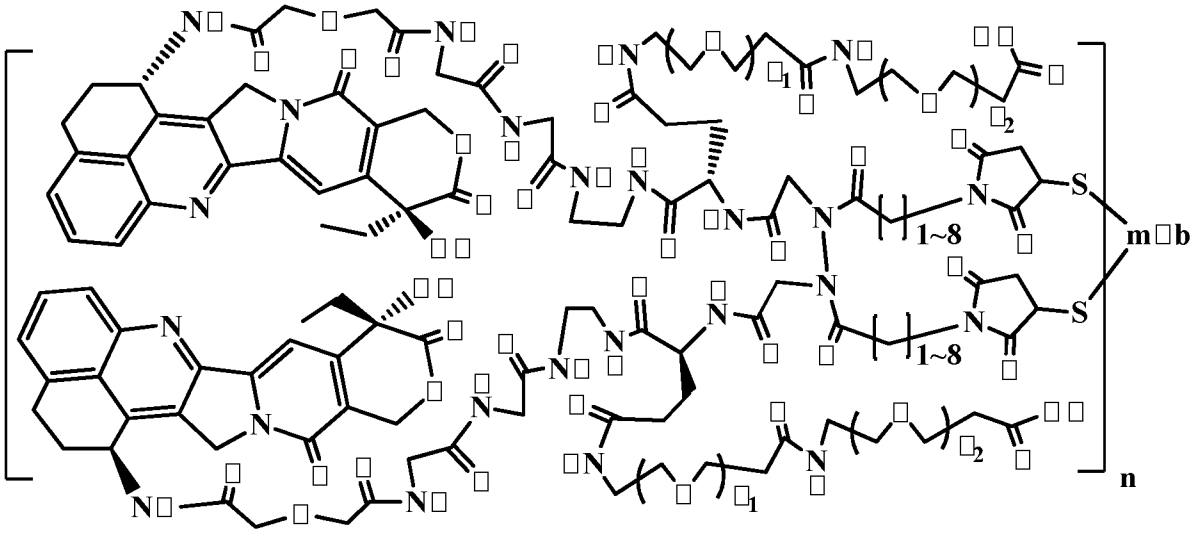
a181,



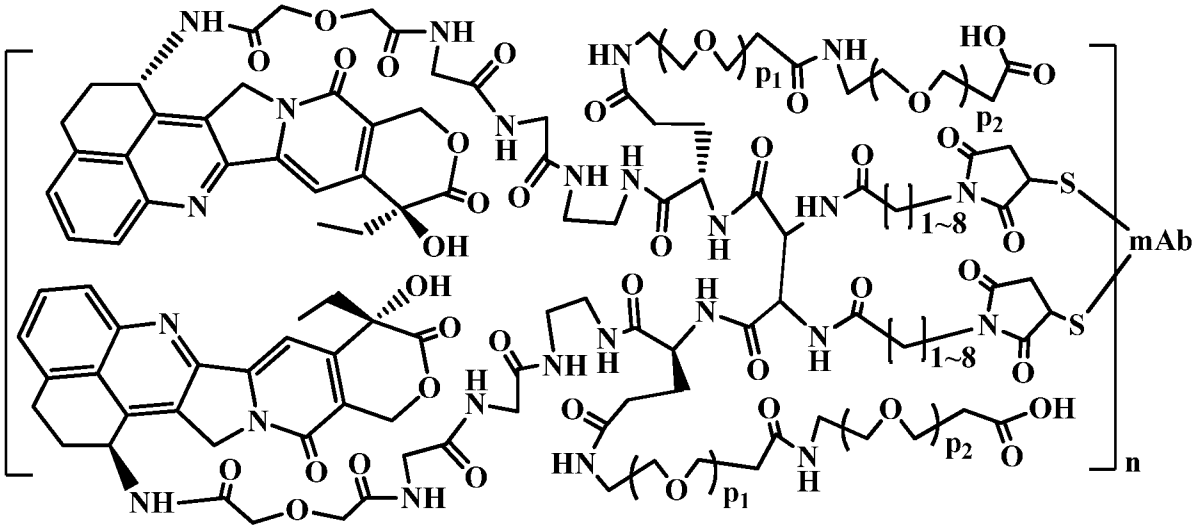
a182,



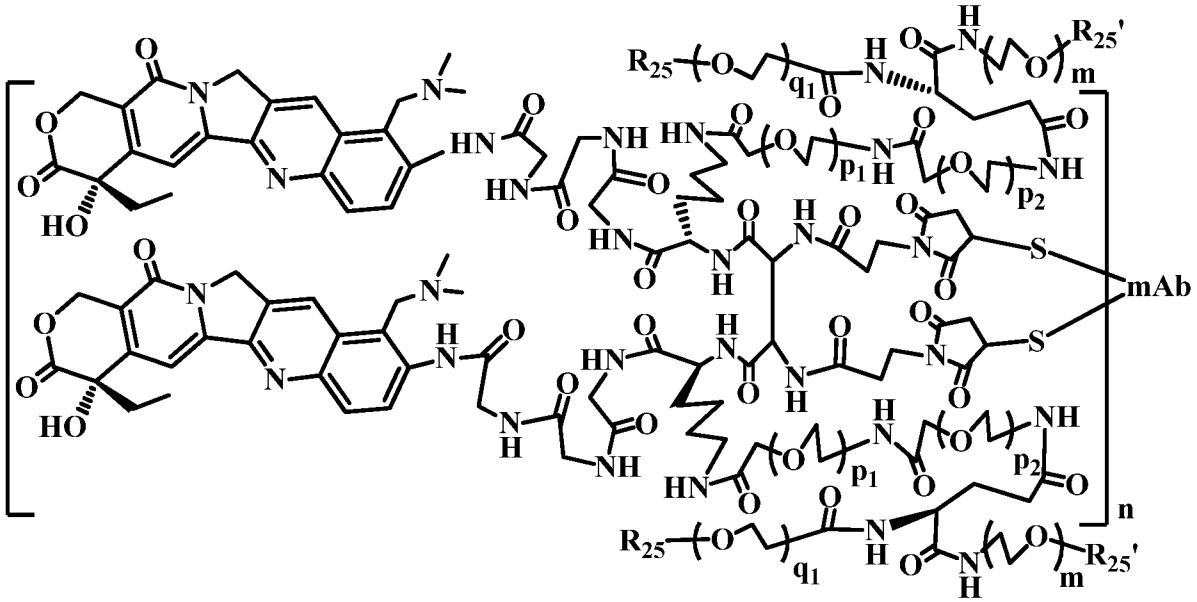
a183,



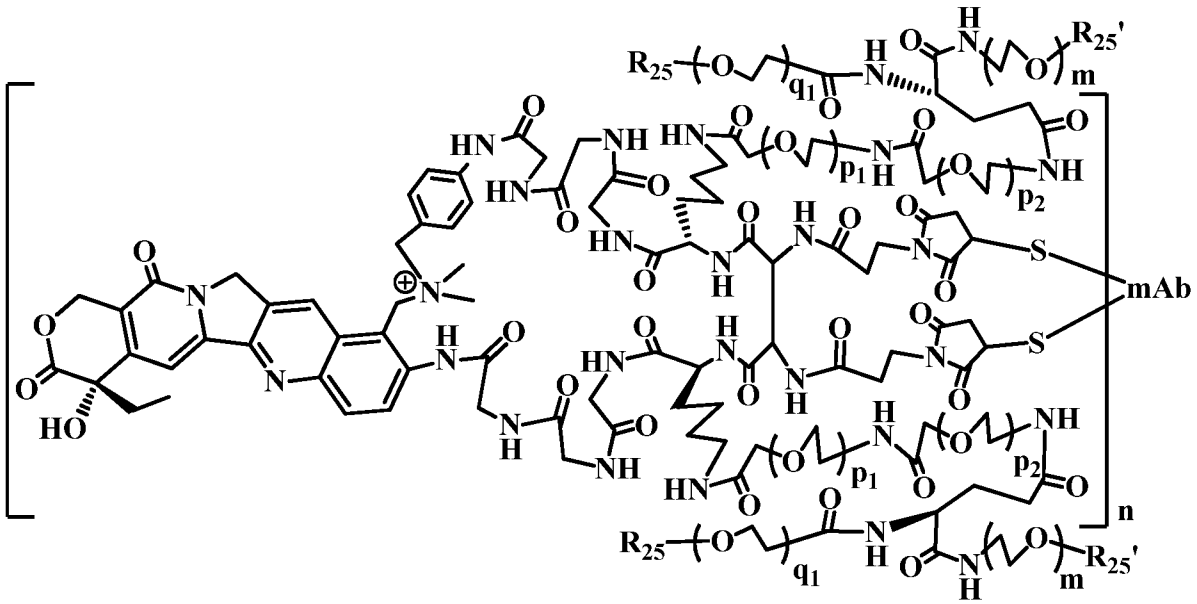
a184,



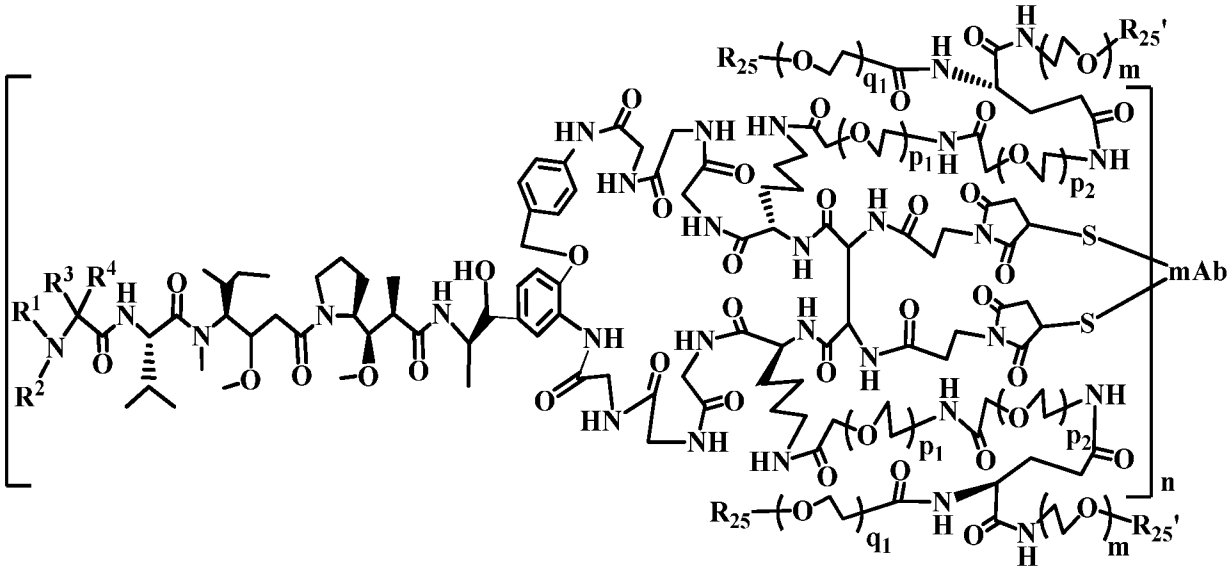
a185,



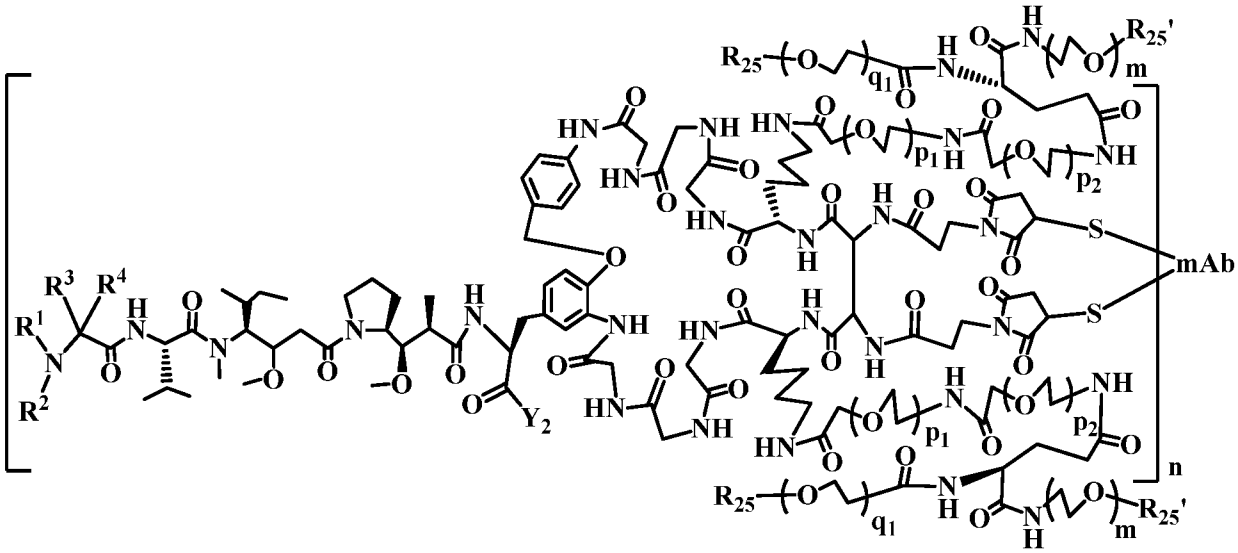
a186,



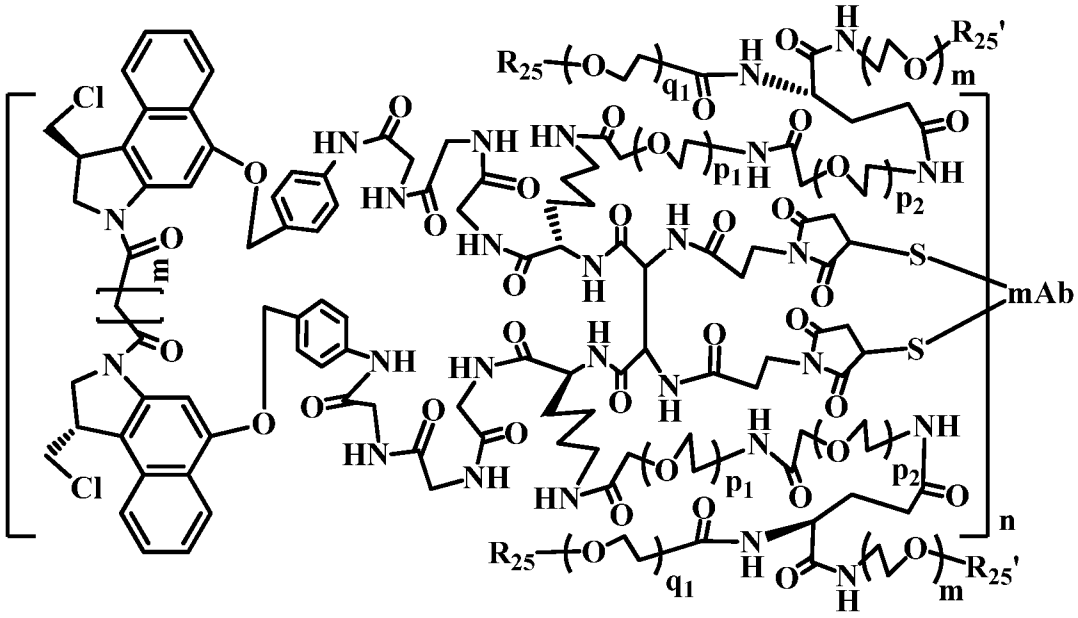
a187,



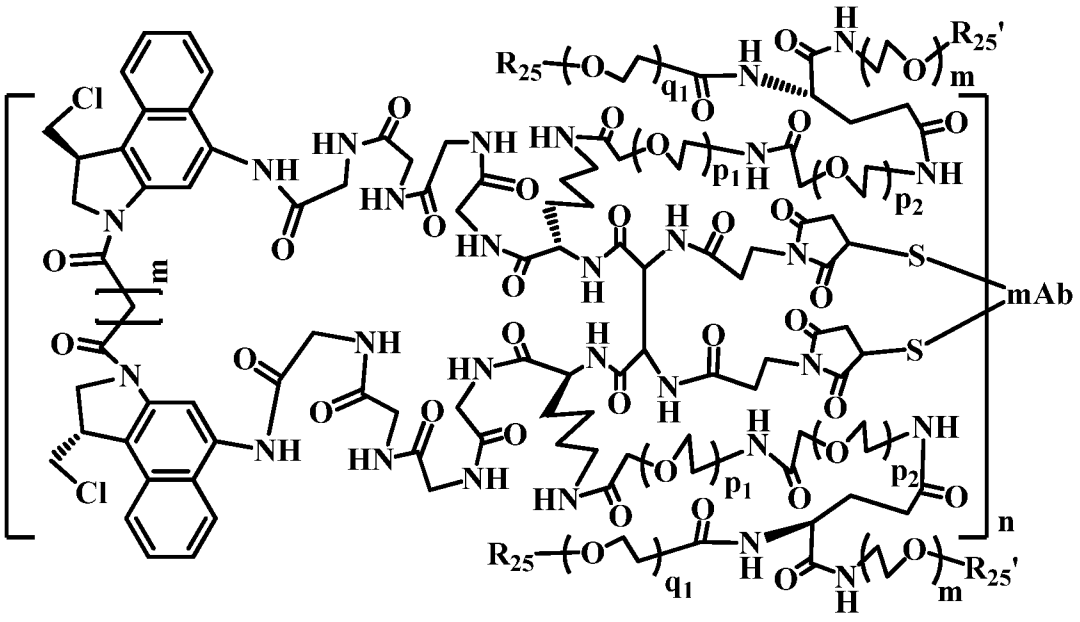
a188,



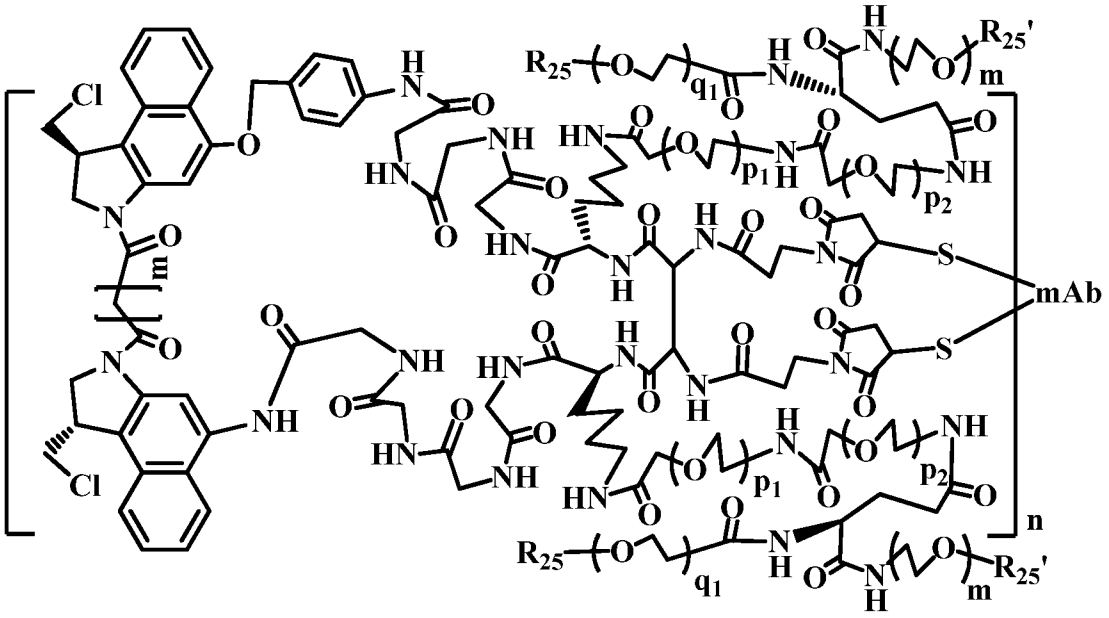
a189,



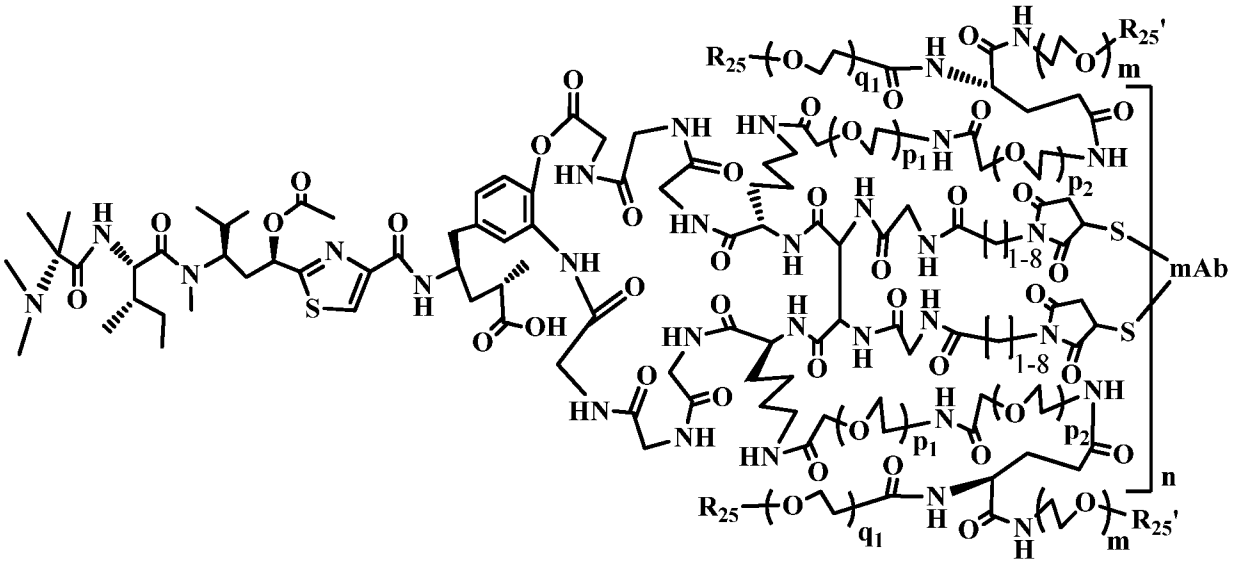
a190,



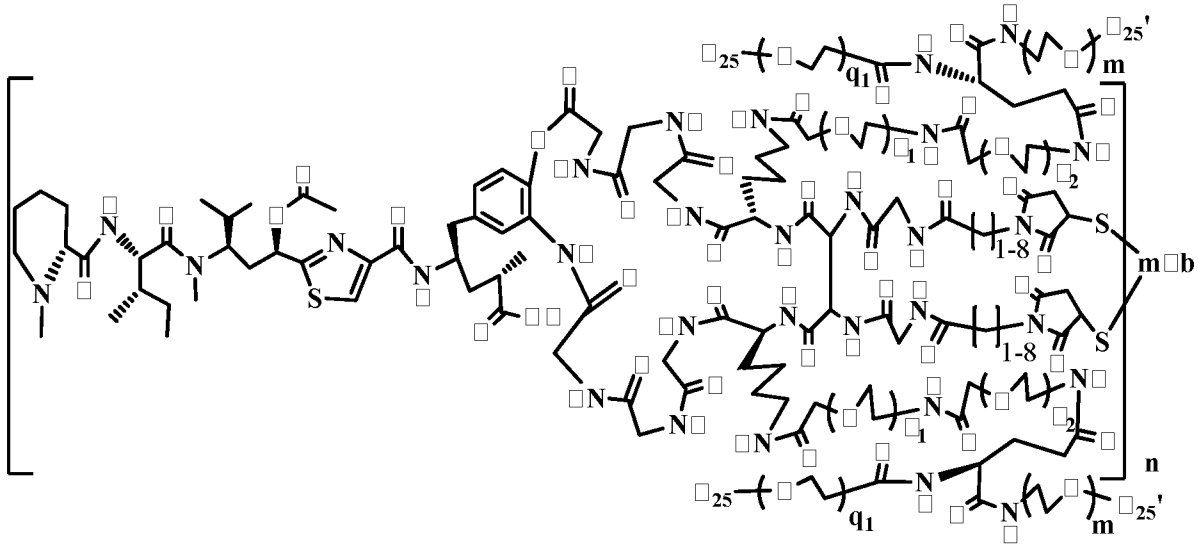
a191,



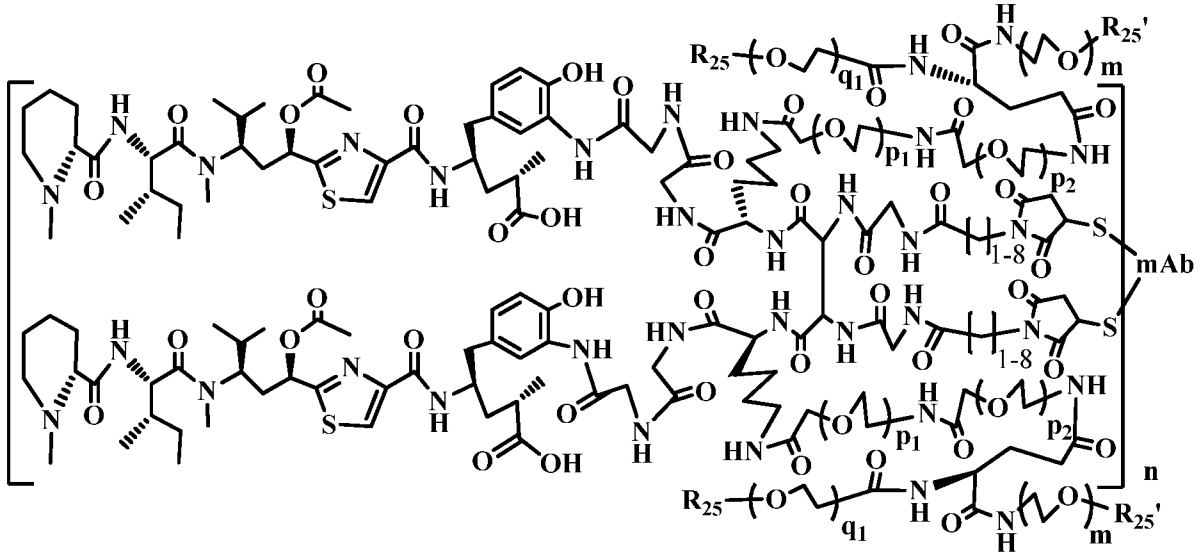
a192,



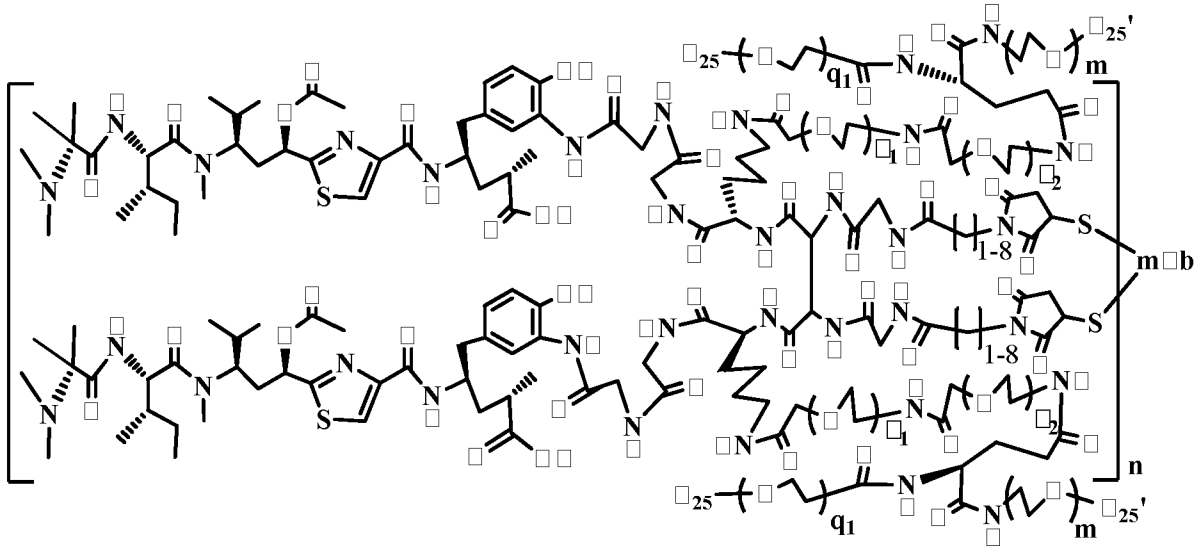
a193,



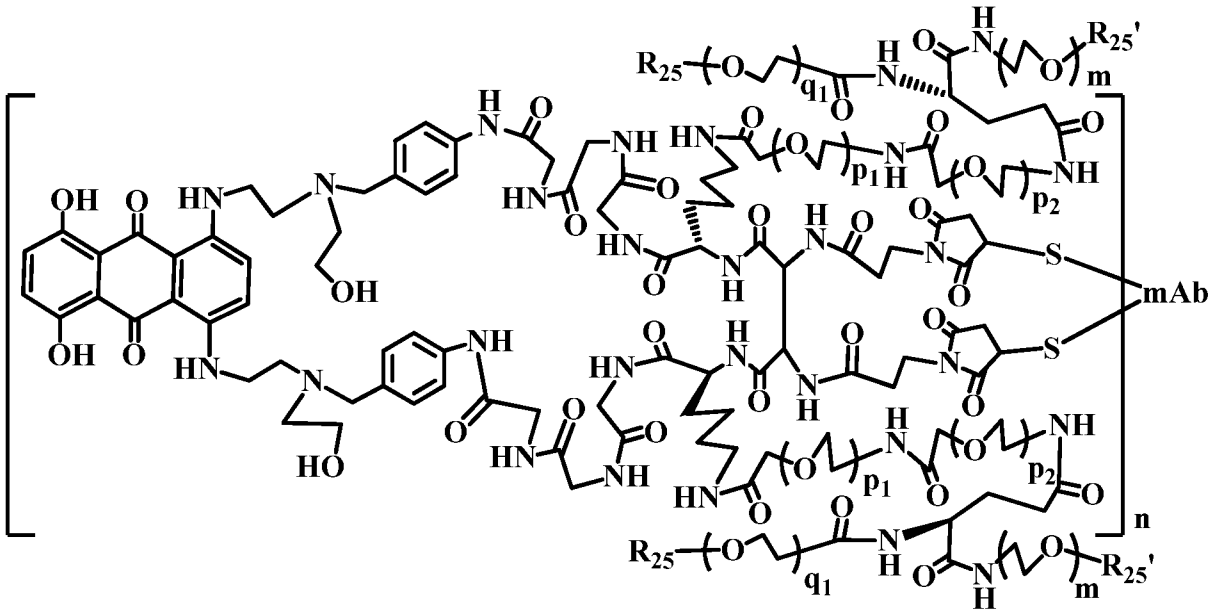
a194,



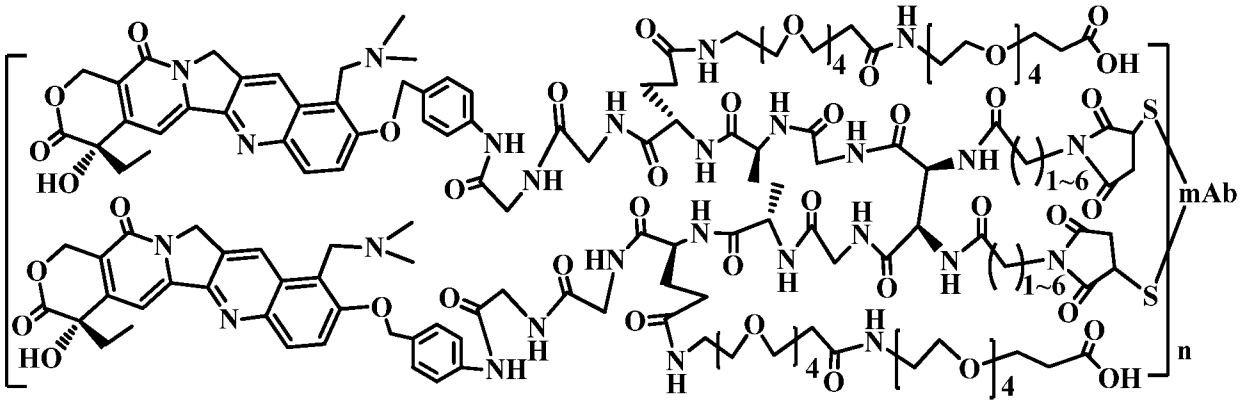
a195,



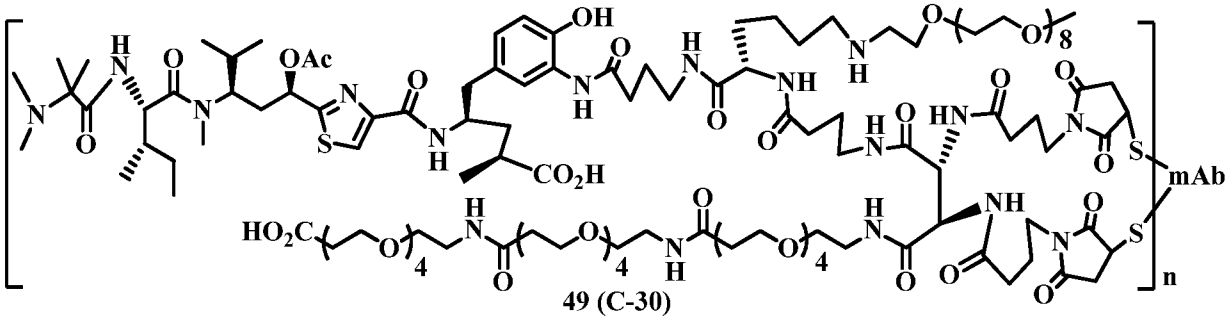
a196,



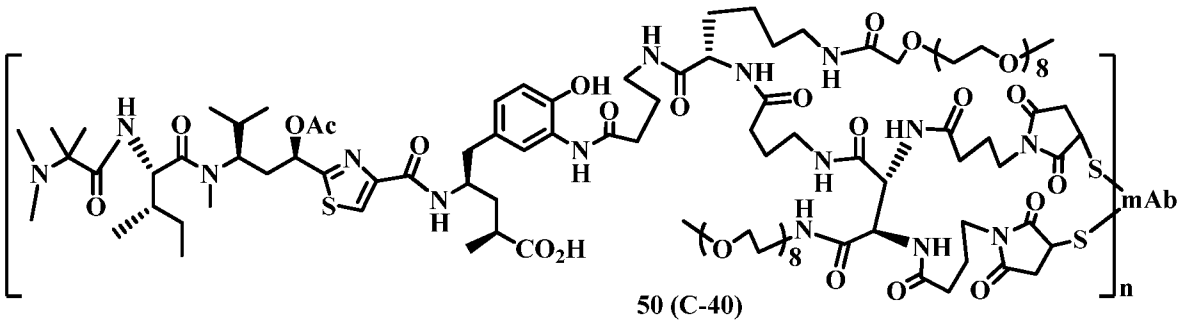
a197,



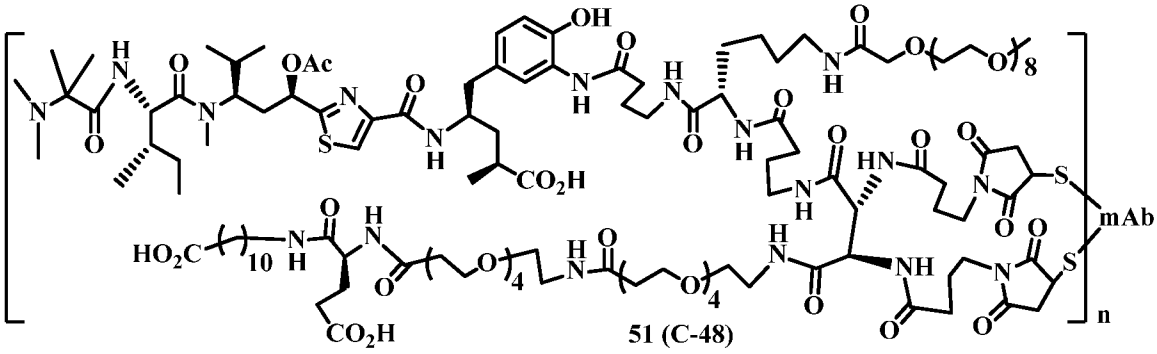
a198,



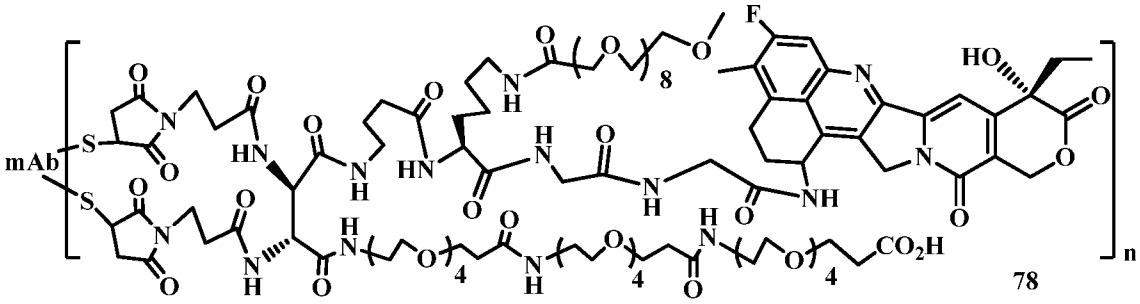
49 (C-30)



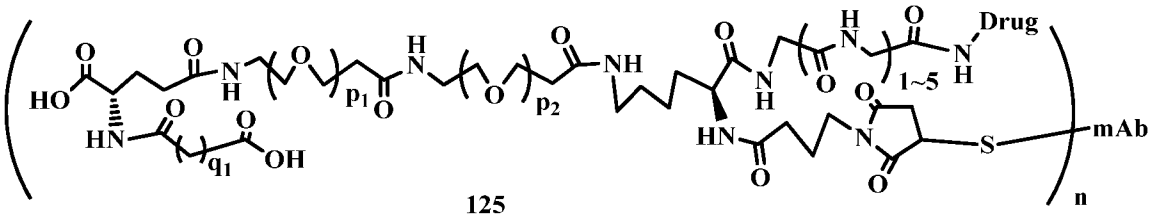
50 (C-40)



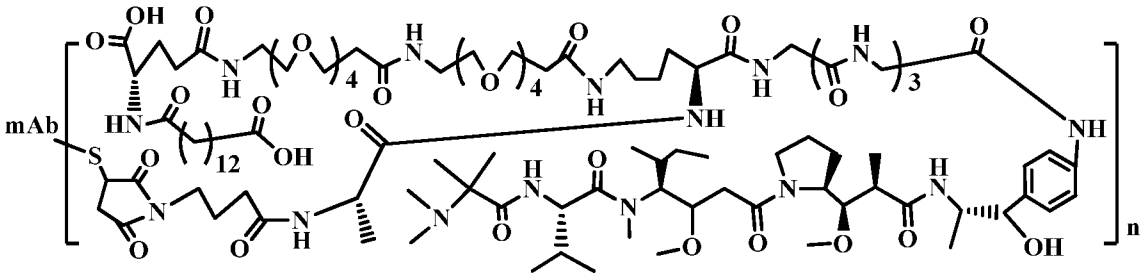
51 (C-48)



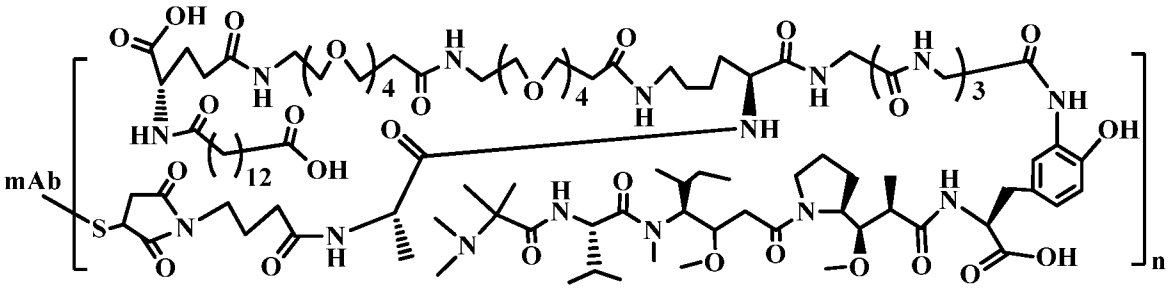
78



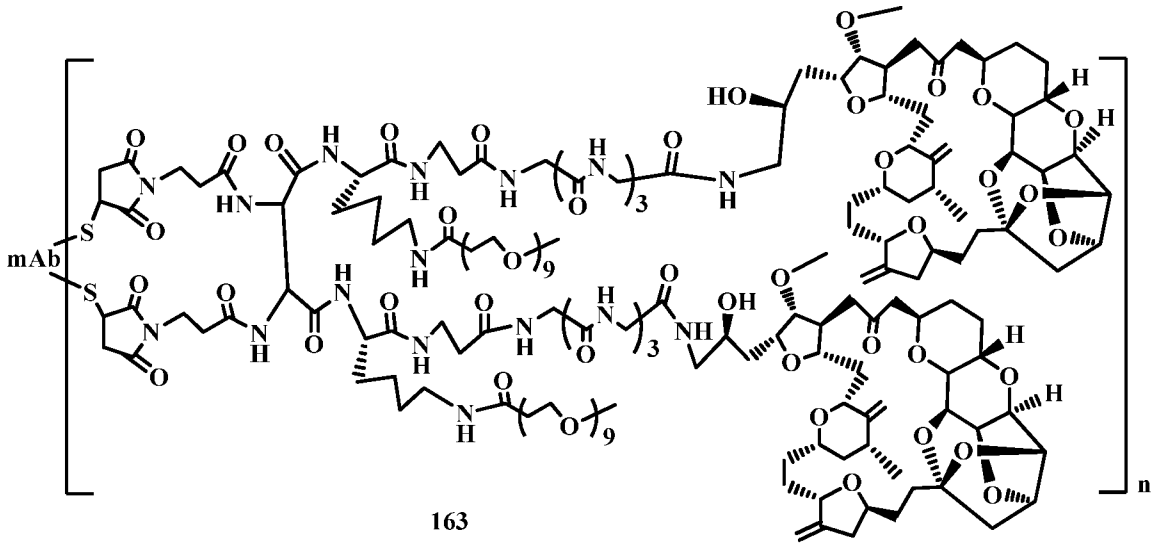
125



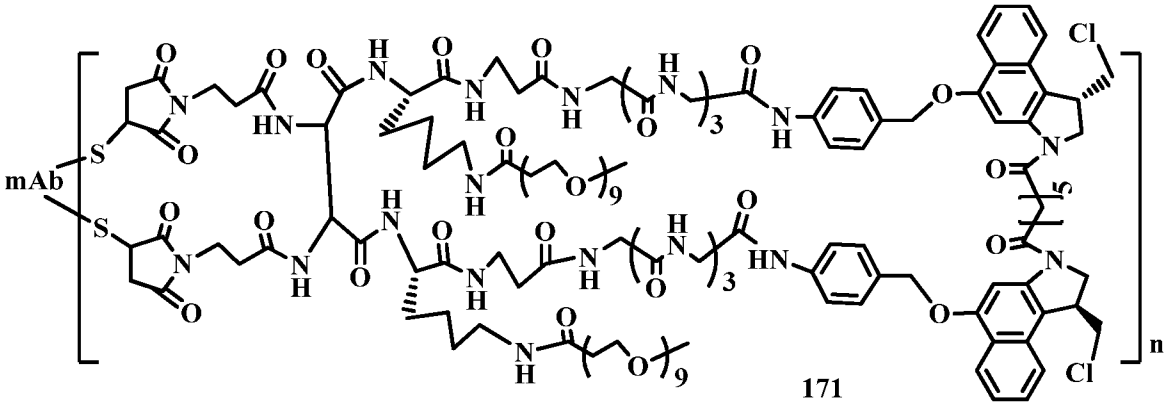
141



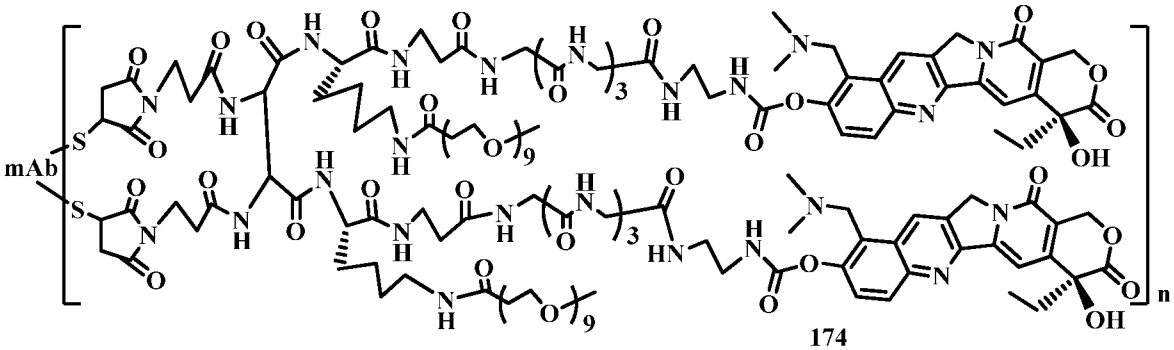
149



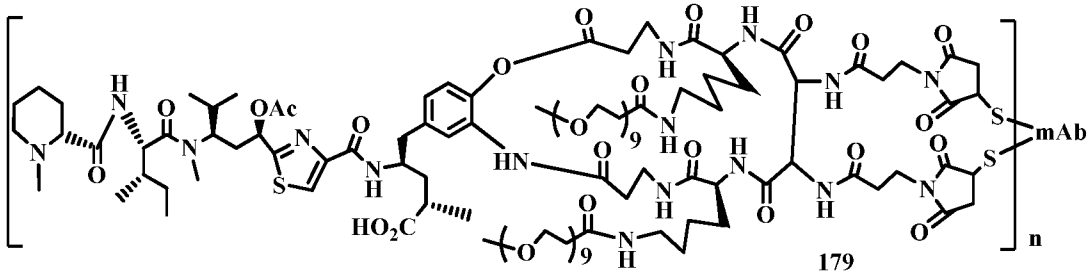
163



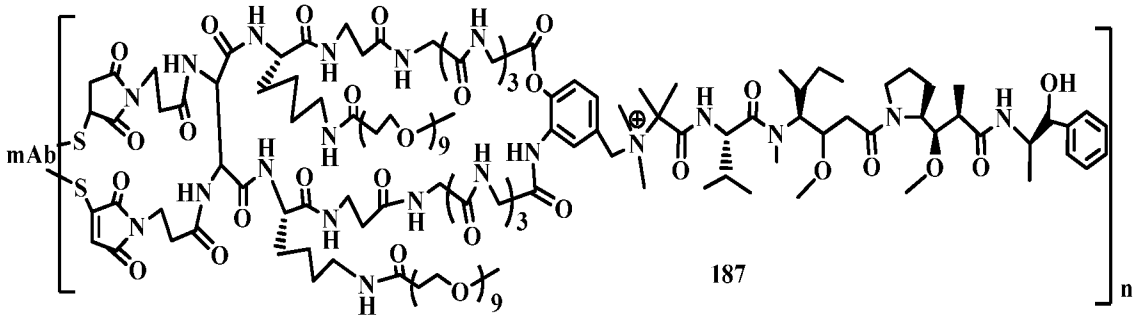
171



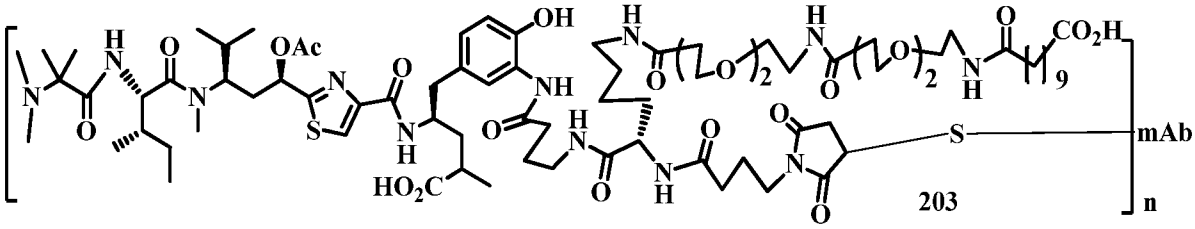
174



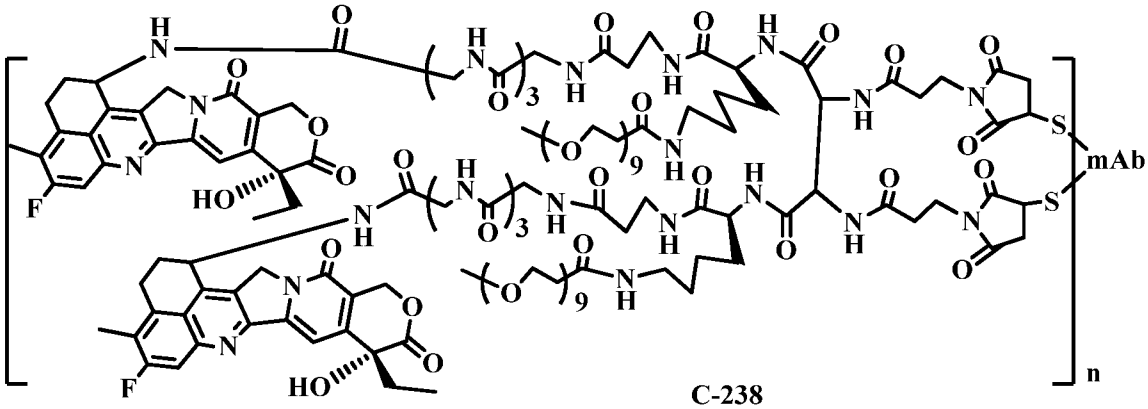
179



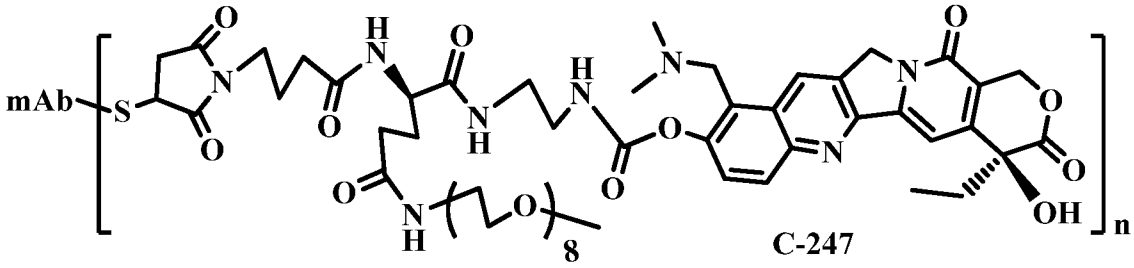
187



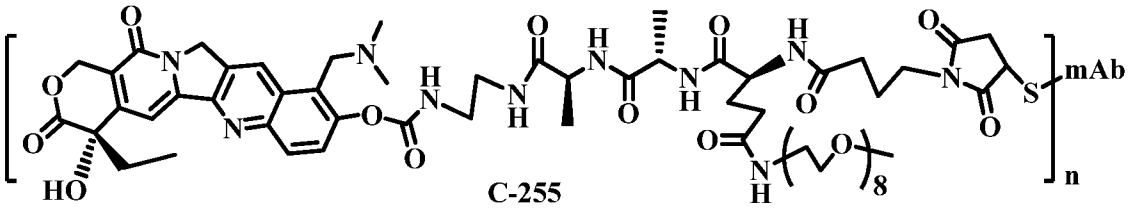
203



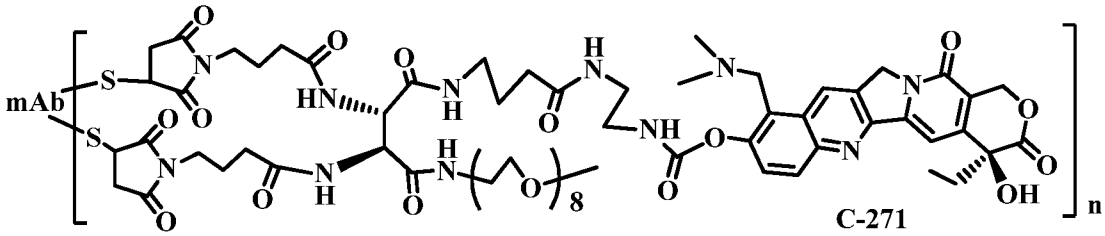
C-238



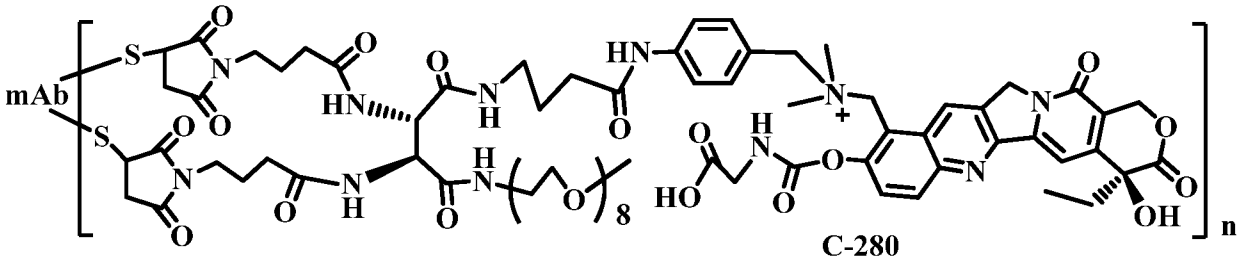
C-247



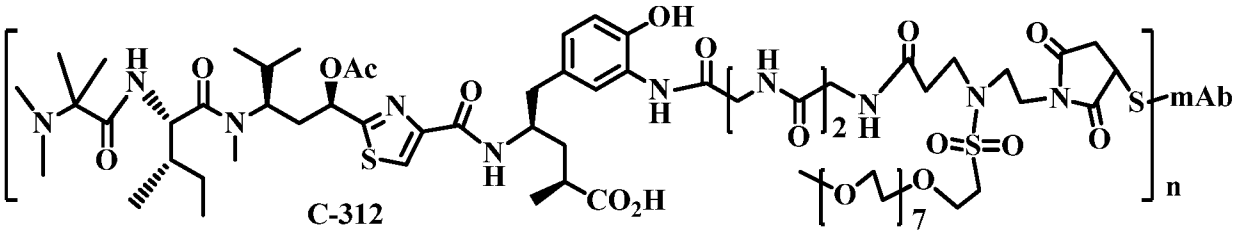
C-255



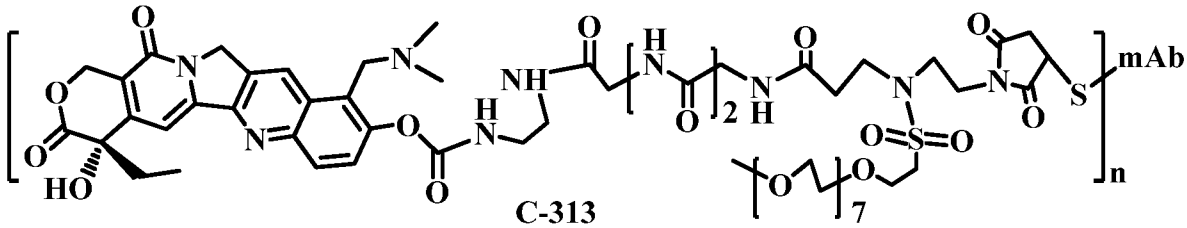
C-271



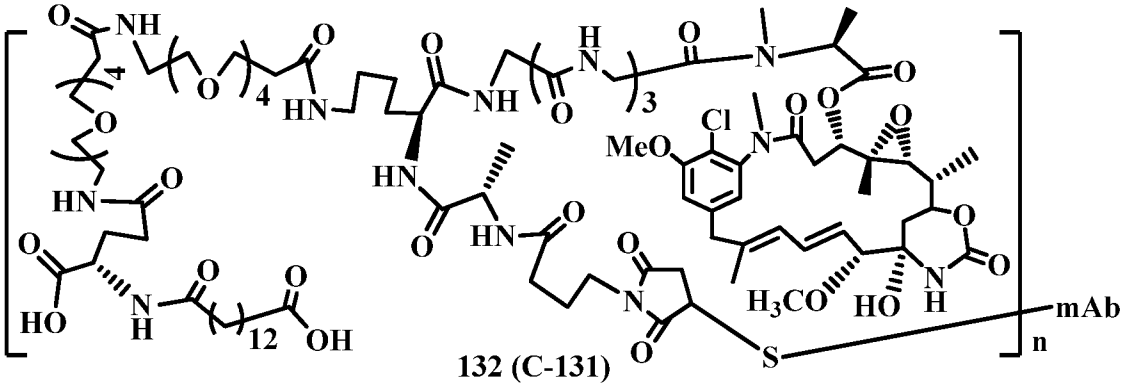
C-280



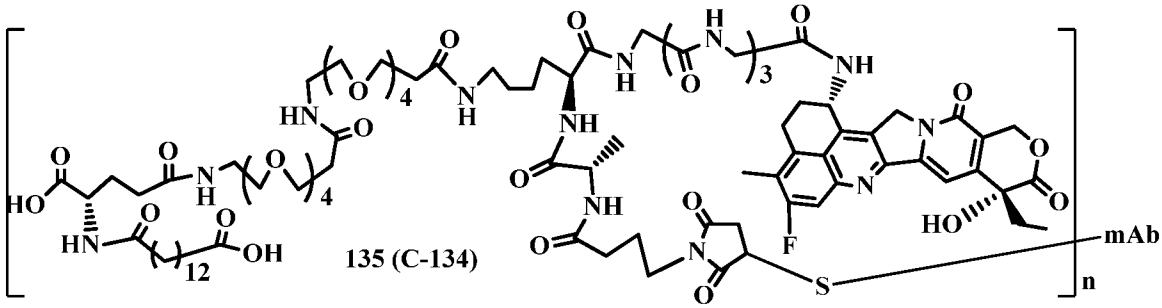
C-312



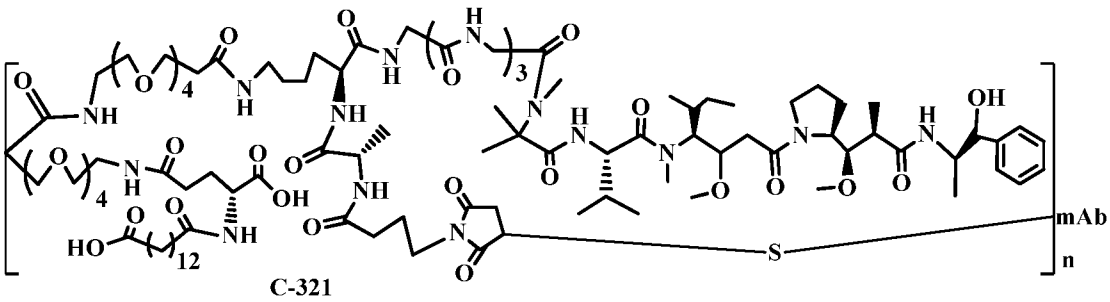
C-313



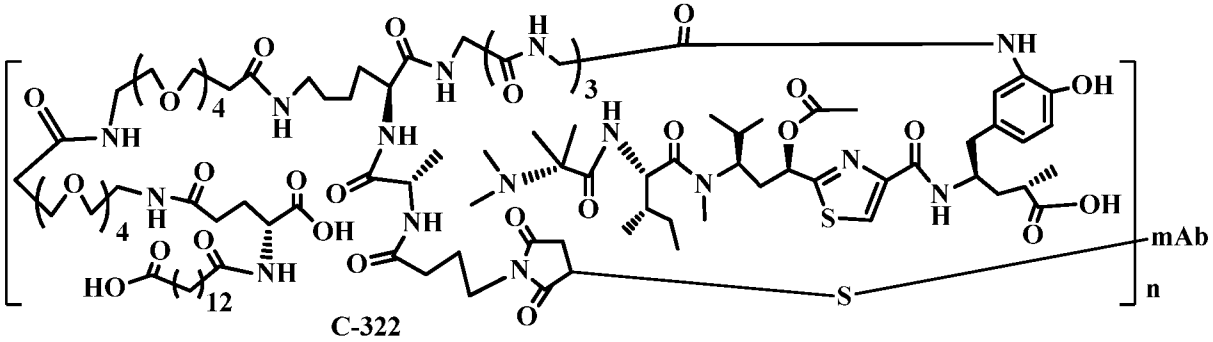
132 (C-131)



135 (C-134)

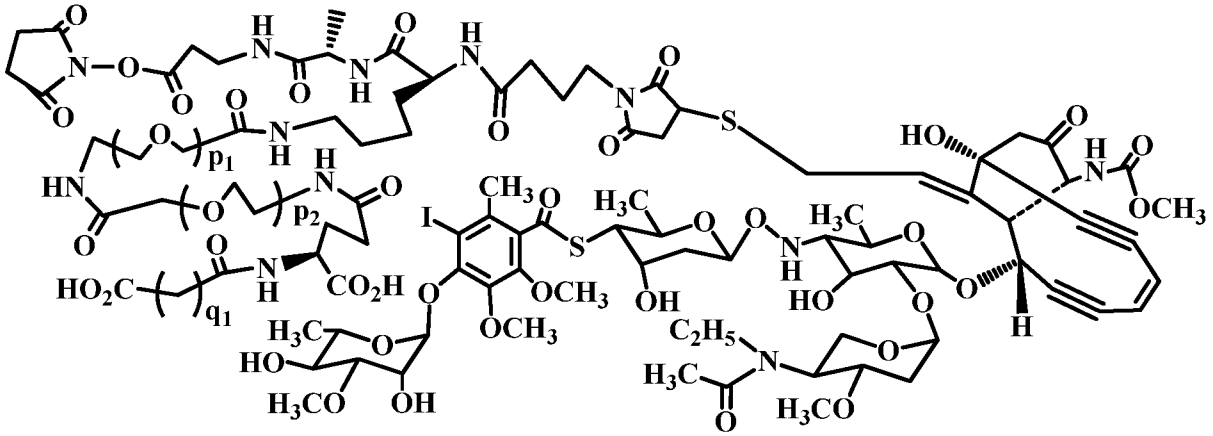


C-321

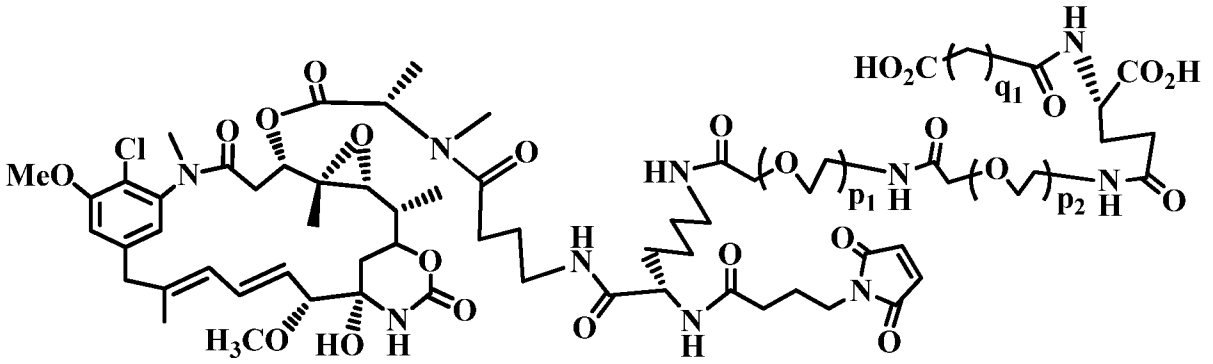


или один или более изотопов химических элементов, фармацевтически приемлемых солей, гидратов или гидратированных солей; или полиморфные кристаллические структуры этих соединений; или оптические изомеры, рацематы, диастереомеры или энантиомеры; где R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R_4, R_5, R_7, R_8, R_9, R_{10}, X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, X_6, X_8, Y_1, Y_2, Y_3, Y_5, R_{12}, $R_{12'}$, R_{13}, R_{13}', R_{25}, R_{25}', p_1, p_2, q_1, q_2, m, m_1, n и mAb описаны так же, как в пп. 1, 2, 3 и 6; Aa представляет собой природную или неприродную аминокислоту; r равно 0-12; (Aa)r представляет собой пептид, содержащий последовательность одинаковых или разных аминокислот, когда r > 2; r = 0 означает, что (Aa)r отсутствует.

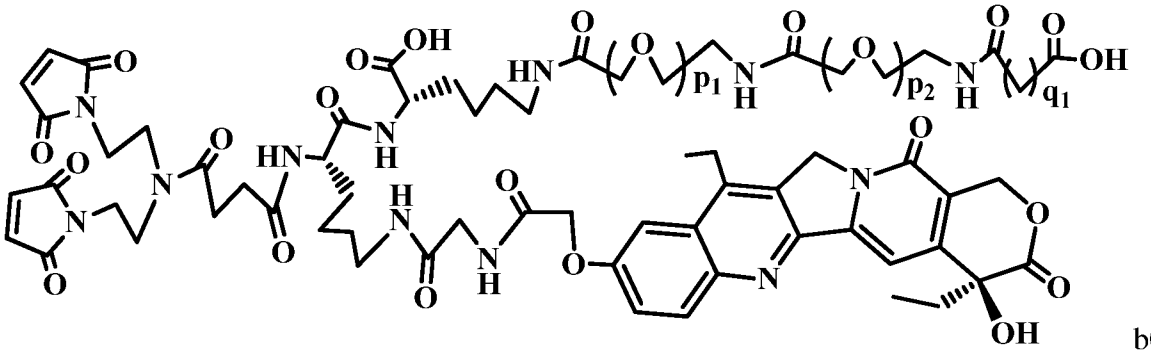
10. Соединение по пп. 3 и 4, имеющее следующие структуры из b001- b197, 30, 40, 48, 77, 124, 140, 148, 162, 170, 173, 178, 186, 202, 238, 247, 255, 271, 279, 312, 313, 131, 134, 321 и 322, проиллюстрированные ниже:



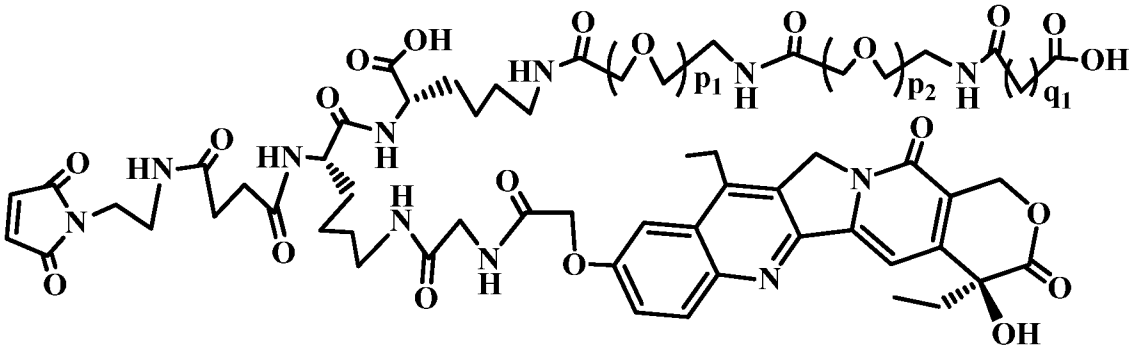
b001,



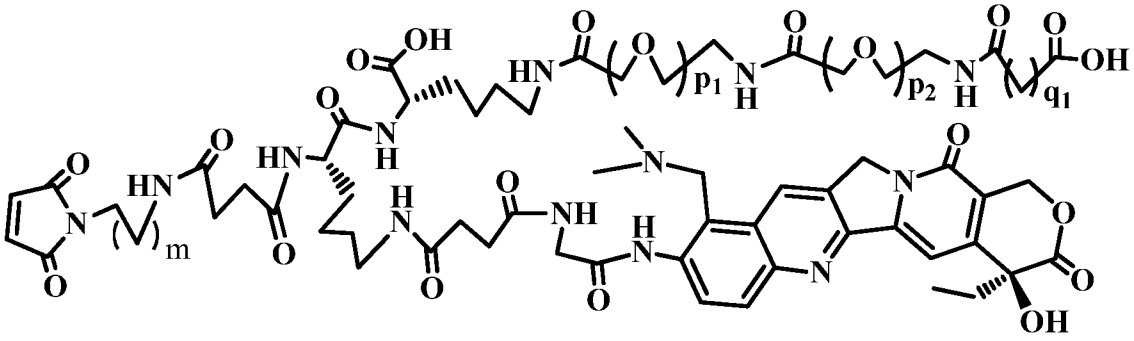
b002,



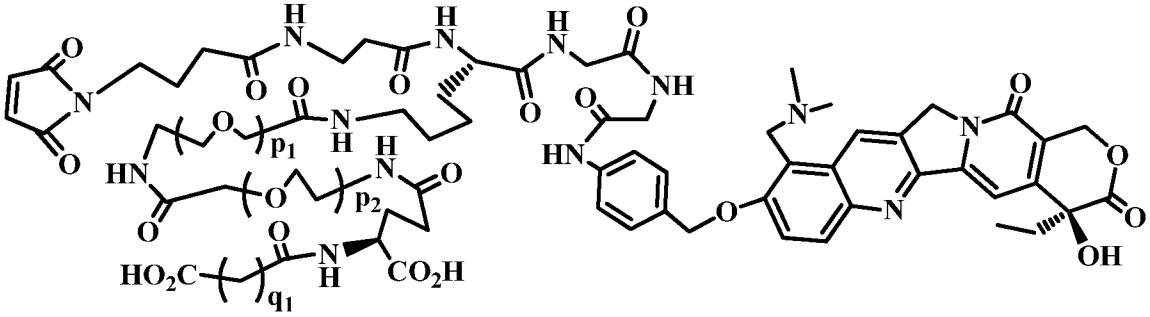
b003,



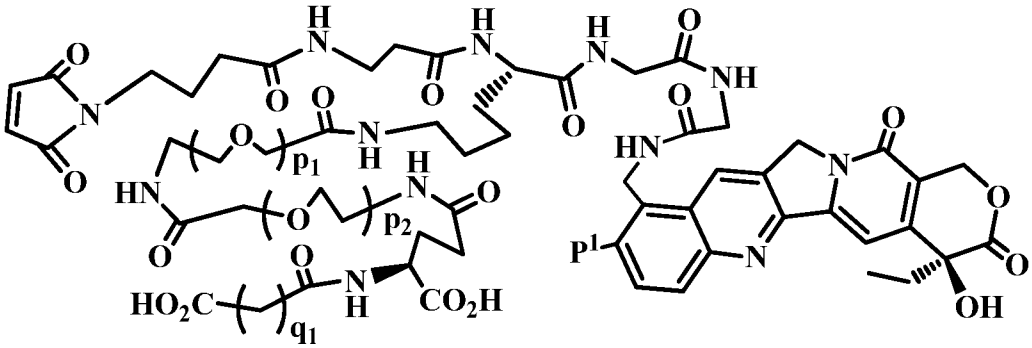
b004,



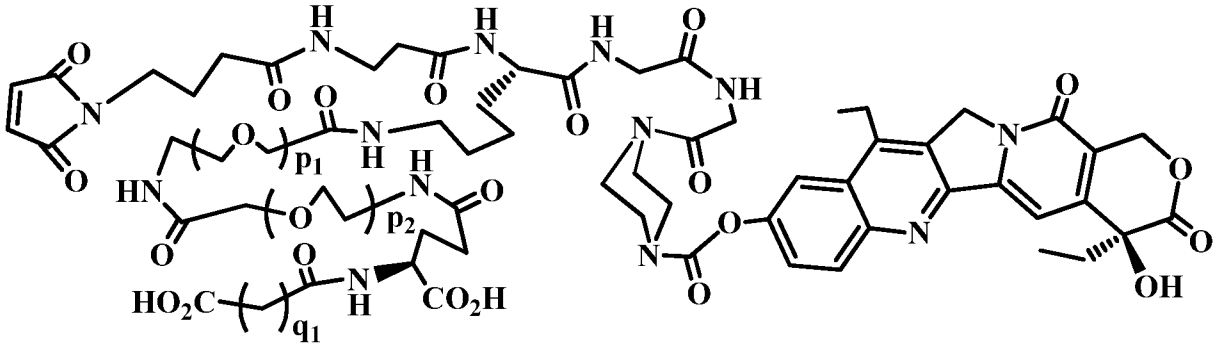
b005,



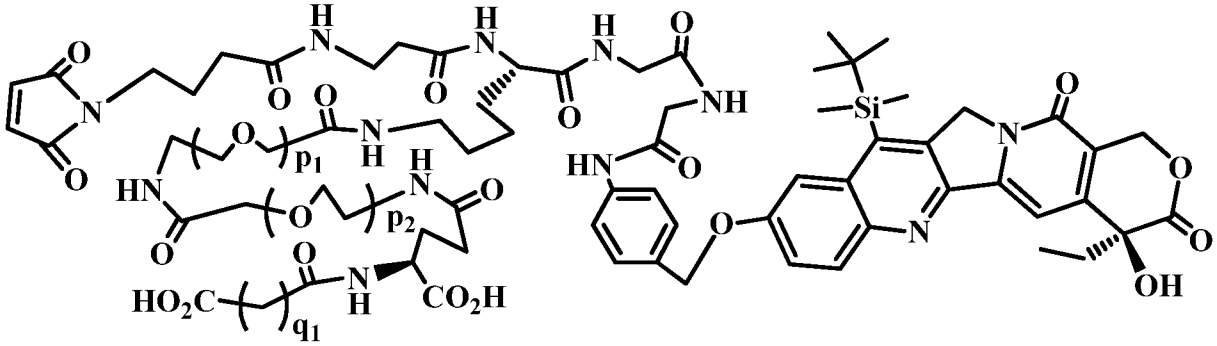
b006,



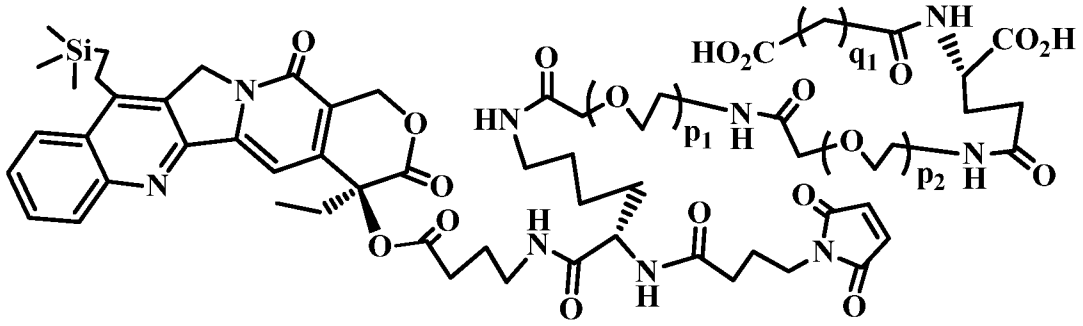
b007,



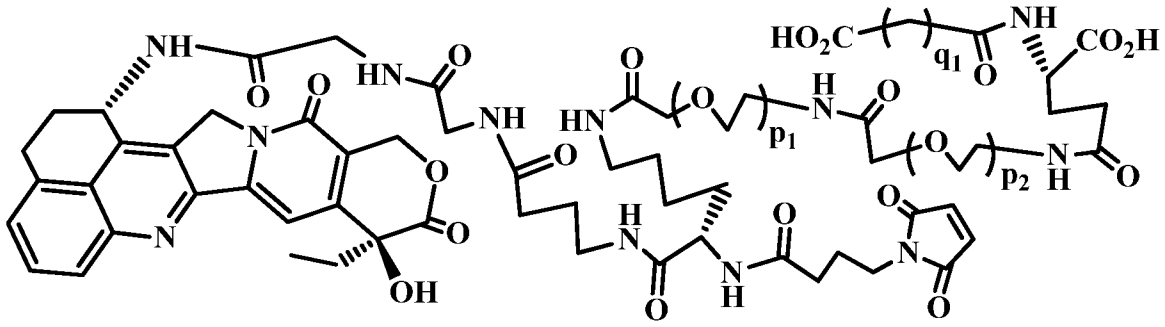
b008,



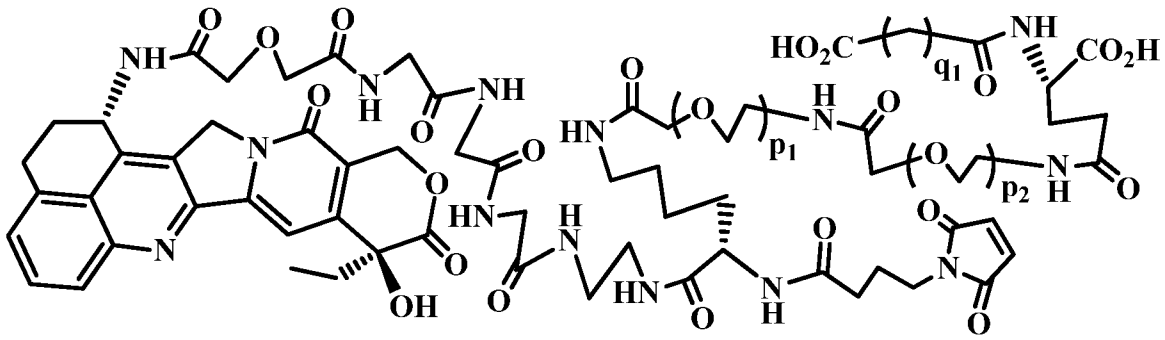
b009,



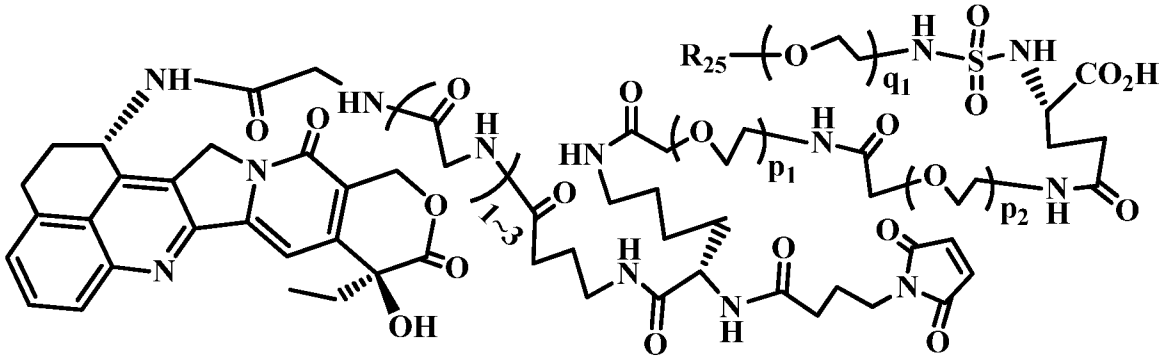
b010,



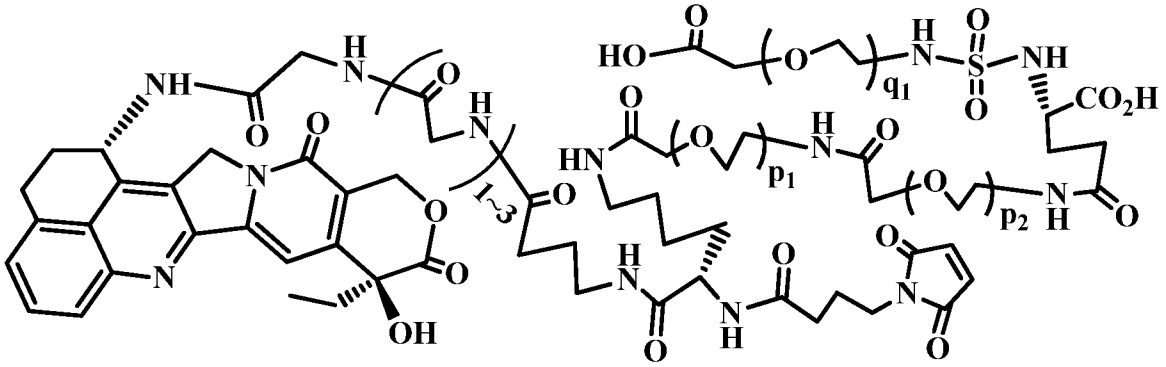
b011,



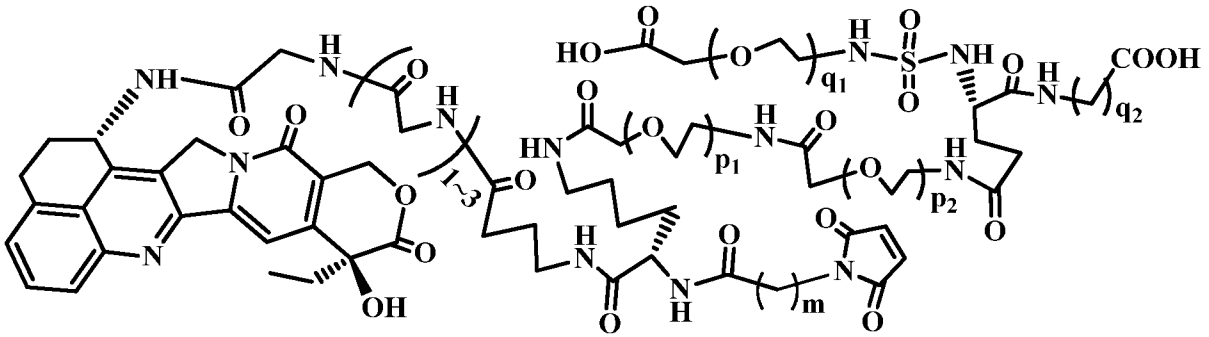
b012,



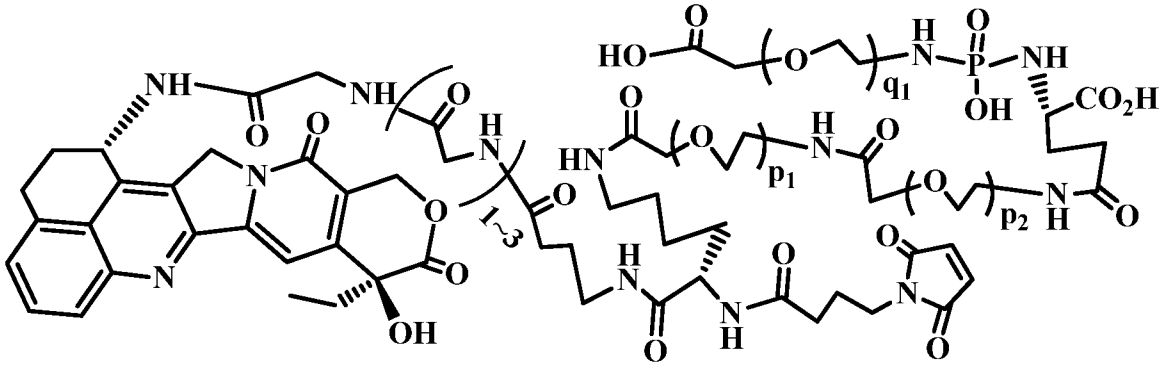
b013,



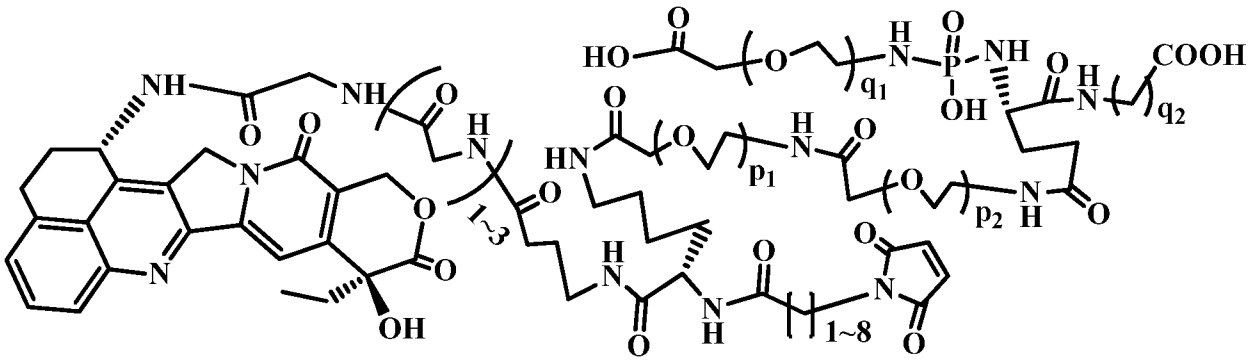
b014,



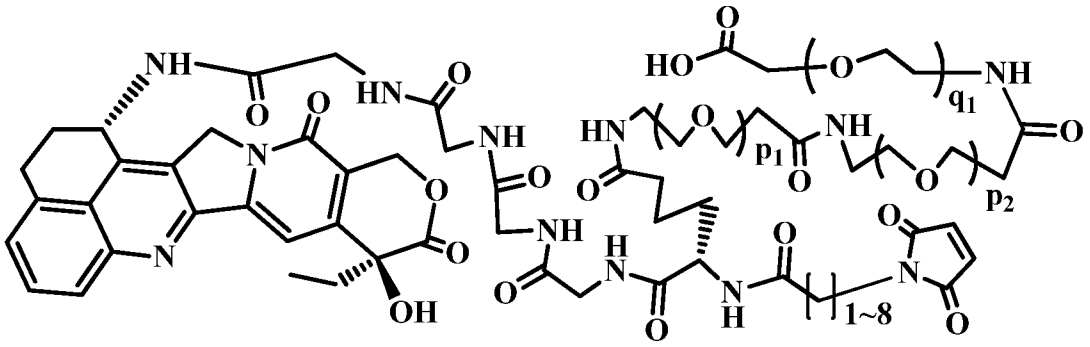
b015,



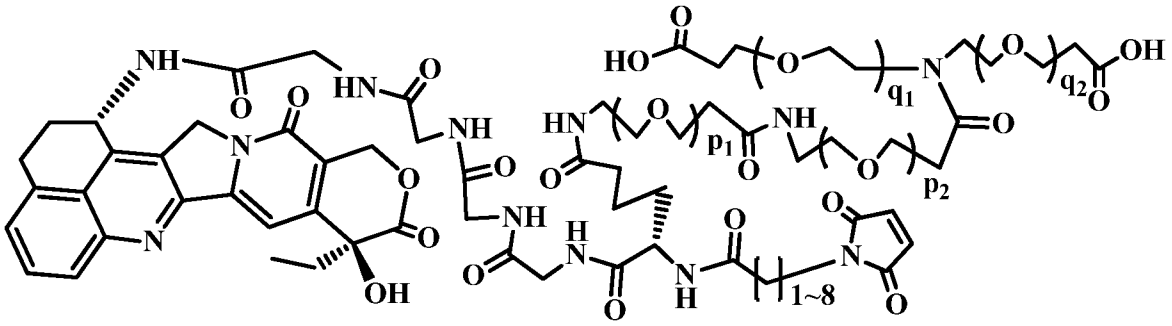
b016,



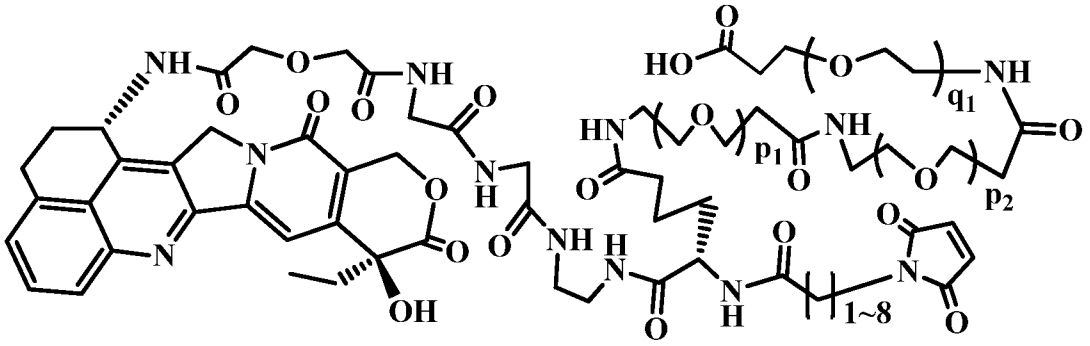
b017,



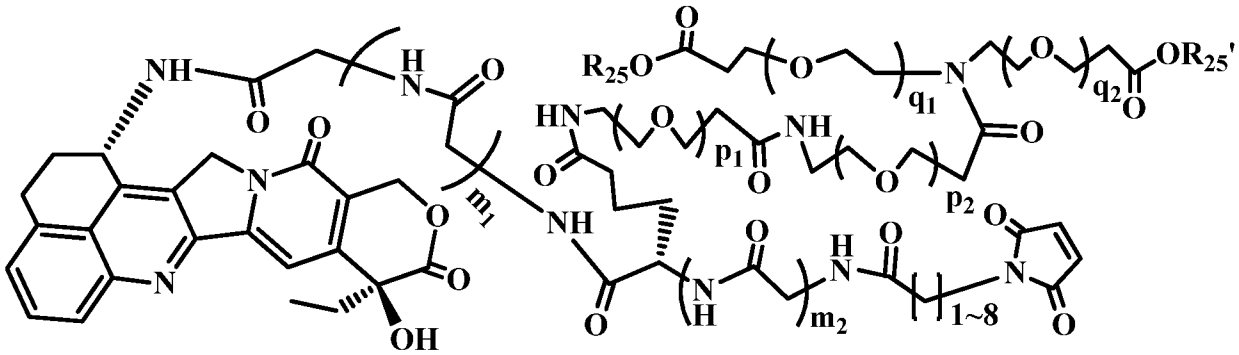
b018,



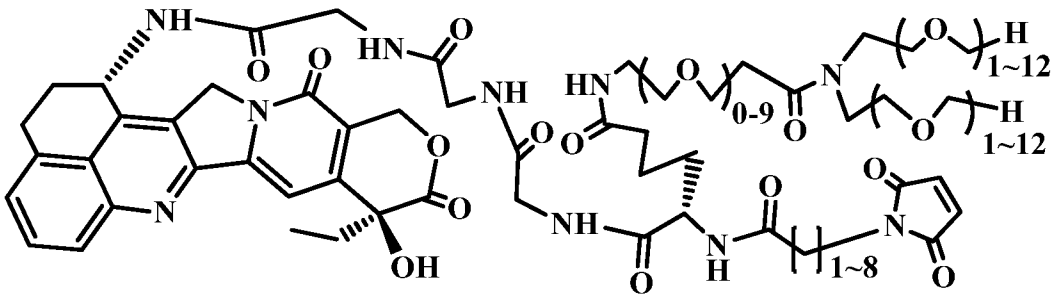
b019,



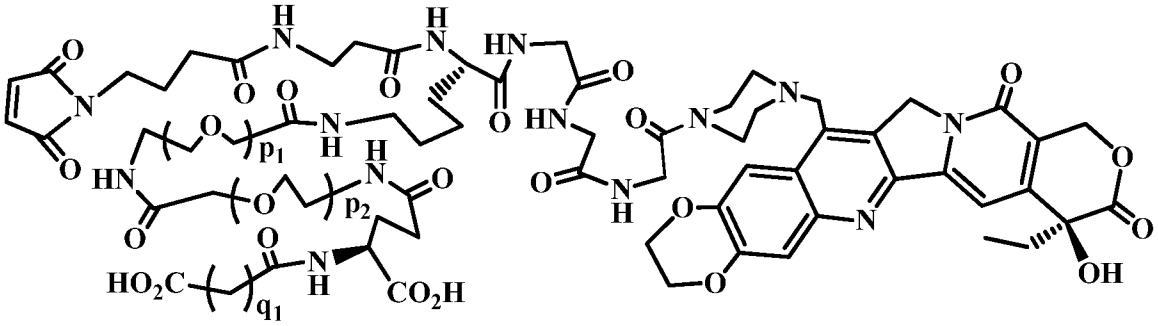
b020,



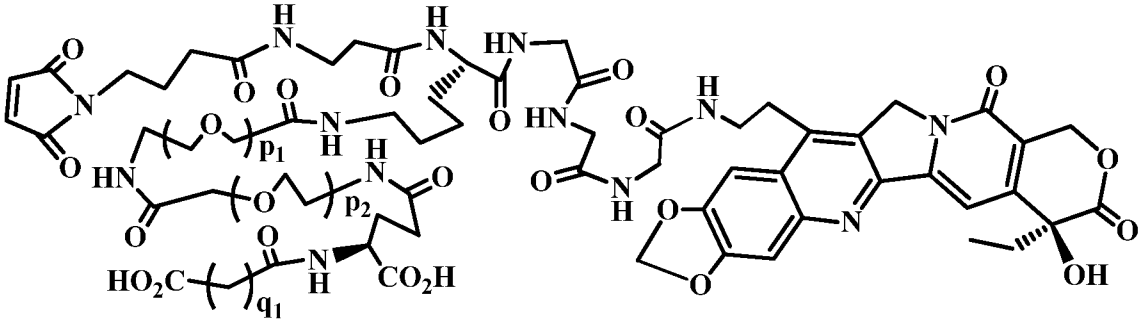
b021,



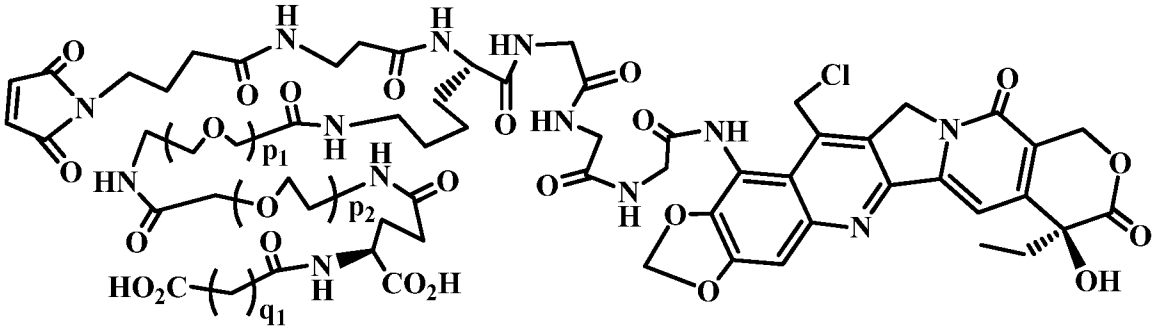
b022,



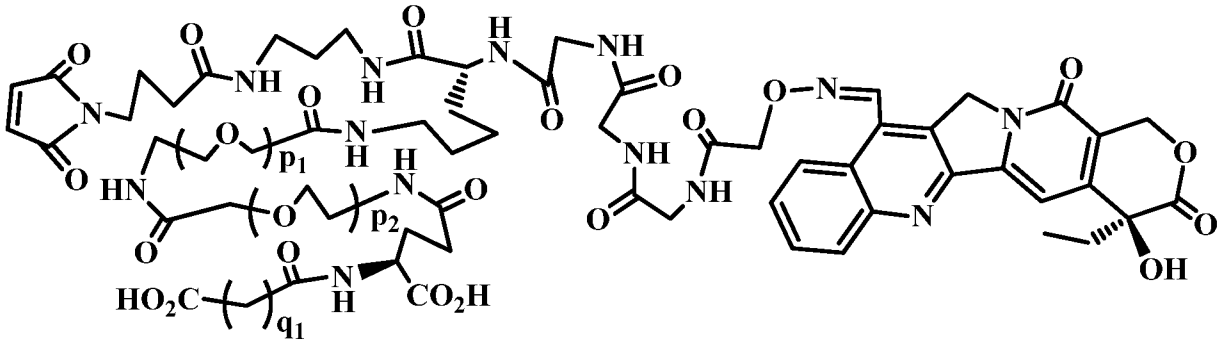
b023,



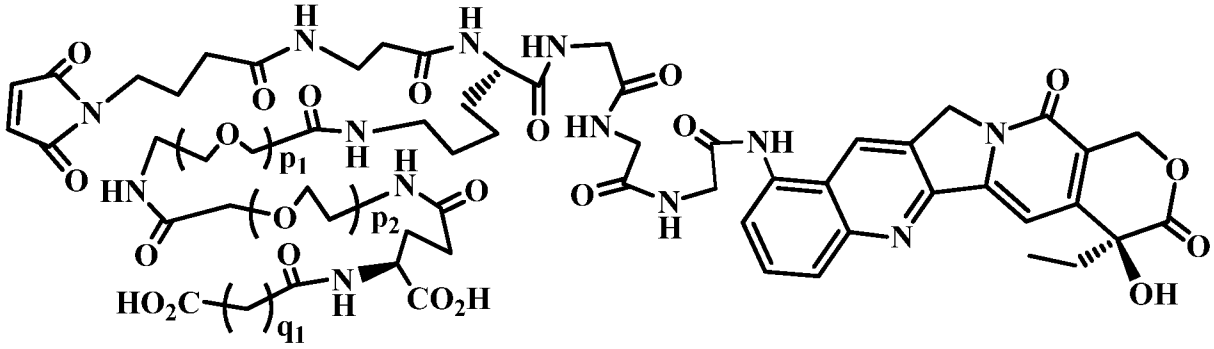
b024,



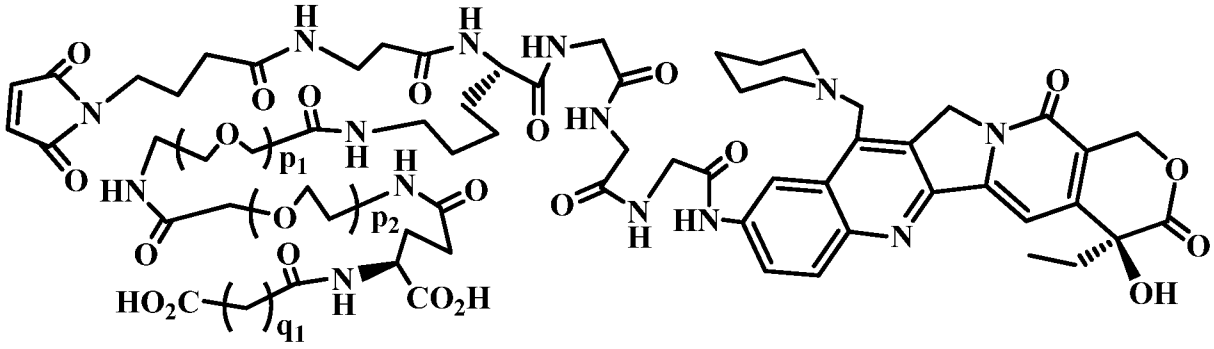
b025,



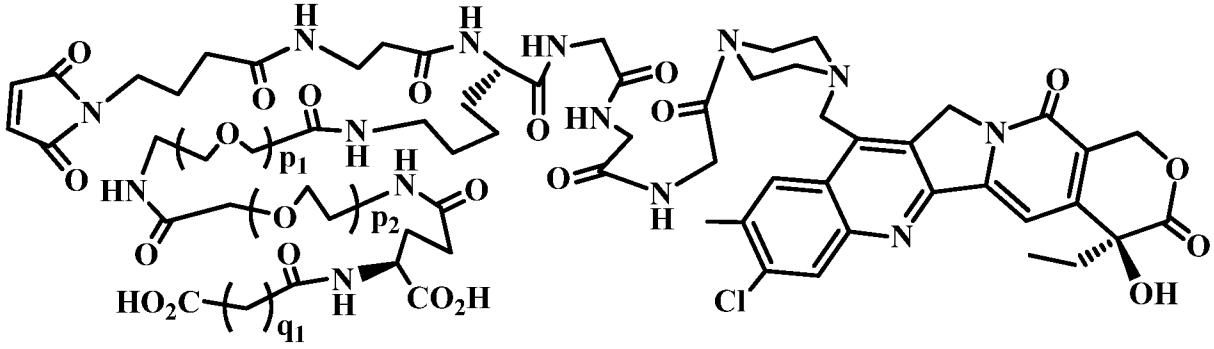
b026,



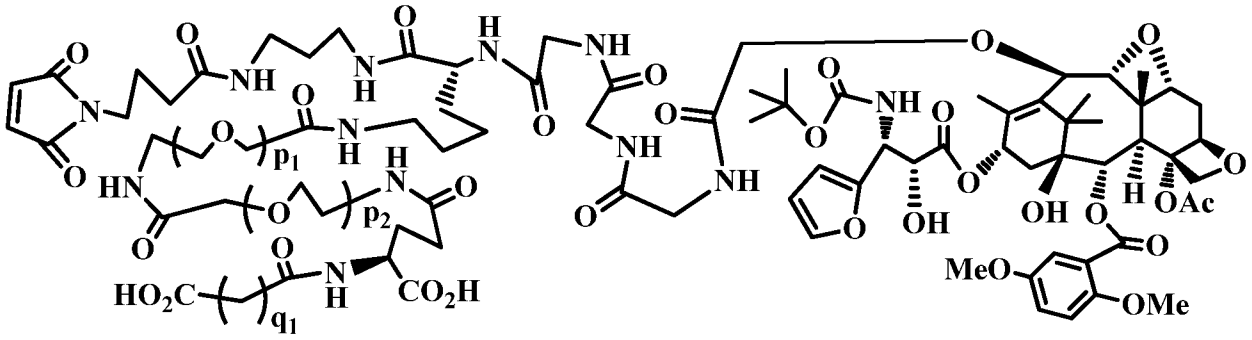
b027,



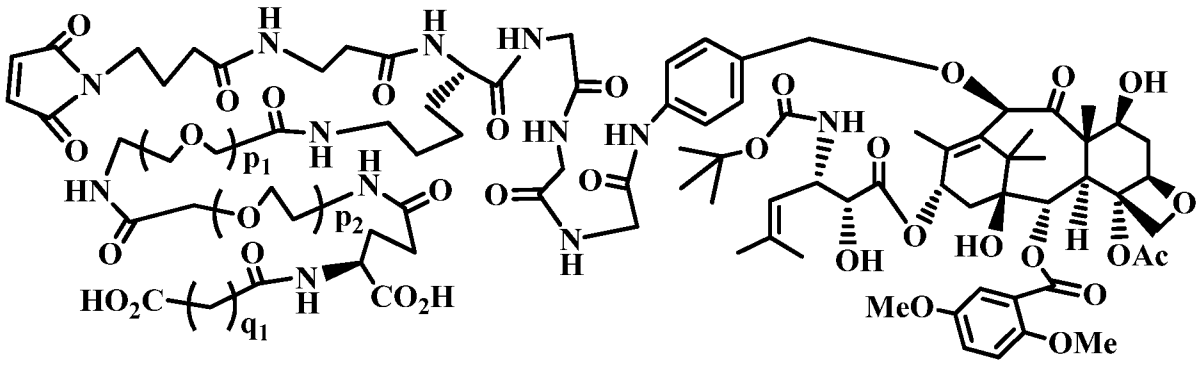
b028,



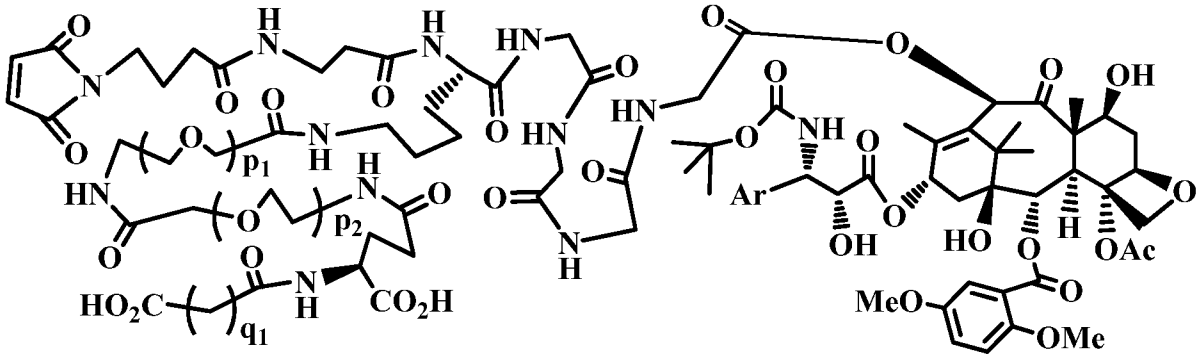
b029,



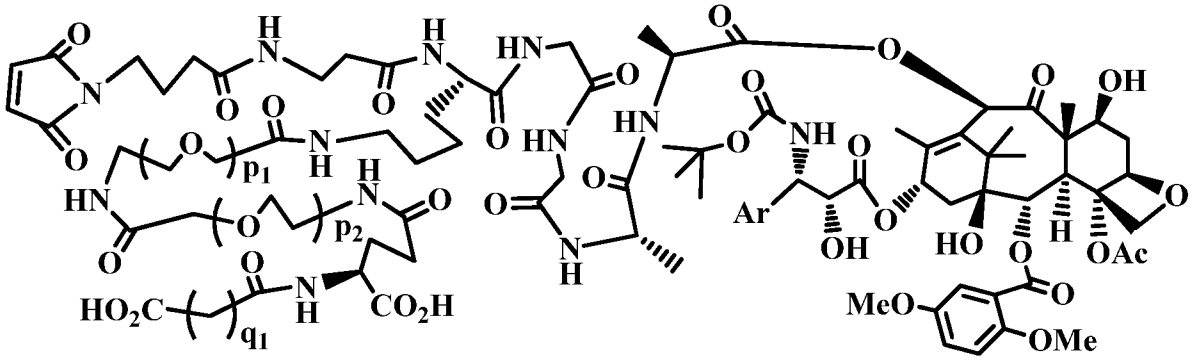
b030,



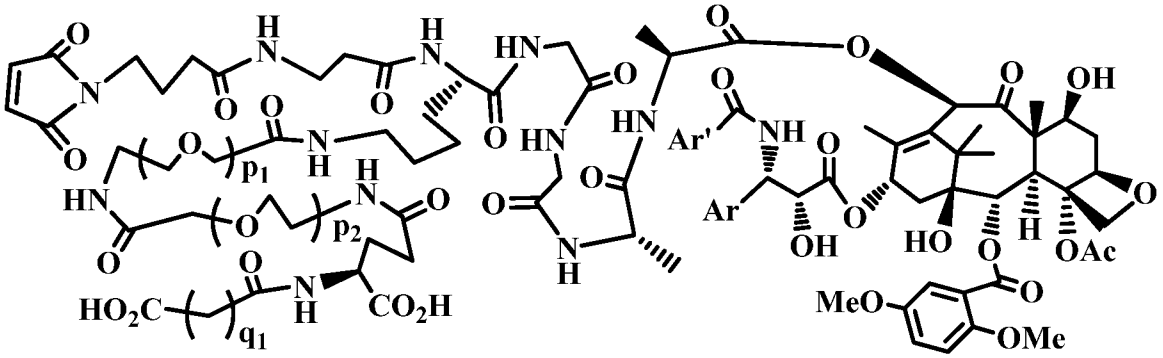
b031,



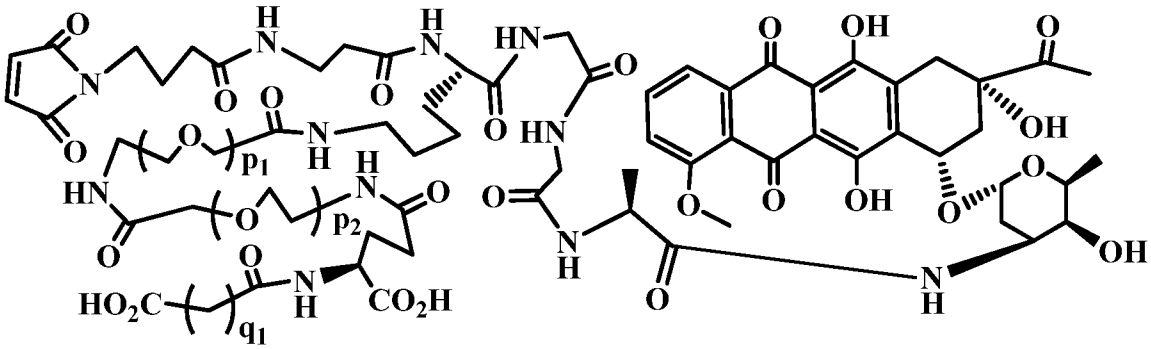
b032,



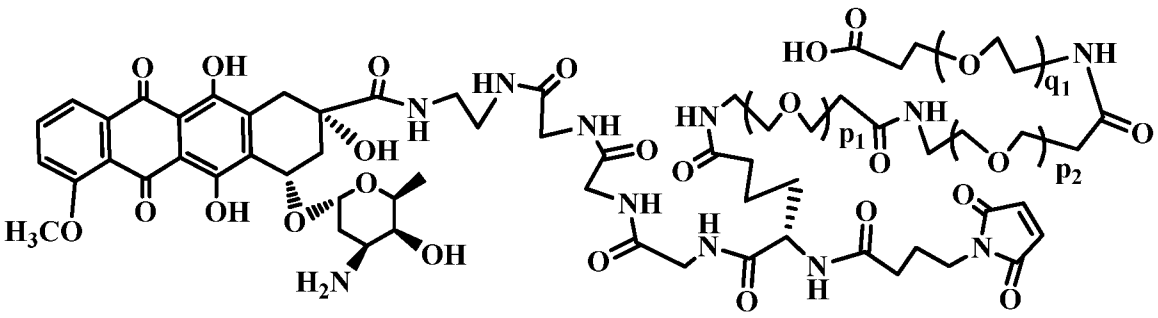
b033,



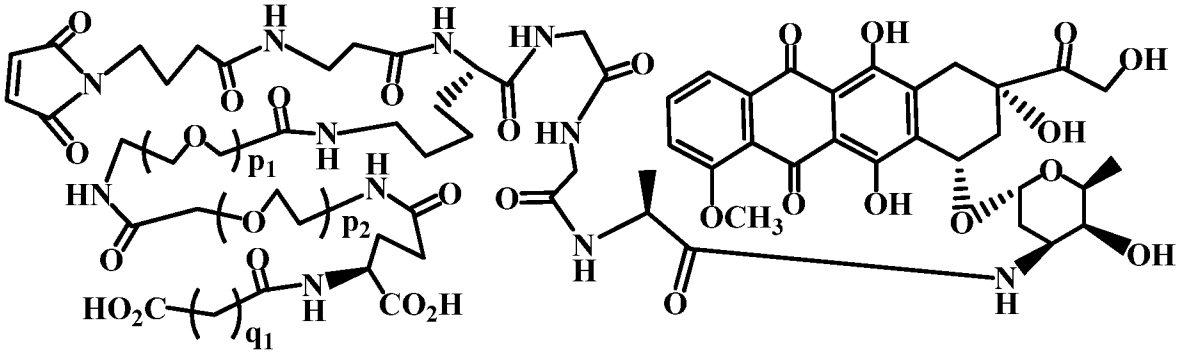
b034,



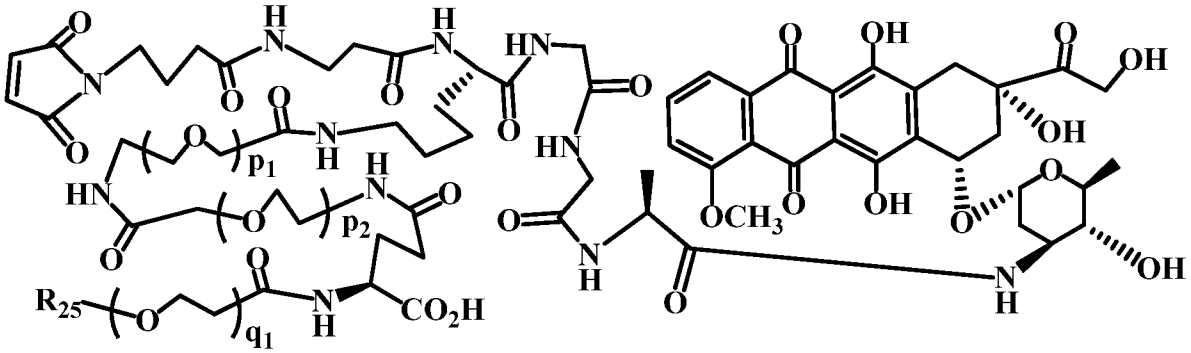
b035,



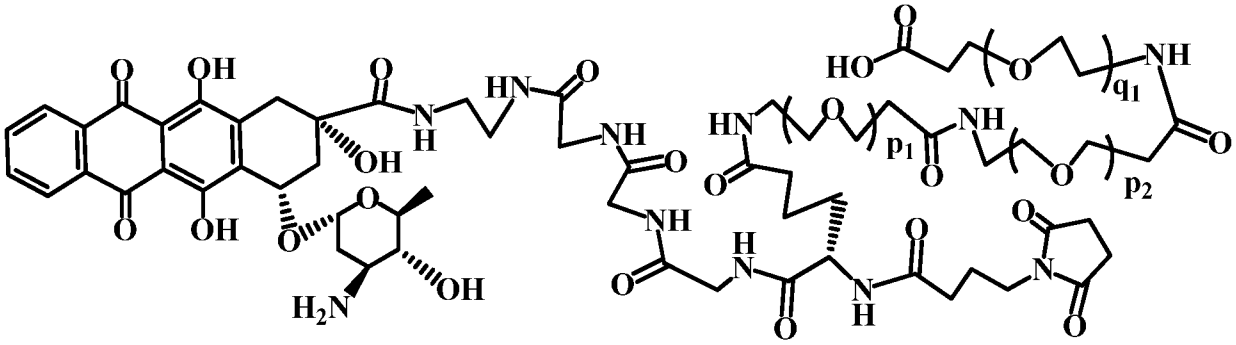
b036,



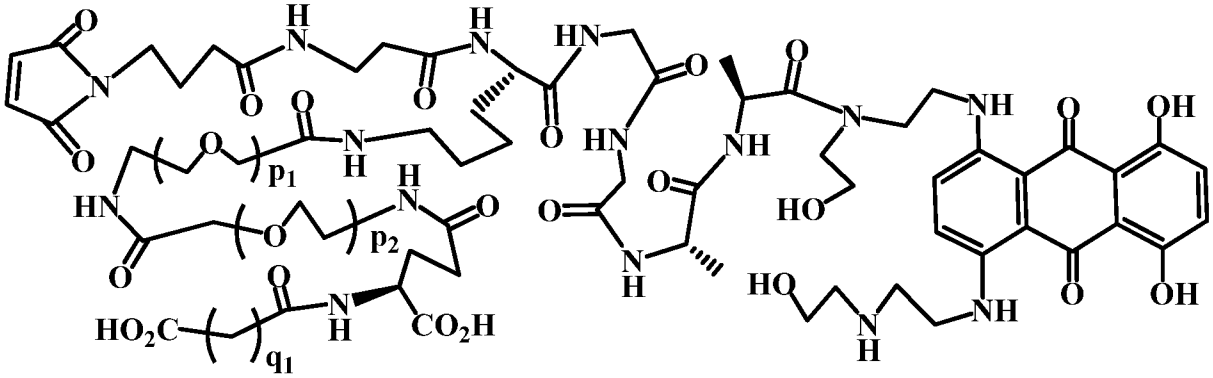
b037,



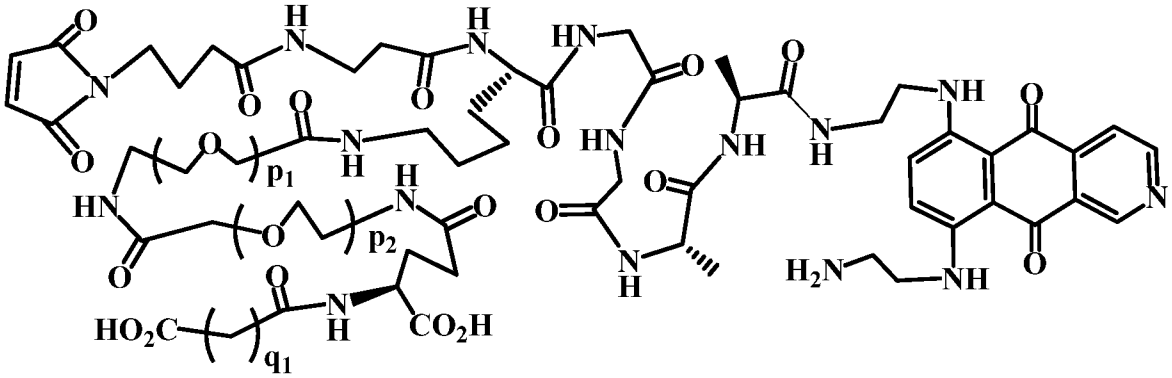
b038,



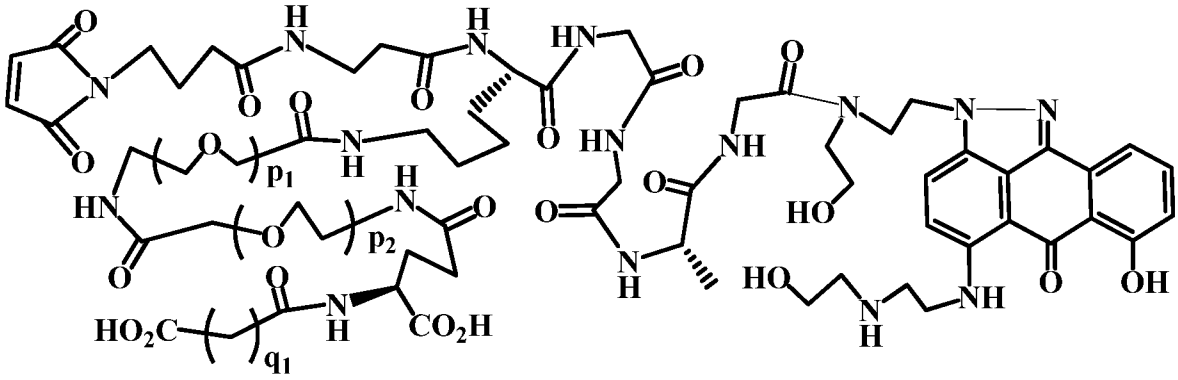
b039,



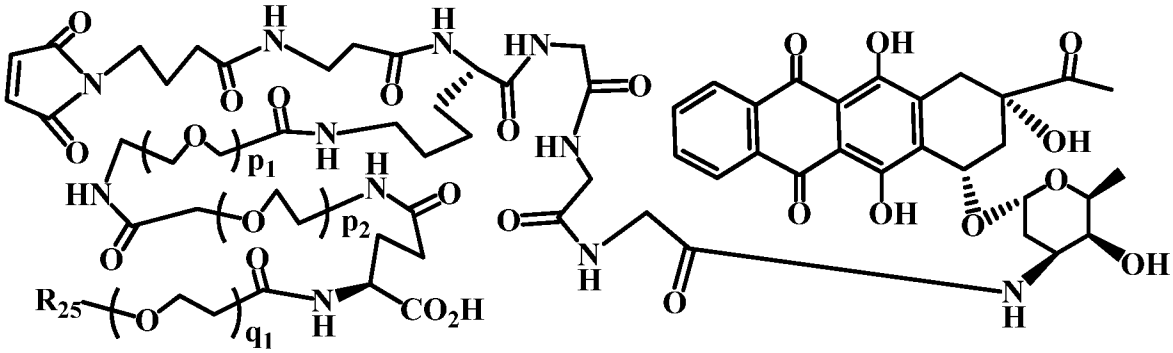
b040,

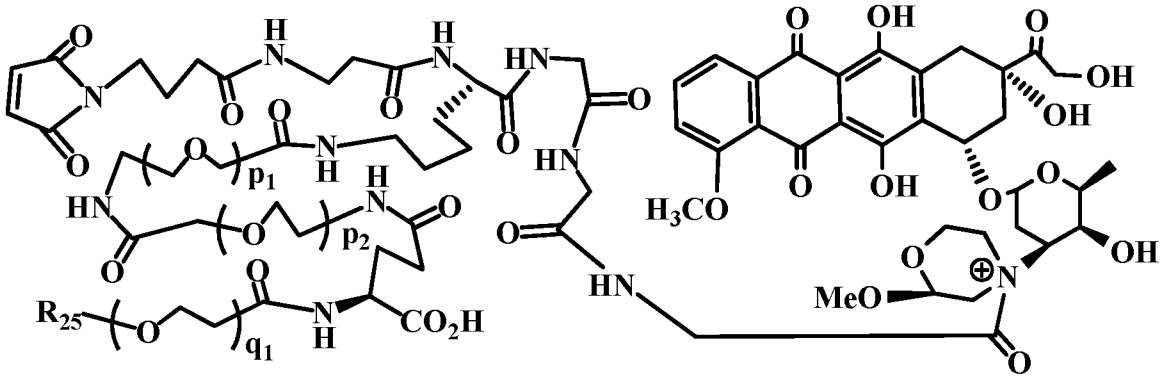


b041,



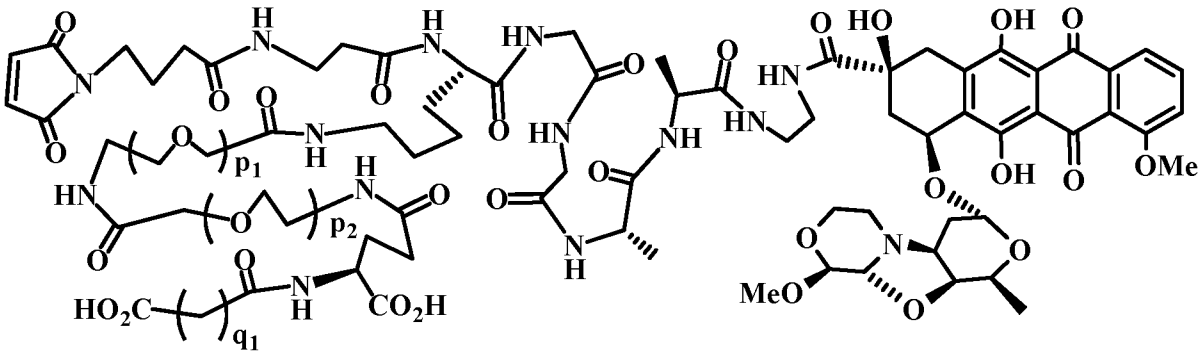
b042,



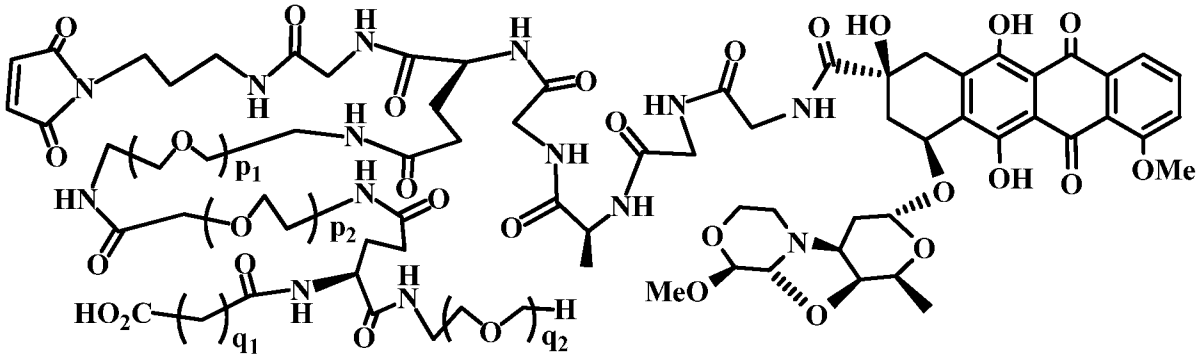


b043,

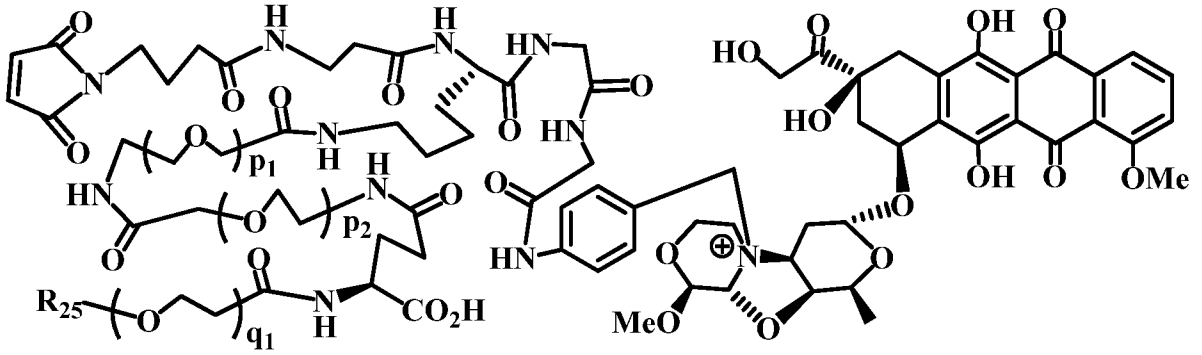
b044,



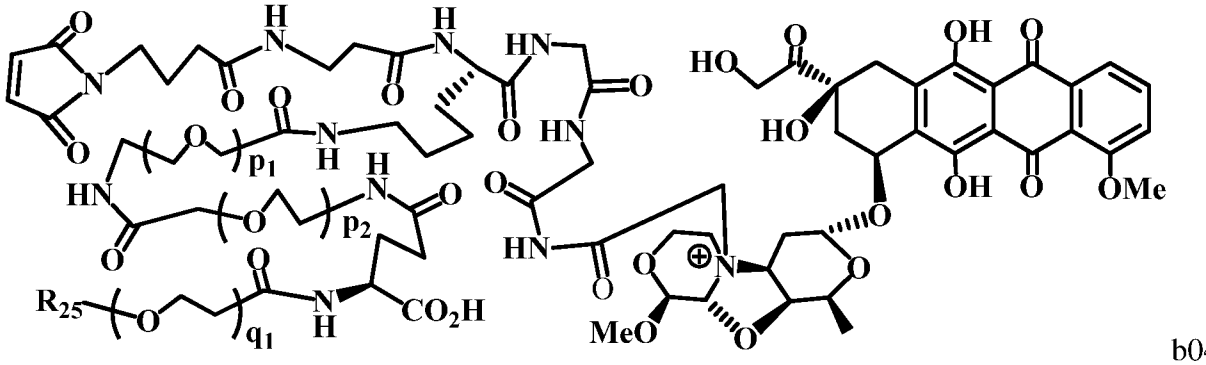
b045,



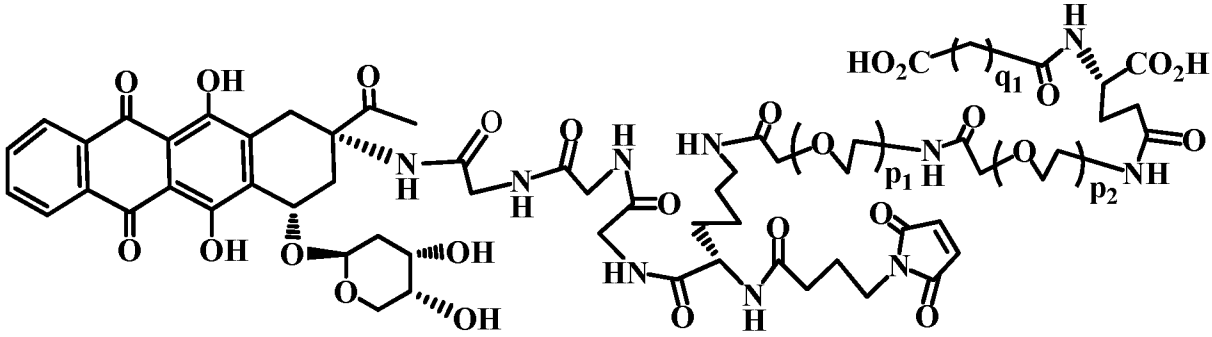
b046,



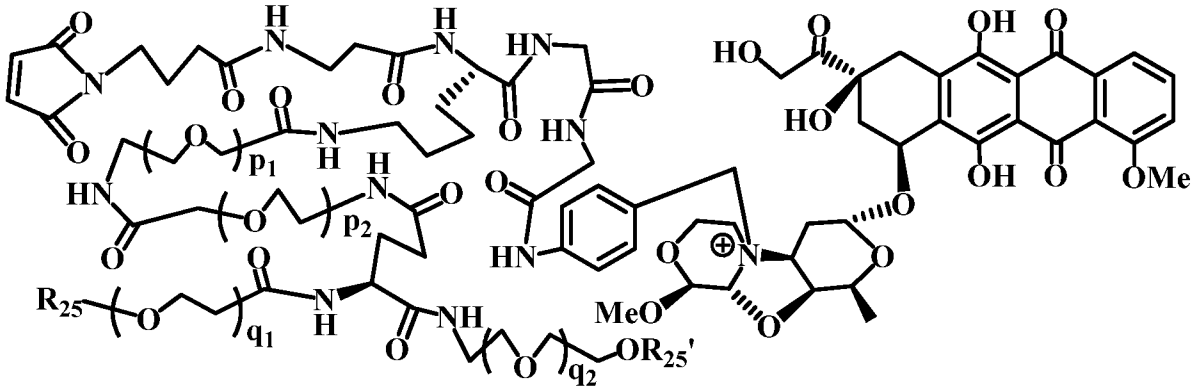
b047,



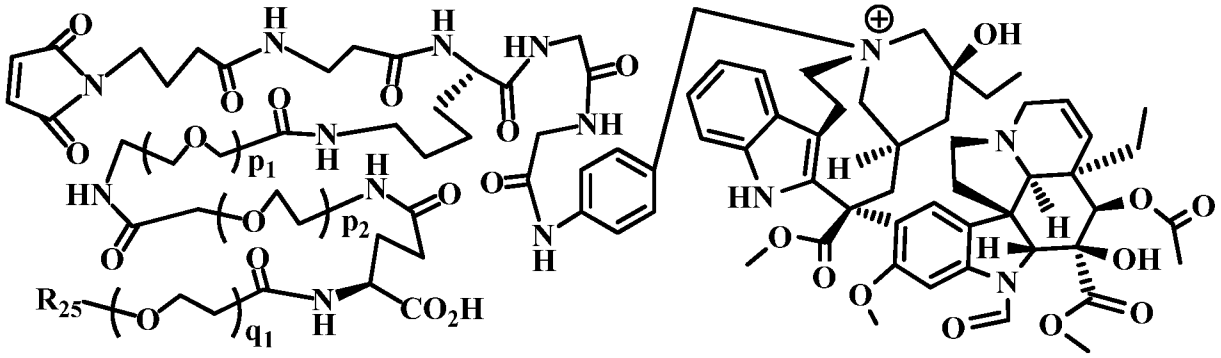
b048,



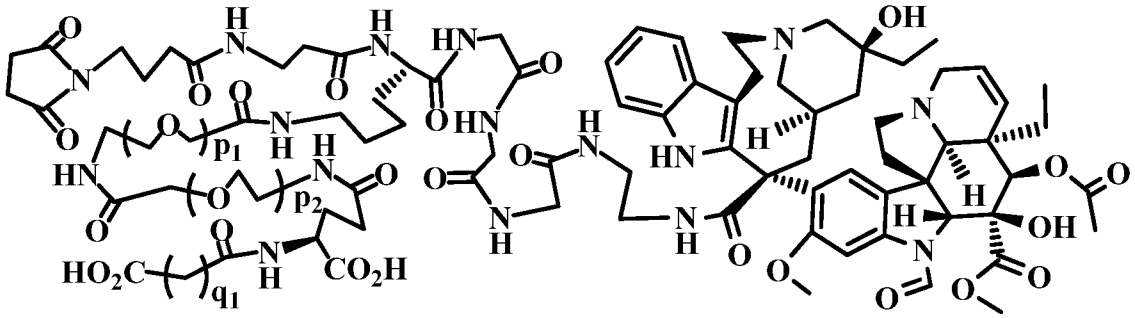
b049,



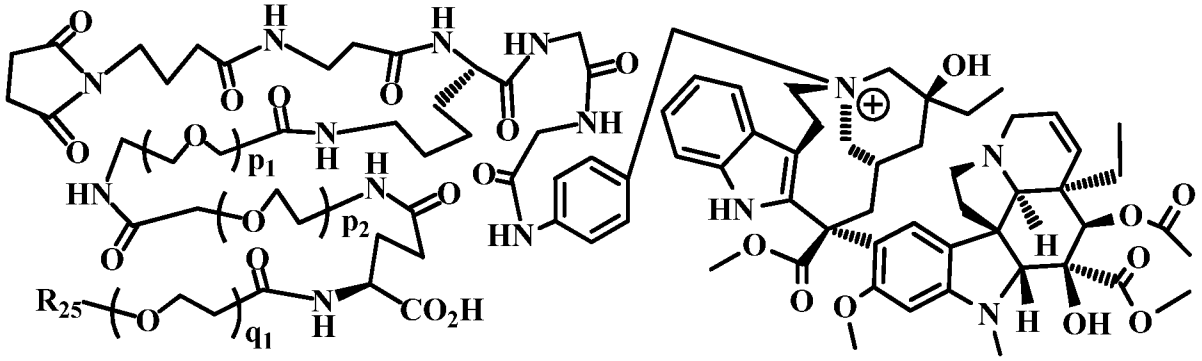
b050,



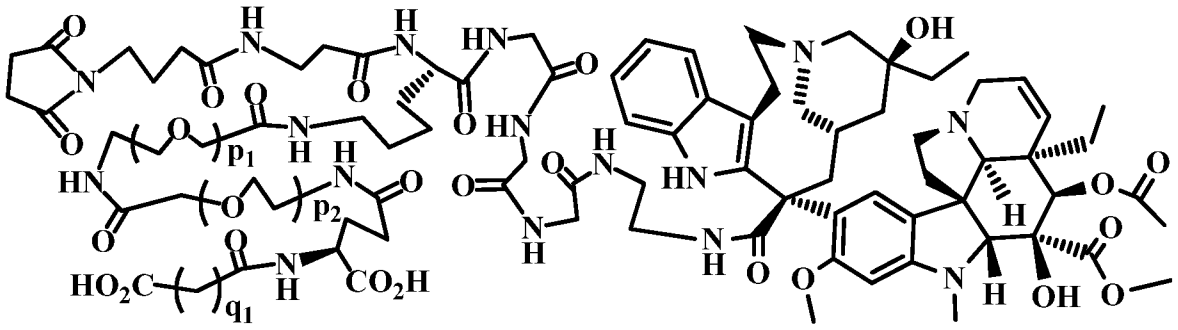
b051,



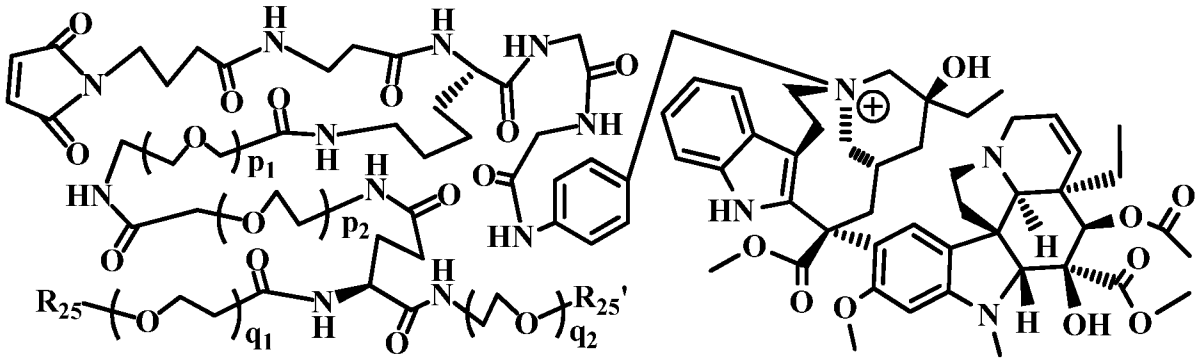
b052,



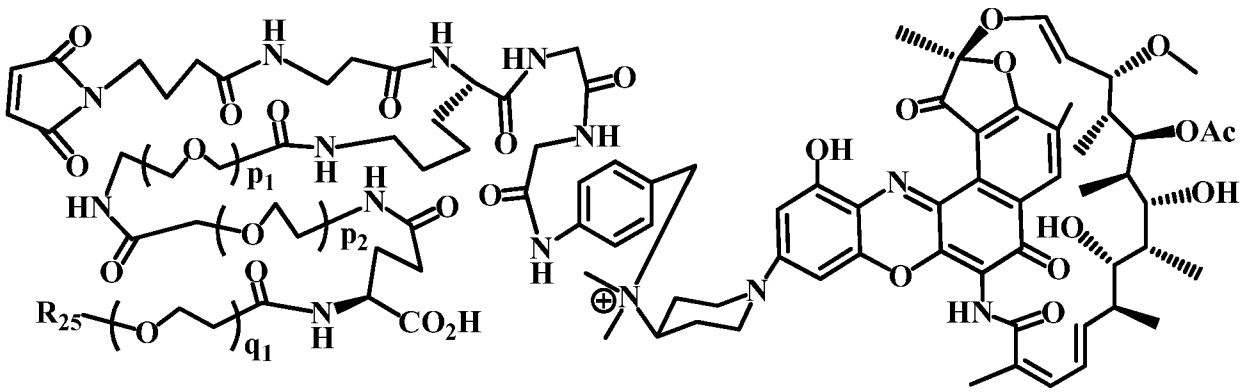
b053,



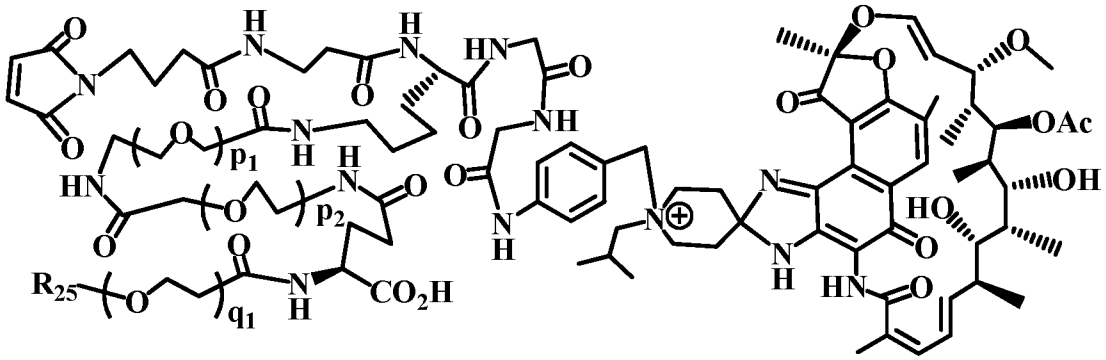
b054,



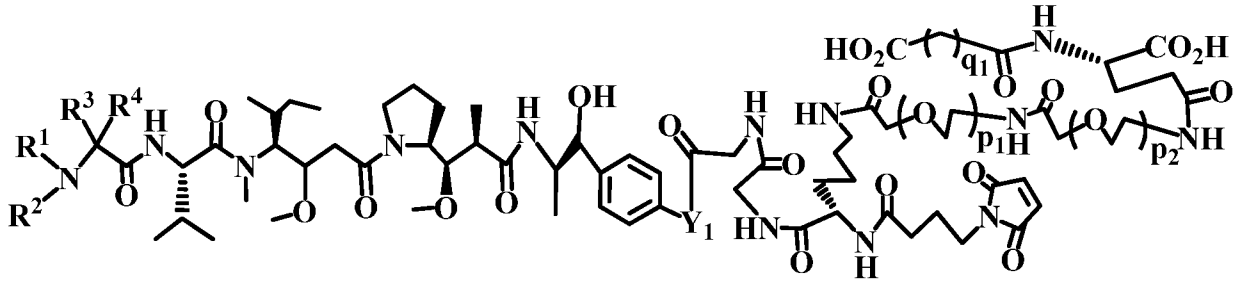
b055,



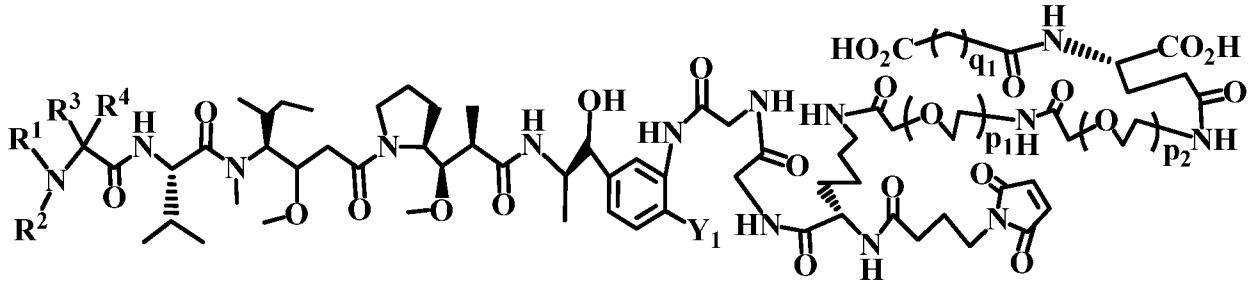
b056,



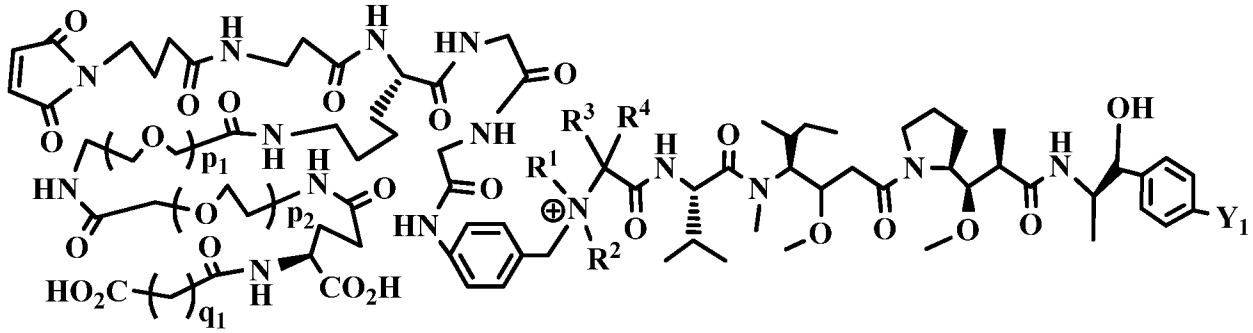
b057,



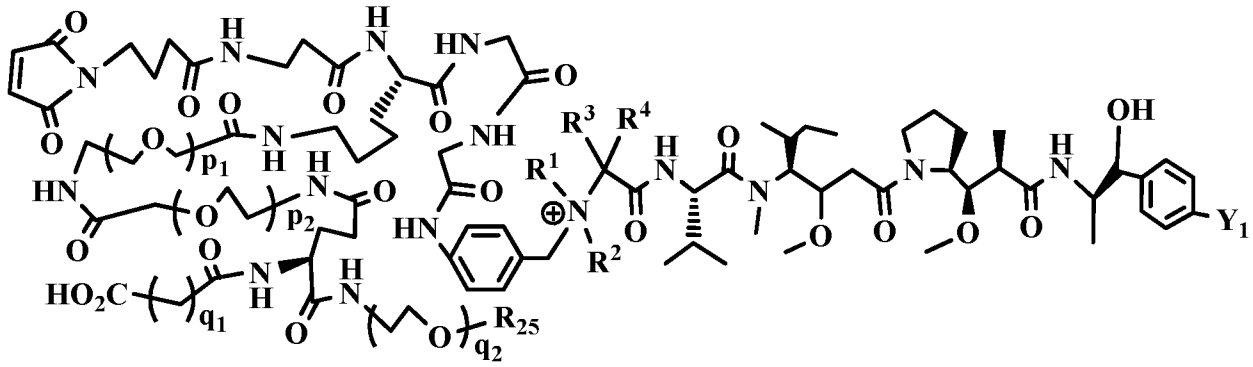
b058,



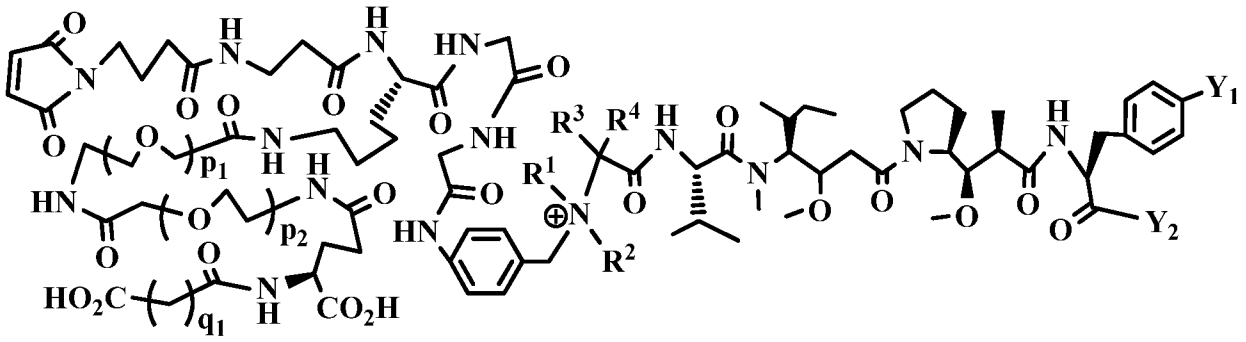
b059,



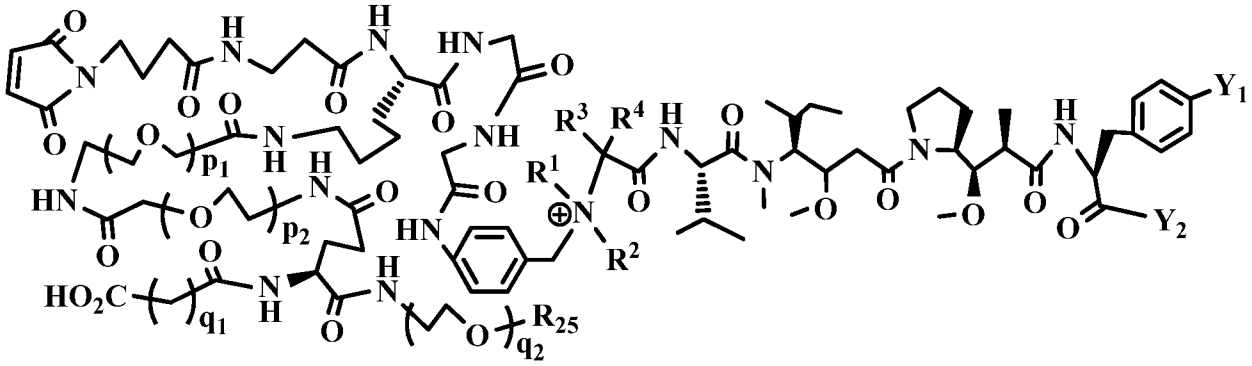
b060,



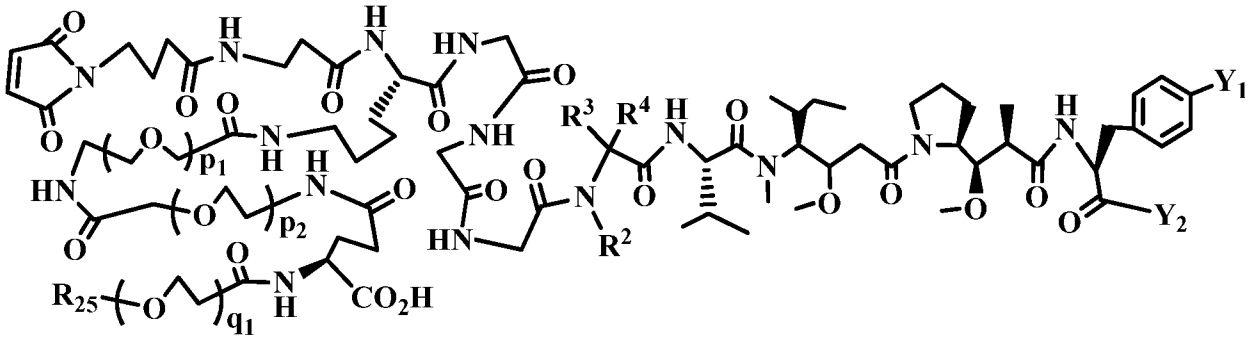
b061,



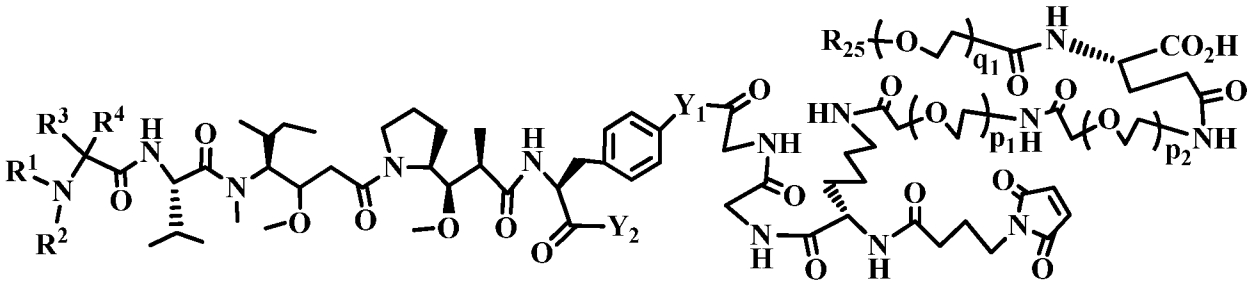
b062,



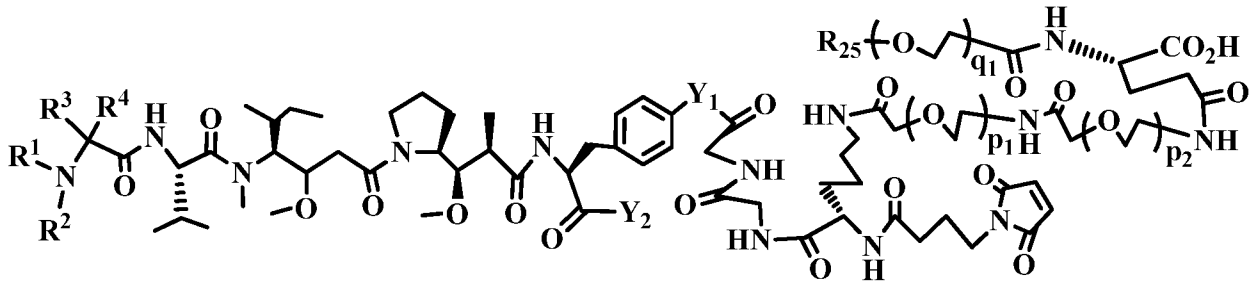
b063,



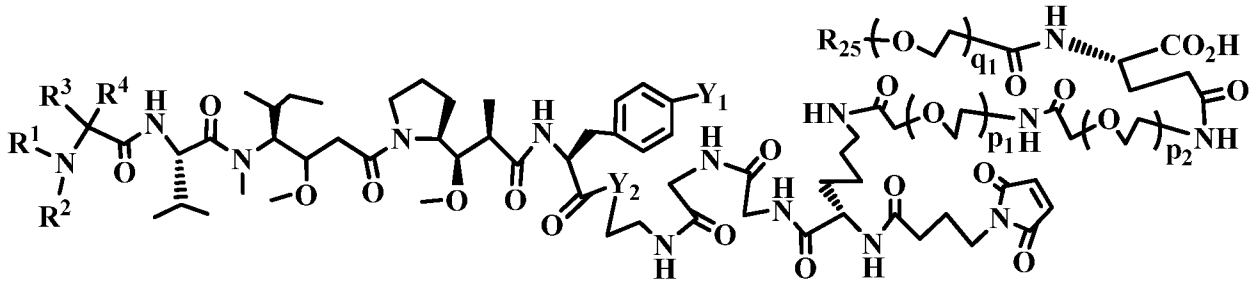
b064,



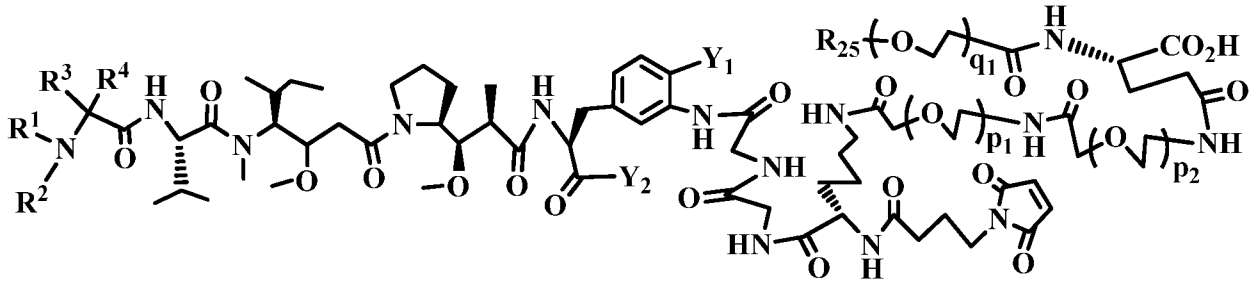
b065,



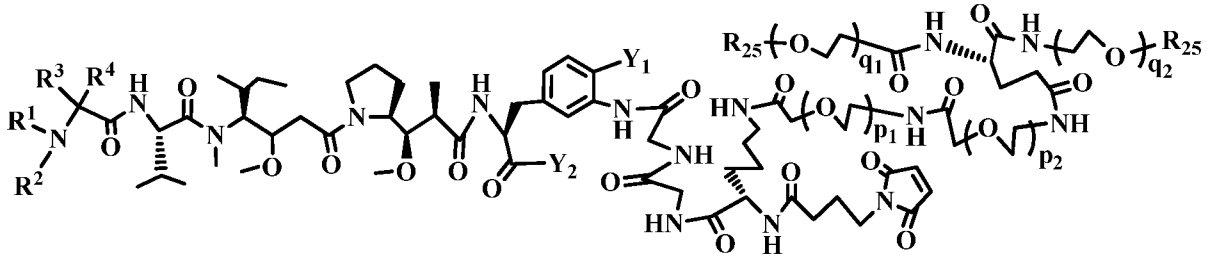
b066,



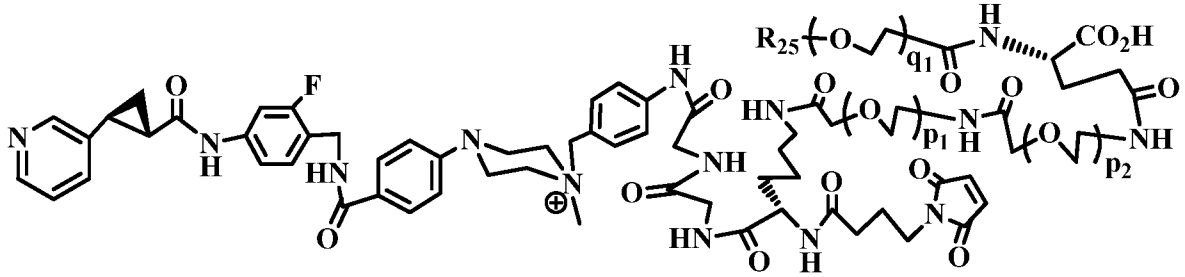
b067,



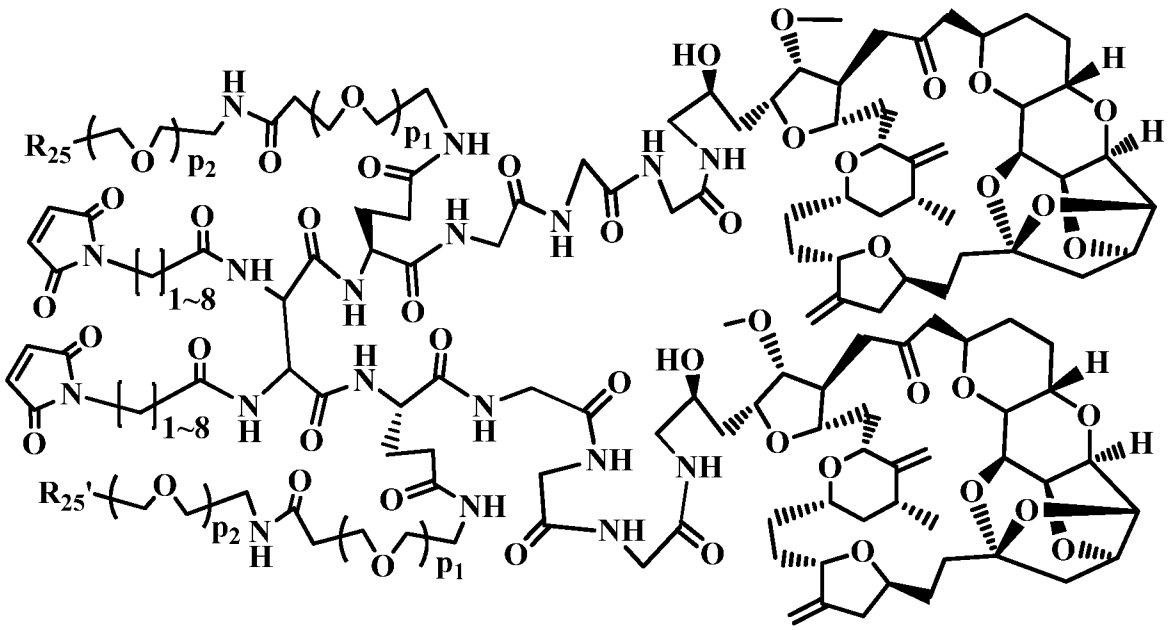
b068,



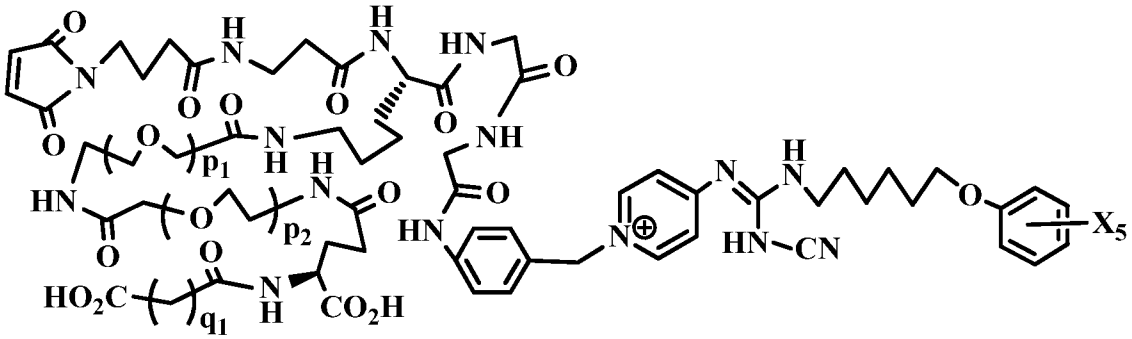
b069,



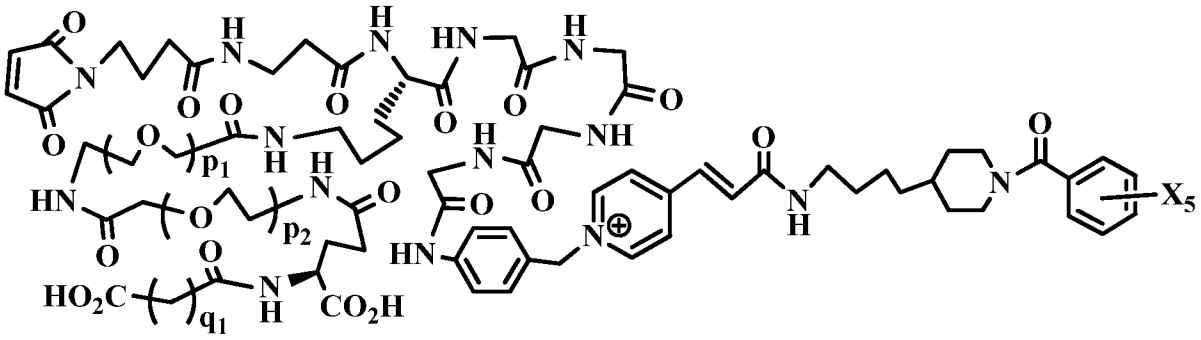
b070,



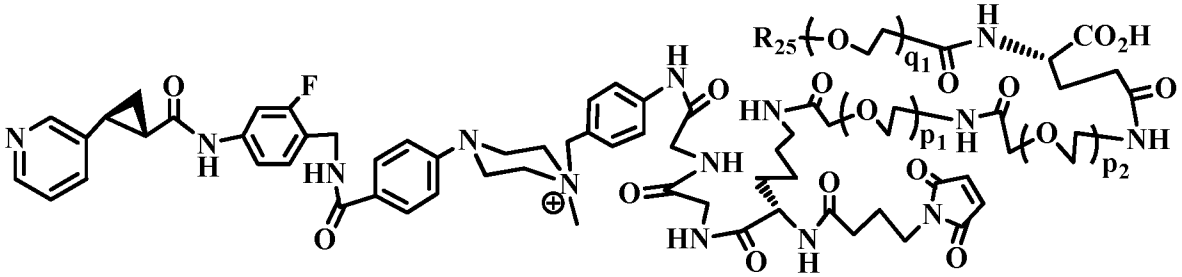
b071,



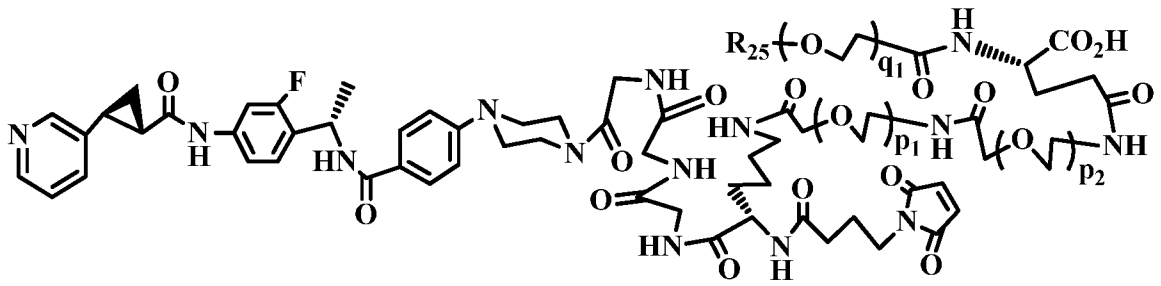
b072,



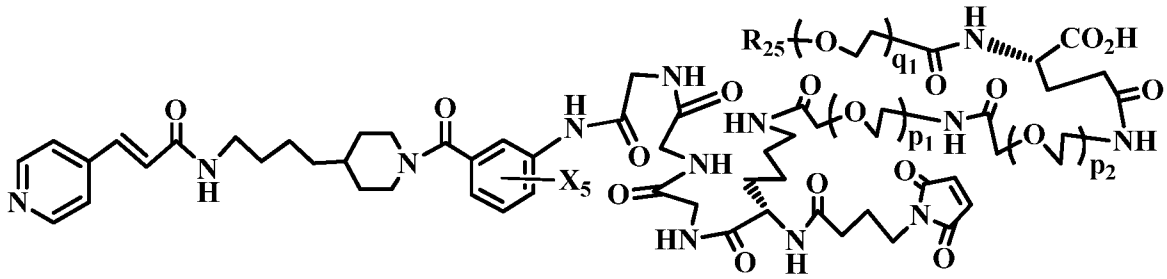
b073,



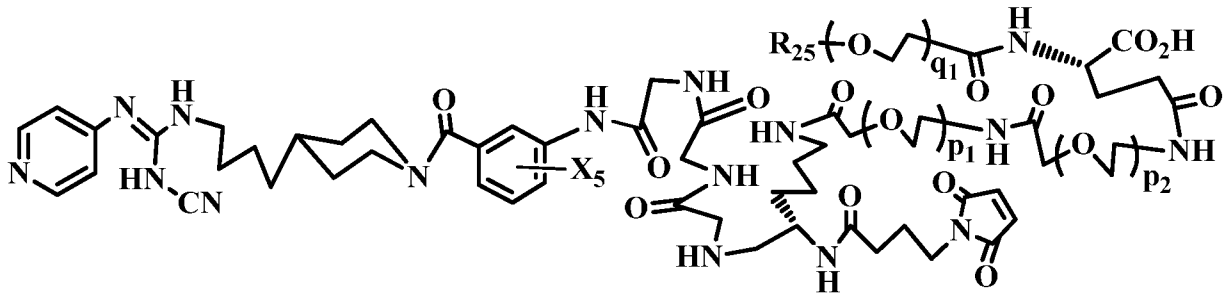
b074,



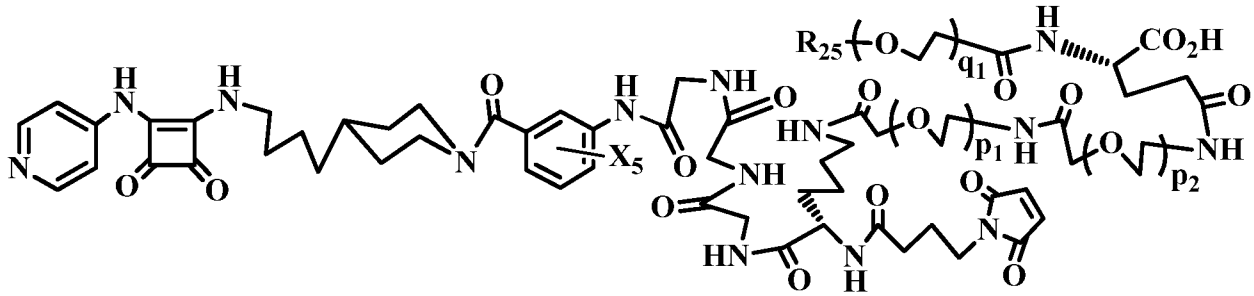
b075,



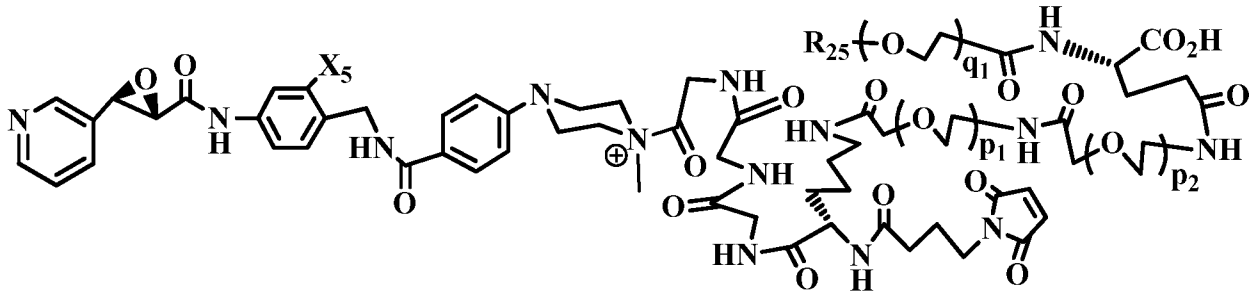
b076,



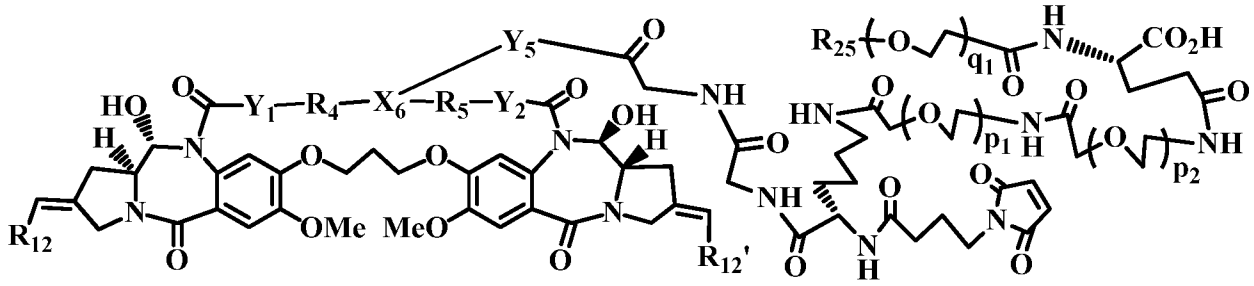
b077,



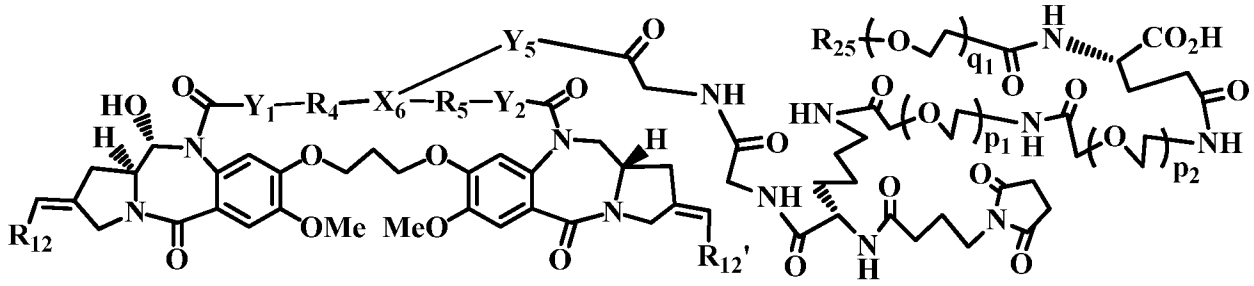
b078,



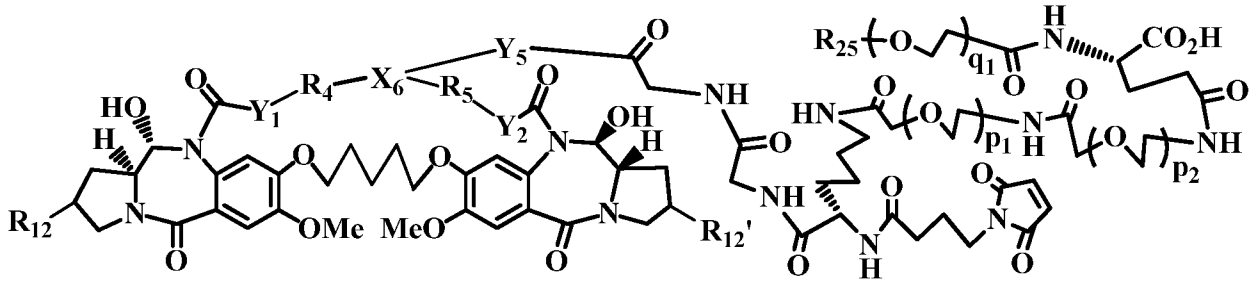
b079,



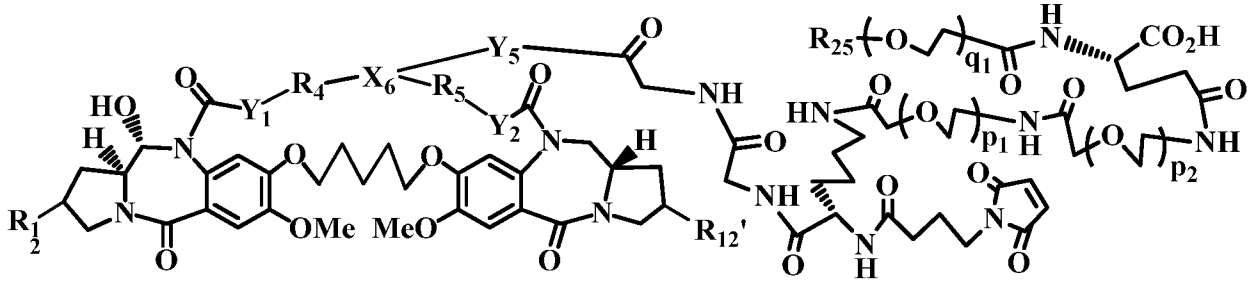
b080,



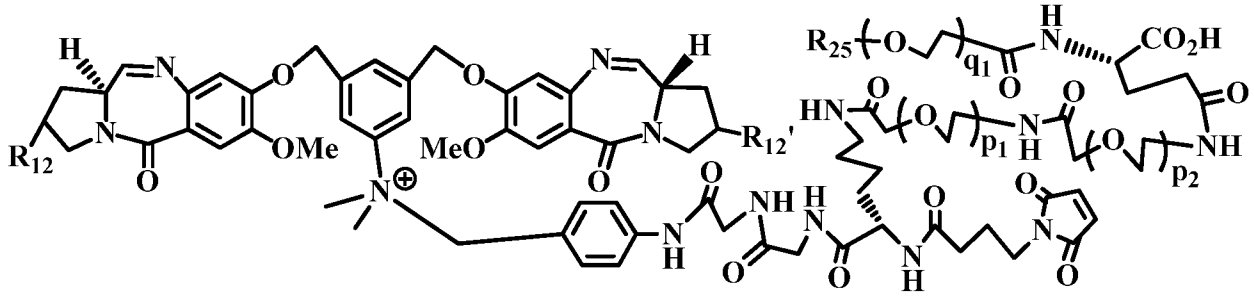
b081,



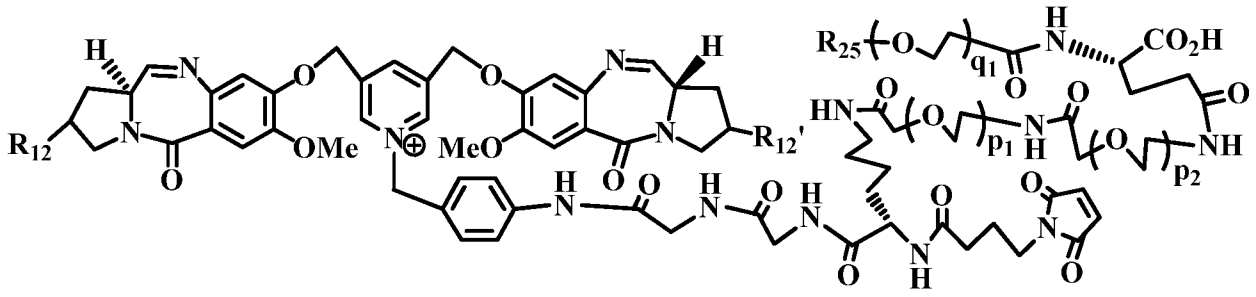
b082,



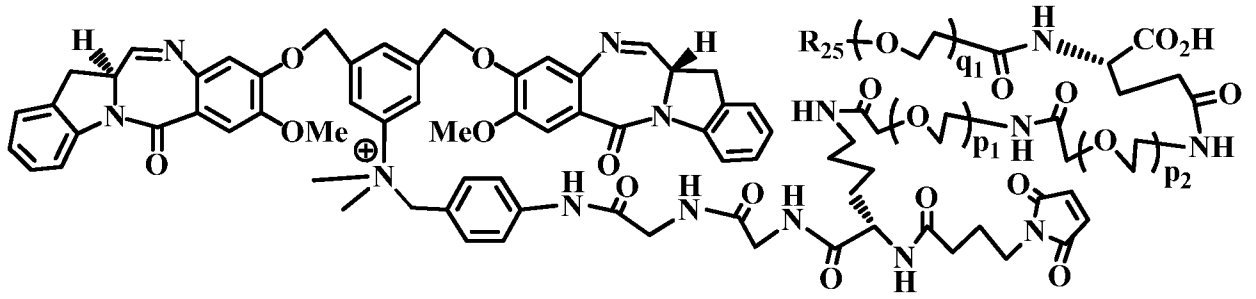
b083,



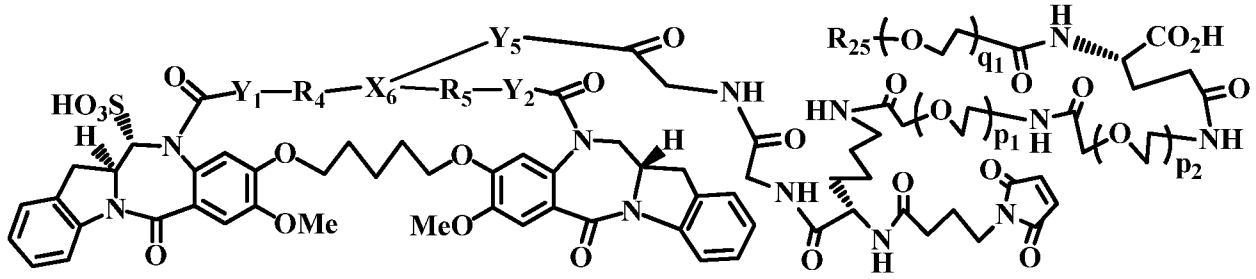
b084,



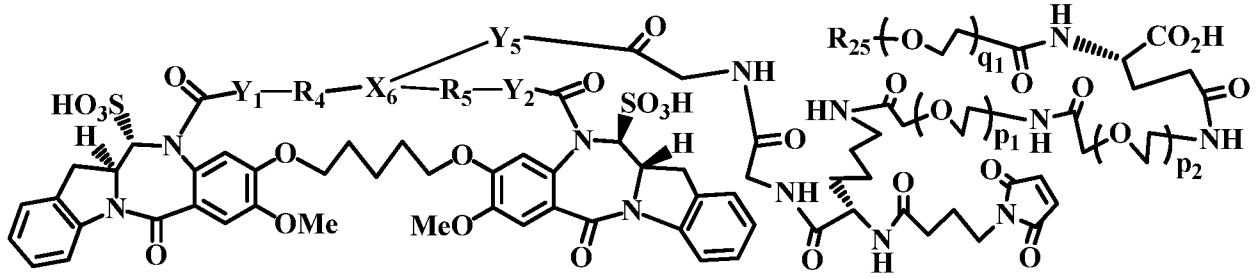
b085,



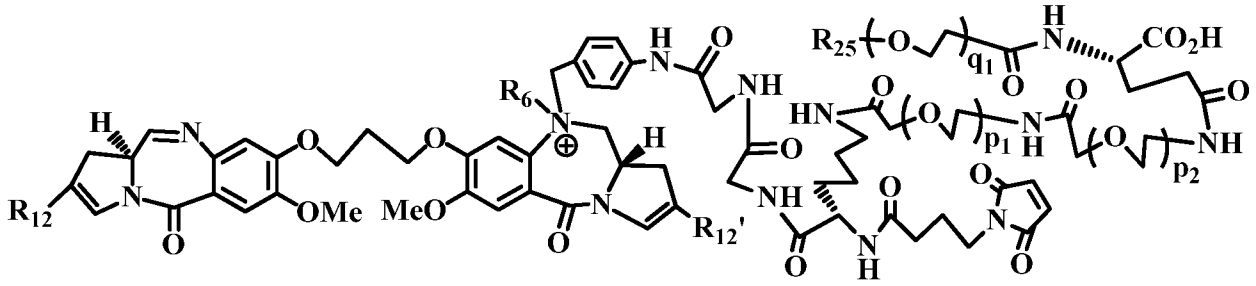
b086,



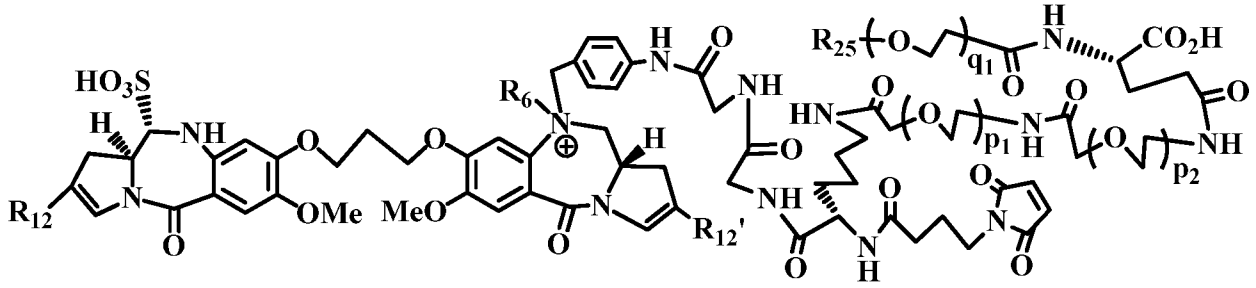
b087,



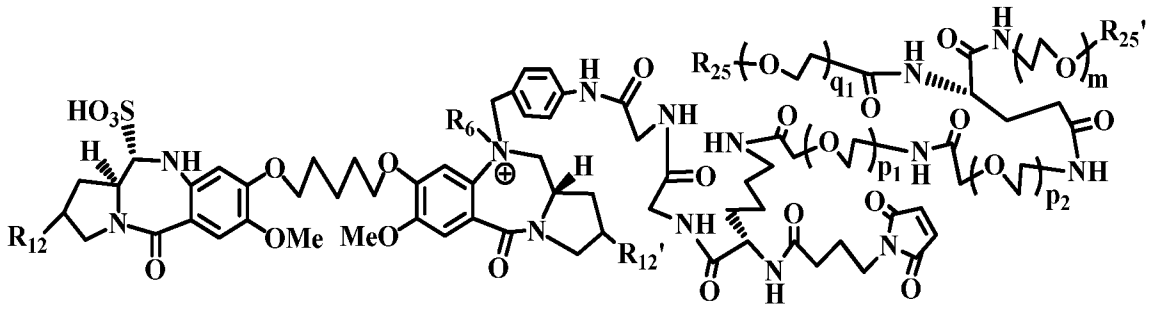
b088,



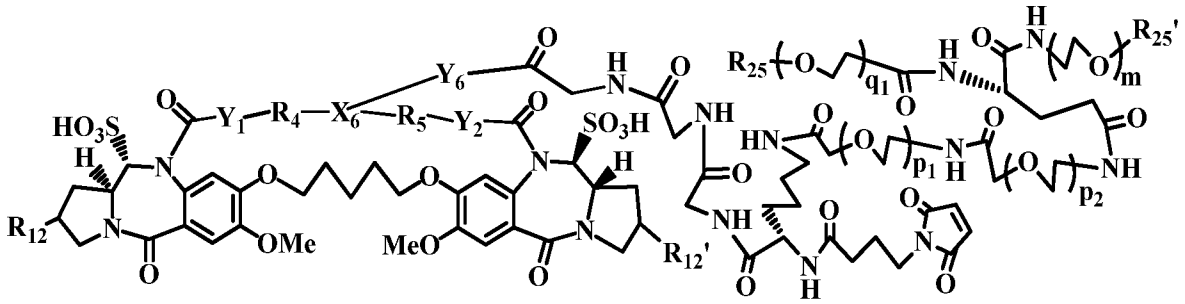
b089,



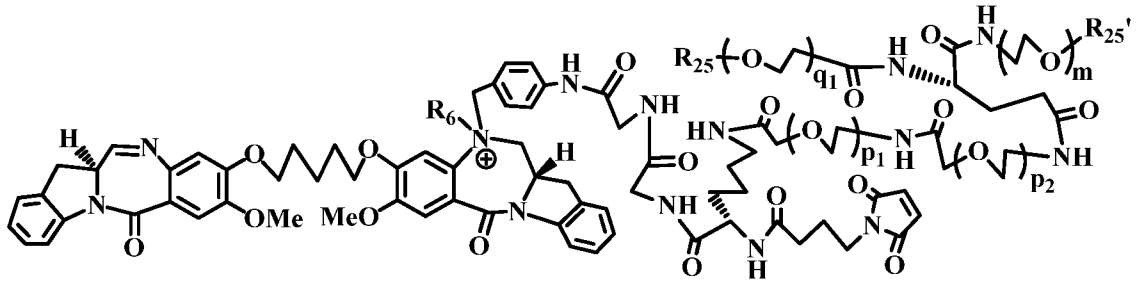
b090,



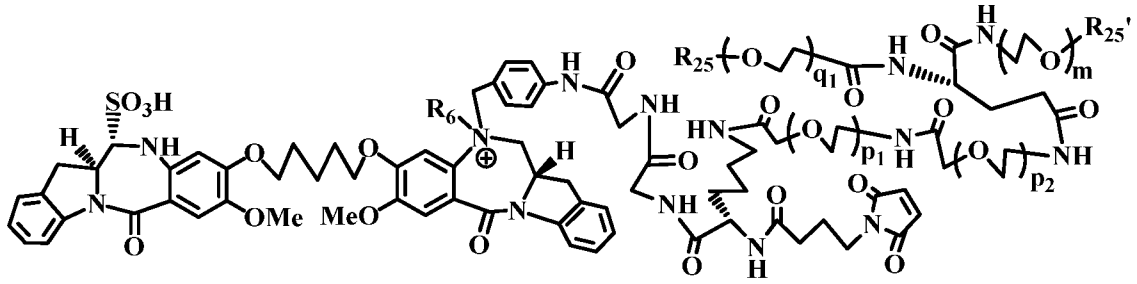
b091,



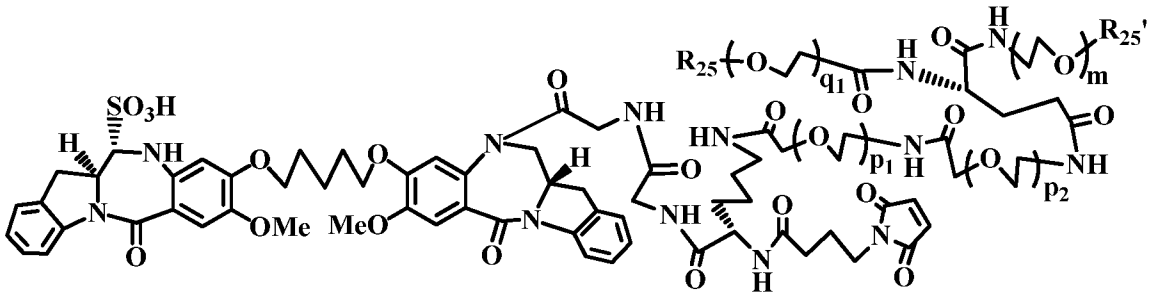
b092,



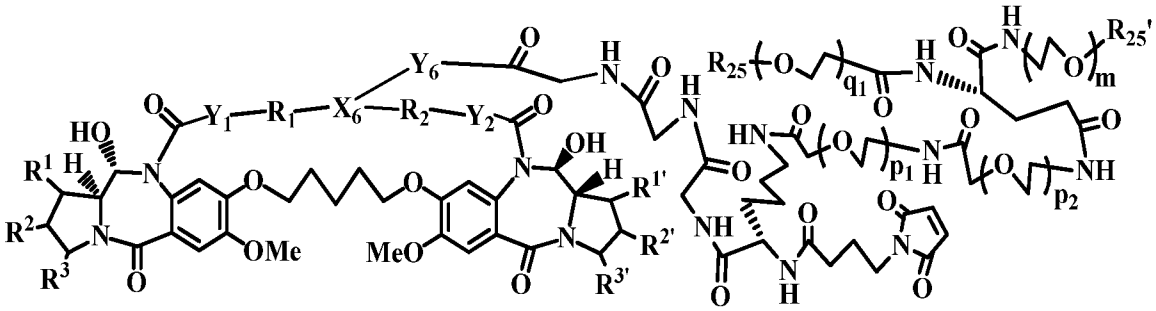
b093,



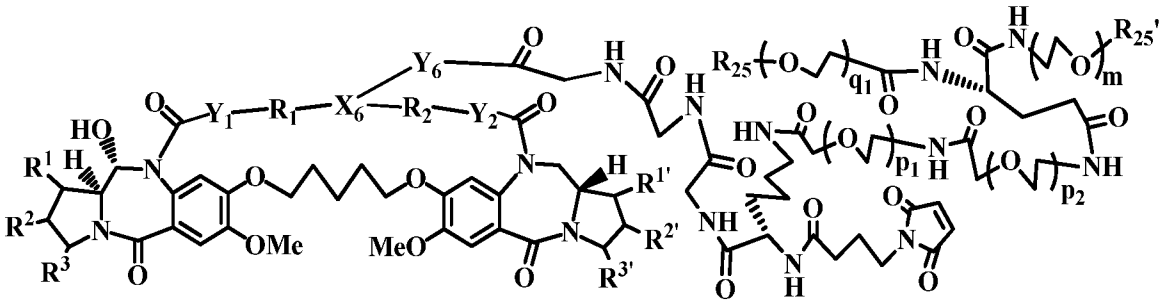
b094,



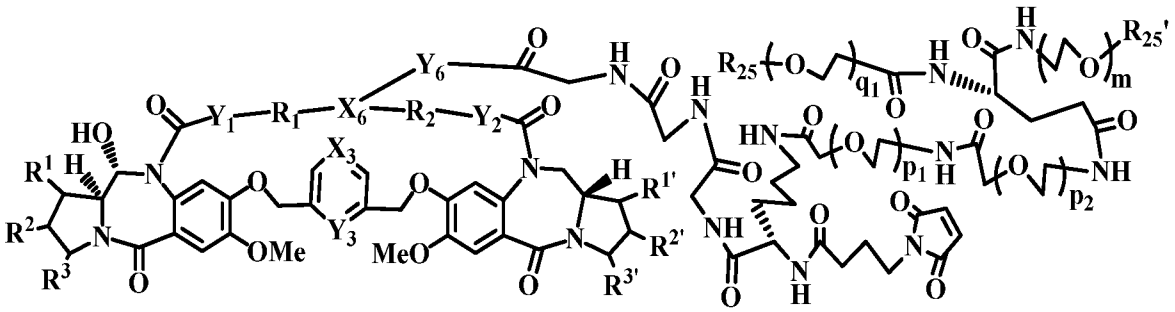
b095,



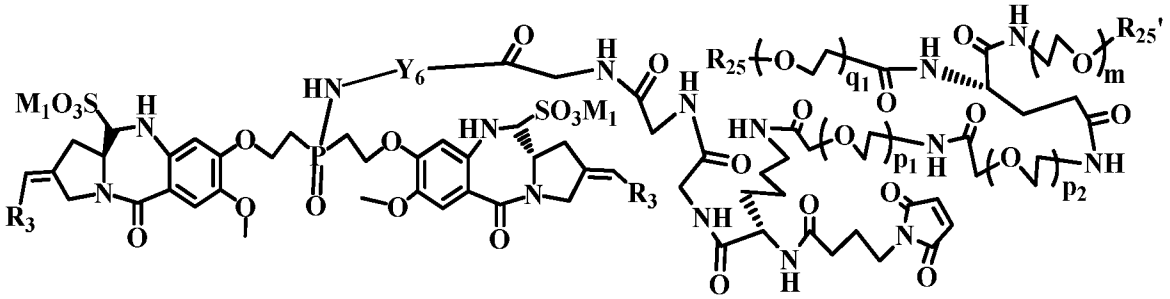
b096,



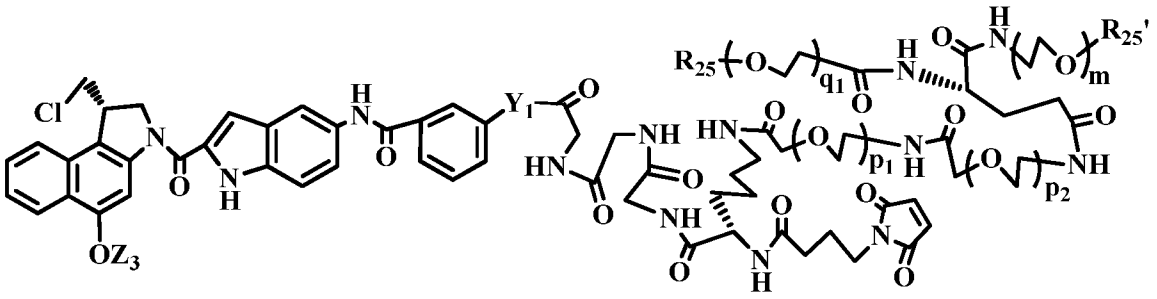
b097,



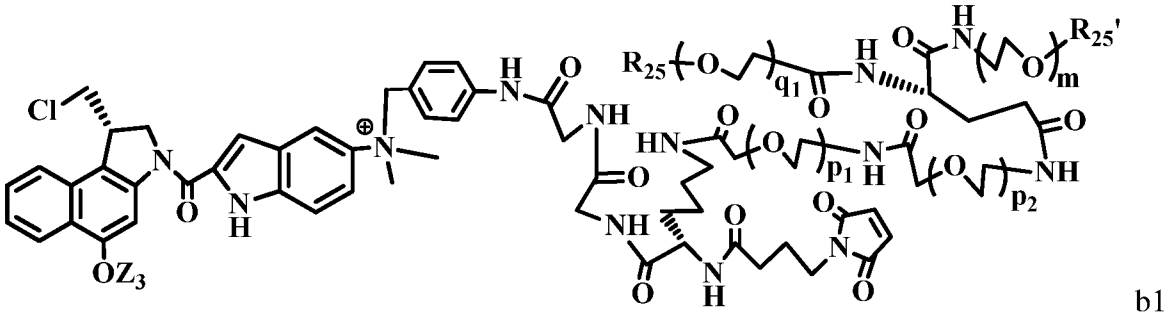
b098,



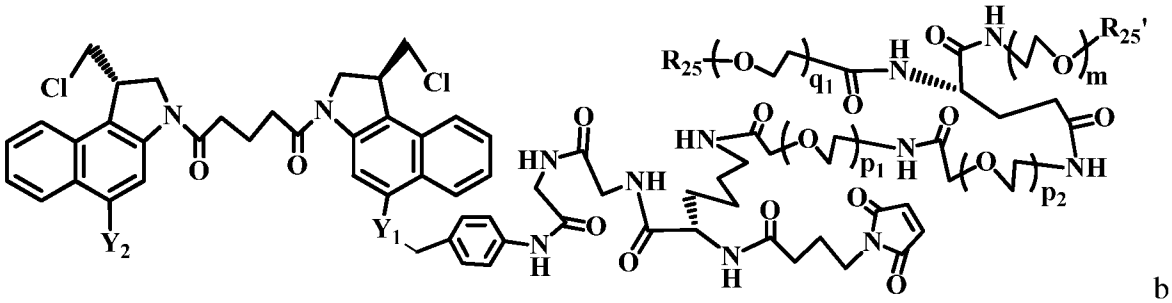
b099,



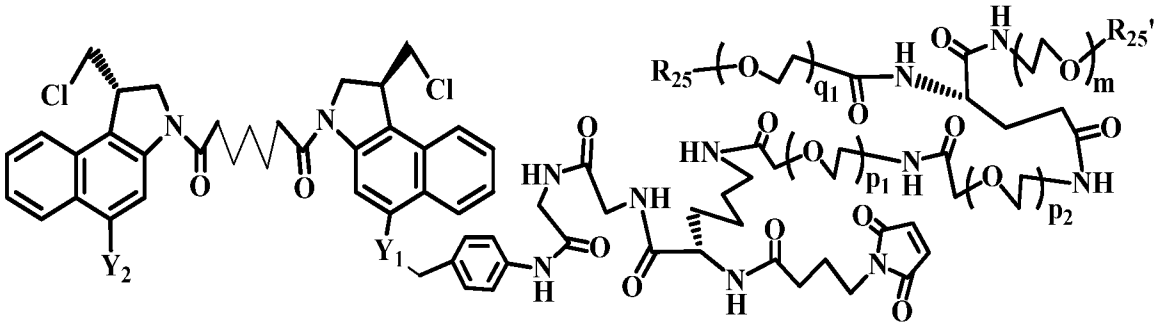
b100,



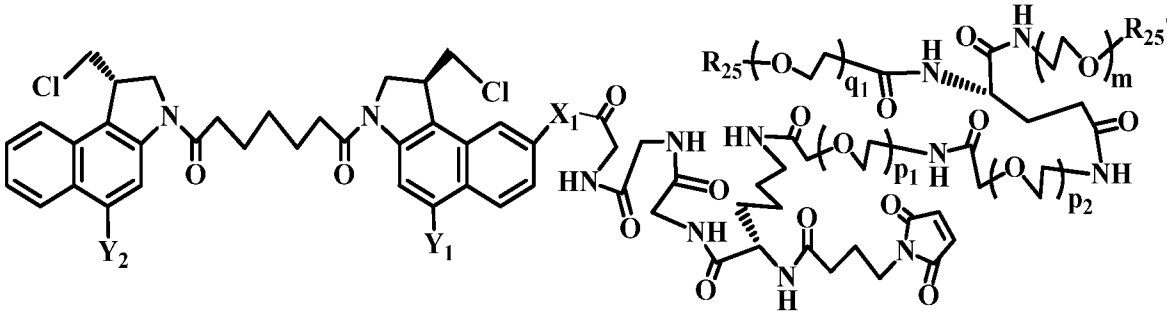
b101,



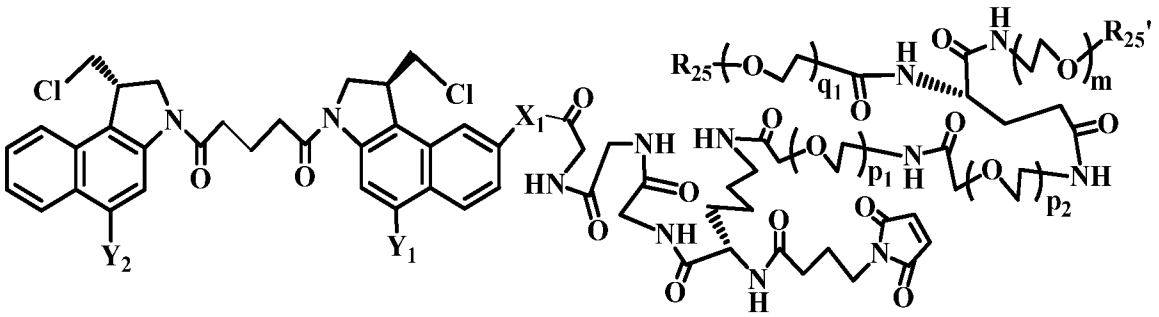
b102,



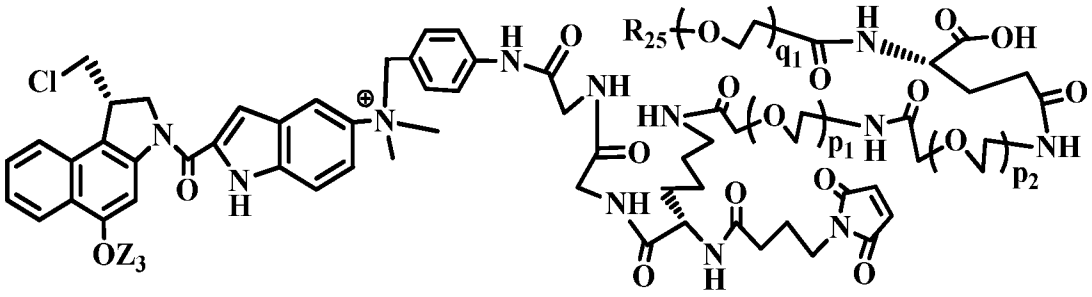
b103,



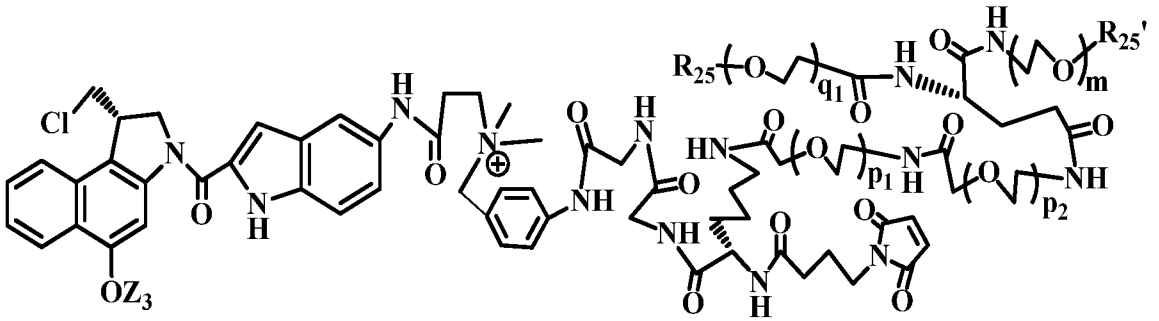
b104,



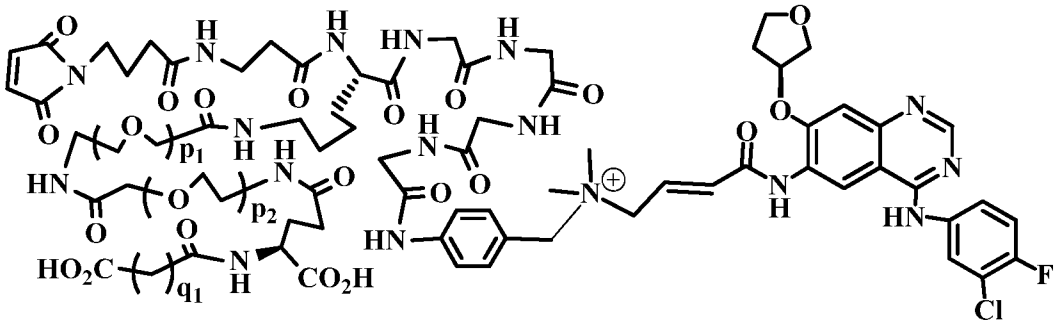
b105,



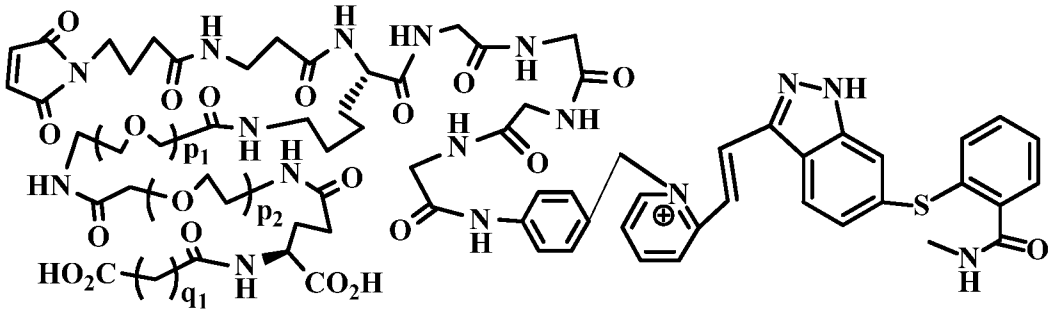
b106,



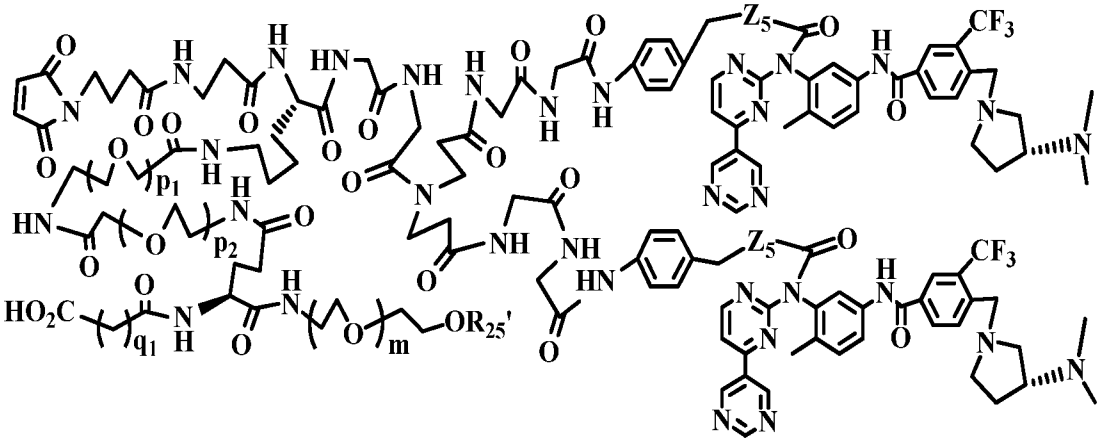
b107,



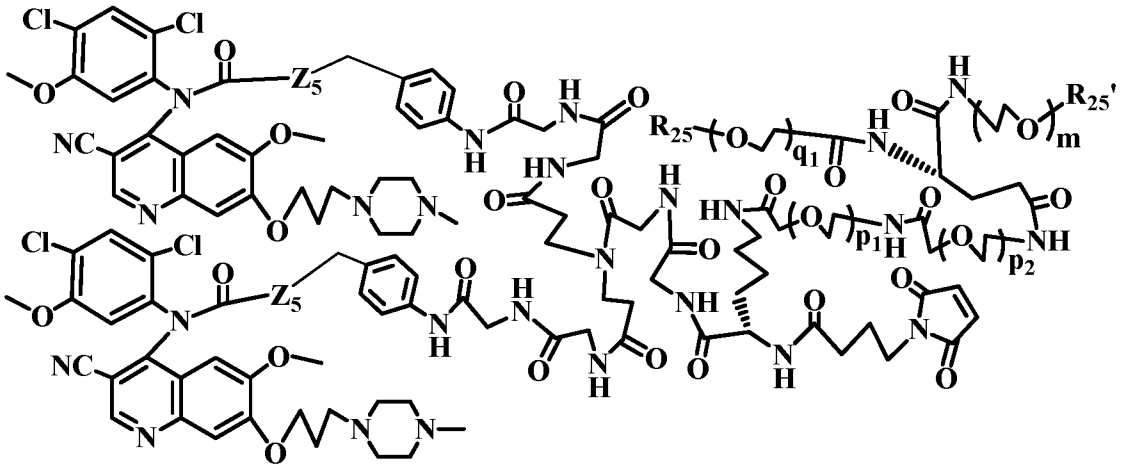
b108,



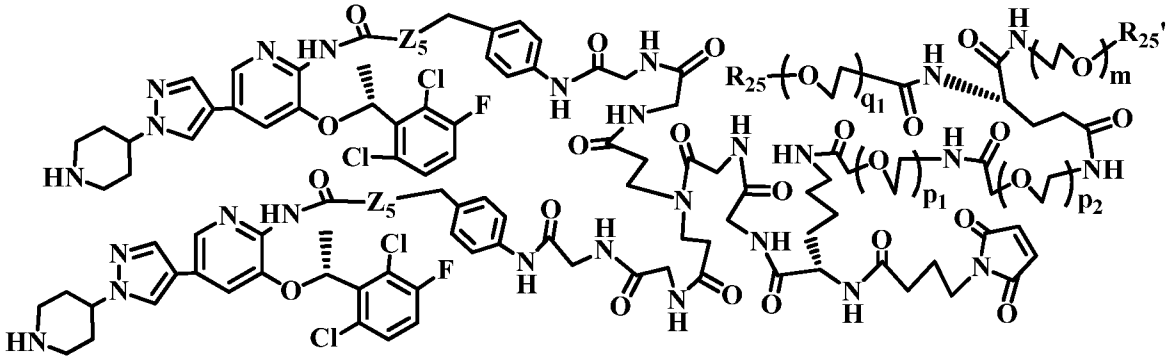
b109,



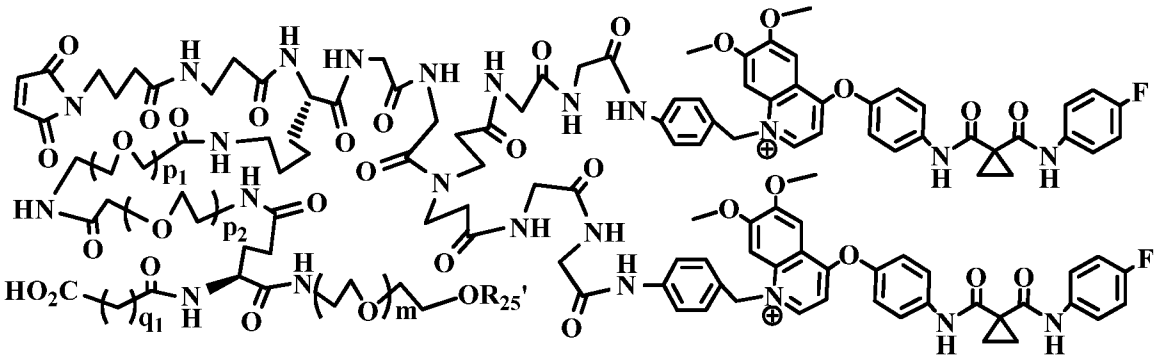
b110,



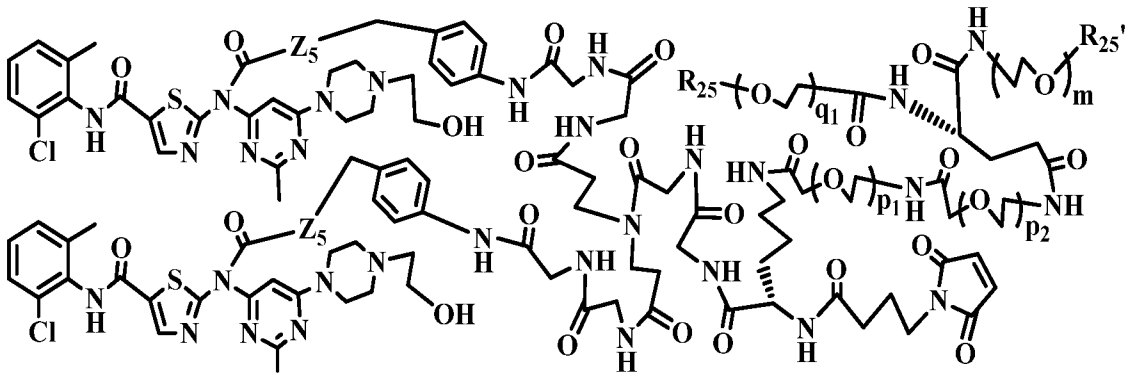
b111,



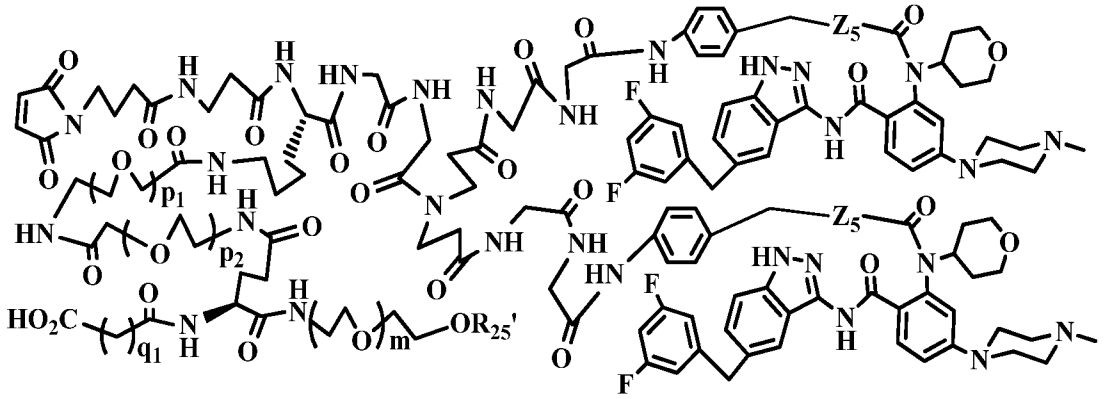
b112,



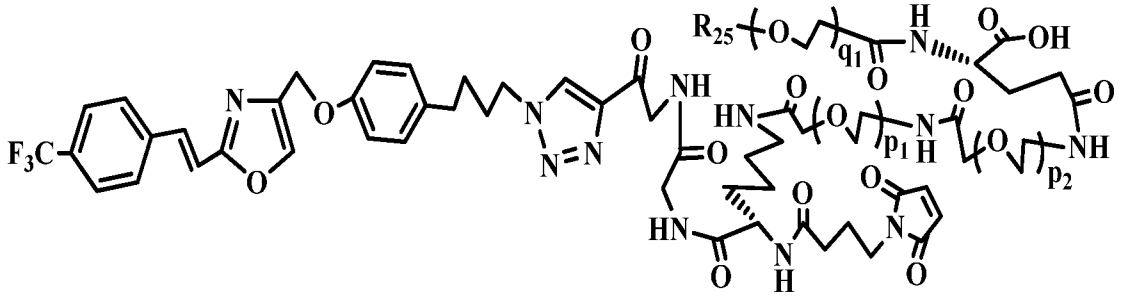
b113,



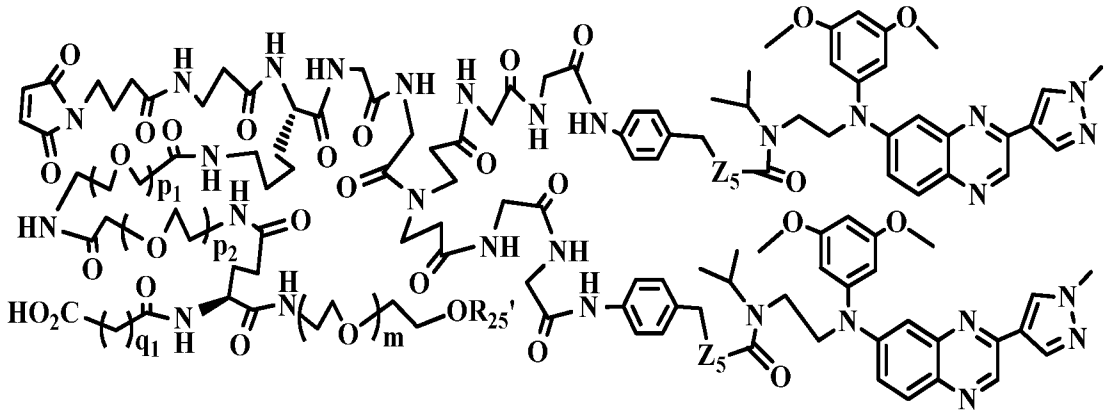
b114,



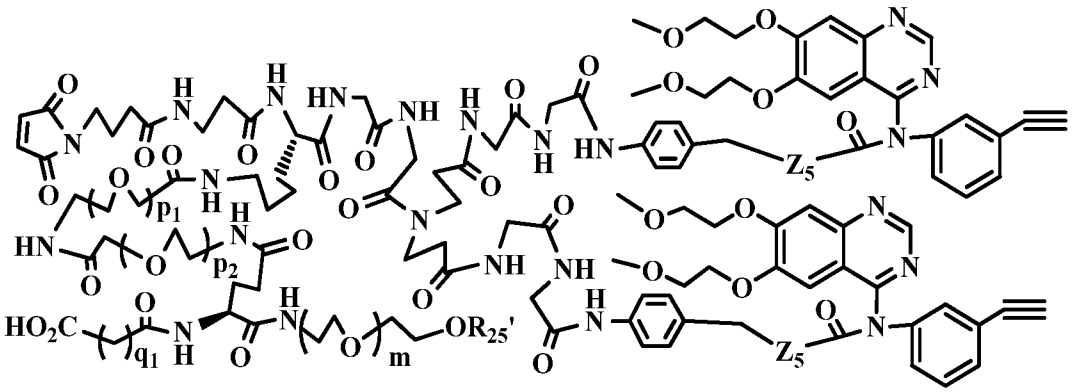
b115,



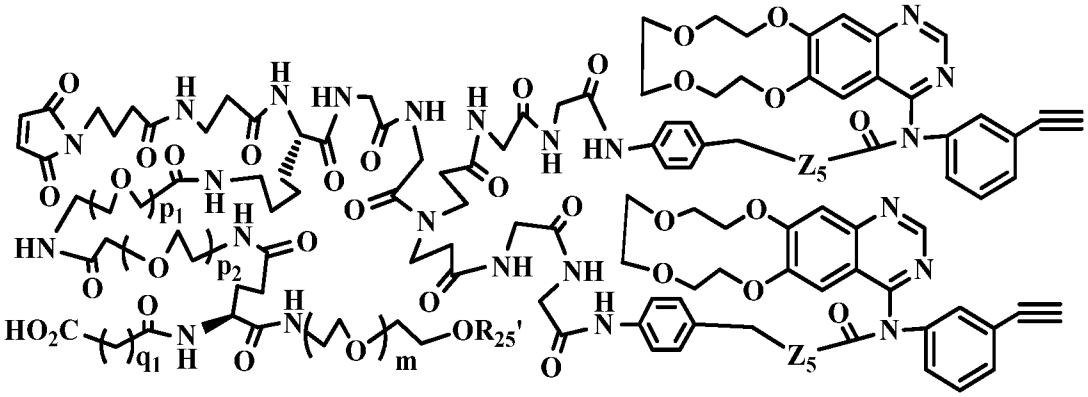
b116,



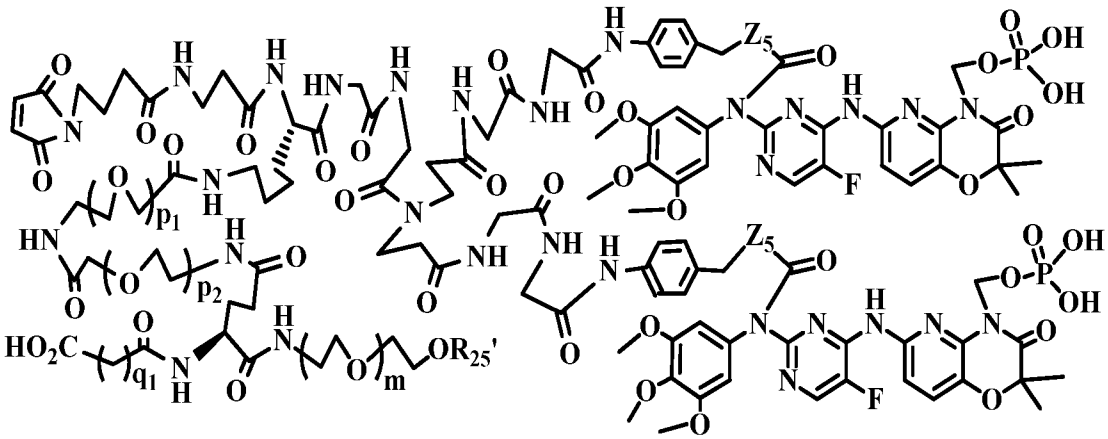
b117,



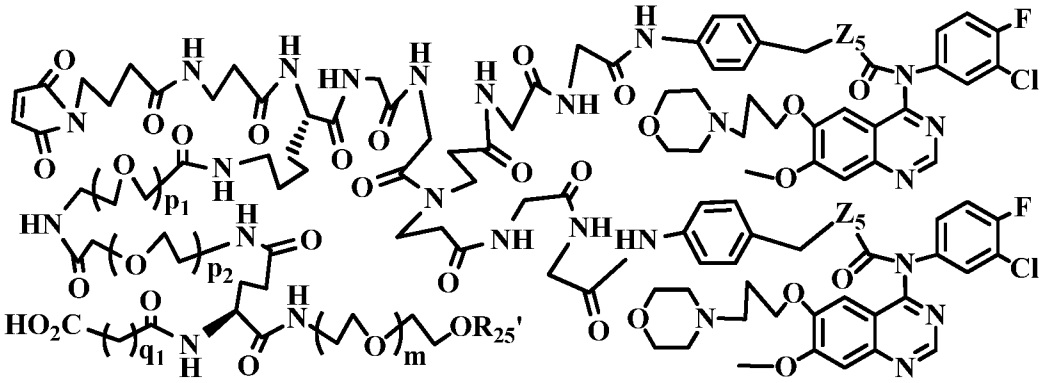
b118,



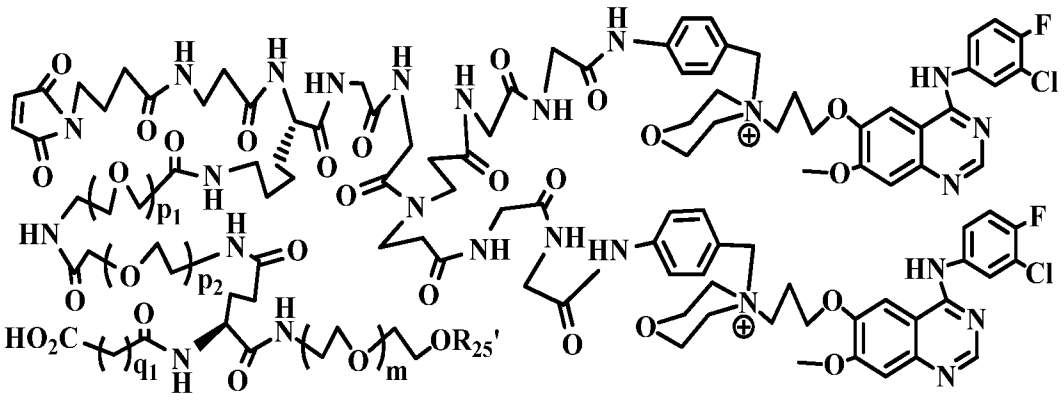
b119,



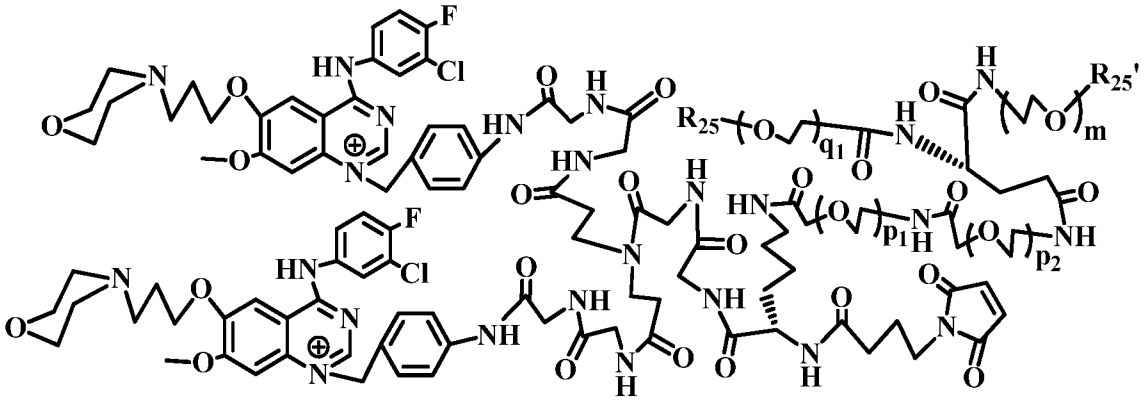
b120,



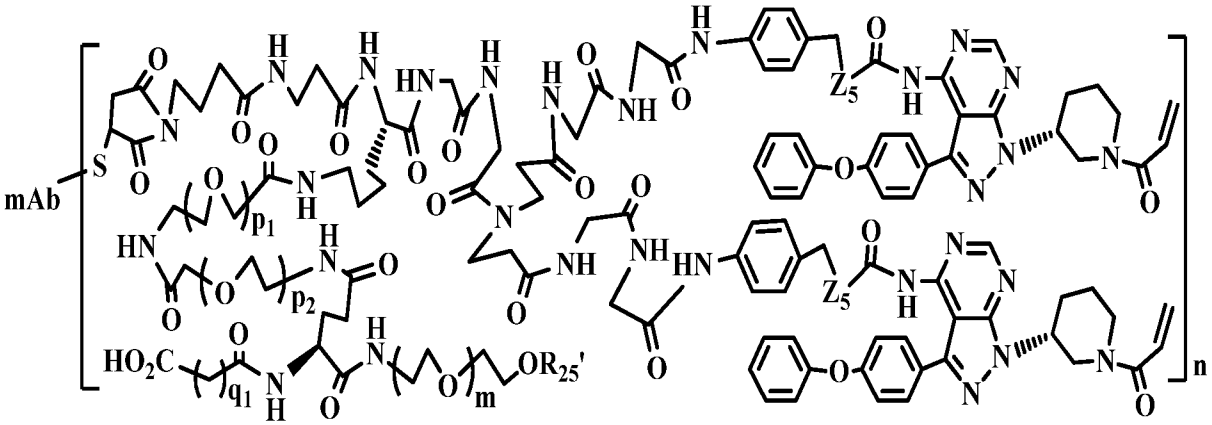
b121,



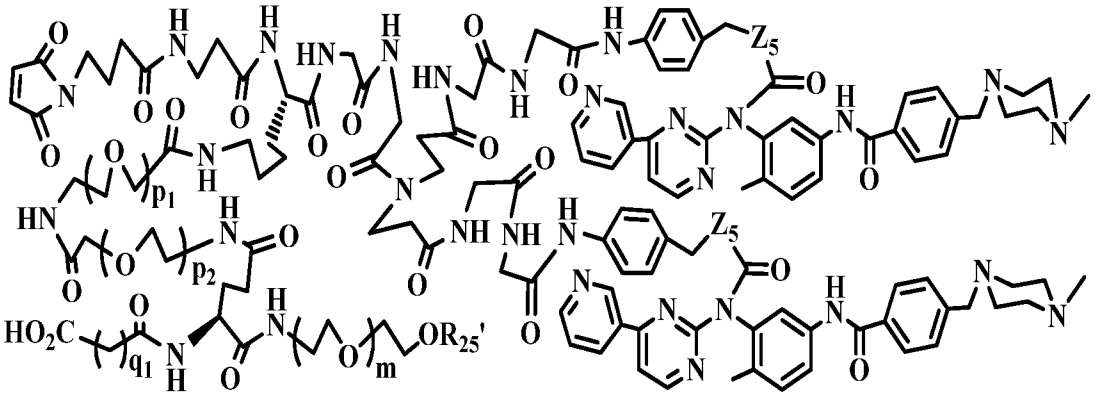
b122,



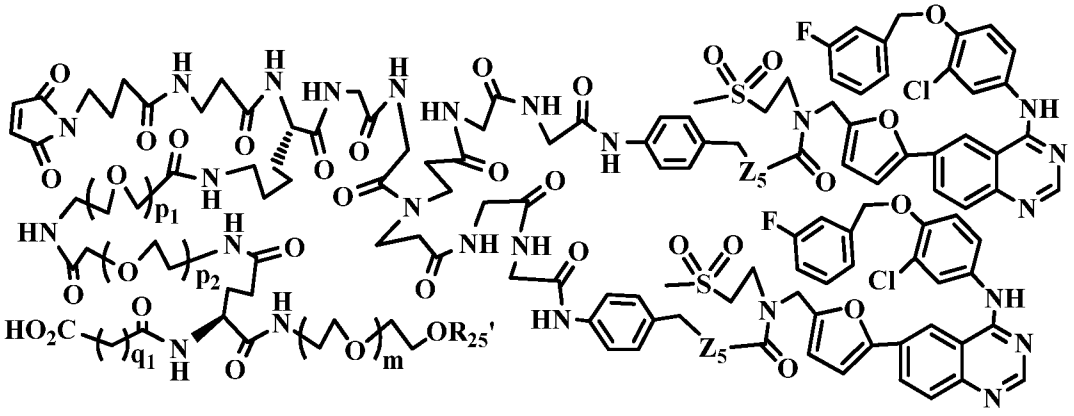
b123,



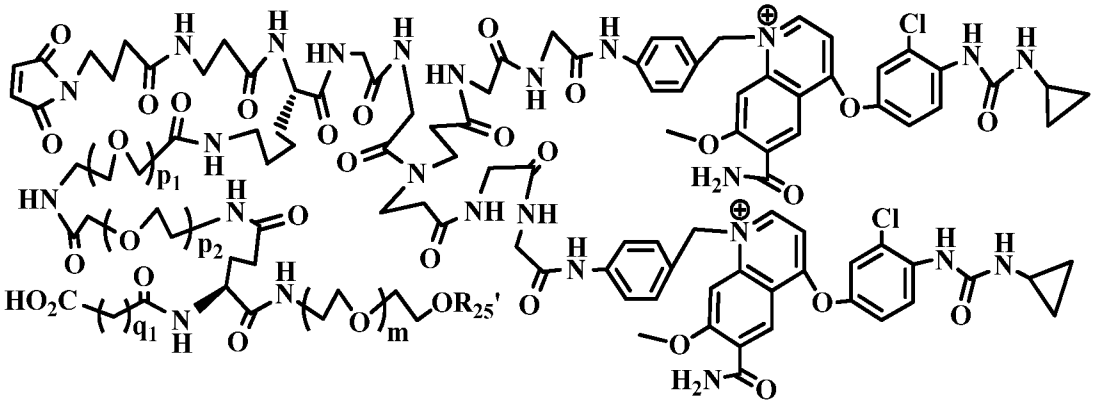
b124,



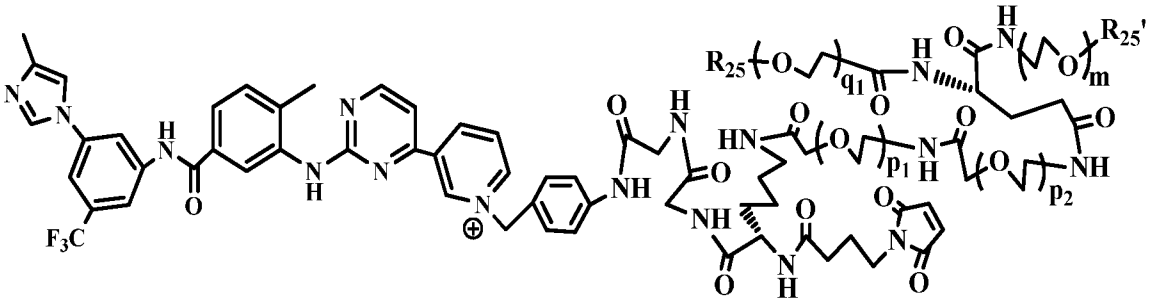
b125,



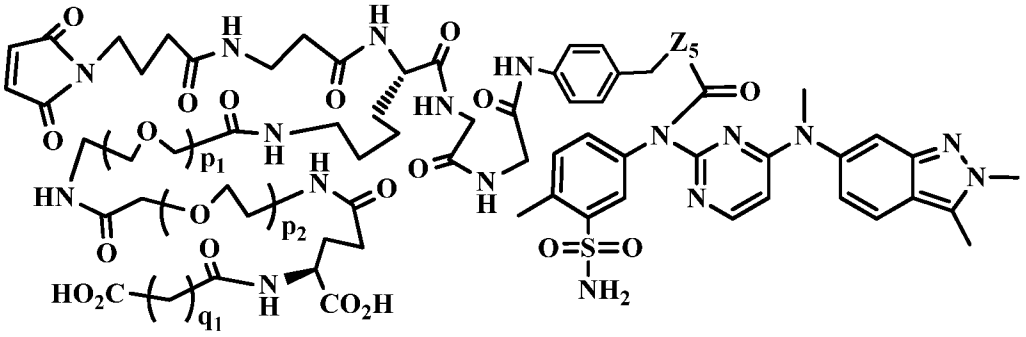
b126,



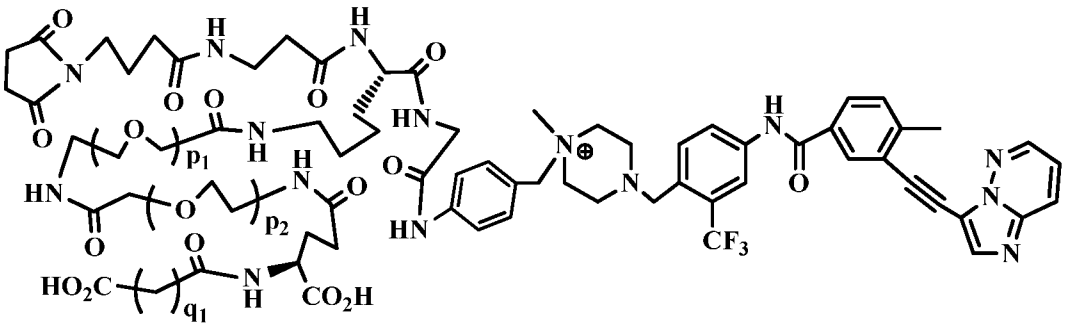
b127,



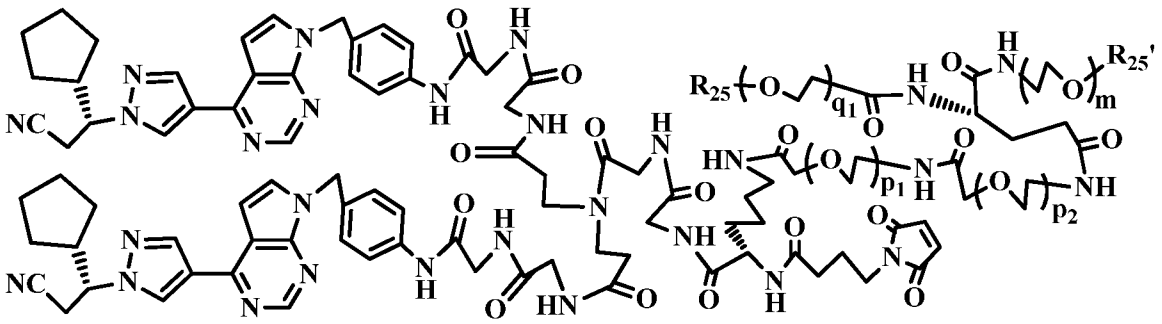
b128,



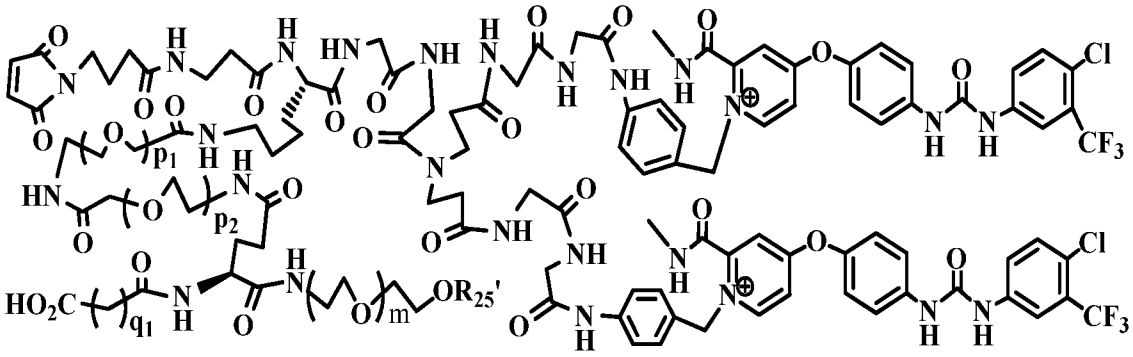
b129,



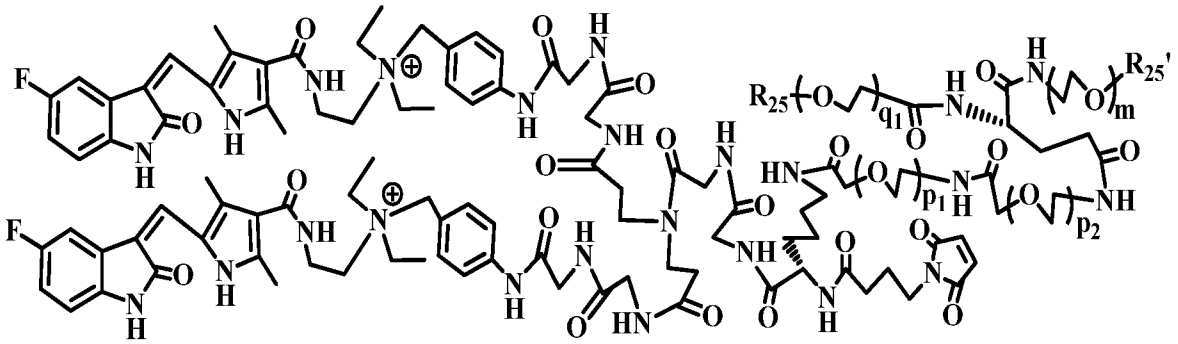
b130,



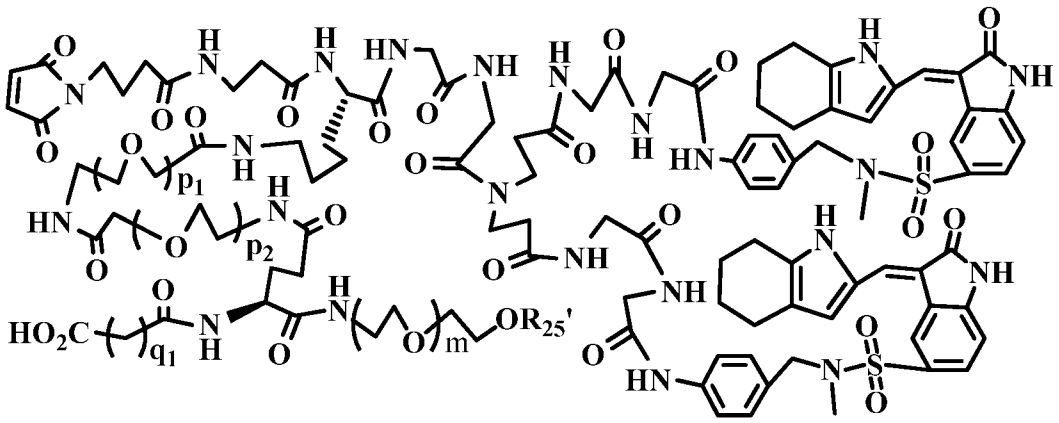
b131,



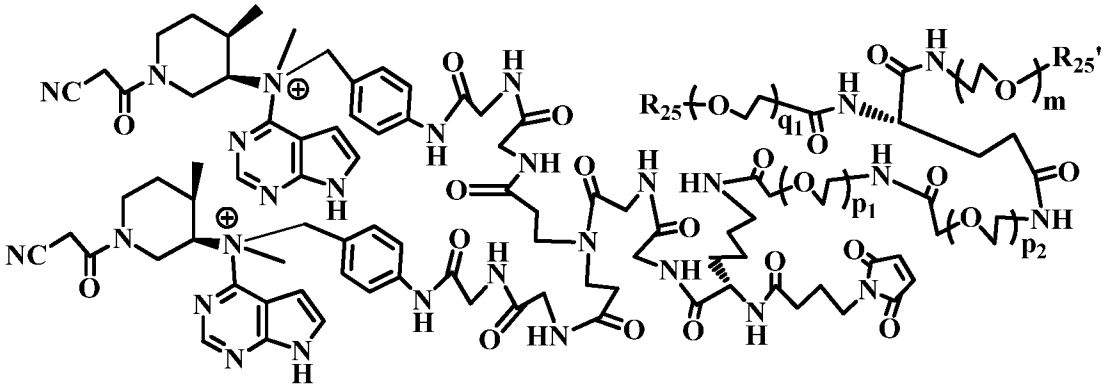
b132,



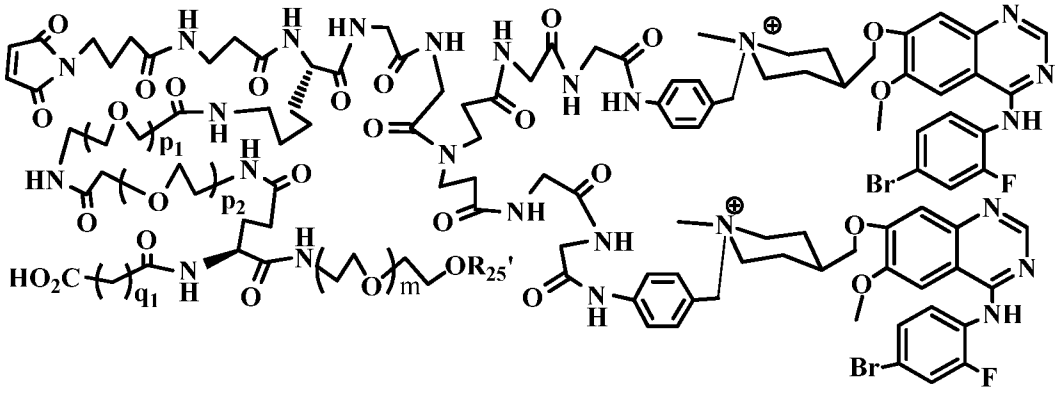
b133,



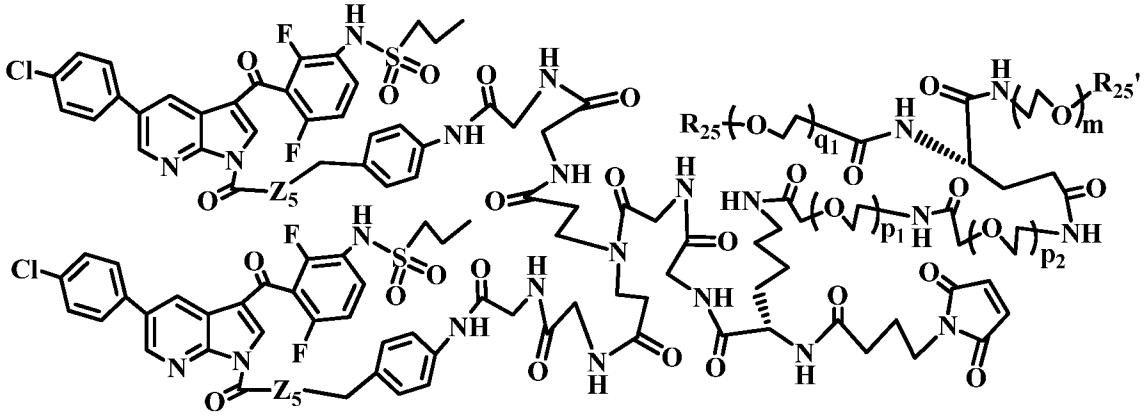
b134,



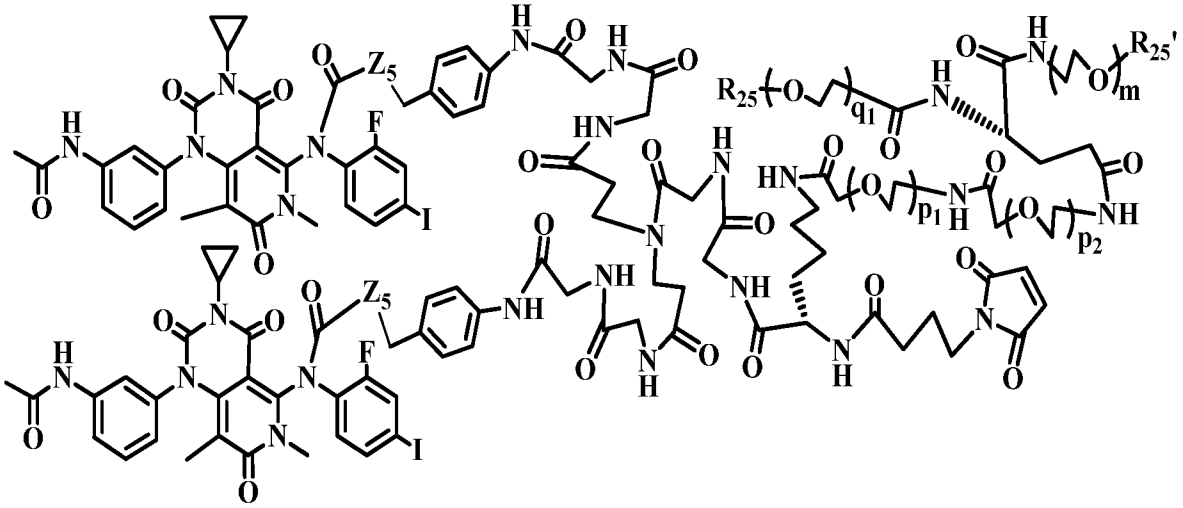
b135,



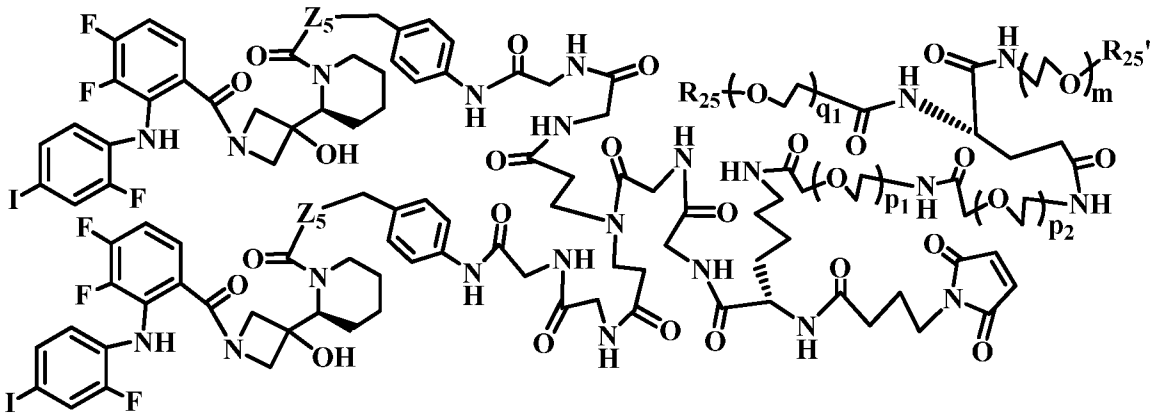
b136,



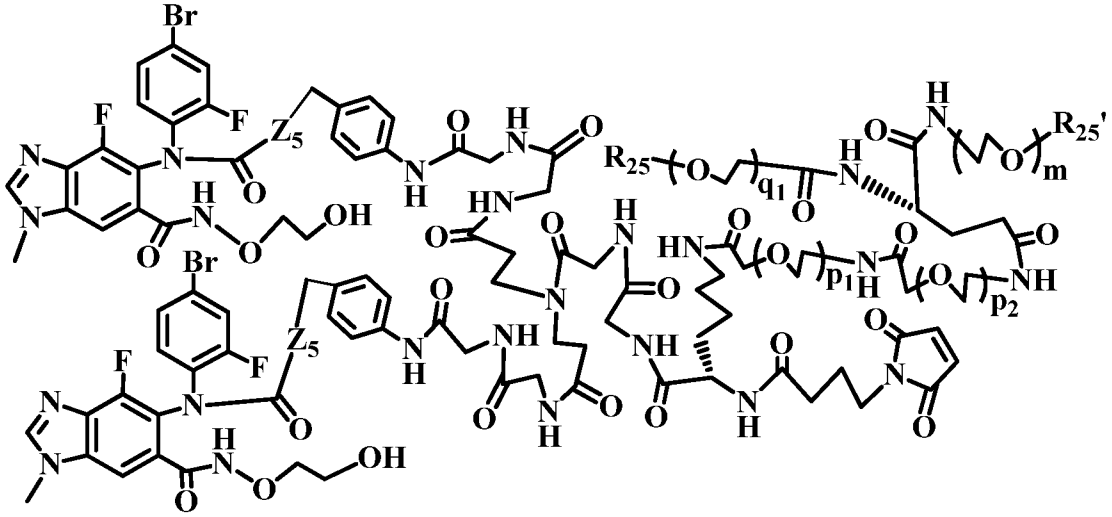
b137,



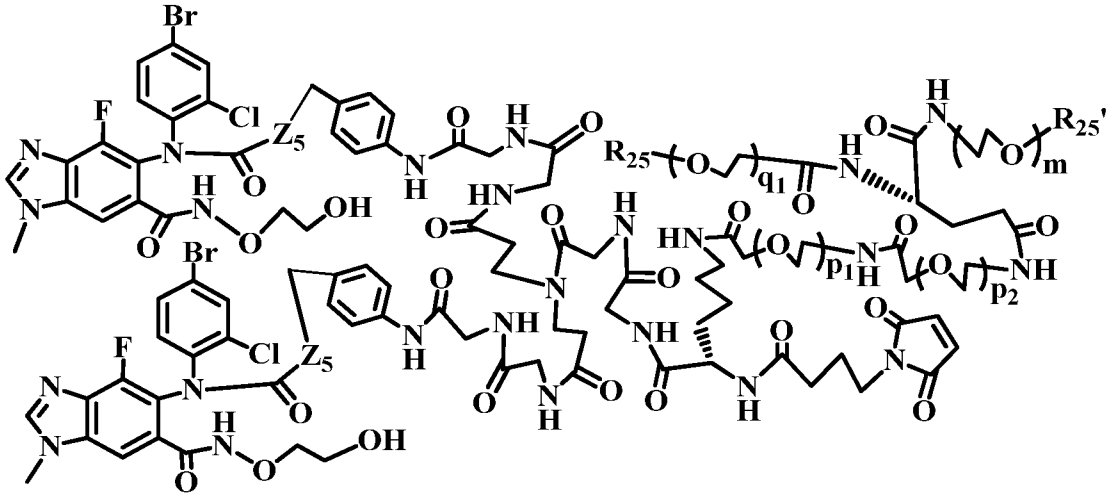
b138,



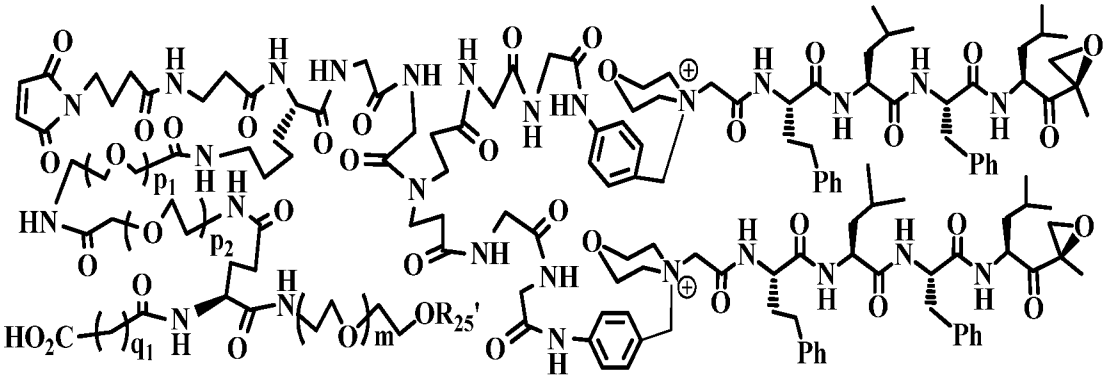
b139,



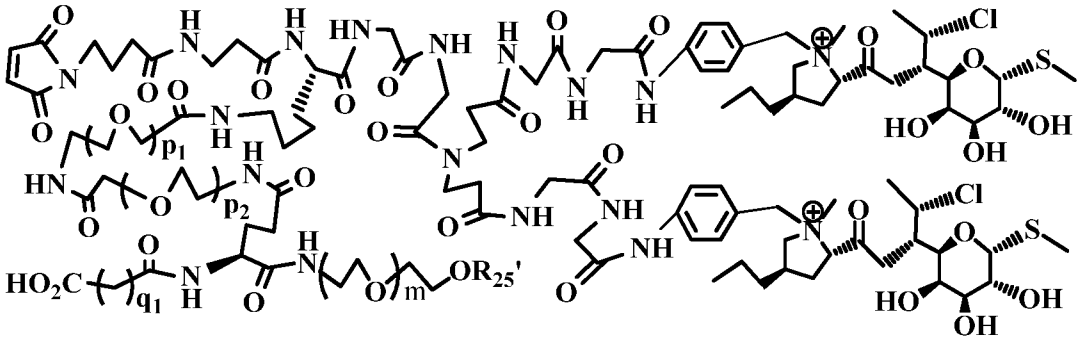
b140,



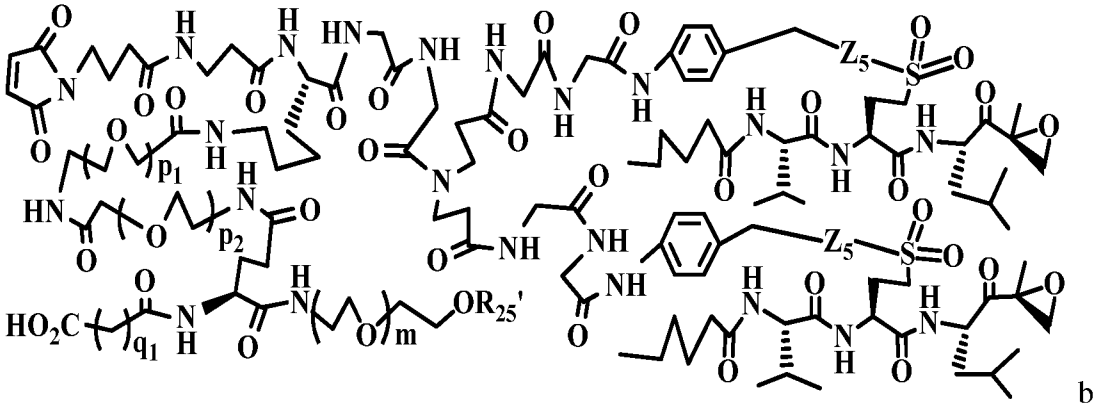
b141,



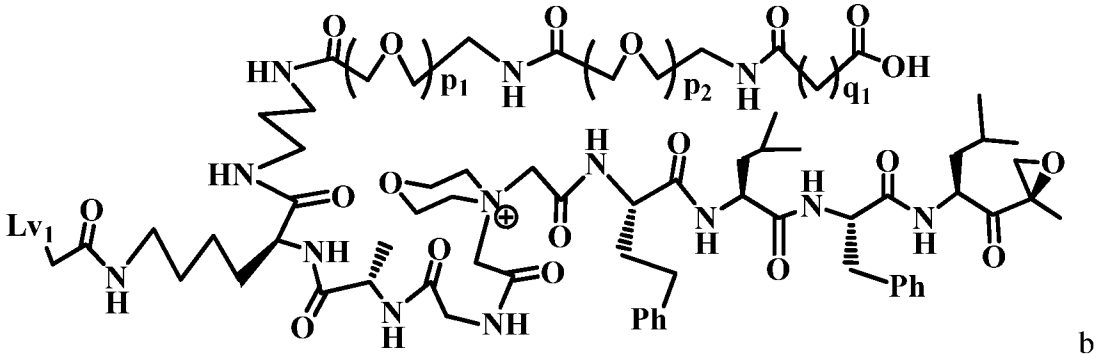
b142,



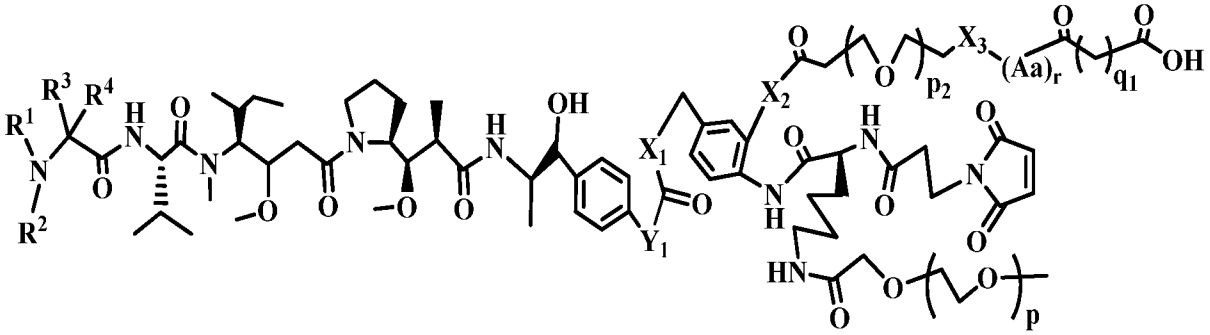
b143,



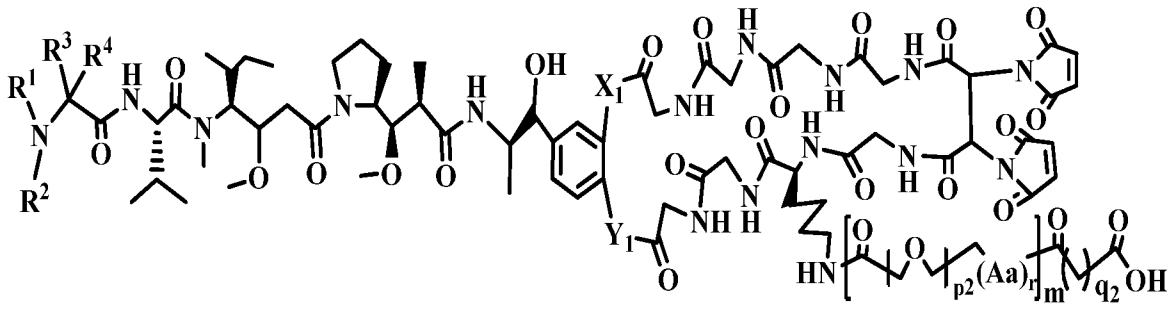
b144,



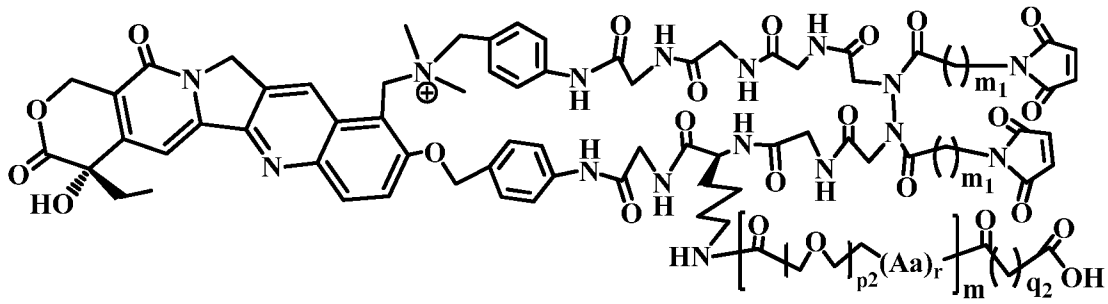
b145,



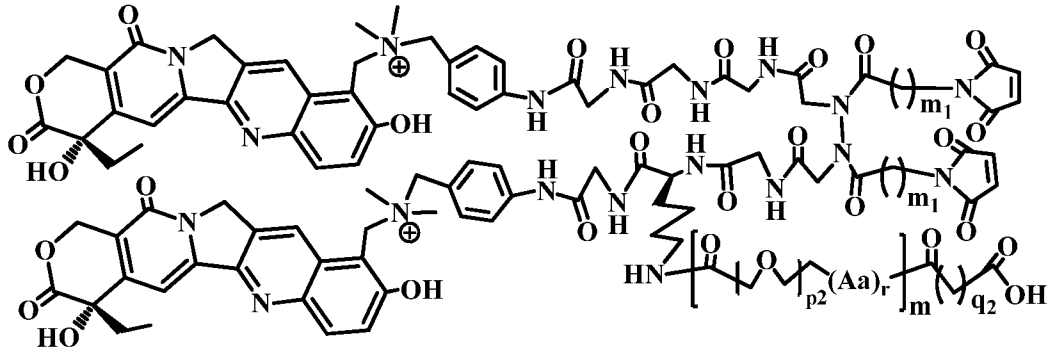
b146,



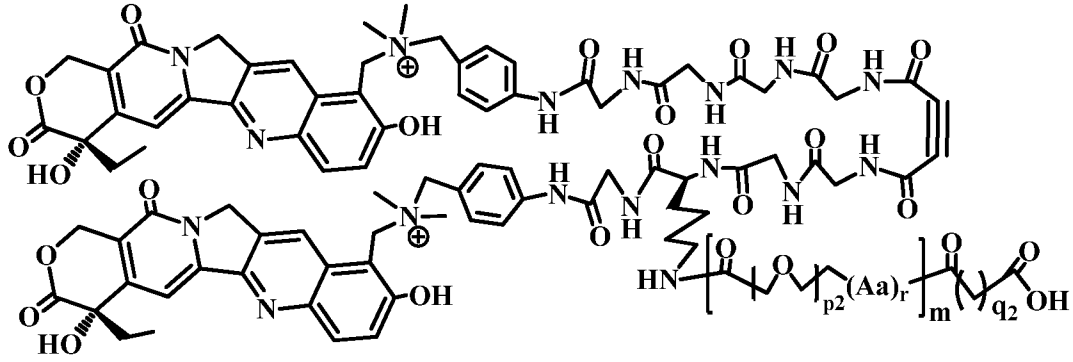
b147,



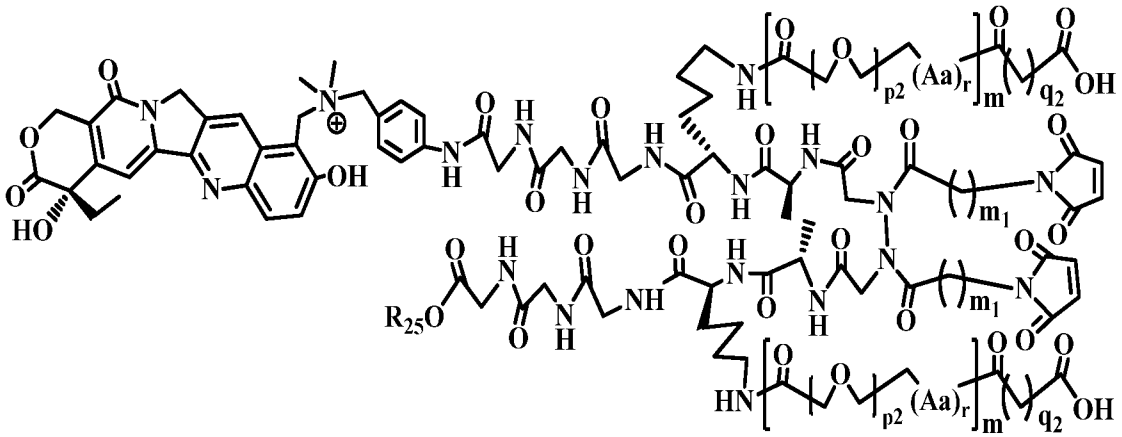
b148,



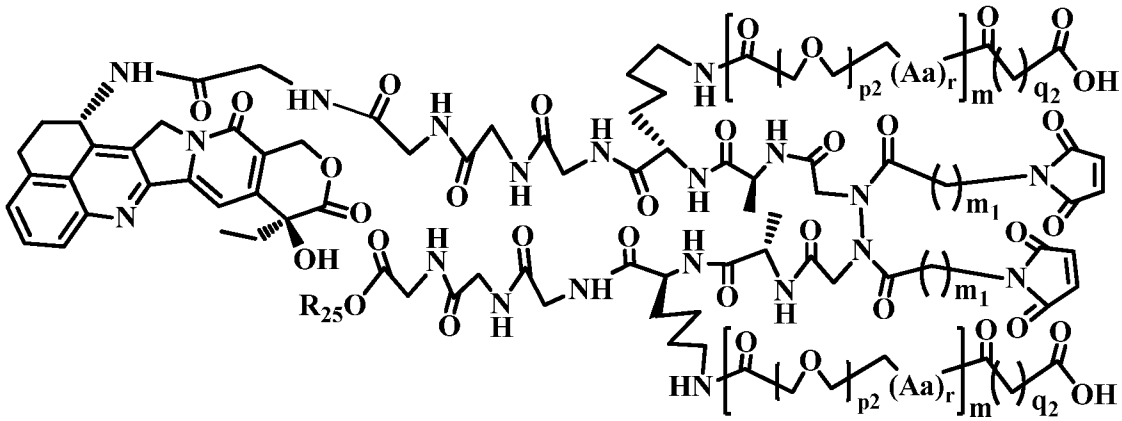
b149,



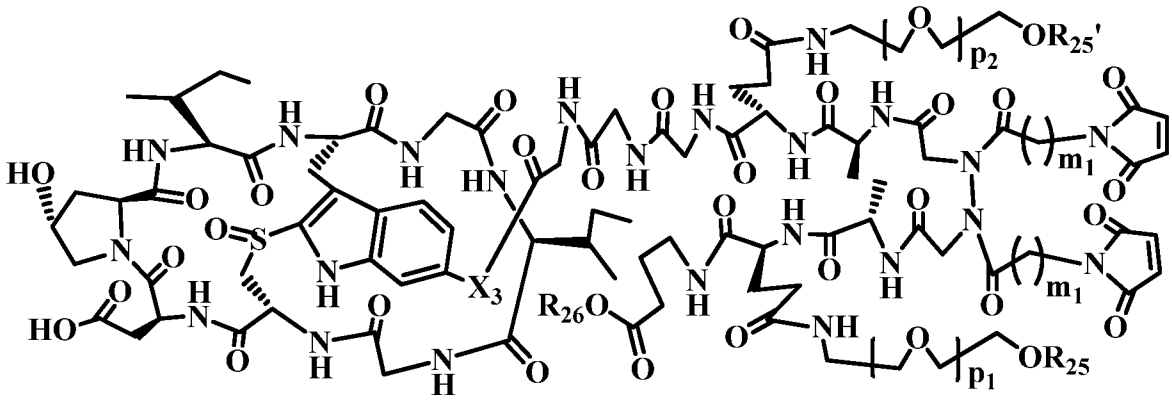
b150,



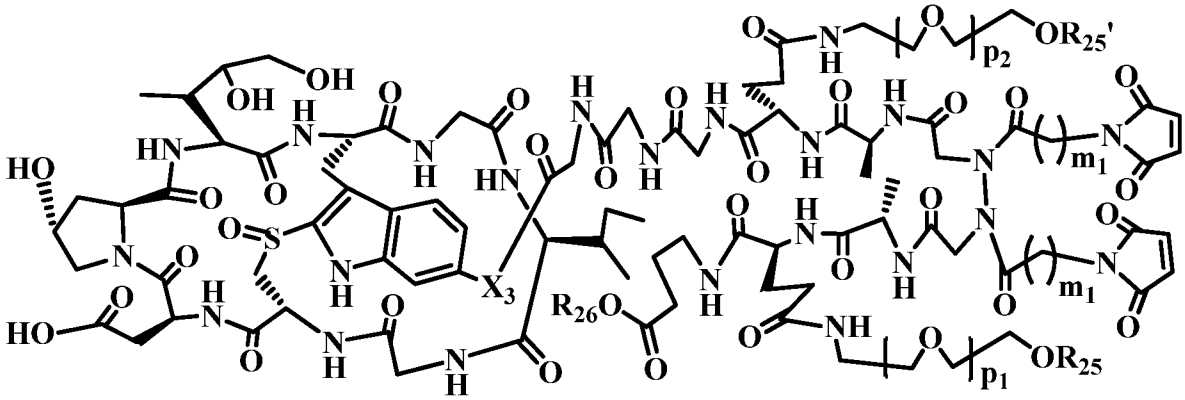
b151,



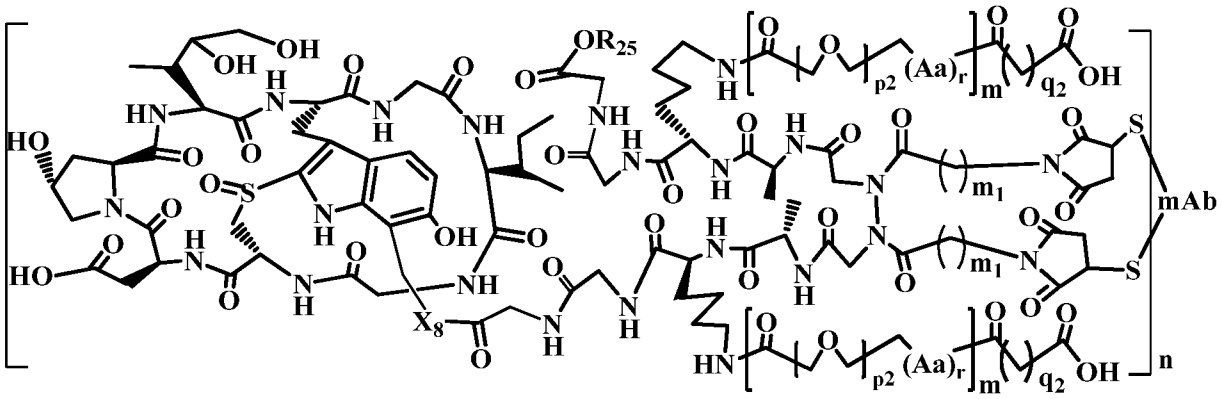
b152,



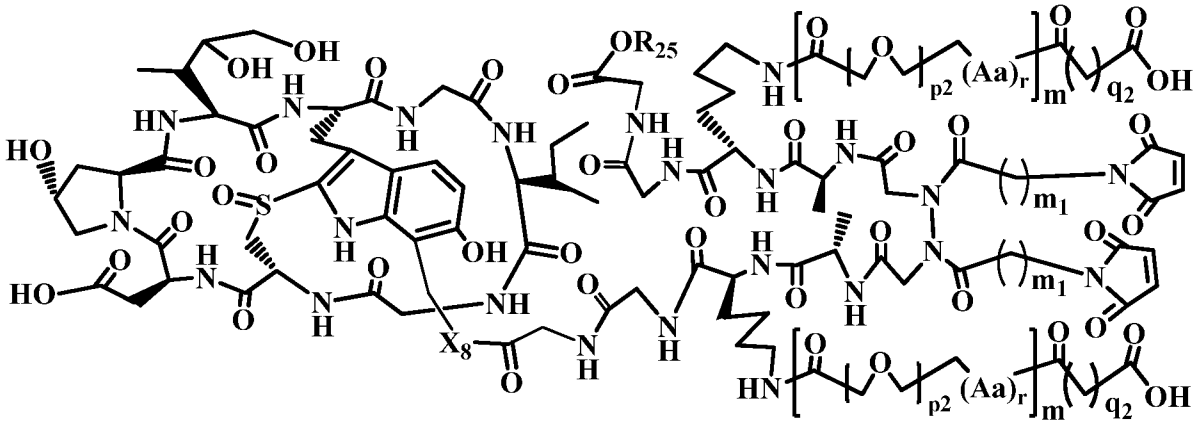
b153,



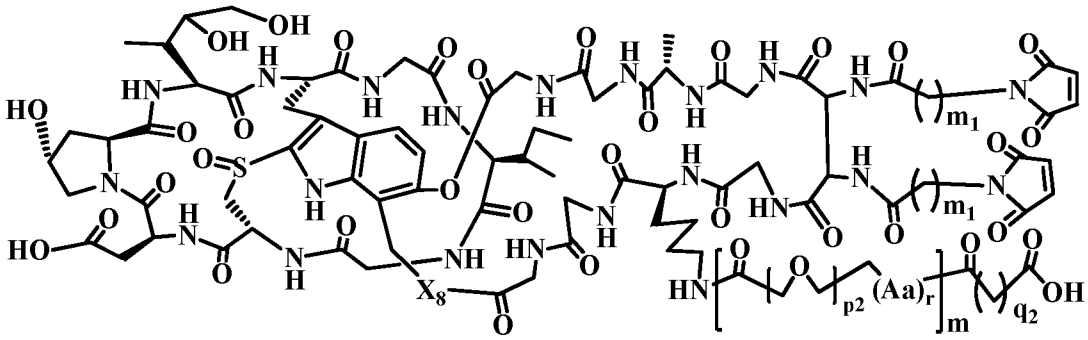
b154,



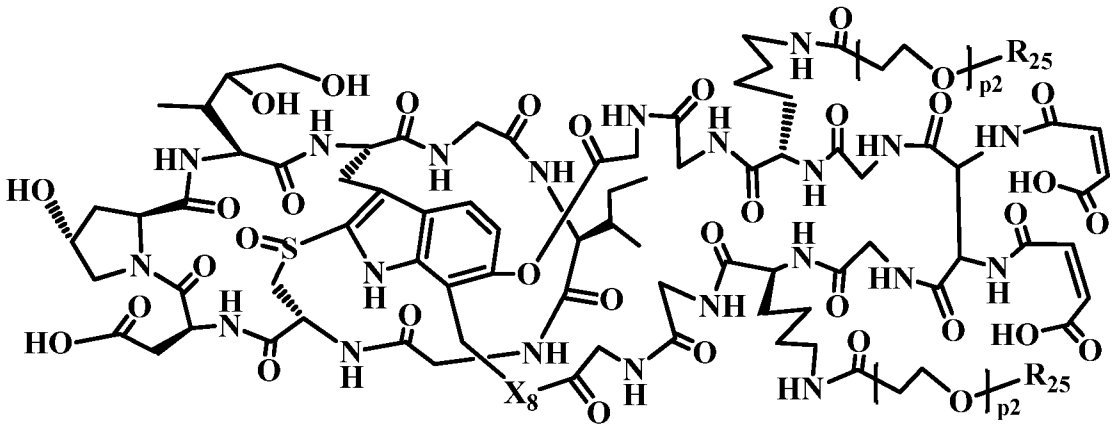
b155,



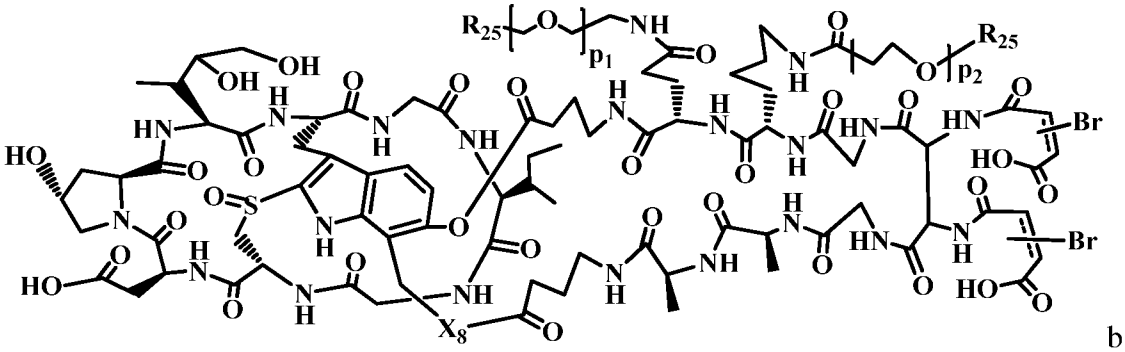
b156,



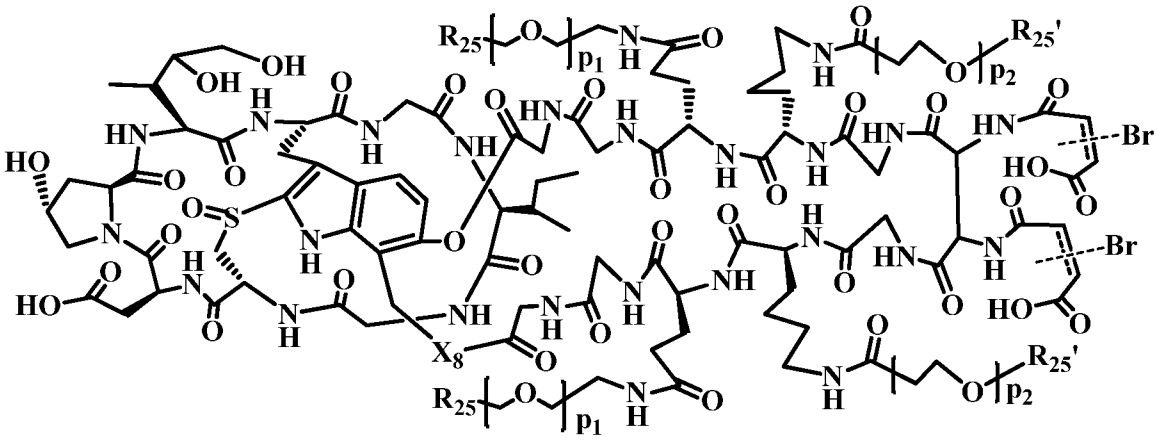
b157,



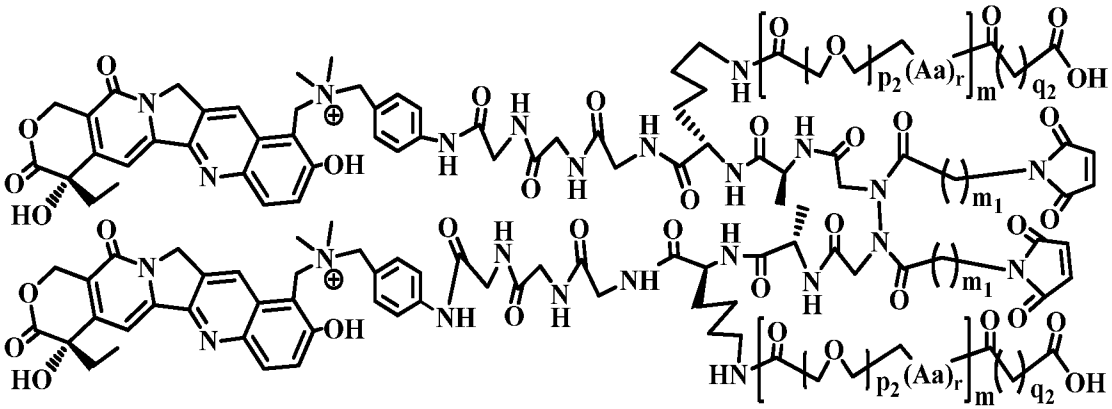
b158,



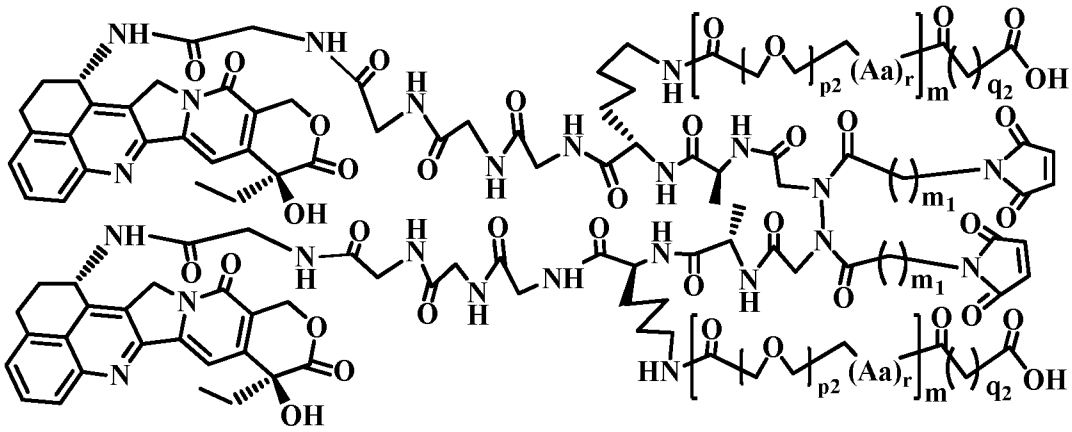
b159,



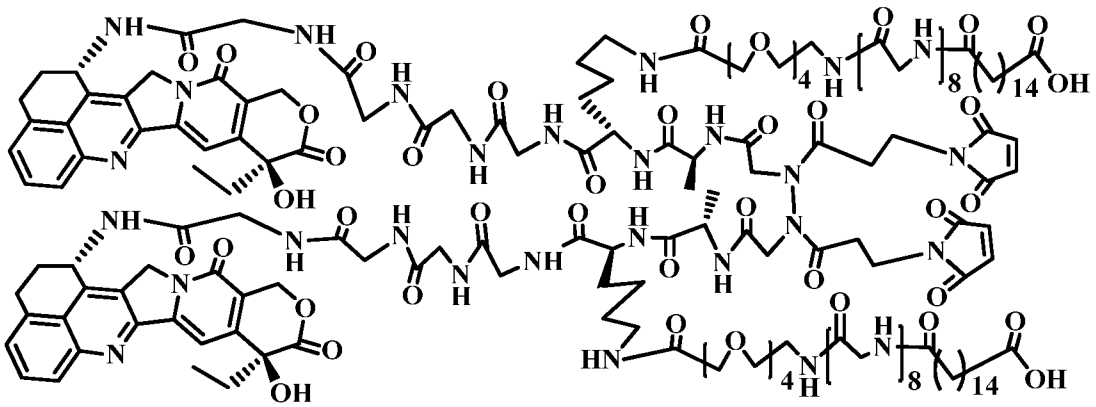
b160,



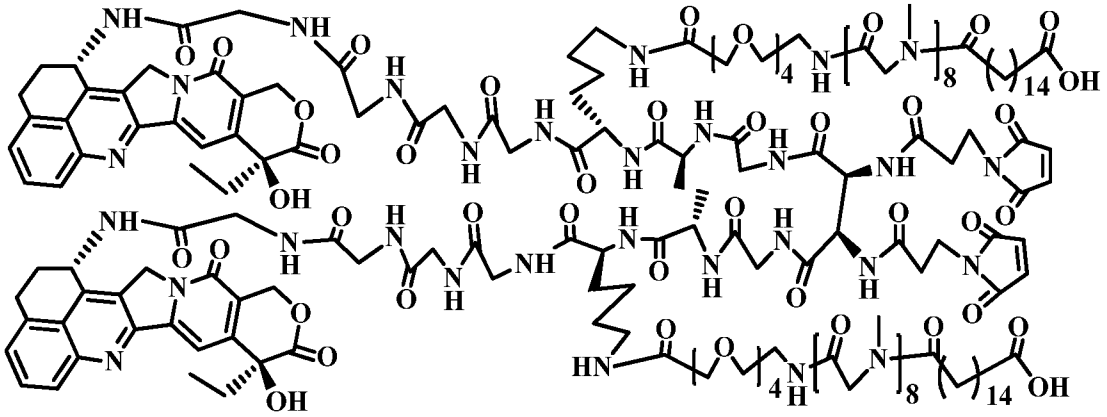
b161,



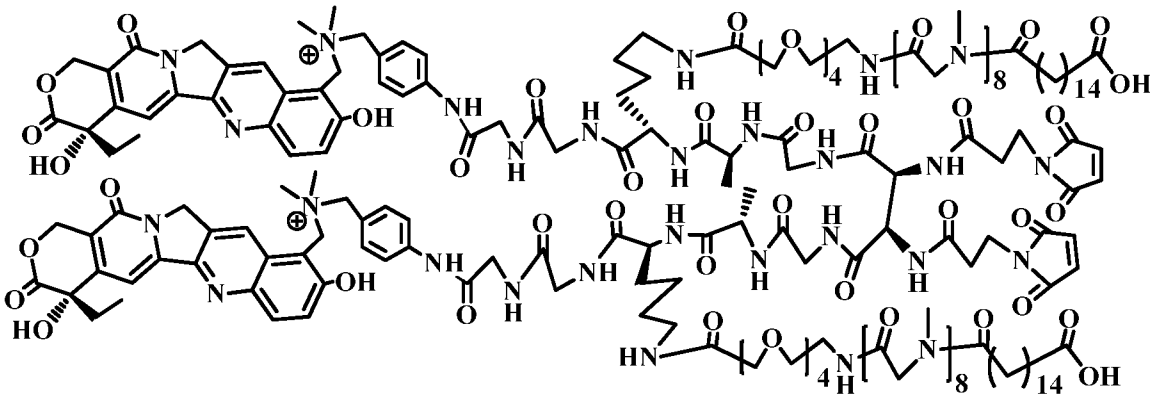
b162,



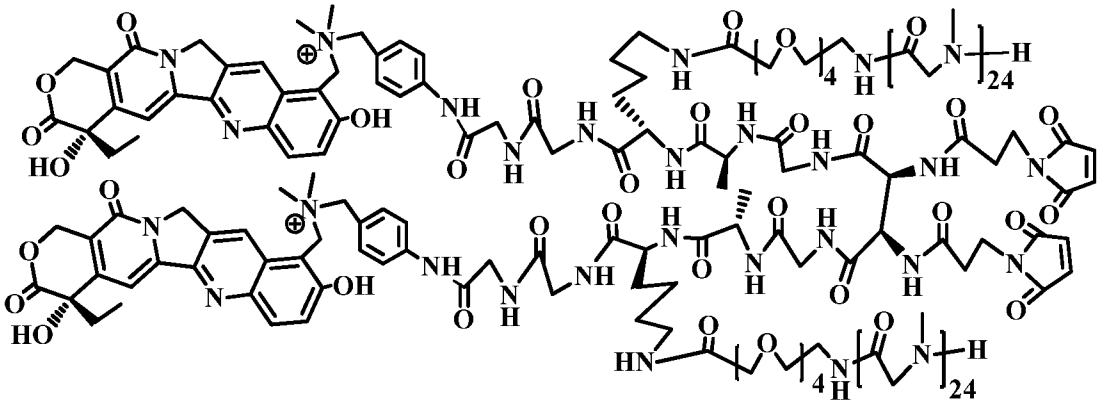
b163,



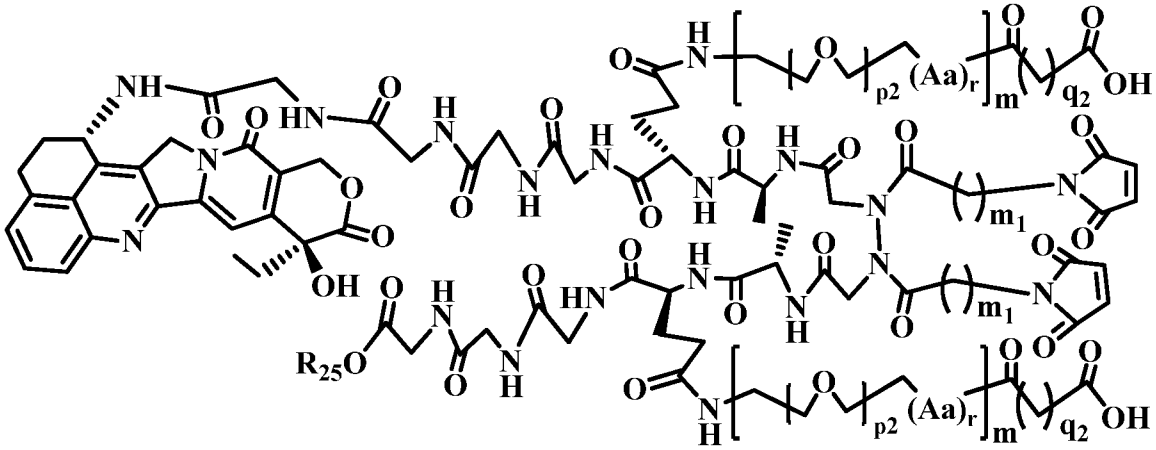
b164,



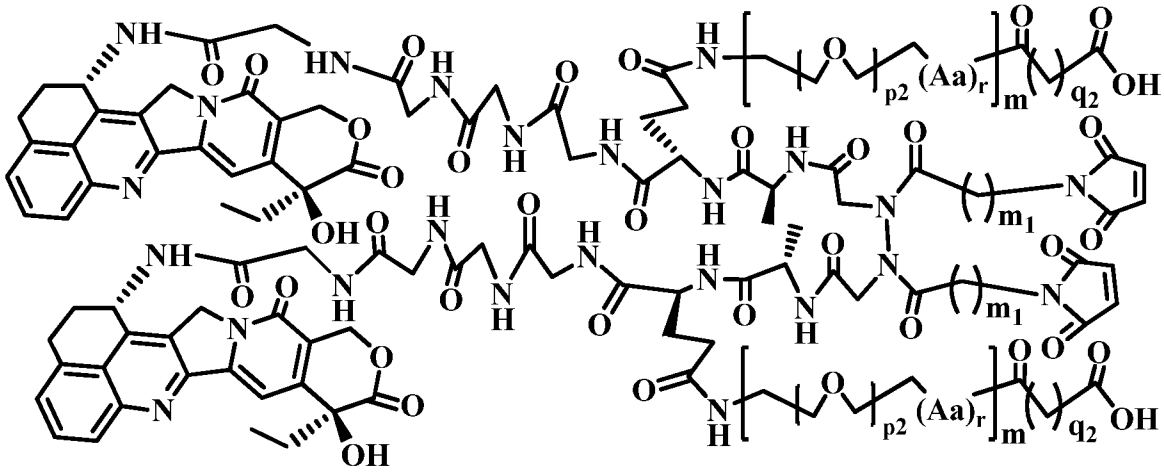
b165,



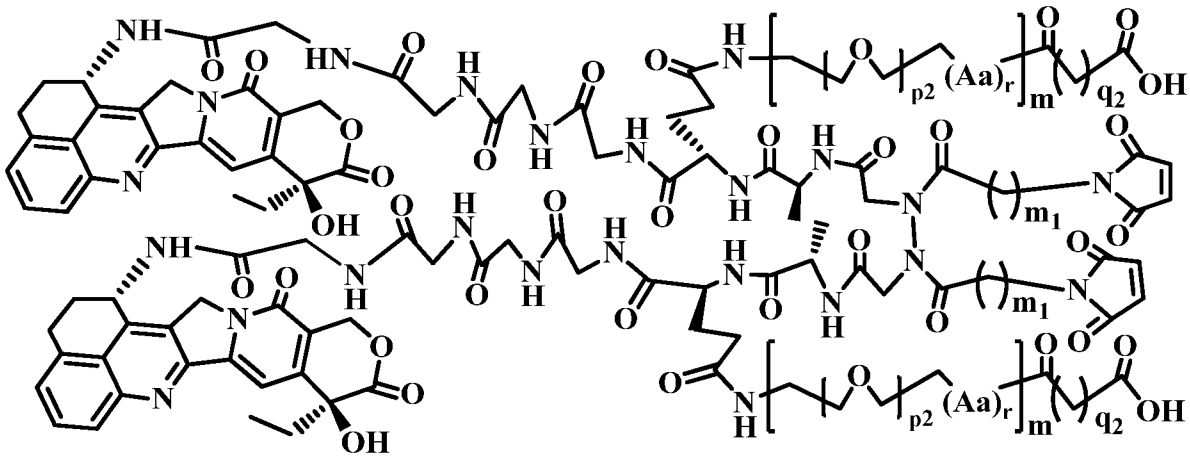
b166,



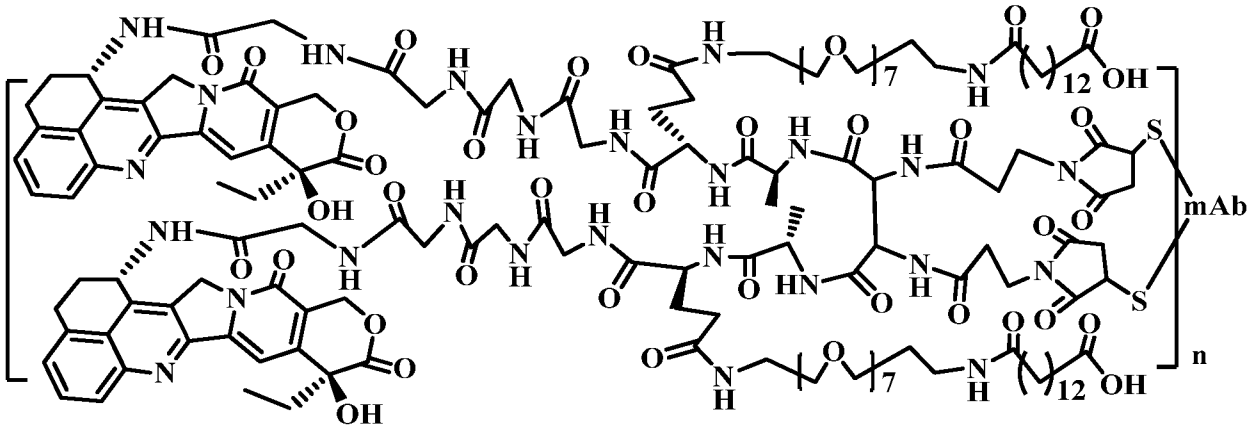
b167,



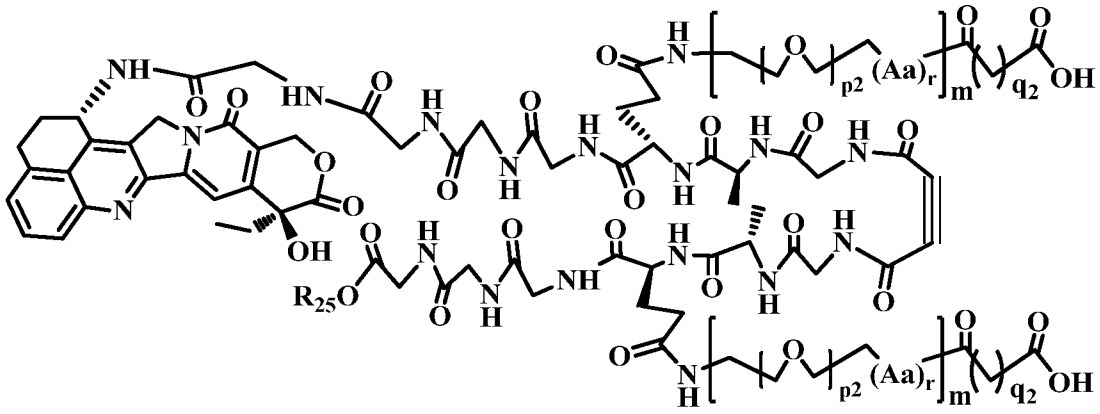
b168,



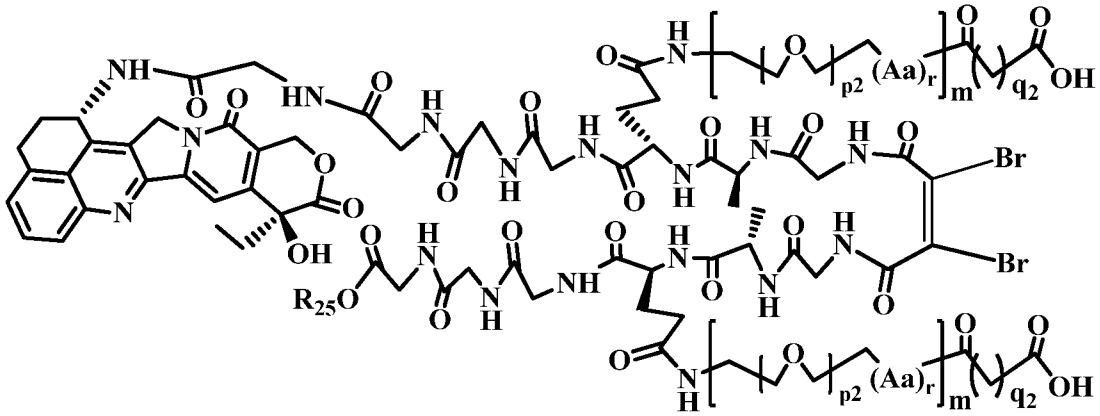
b169,



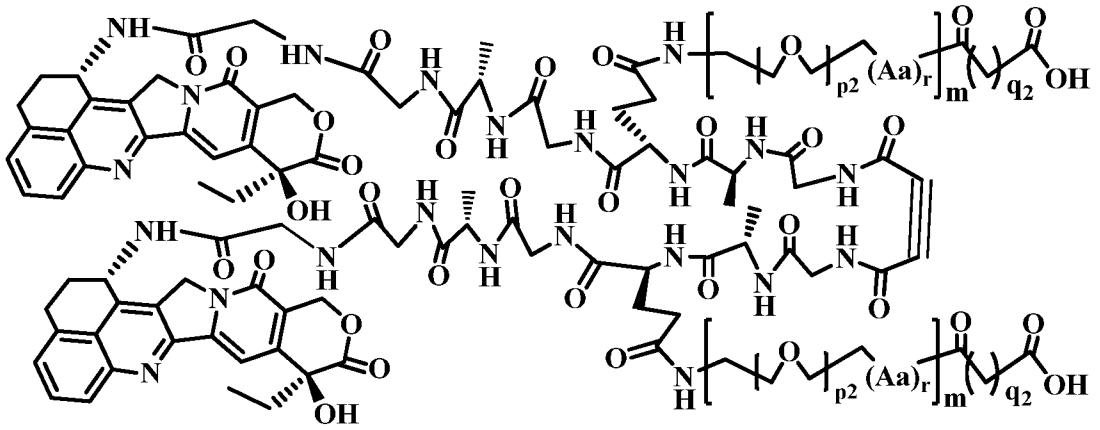
b170,



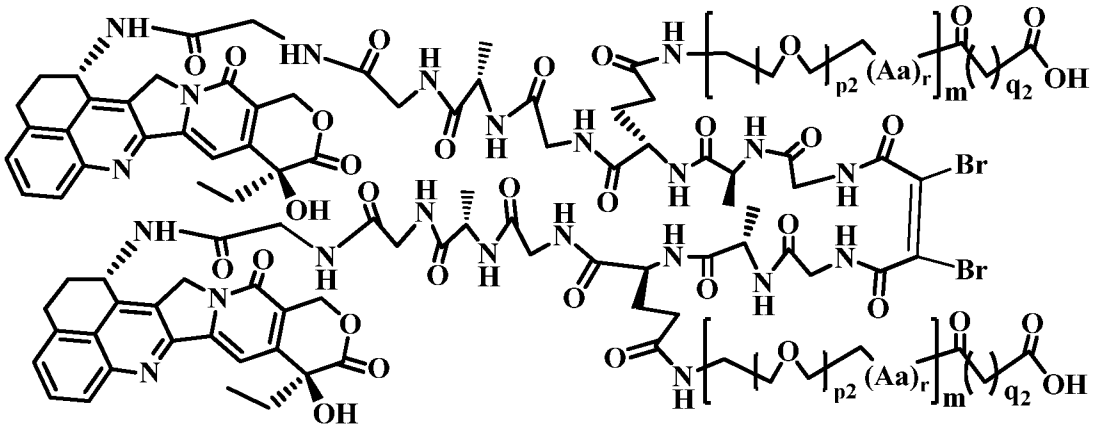
b171,



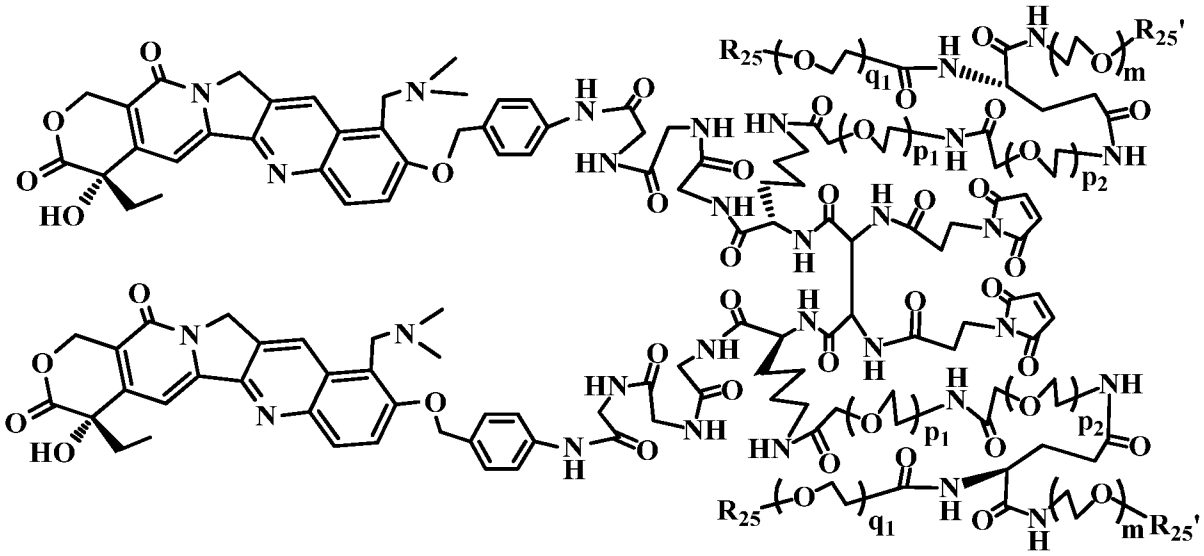
b172,



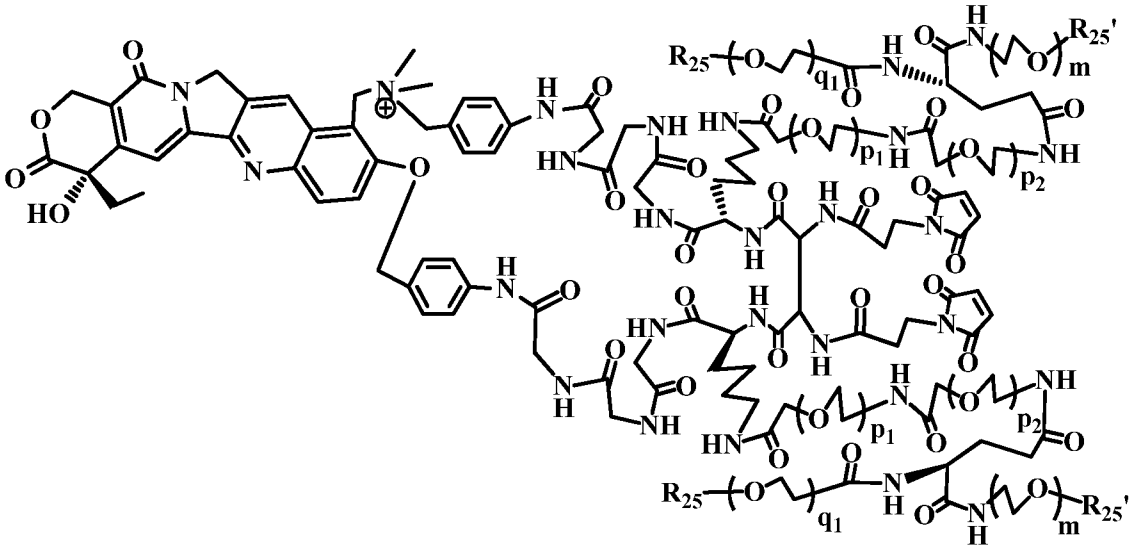
b173,



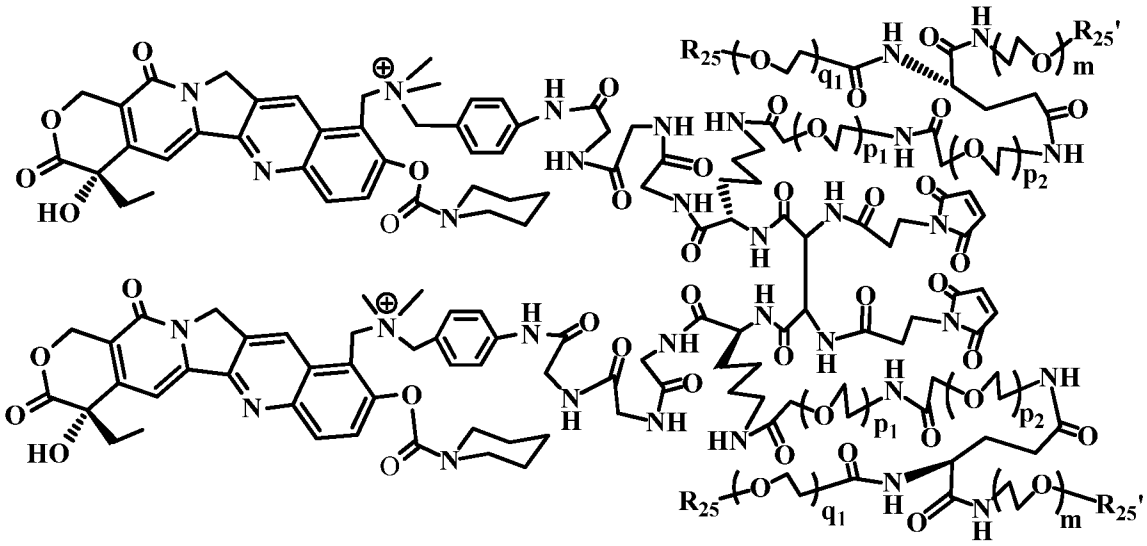
b174,



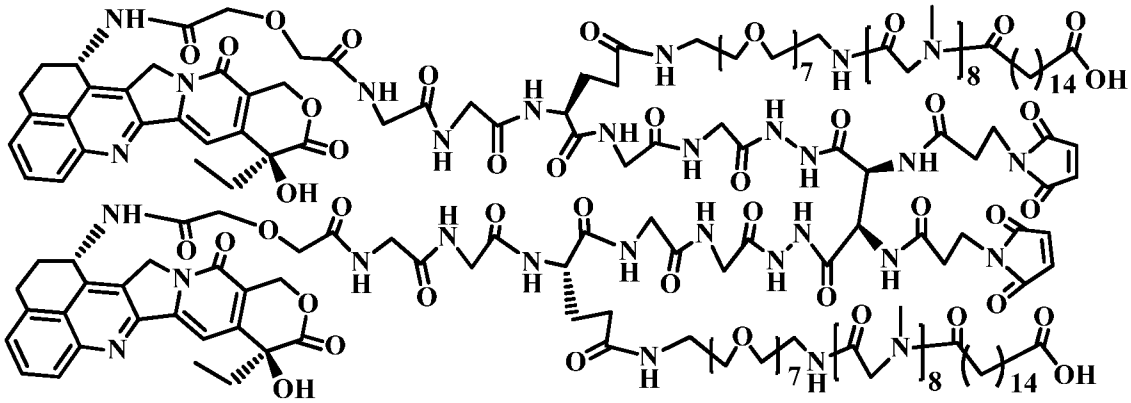
b175,



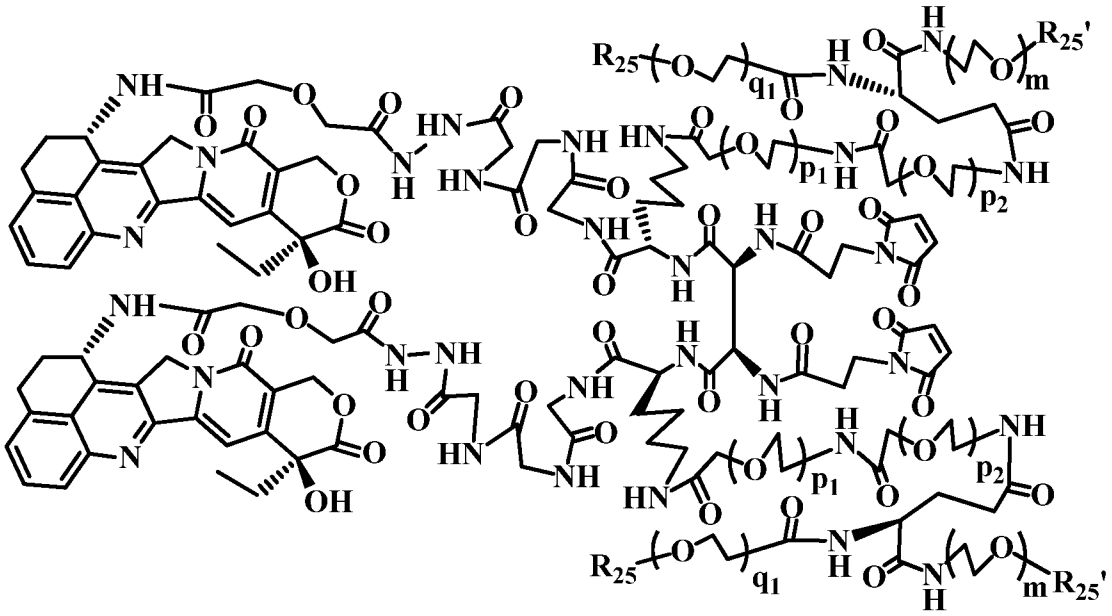
b176,



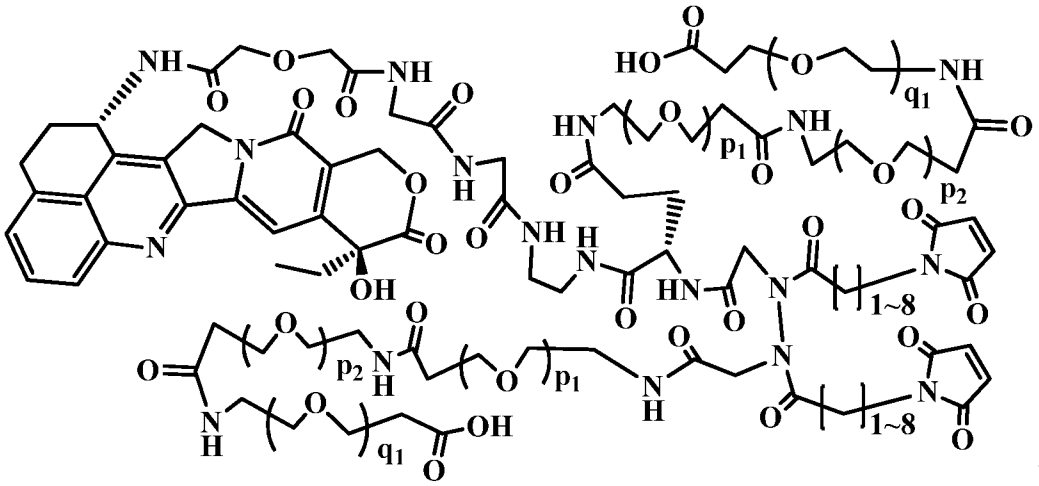
b177,



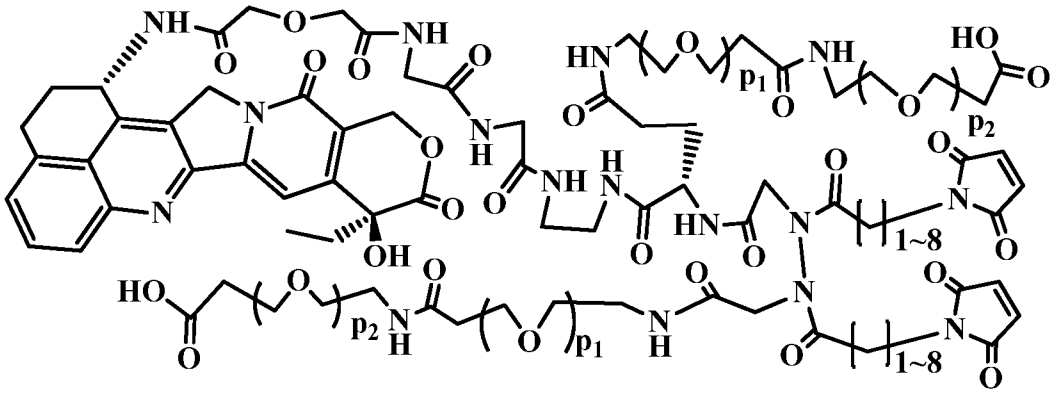
b178,



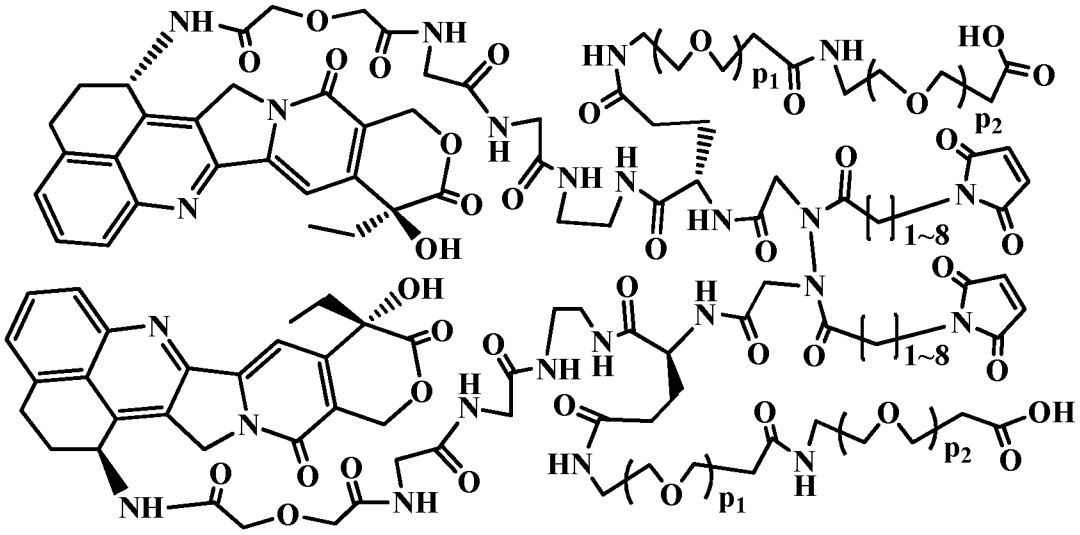
b179,



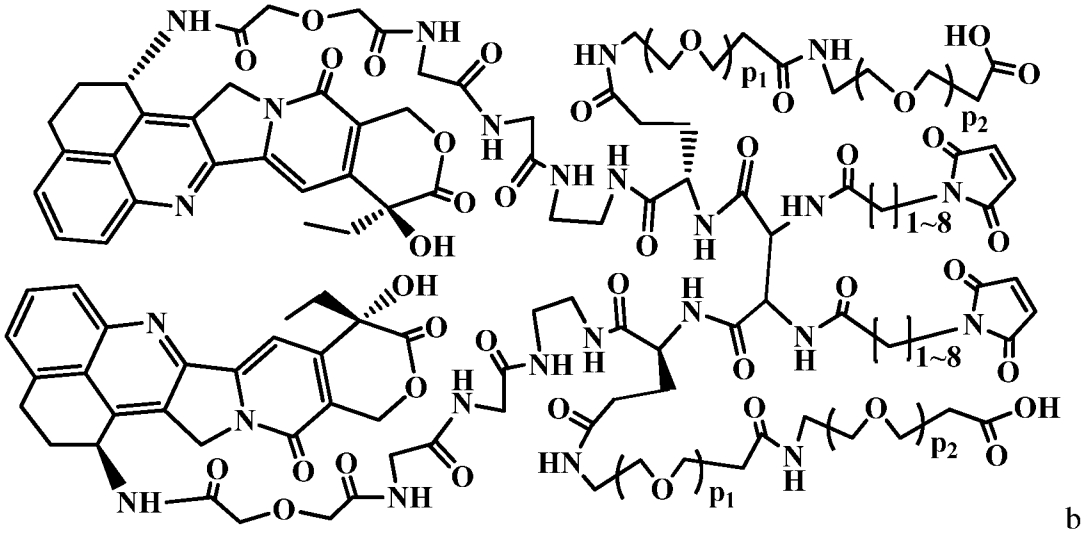
b180,



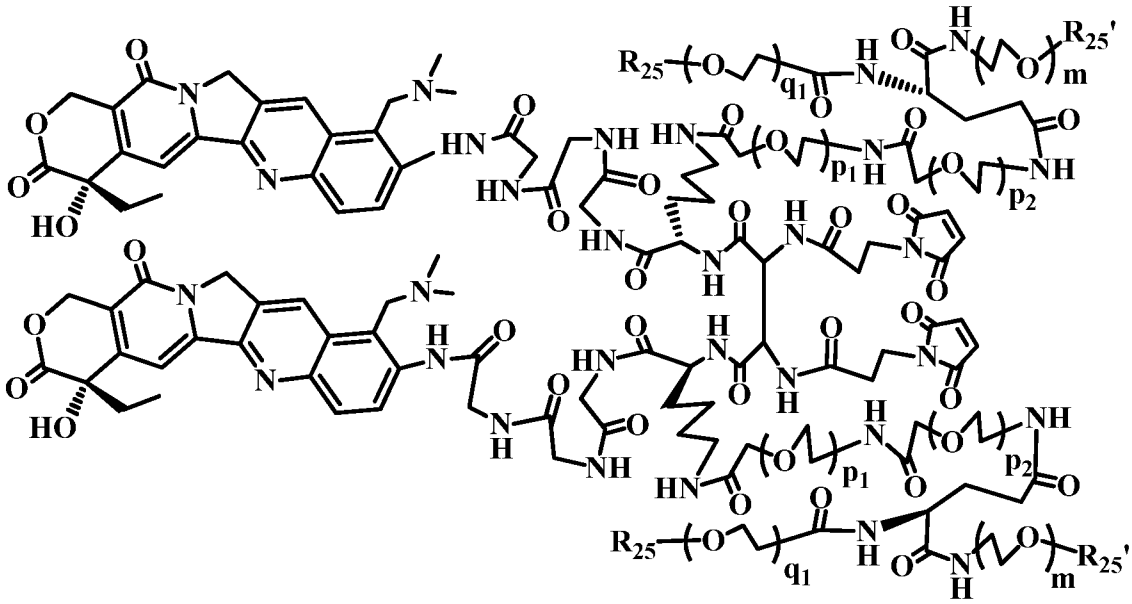
b181,



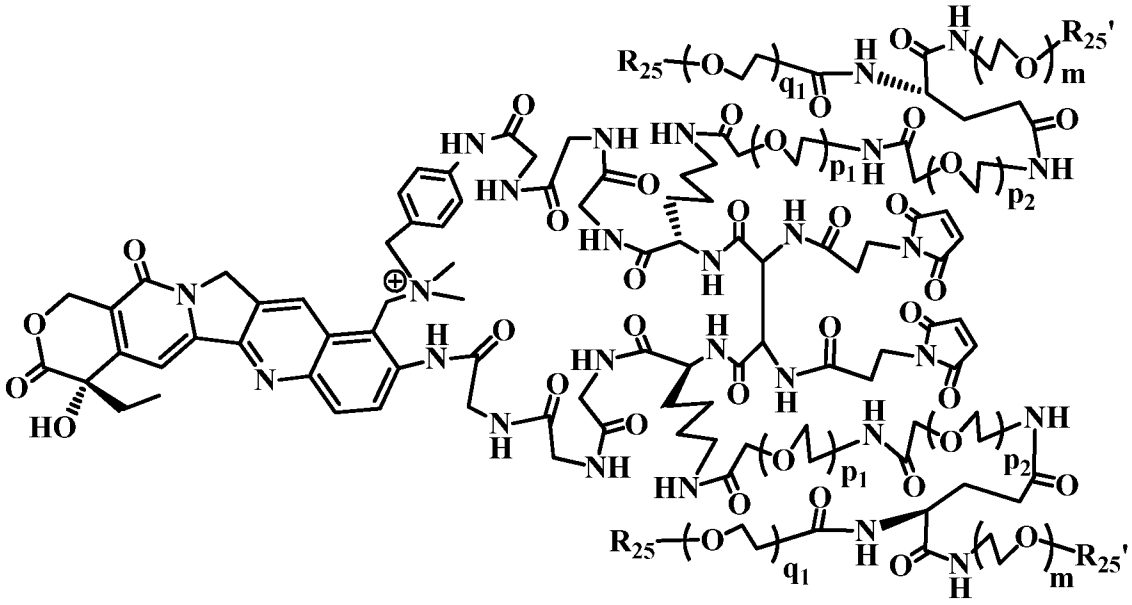
b182,



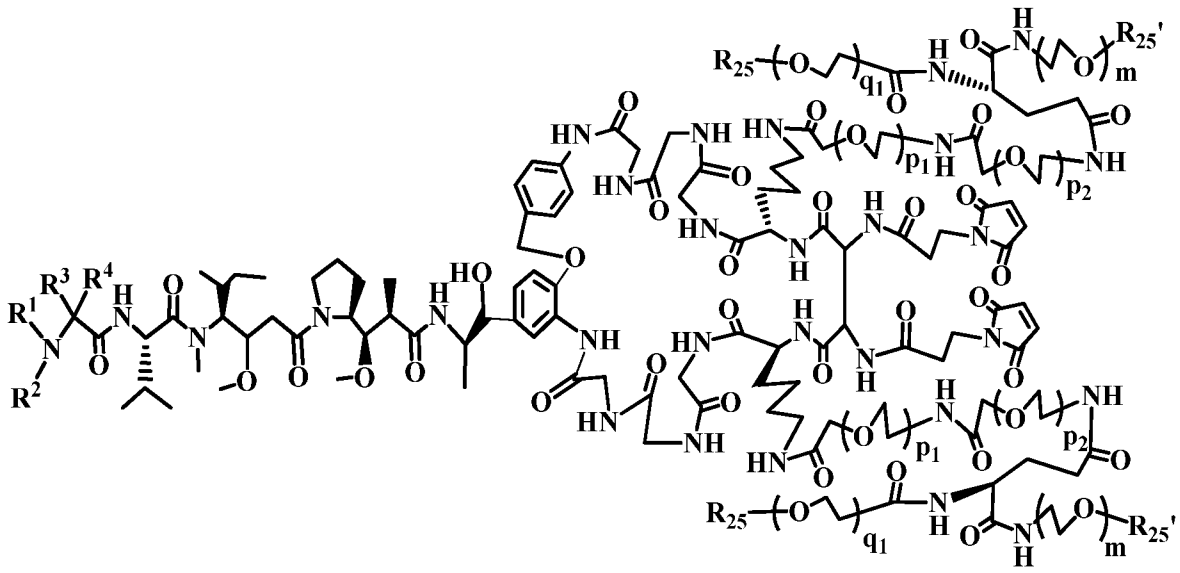
b183,



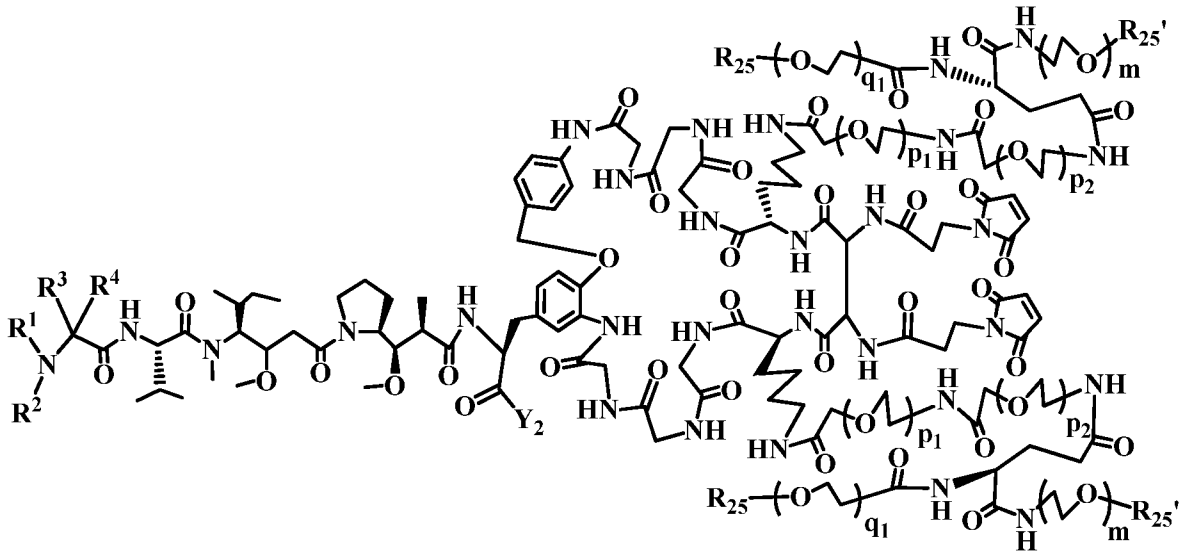
b184,



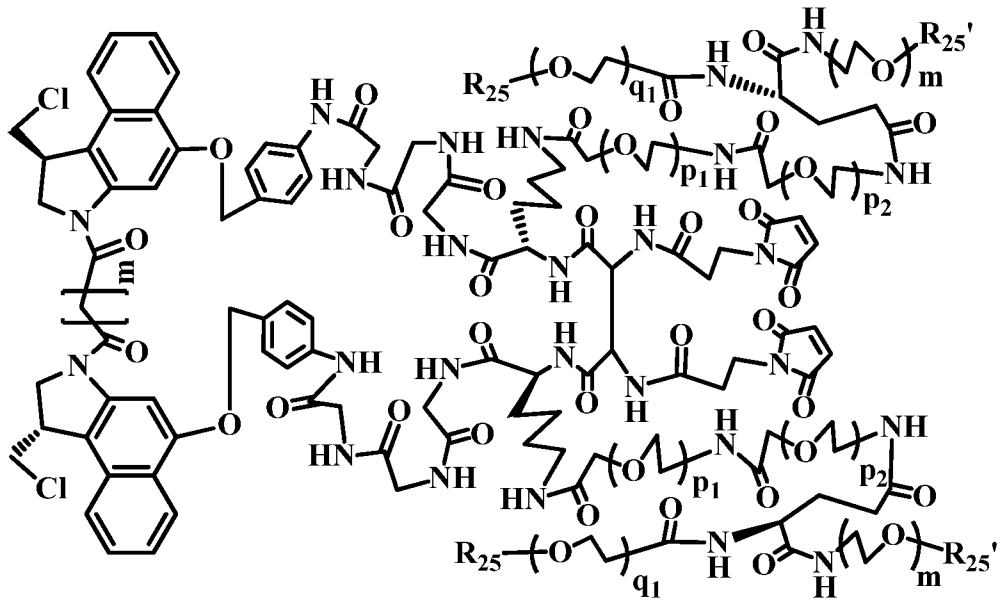
b185,



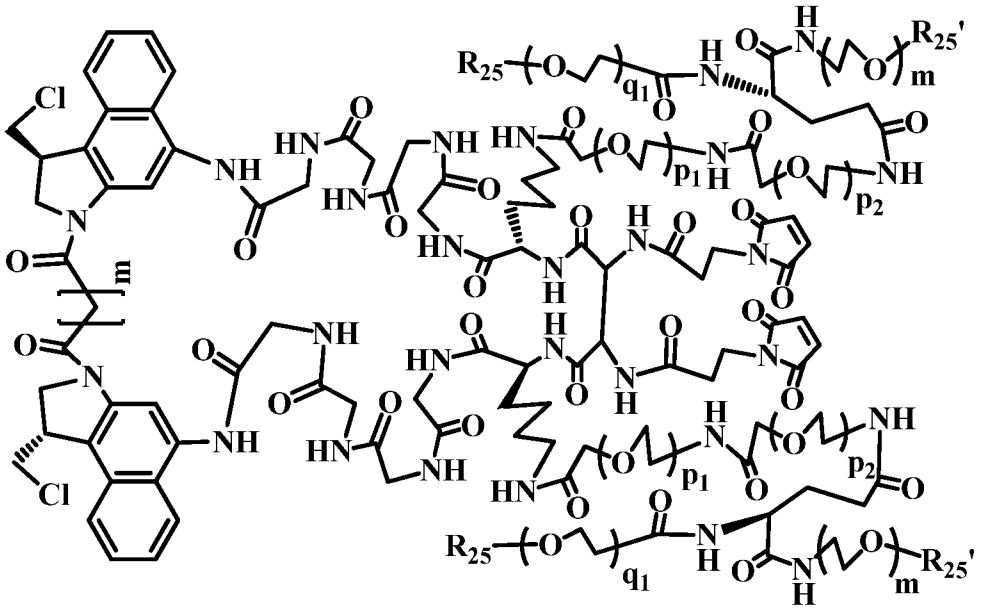
b186,



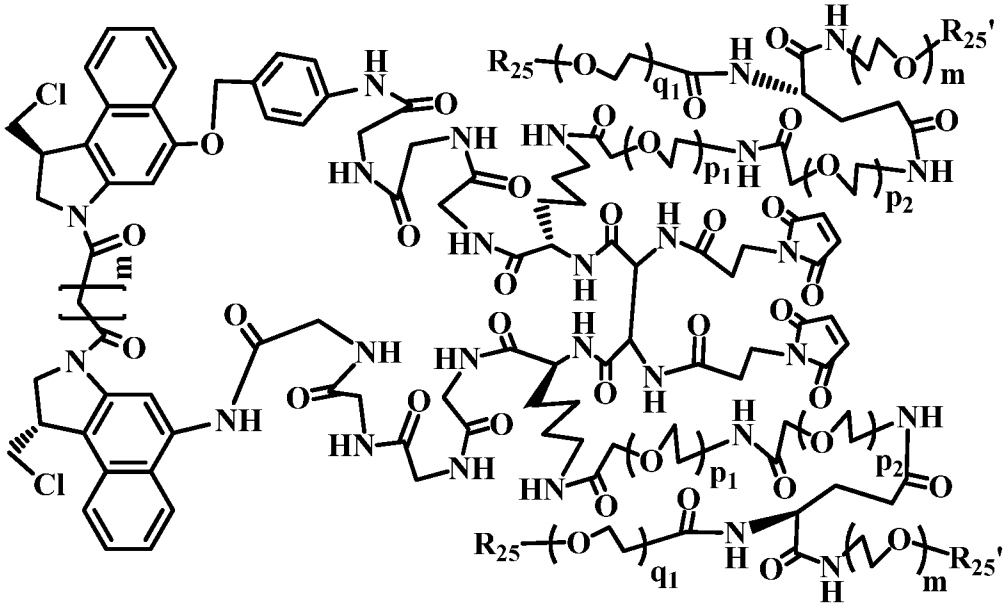
b187,



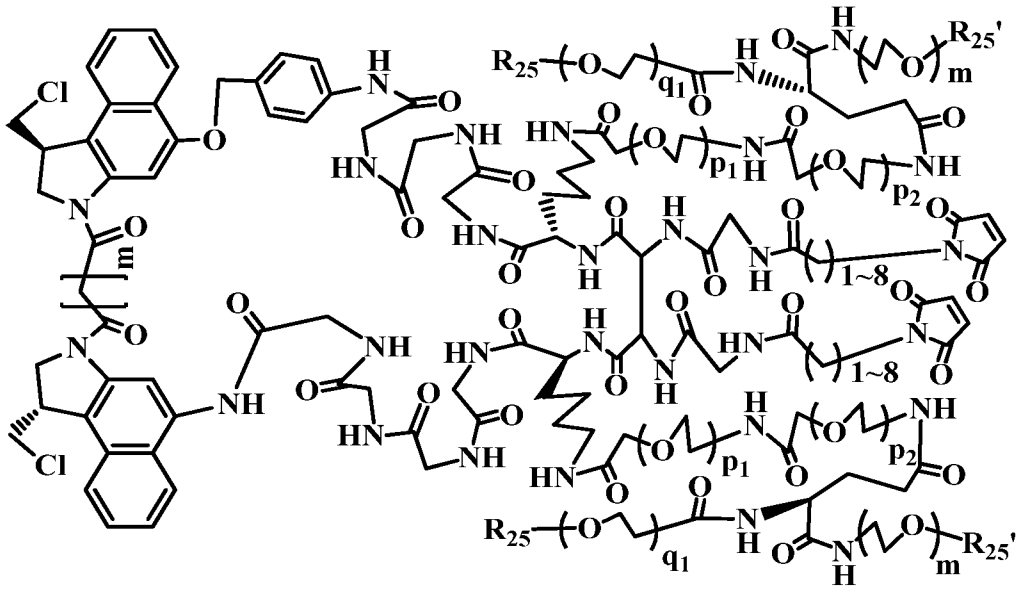
b188,



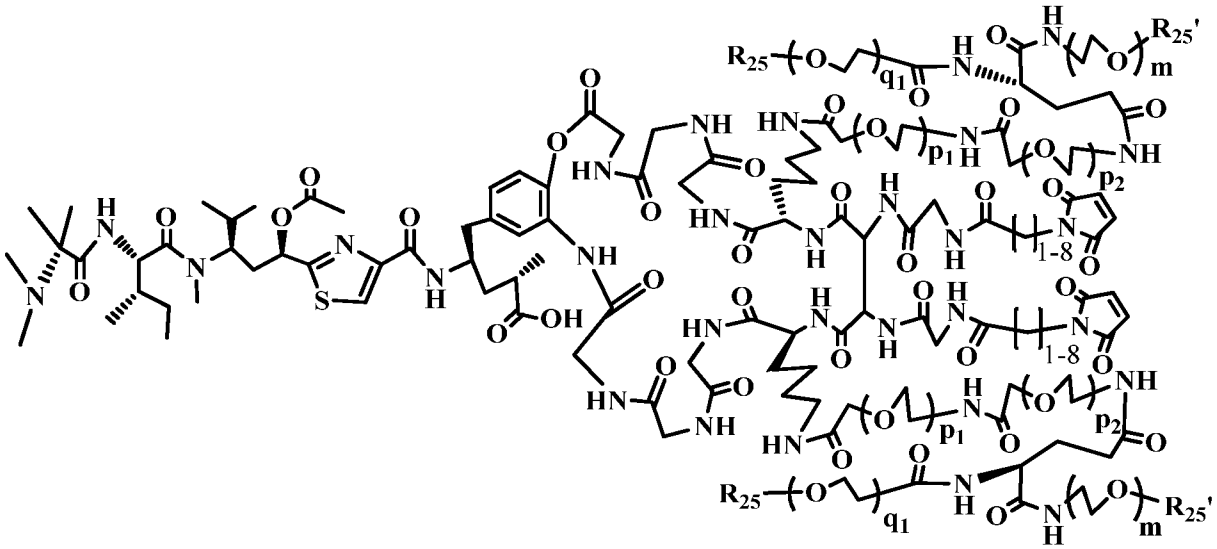
b189,



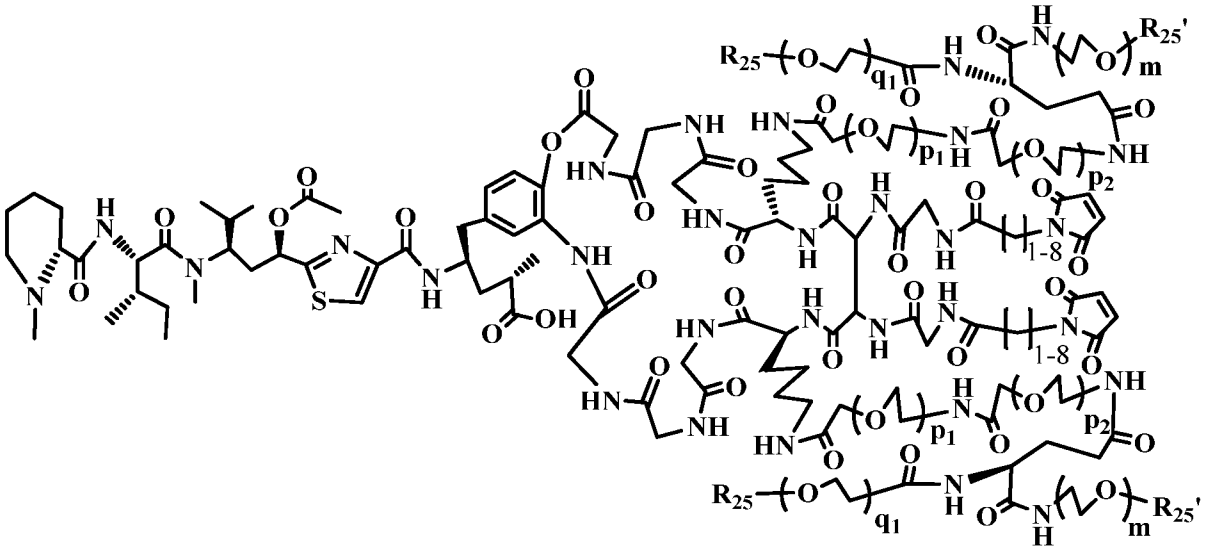
b190,



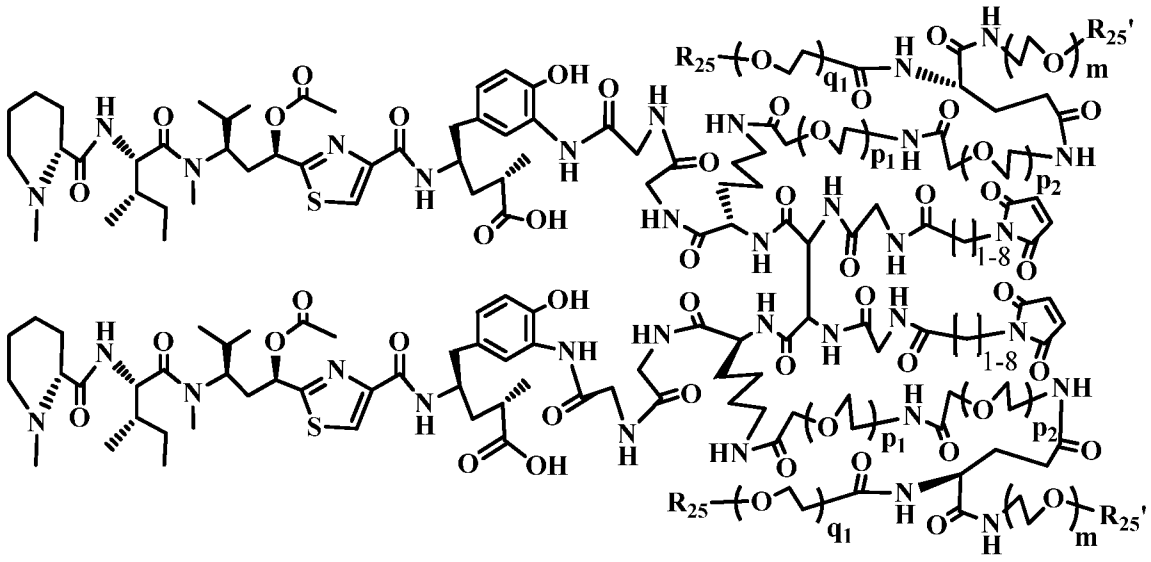
b191



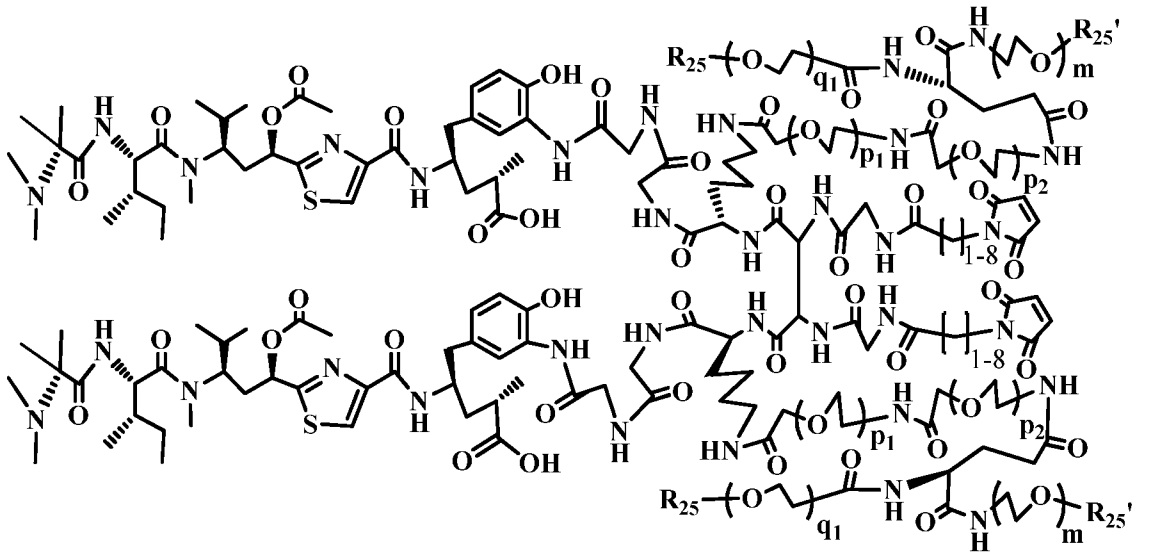
b192,



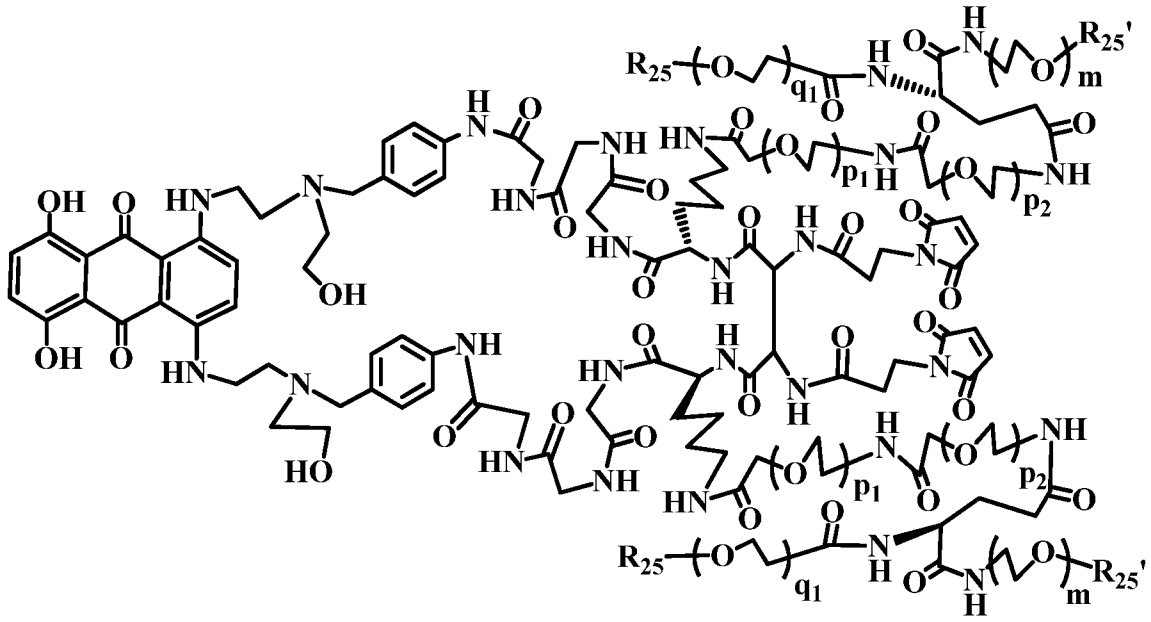
b193,



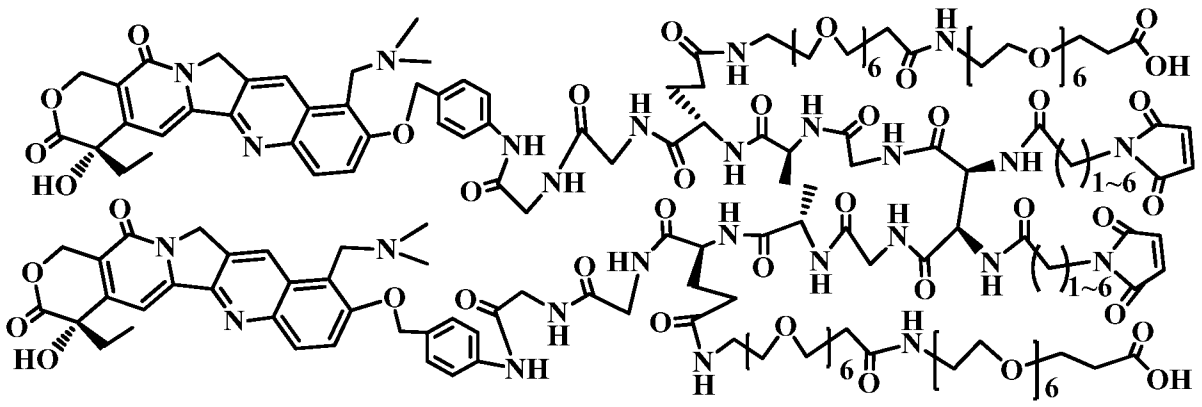
b194,



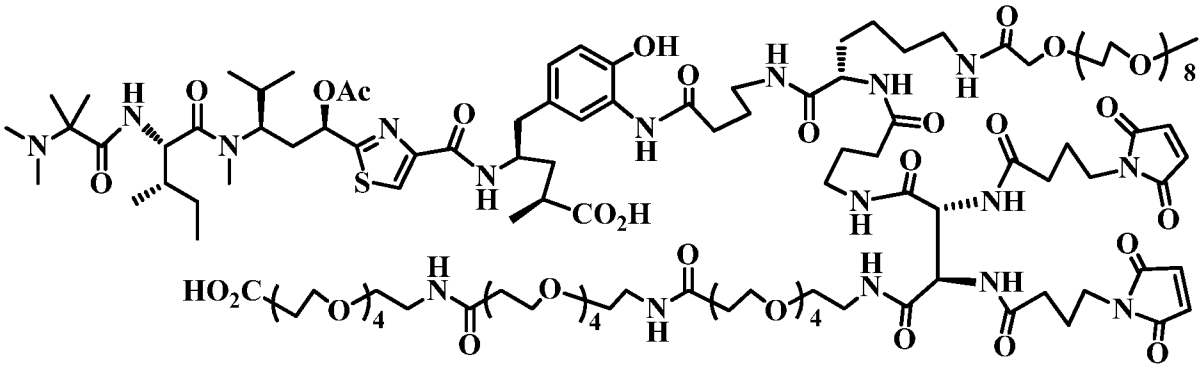
b195,



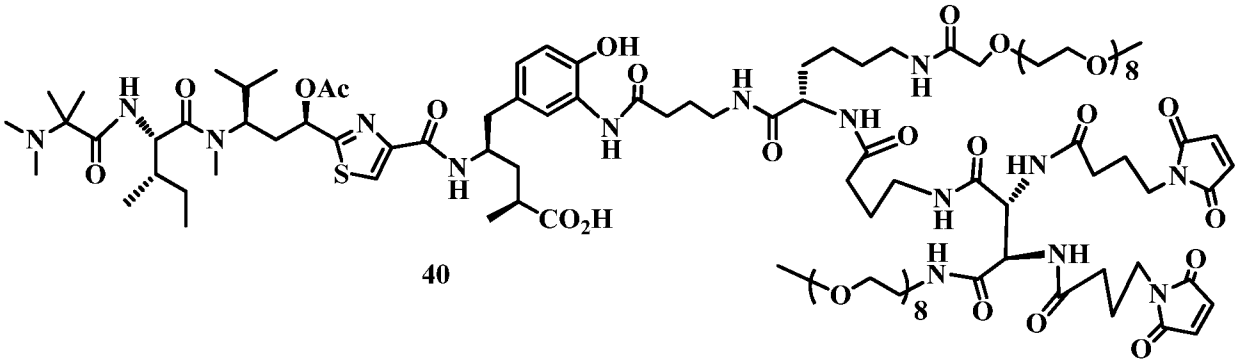
b196,



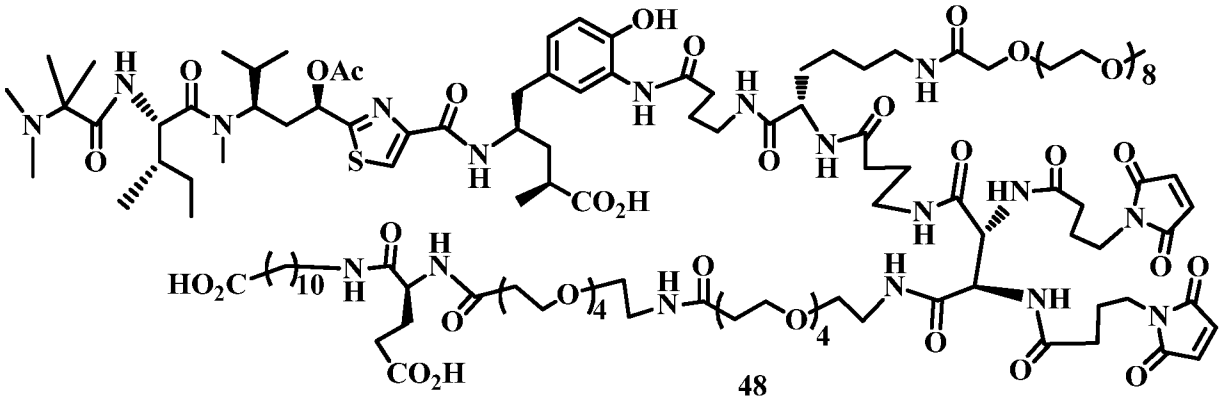
b197,



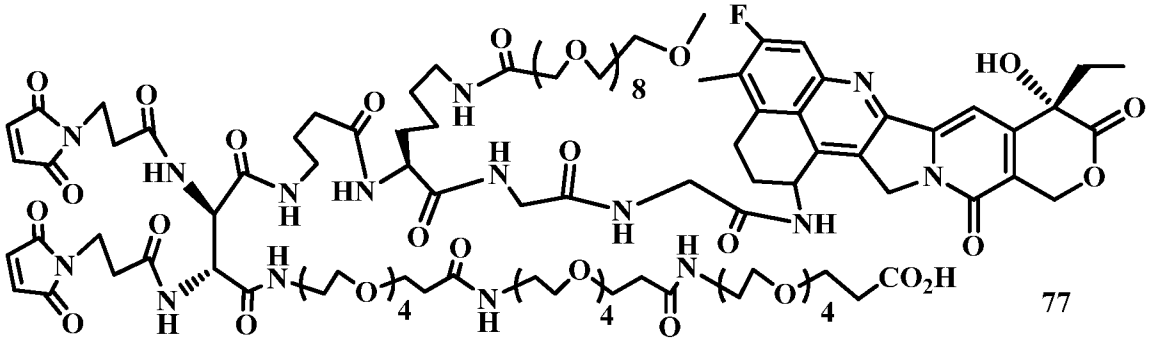
30



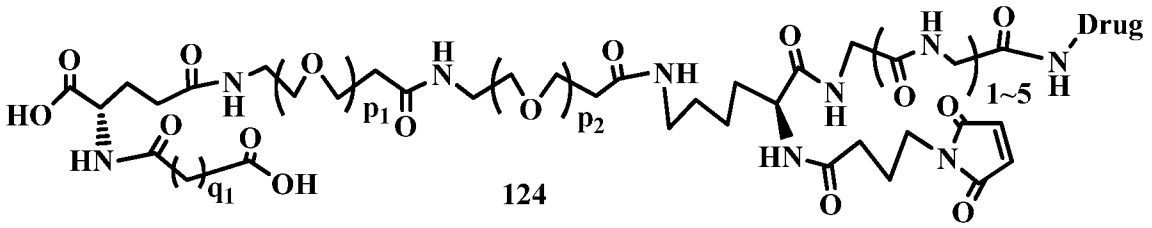
40



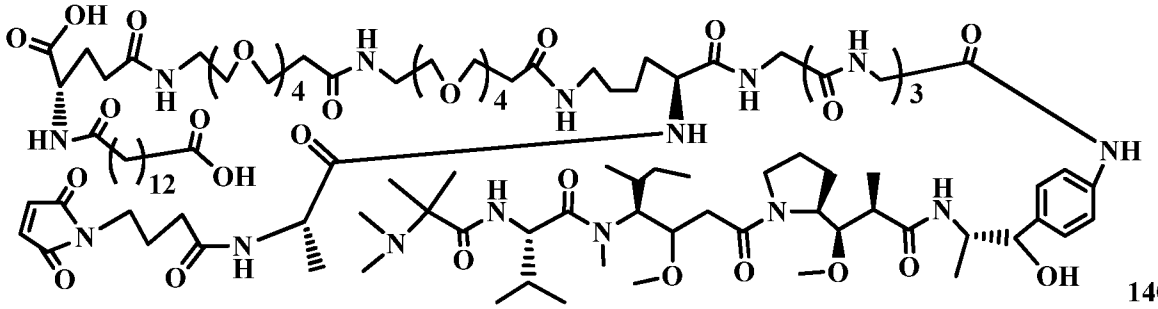
48



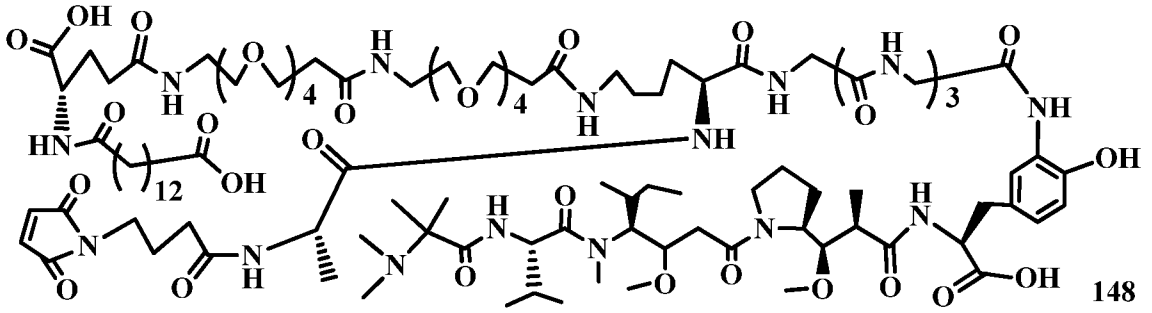
77



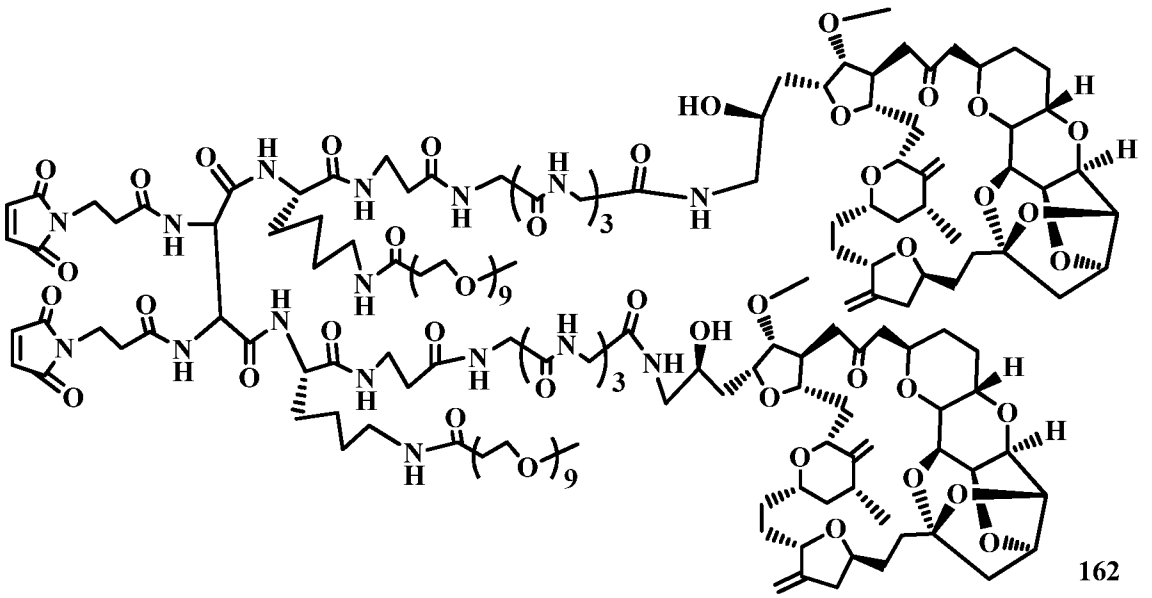
124



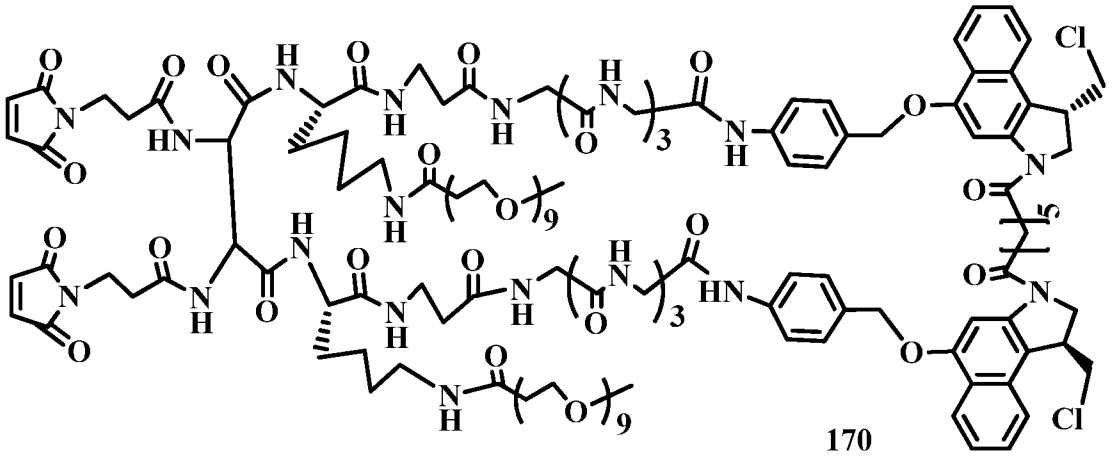
140



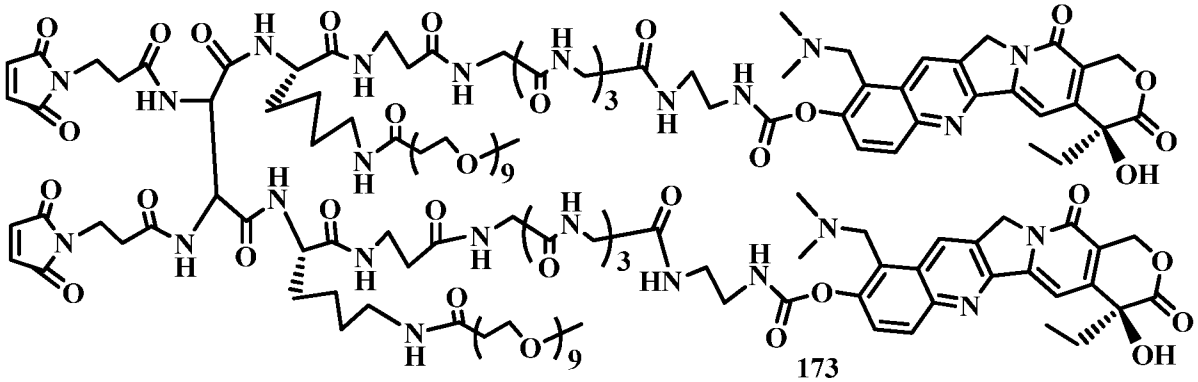
148



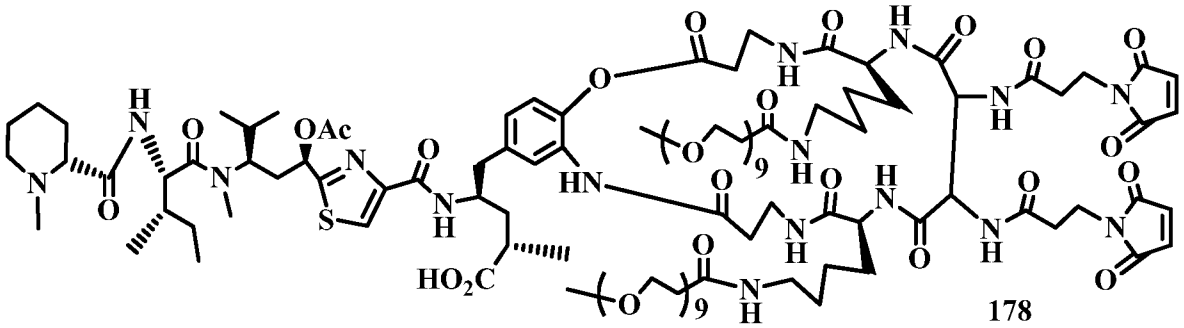
162



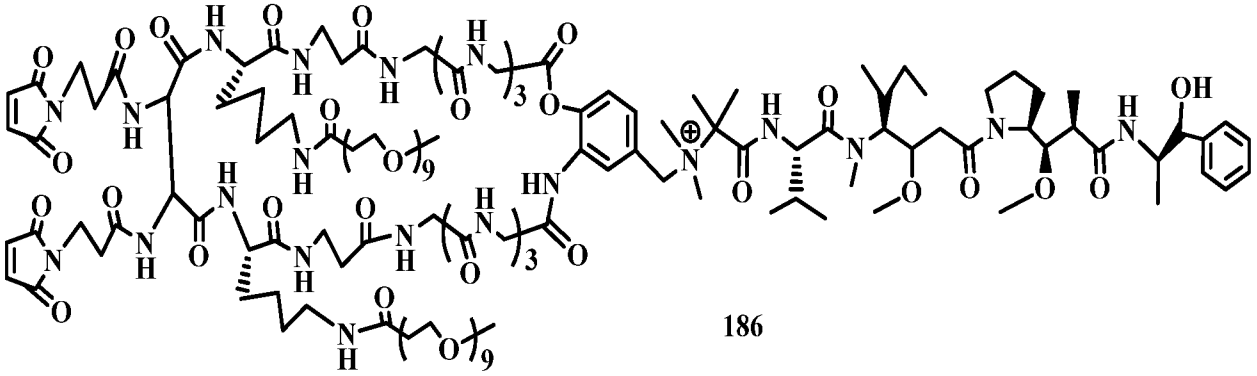
170



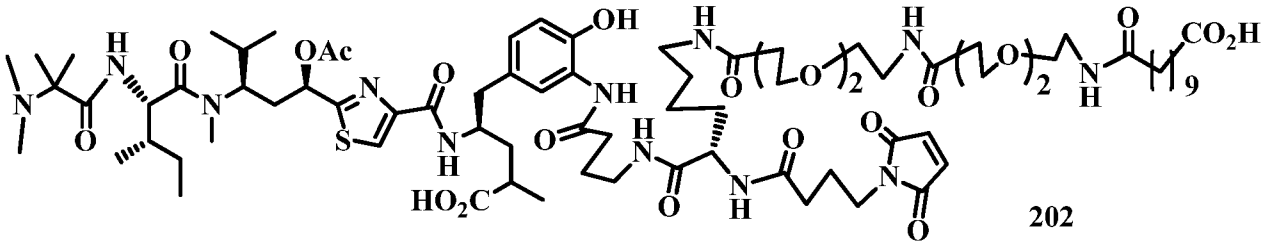
173



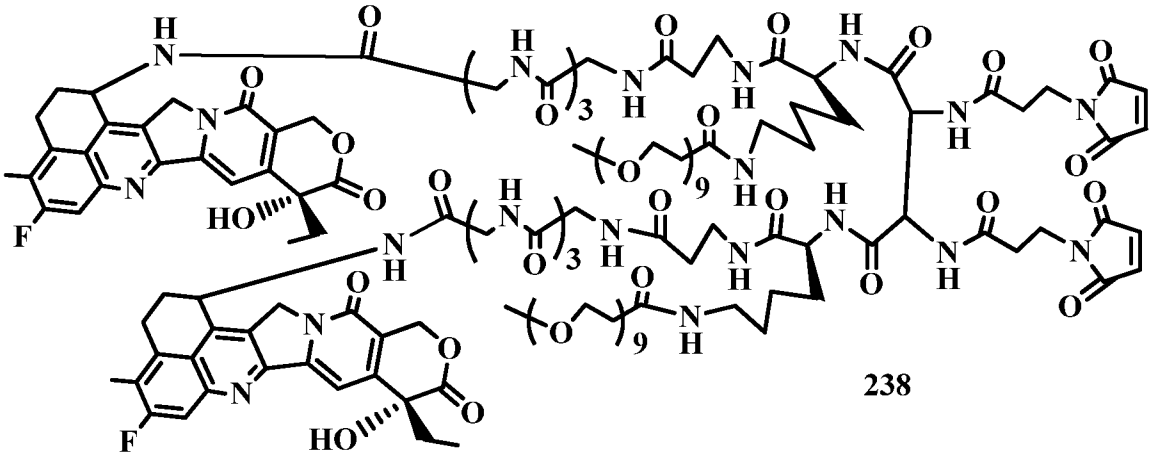
178



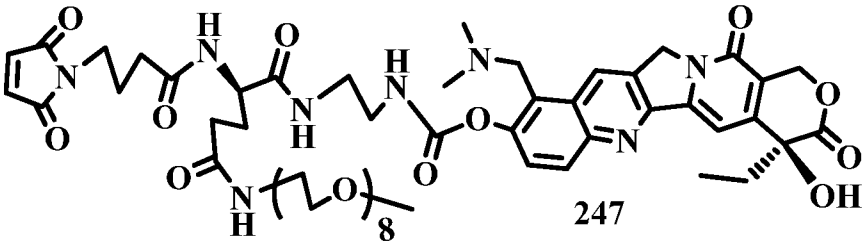
186



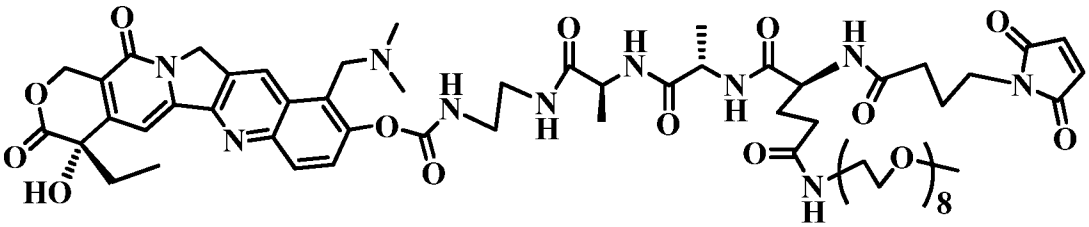
202



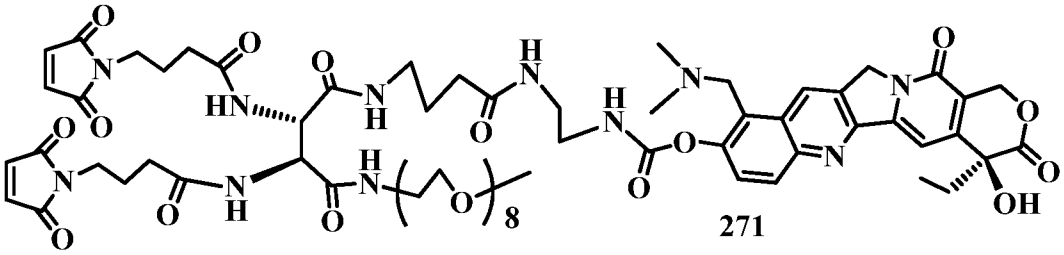
238



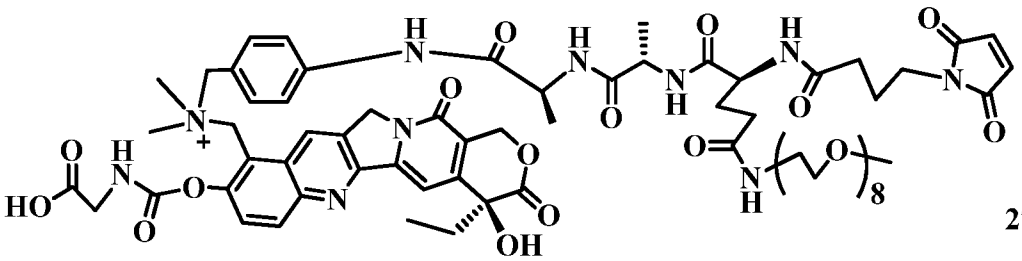
247



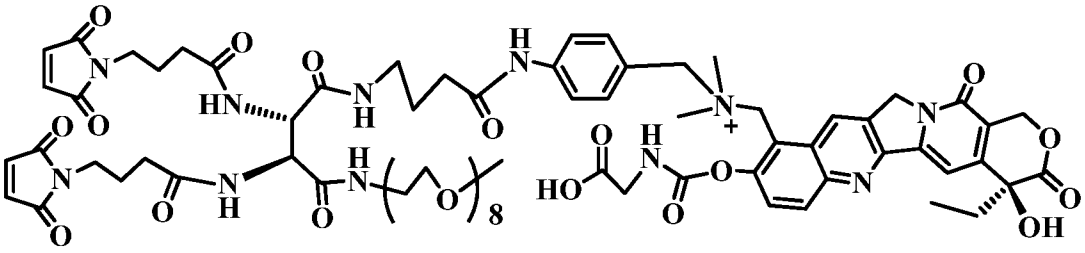
255



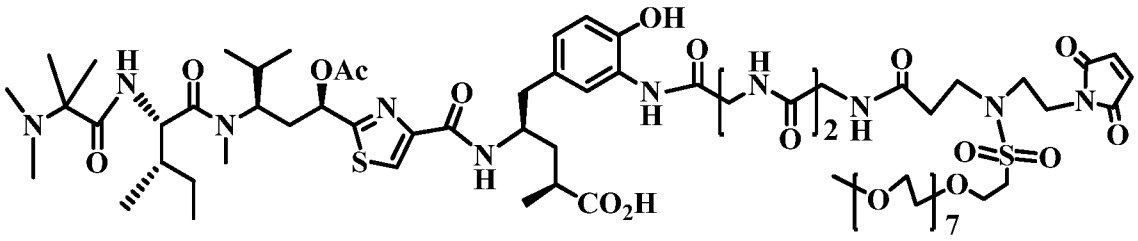
271



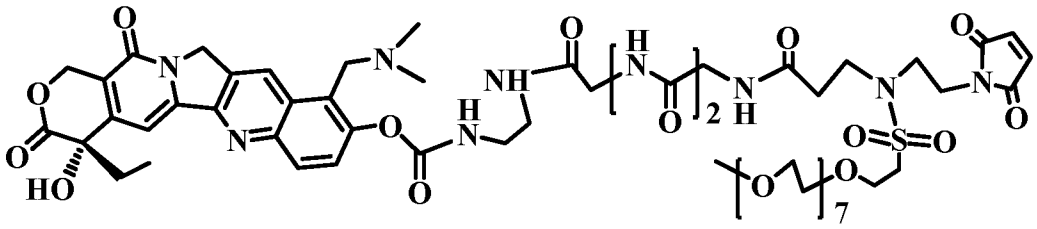
279



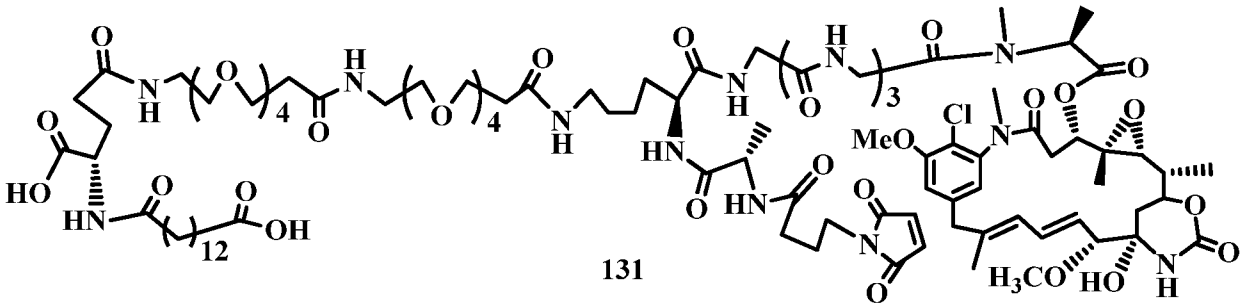
280



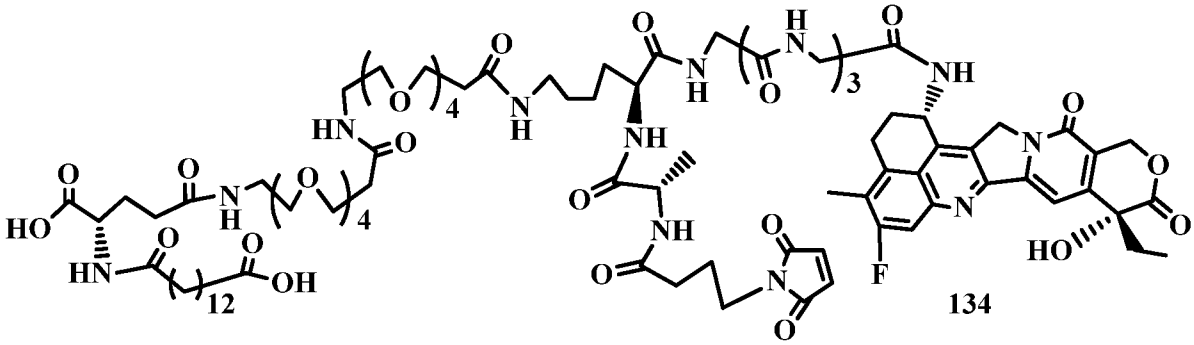
312



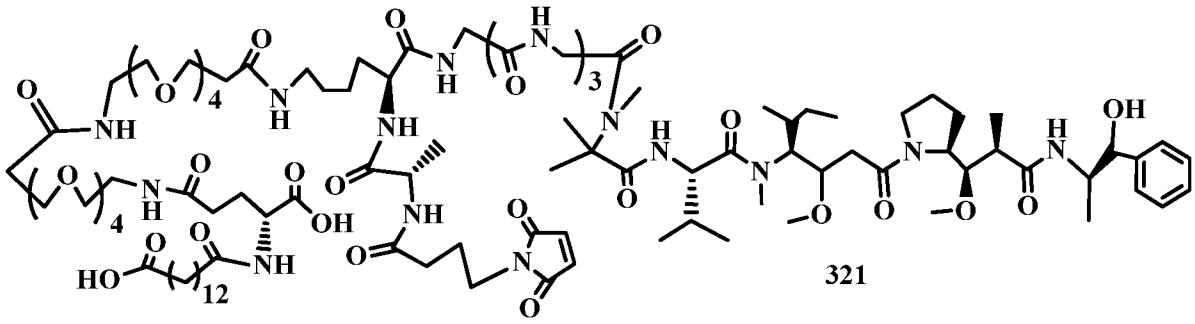
313



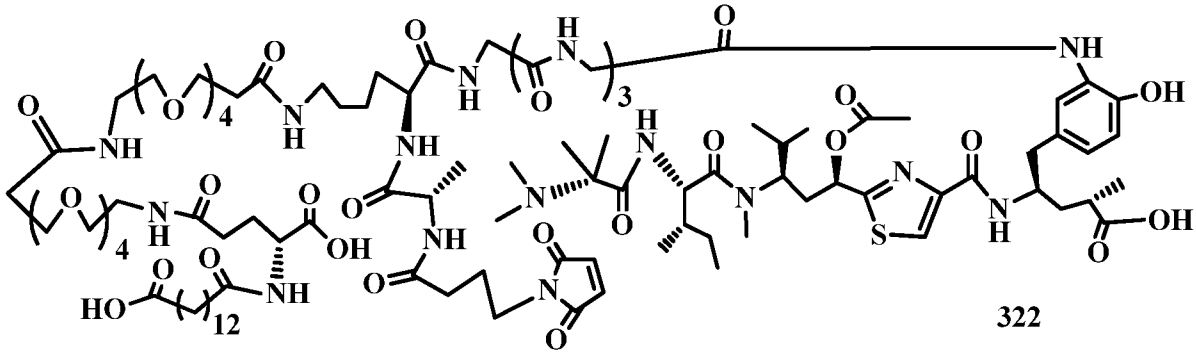
131



134



321



322

или один или более изотопов химических элементов, фармацевтически приемлемых солей, гидратов или гидратированных солей; или полиморфные кристаллические структуры этих соединений; или оптические изомеры, рацематы, диастереомеры или энантиомеры; где R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R_4, R_5, R_7, R_8, R_9, R_{10}, X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, X_6, X_8, Y_1, Y_2, Y_3, Y_5, R_{12}, $R_{12'}$, R_{13}, R_{13}', R_{25}, R_{25}', Z_2, Z_3, p. p_1, p_2, p_3, q_1, q_2, Lv_1, Lv_2, Lv_3, $Lv_{3'}$, m, m_1, n и mAb описаны так же, как в пп. 3 и 6; Aa представляет собой природную или неприродную аминокислоту; r равно 0-12; (Aa)r представляет собой пептид, содержащий последовательность одинаковых или разных аминокислот, когда r >2; r = 0 означает, что (Aa)r отсутствует.

11. Соединение по пп. **1, 2** или **9,** отличающееся тем, что клеточно-связывающий(ая) агент/молекула, (T или mAb), выбран(а) из:

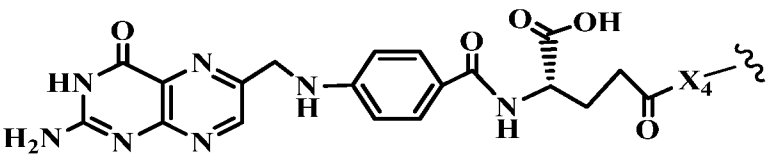
(A): группы, состоящей из антитела, белка, проантитела, нанотела, витамина (включая фолат), пептидов, полимерной мицеллы, липосом, носителя лекарственного средства на основе липопротеина, носителя лекарственного средства на основе наночастиц, дендримера и молекулы или частицы вышеуказанного покрытия или соединения с лигандами, связывающимися с клеткой, или комбинации вышеуказанного;

(B): антитело-подобного белка, полноразмерного антитела (поликлонального антитела, моноклонального антитела, димера антител, мультимера антител), 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, фрагмента моноклонального антитела, который связывается с клеткой-мишенью, химерного антитела; фрагмента химерного антитела, который связывается с клеткой-мишенью, доменного антитела; фрагмент доменного 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, белков с большой молекулярной массой, слитых белков, ингибиторов киназ, генно-направленных агентов, наночастиц или полимеров, модифицированных антителами, или белками с большой молекулярной массой.

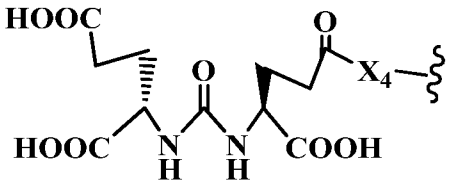
(C): клеточно-связывающего лиганда или агониста рецептора, выбранного из: производных фолата; производных мочевины глутаминовой кислоты; соматостатина и его аналогов (выбранных из группы, состоящей из октреотида (сандостатин) и ланреотида (соматулин); ароматических сульфонамидов; пептидов, активирующих аденилатциклазу гипофиза (PACAP) (PAC1); вазоактивных кишечных пептидов (VIP/PACAP) (VPAC1, VPAC2); меланоцит-стимулирующего гормона (α-MSH); агонистов холецистокининовых (CCK) /гастриновых рецепторов; бомбезинов (выбранных из группы, состоящей из Pyr-Gln-Arg-Leu-Gly-Asn-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH_2)/гастрин-рилизинг пептид (GRP); нейротензиновых рецепторных лигандов (NTR1, NTR2, NTR3); лигандов вещества P (NK1 рецептор); нейропептидов Y (Y1–Y6); хоуминг-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 (CPP); пептидных гормонов, выбранных из группы, состоящей из агонистов и антагонистов рилизинг-фактора 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-NH_2), 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 (PRR), выбранных из группы, состоящей из Toll-подобных рецепторов (TLR), лектинов C-типа и Nod-подобных рецепторов (NLR); 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 диатело); переориентирующегося антитела с двойной аффинностью (DART, биспецифическое диатело); четырехвалентных тандемных антител (TandAb, димеризованное биспецифичное диатело); антикалина (производного липокалинов); аднектинов (10th FN3 (фибронектин)); разработанных белков с анкириновым повтором (DARPin); авимеров; рецепторов EGF или агонистов рецептора VEGF;

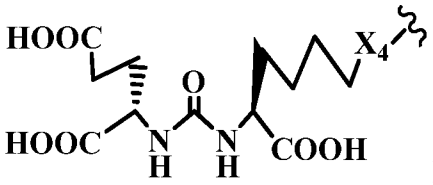
(D): Малой молекулы клеточно-связывающей(его) молекулы/лиганда или агониста клеточного рецептора, выбранных из следующего: LB01 (фолат), LB02 (лиганд PMSA), LB03 (лиганд PMSA), LB04 (лиганд PMSA), LB05 (соматостатин), LB06 (соматостатин), LB07 (октреотид, аналог соматостатина), LB08 (ланреотид, аналог соматостатина), LB09 (вапреотид (санвар), аналог соматостатина), LB10 (лиганд CAIX), LB11 (лиганд CAIX), LB12 (рецептор гастрин-рилизинг пептида (GRPr), MBA) LB13 (лиганд рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) и GnRH), LB14 (лиганд рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) и GnRH-лиганд), LB15 (антагонист GnRH, абареликс), LB16 (кобаламин, аналог витамина B12), LB17 (кобаламин, аналог витамина B12), LB18 (циклический пентапептид RGD для рецептора интегрина $\alpha_v\beta_3$), LB19 (гетеро-двухвалентный пептидный лиганд рецептора VEGF), LB20 (нейромедин B), LB21 (бомбезин для рецептора, сопряженного с G-белком), LB22 (TLR_2 для Toll-подобного рецептора), LB23 (для рецептора андрогена), LB24 (циленгитид/цикло(-RGDfV-) для рецептора интергрина α_v, LB23 (флудрокортизон), LB25 (аналог рифабутина), LB26 (аналог рифабутина), LB27 (аналог рифабутина), LB28 (флудрокортизон), LB29 (дексаметазон), LB30 (флутиказона пропионат), LB31 (беклометазона дипропионат), LB32 (триамцинолона ацетонид), LB33 (преднизон), LB34 (преднизолон), LB35 (метилпреднизолон), LB36 (бетаметазон), LB37 (аналог иринотекана), LB38 (аналог кризотиниба), LB39 (аналог бортезомиба), LB40 (аналог карфилзомиба), LB41 (аналог карфилзомиба), LB42 (аналог лейпролида), LB43 (аналог трипторелина), LB44 (клиндамицин), LB45 (аналог лираглутида), LB46 (аналог семаглутида), LB47 (аналог ретапамулина), LB48 (аналог инбулина), LB49 (аналог винбластина), LB50 (аналог ликсисенатида), LB51 (аналог осимертиниба), LB52 (аналог неуклеозида), LB53 (аналог эрлотиниба) или LB54 (аналог лапатиниба), которые представлены следующими структурами:



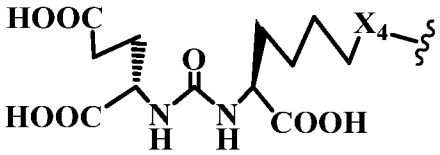
LB01 (конъюгат с фолатом),



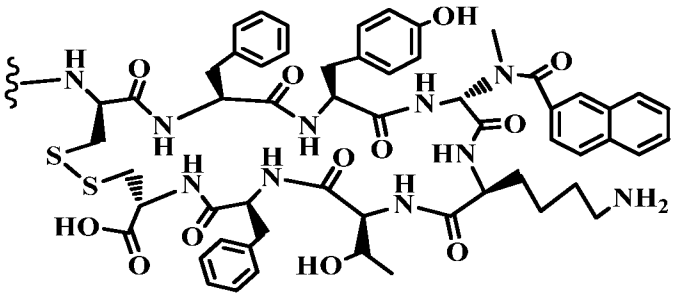
LB02 (конъюгат с лигандом PMSA),



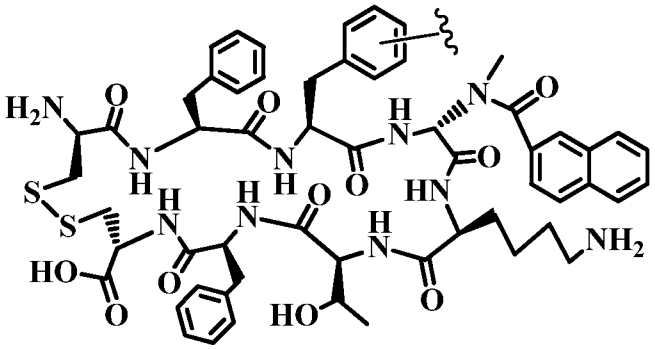
LB03 (конъюгат с лигандом PMSA),



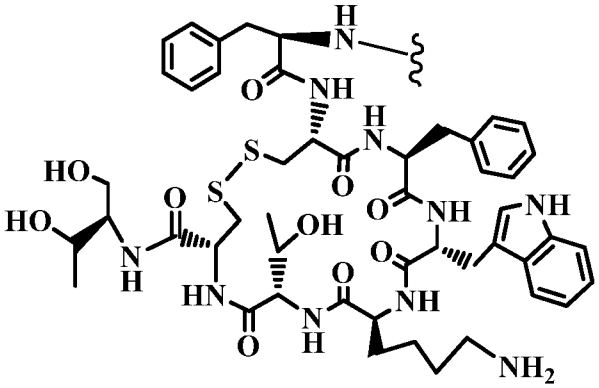
LB04 (лиганд PMSA),



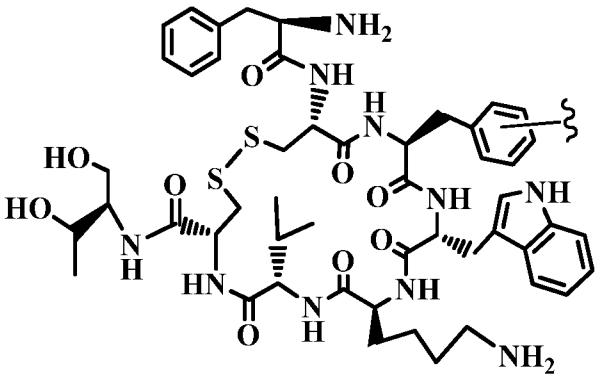
LB05 (соматостатин),



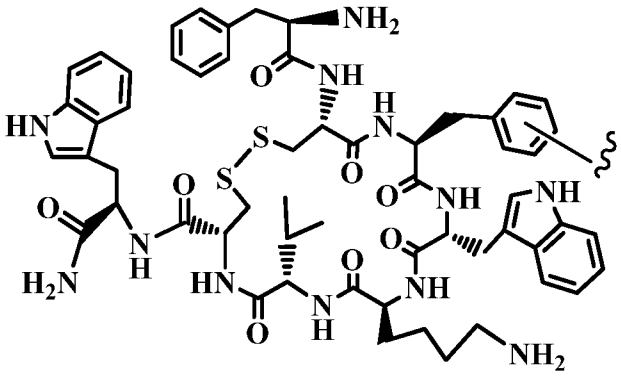
LB06 (соматостатин),



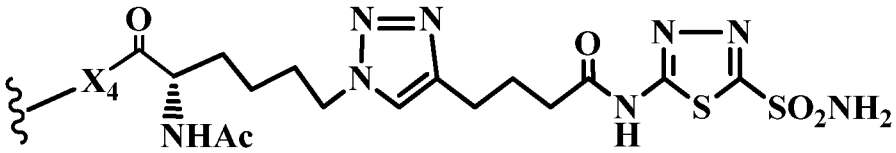
LB07 (октреотид, аналог соматостатина),



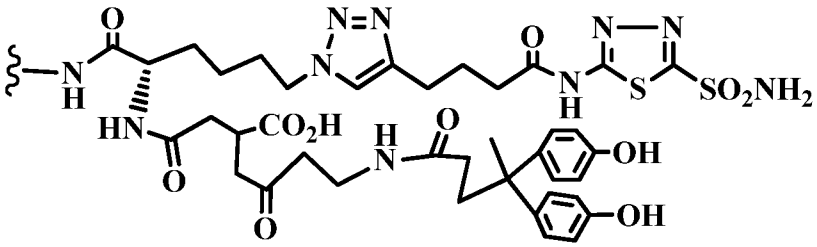
LB08 (ланреотид, аналог соматостатина),



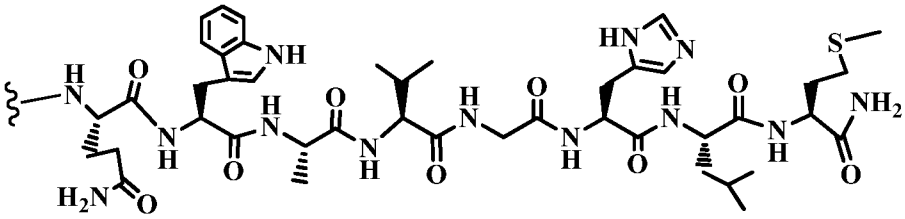
LB09 (вапреотид (санвар), аналог соматостатина),



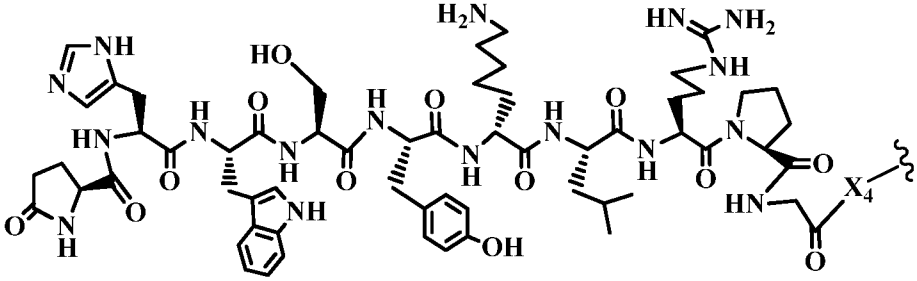
LB10 (лиганд CAIX),



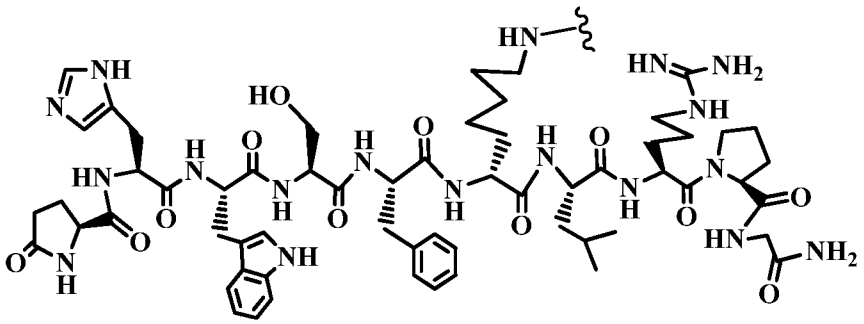
LB11 (лиганд CAIX),



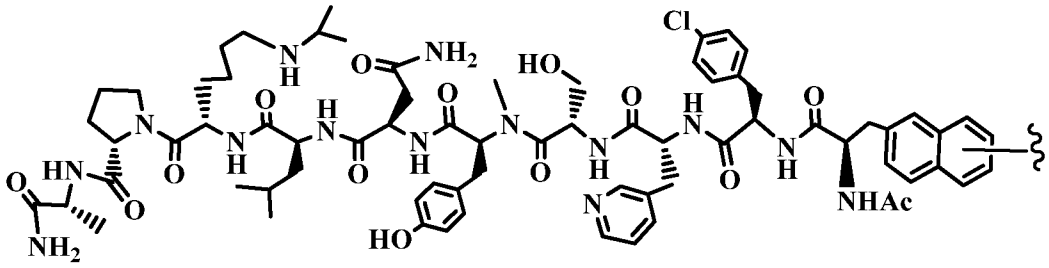
LB12 (рецептор гастрин-рилизинг пептида (GRPr), MBA),



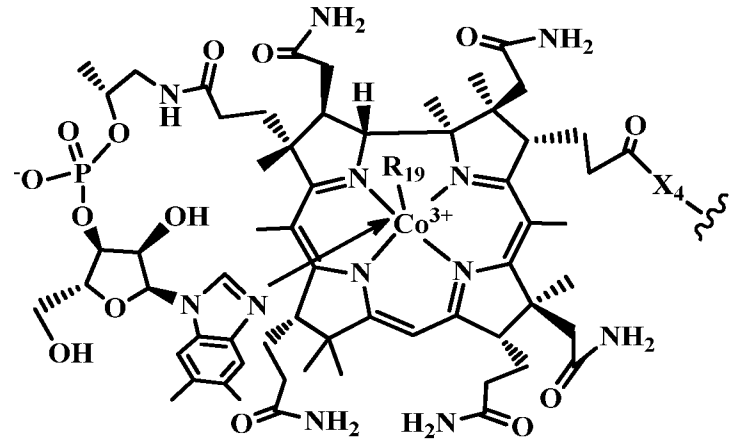
LB13 (лиганд рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) и GnRH),



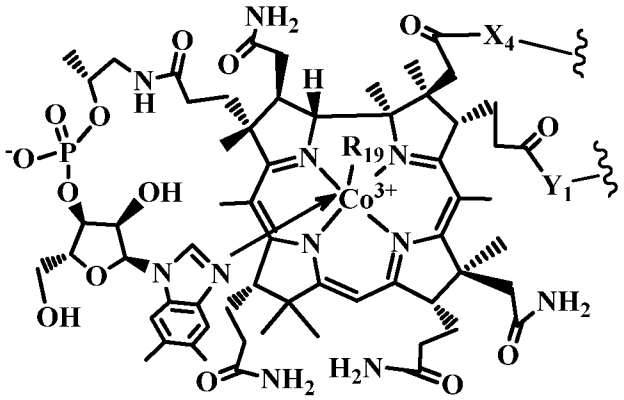
LB14 (лиганд рилизинг-фактора лютеинизирующего гормона (LH-RH) и GnRH),



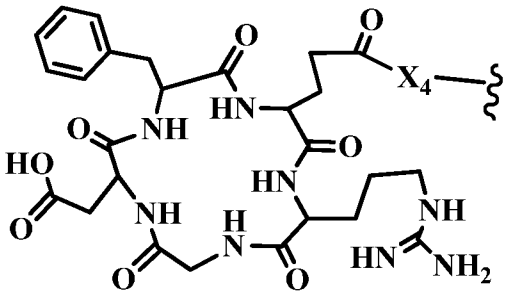
LB15 (GnRH антагонист, абареликс),



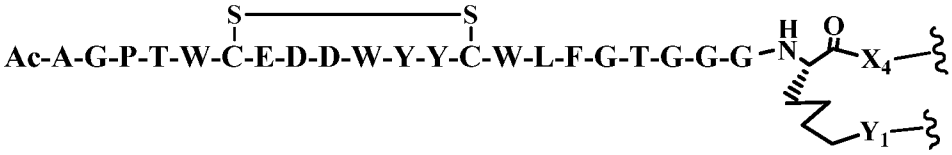
R_{19} представляет собой 5'-дезоксиаденозил, Me, OH, CN; LB16 (кобаламин, аналог витамина B12),



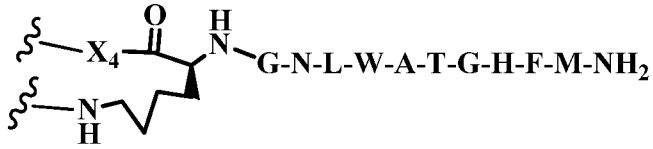
R_{19} представляет собой 5'-дезоксиаденозил, Me, OH, CN; LB17 (кобаламин, аналог витамина B12),



LB18 (рецептор интегрина $\alpha_v\beta_3$, циклический пентапептид RGD),

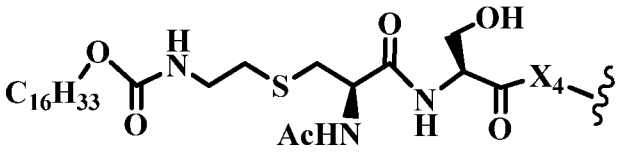


LB19 (конъюгат гетеро-двухвалентного пептидного лиганда рецептора VEGF),

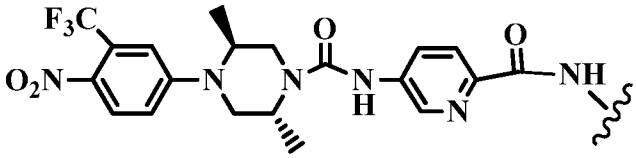


LB20 (нейромедин B),

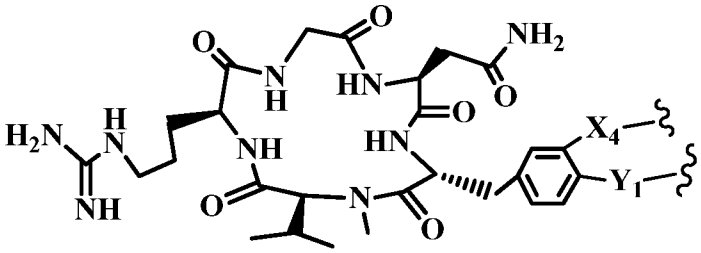
LB21 (конъюгат бомбезина для рецептора, сопряженного с G-белком),



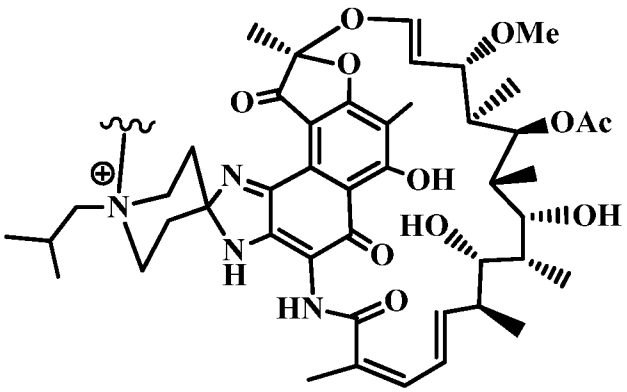
LB22 (конъюгат TLR_2 для Toll-подобного рецептора),



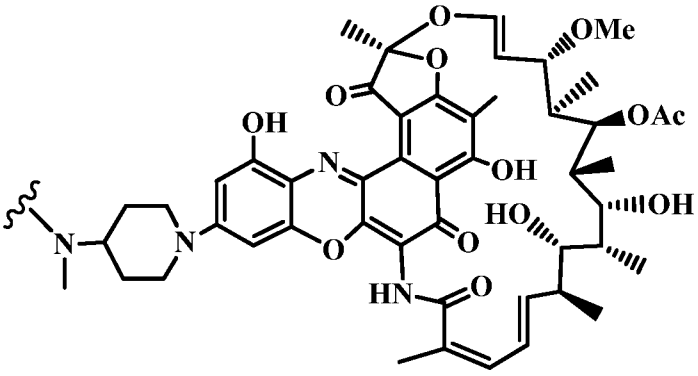
LB23 (рецептор андрогена),



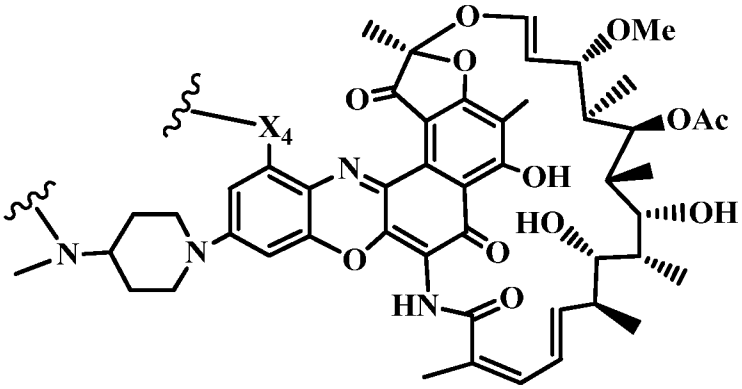
LB24 (циленгитид/цикло(-RGDfV-) конъюгат для рецептора интегрина α_v)



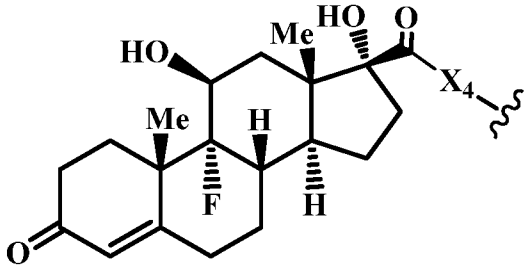
LB25 (аналог рифабутина),



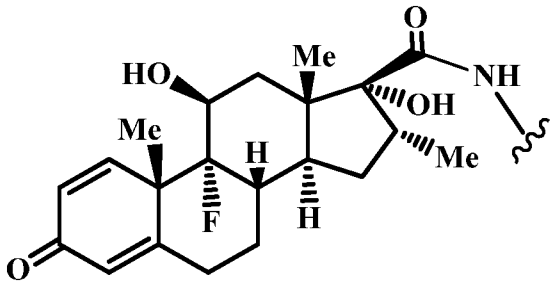
LB26 (аналог рифабутина),



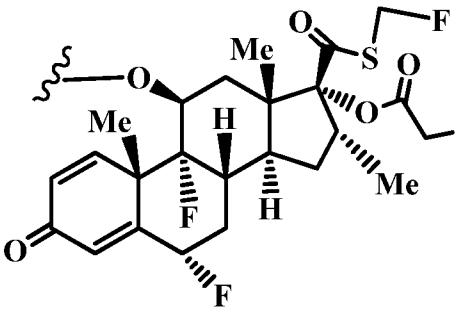
LB27 (аналог рифабутина),



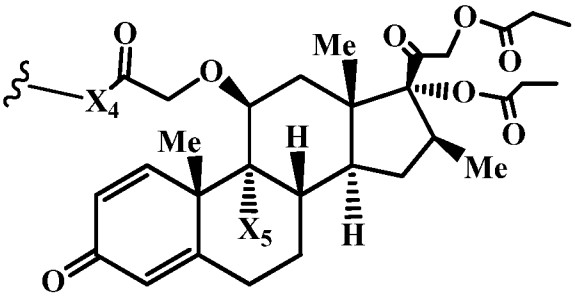
LB28 (флудрокортизон),



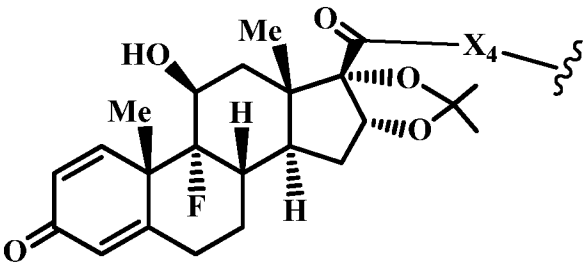
LB29 (дексаметазон),



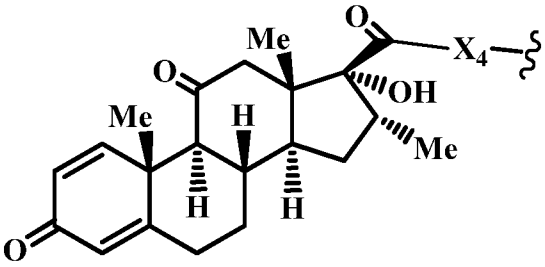
LB30 (флутиказона пропионат),



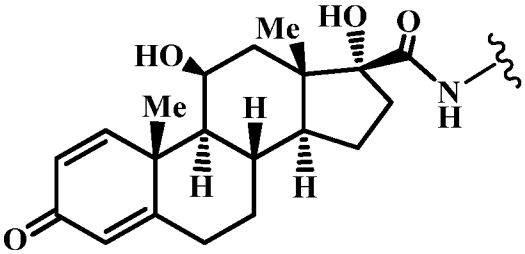
LB31 (беклометазона дипропионат),



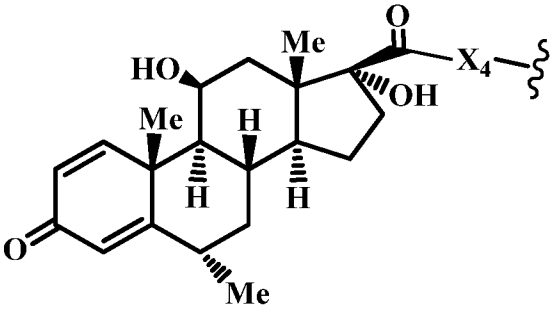
LB32 (триамцинолона ацетонид),



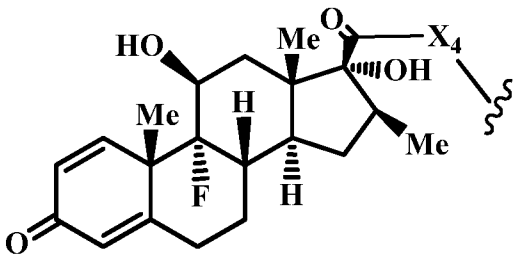
LB33 (преднизон),



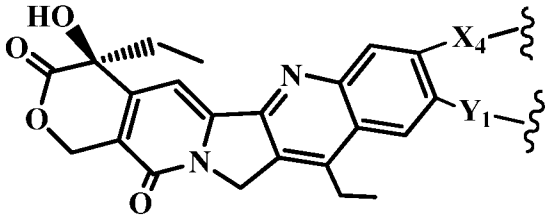
LB34 (преднизолон),



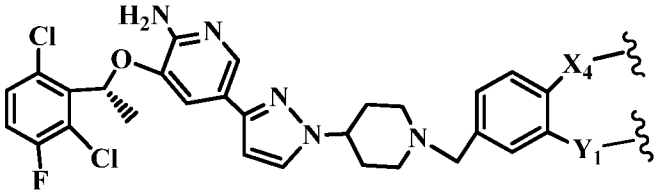
LB35 (метилпреднизолон),



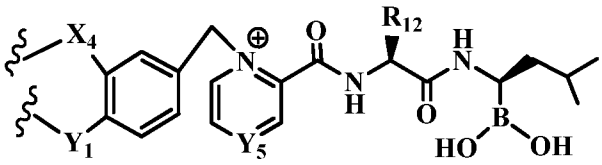
LB36 (бетаметазон),



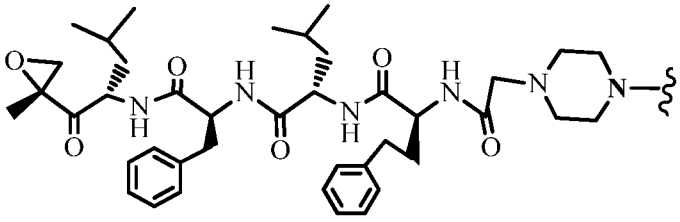
LB37 (аналог иринотекана),



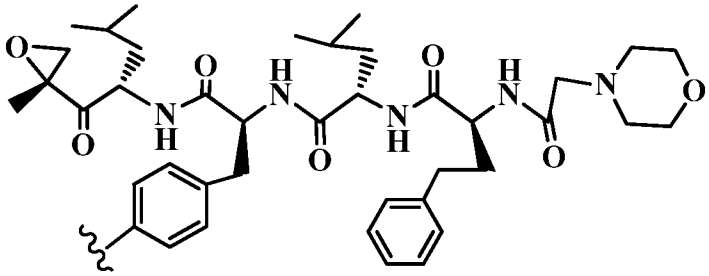
LB38 (аналог кризотиниба),



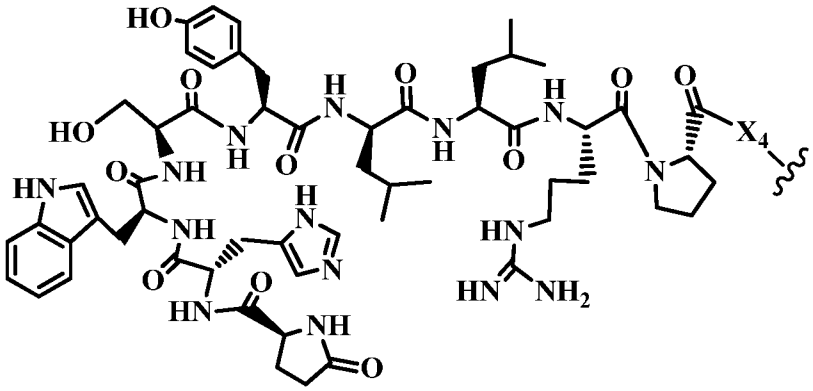
LB39 (аналог бортезомиба), где Y_5, представляет собой N, CH, C(Cl), $C(CH_3)$ или $C(COOR_1)$; R_{12} представляет собой H, C_1-C_6 алкил, C_3-C_8 Ar;



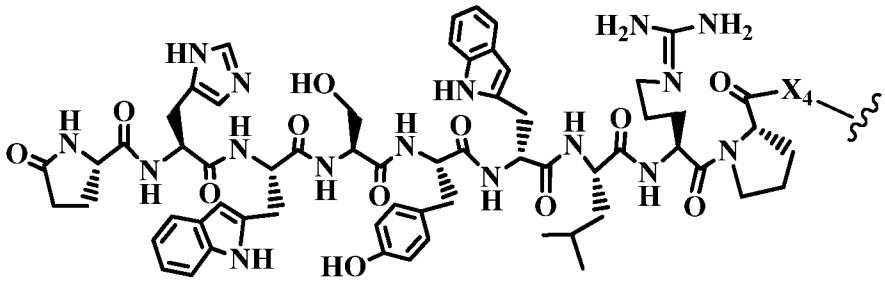
LB40 (аналог карфилзомиба),



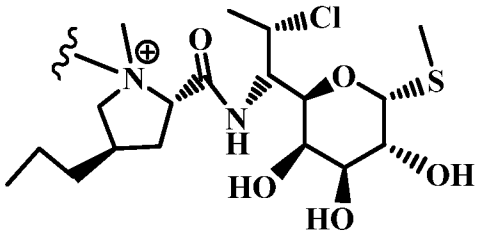
LB41 (аналог карфилзомиба),



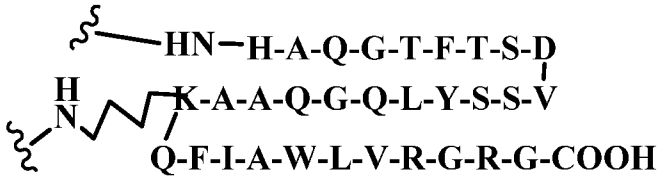
LB42 (аналог лейпролида),



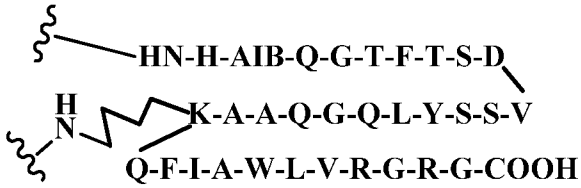
LB43 (аналог трипторелина),



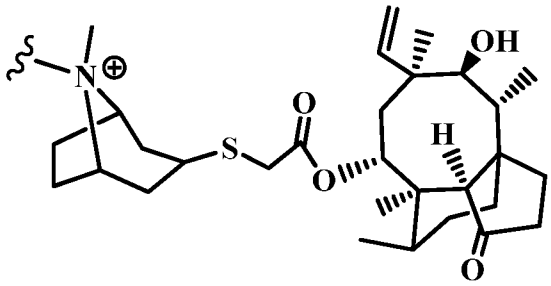
LB44 (клиндамицин),



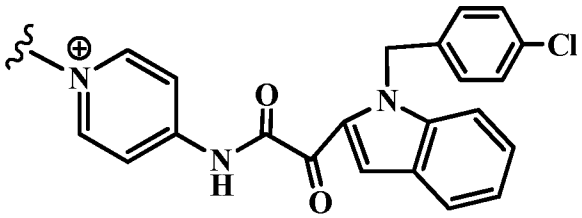
LB45 (аналог лираглутида),



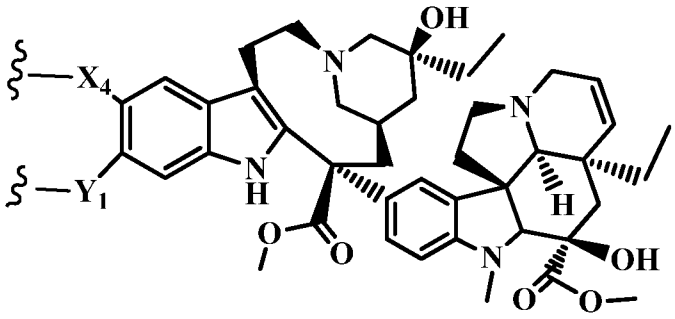
LB46 (аналог семаглутида),



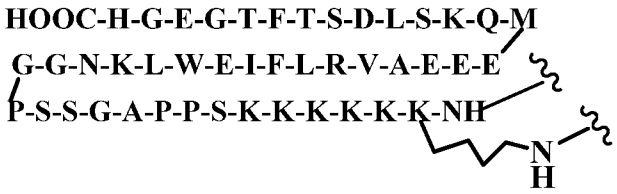
LB47 (аналог ретапамулина),



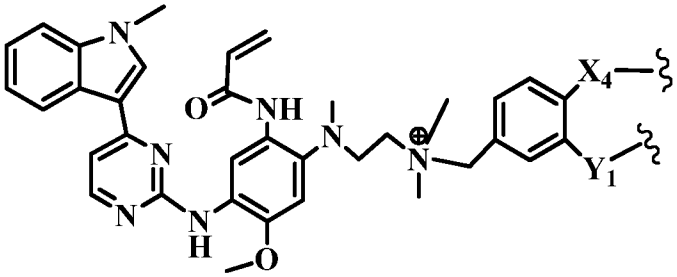
LB48 (аналог инбулина),



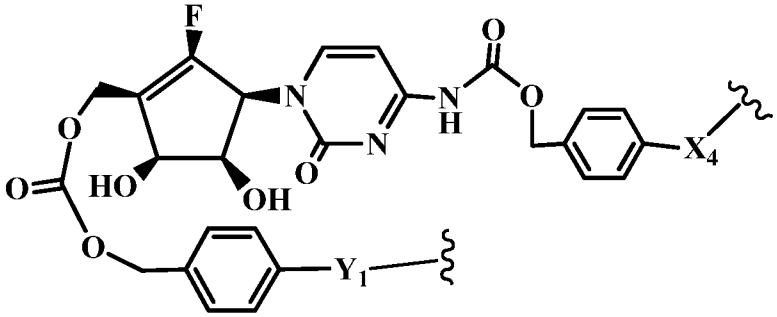
LB49 (аналог винбластина),



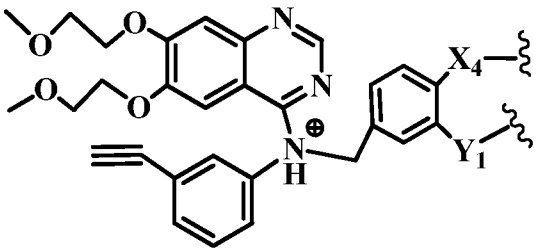
LB50 (аналог ликсисенатида),



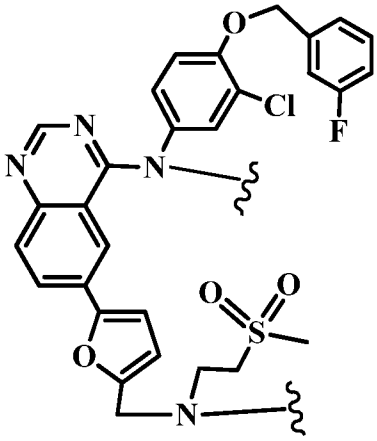
LB51 (аналог осимертиниба),



LB52 (аналог неуклеозида),



LB53 (аналог эрлотиниба),


LB54 (аналог лапатиниба);

(E): одной, двух или более ДНК, РНК, мРНК, малых интерферирующих РНК (миРНК), микроРНК (микроРНК) и PIWI взаимодействующих РНК (пиРНК):

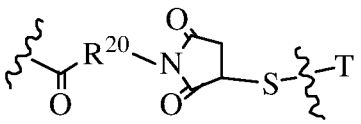
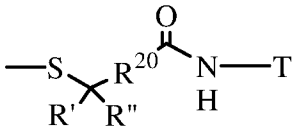
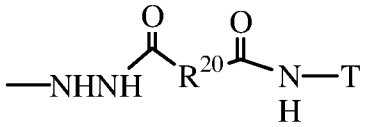
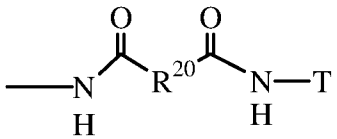
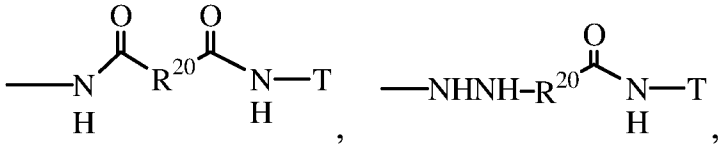

, SI01,

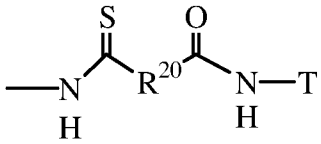
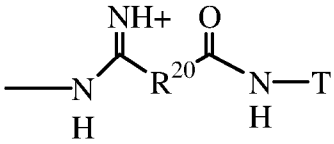
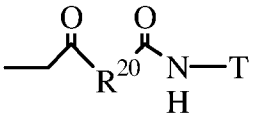
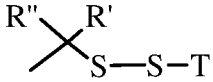
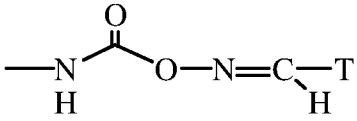
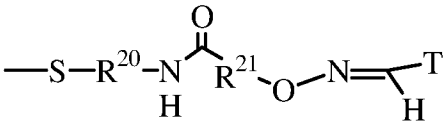
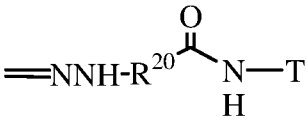
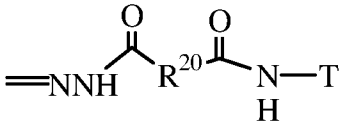
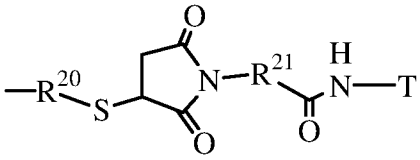
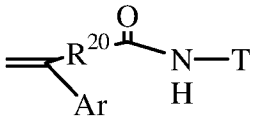
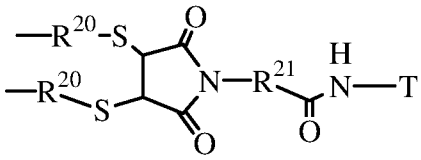
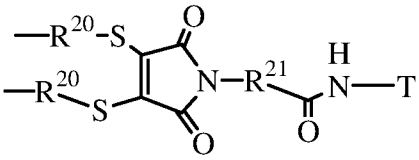
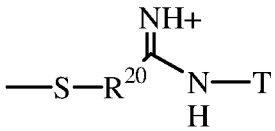
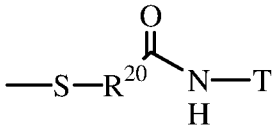
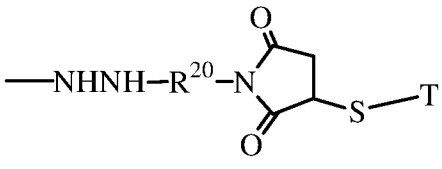
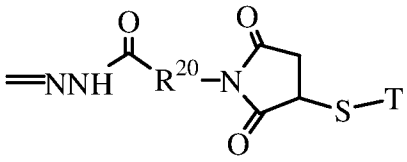
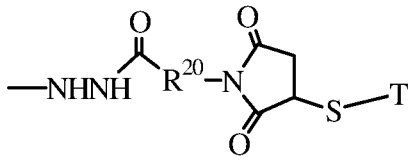
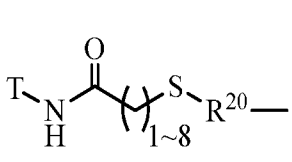

, SI02;

(F): Иммунотоксина: дифтерийного токсина (DT), холерного токсина (CT), трихосантина (TCS), диантина, экзотоксина Pseudomonas A (ETA'), эритрогенных токсинов, дифтерийного токсина, токсинов AB, экзотоксинов типа III;

где «∿∿» представляет собой участок для присоединения линкера боковой цепи по данному патенту; представляет собой одинарную или двойную цепи ДНК, РНК, мРНК, миРНК, микроРНК или пиРНК; X_4 и Y_1 независимо представляют собой O, NH, NHNH, NR_1, S, C(O)O, C(O)NH, OC(O)NH, OC(O)O, NHC(O)NH, NHC(O)S, OC(O)N(R_1), N(R_1)C(O)N(R_1), CH_2, C(O)NHNHC(O) и C(O)NR_1; X_1 представляет собой H, CH_2, OH, O, C(O), C(O)NH, C(O)N(R_1), R_1, NHR_1, NR_1, C(O)R_1 или C(O)O; X_5 представляет собой H, CH_3, F или Cl; M_1 и M_2 независимо представляют собой H, Na, K, Ca, Mg, NH_4, N($R_{12}R_{12'}R_{13}$ $R_{13'}$); R_{12}, $R_{12'}$, R_{13} и $R_{13'}$ являются такими, как определено в п. 1.

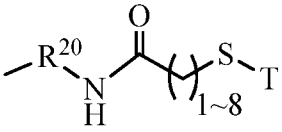
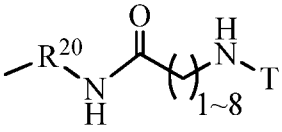
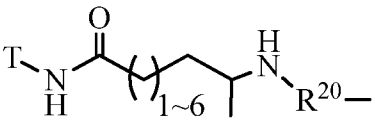
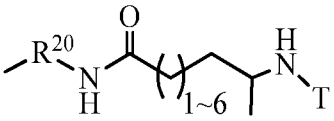
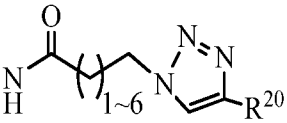
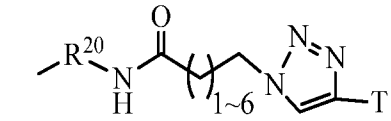
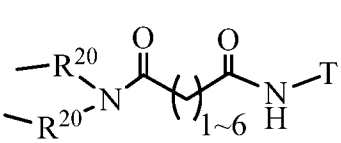
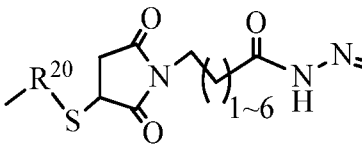
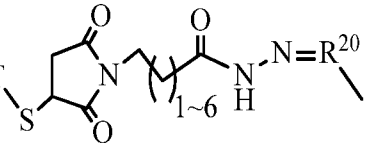
12. Соединение по пп. **1**, **2** или **11**, отличающееся тем, что клеточно-связывающая молекула, T или mAb, при связывании с V_1 и/или V_2 Формулы (I), (II) или (III), или при непосредственном связывании с клеточно-связывающей молекулой T, с L_1 и/или L_2 Формулы (I), (II) или (III), где V_1, и/или V_2, отсутствуют, соединение конъюгата имеет одну или более из следующих структур связи:


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

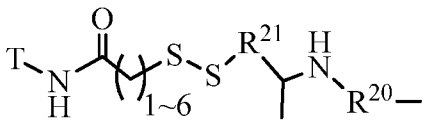
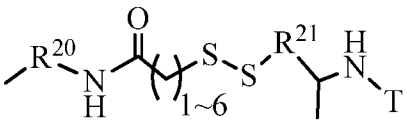
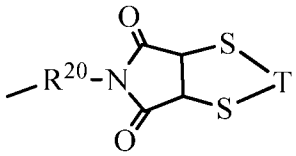
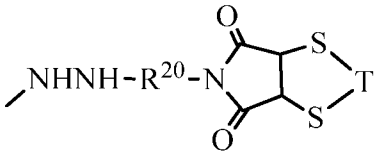
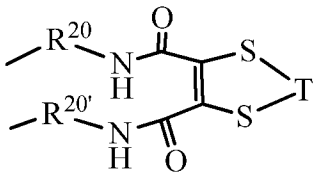
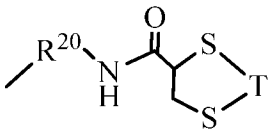
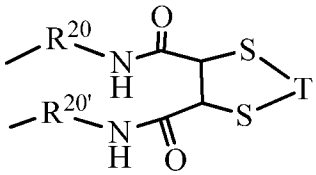
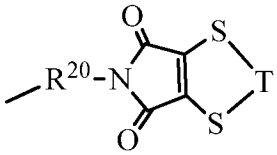
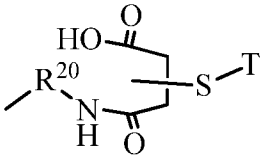
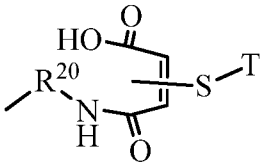
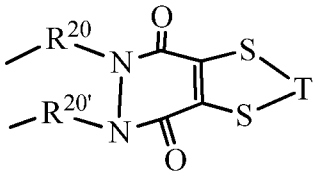
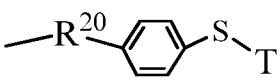
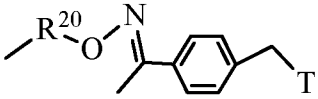
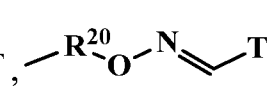
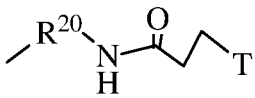
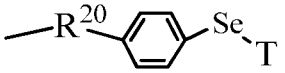
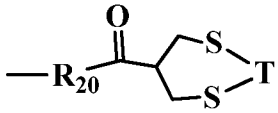
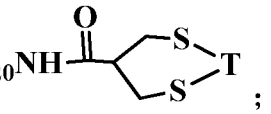
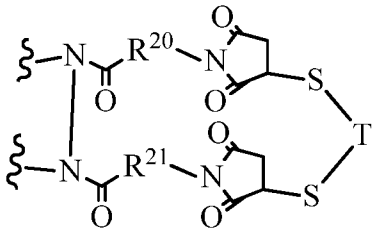
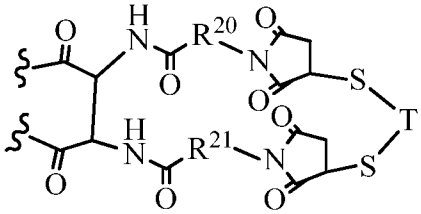
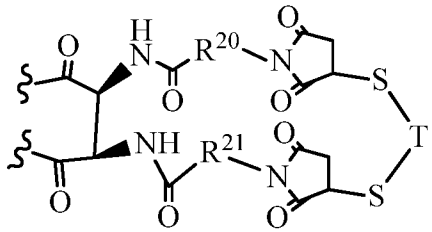
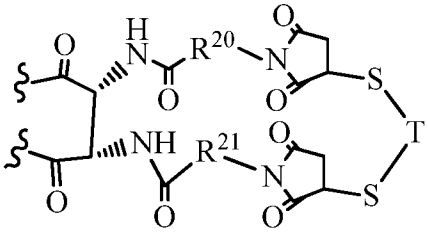
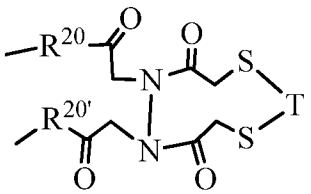
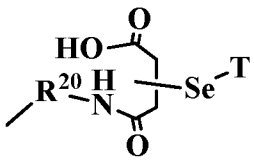
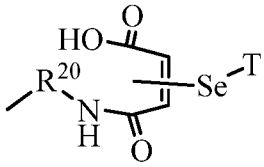
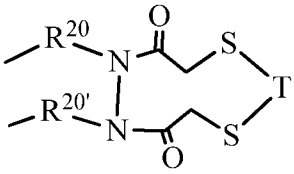
,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

;

,

,

,

,

,

,

,

, где R^{20} и R^{21} независимо представляют собой C_1~C_8 алкил; C_2~C_8 гетероалкил или гетероциклил; C_3~C_8 арил, Ar-алкил, циклоалкил, алкилциклоалкил, гетероциклоалкил, гетероалкилциклоалкил, карбоциклил или алкилкарбонил; или C_2-C_{100} полиэтиленгликоль, имеющий формулу $(CH_2CH_2O)_p$.

13. Соединение по пп. **1, 2, 9** или **11,** отличающееся тем, что клеточно-связывающий(ая) агент/молекула способен(а) связываться с опухолевой клеткой, инфицированной вирусом

клеткой, инфицированной микроорганизмом клеткой, инфицированной паразитом клеткой, клеткой, пораженной аутоиммунным заболеванием, активированными опухолевыми клетками, миелоидной клеткой, активированной Т-клеткой, В-клеткой или меланоцитом, или любыми клетками, экспрессирующими любой из следующих антигенов или рецепторов: CD1, CD1a, CD1b, CD1c, CD1d, CD1e, CD2, CD3, CD3d, CD3e, CD3g, CD4, CD5, CD6, CD7, CD8, CD8a, CD8b, CD9, CD10, CD11a, CD11b, CD11c, CD11d, CD12w, CD14, CD15, CD16, CD16a, CD16b, CDw17, CD18, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD25, CD26, CD27, CD28, CD29, CD30, CD31, CD32, CD32a, CD32b, CD33, CD34, CD35, CD36, CD37, CD38, CD39, CD40, CD41, CD42, CD42a, CD42b, CD42c, CD42d, CD43, CD44, CD45, CD46, CD47, CD48, CD49b, CD49c, CD49c, CD49d, CD49f, CD50, CD51, CD52, CD53, CD54, CD55, CD56, CD57, CD58, CD59, CD60, CD60a, CD60b, CD60c, CD61, CD62E, CD62L, CD62P, CD63, CD64, CD65, CD65s, CD66, CD66a, CD66b, CD66c, CD66d, CD66e, CD66f, CD67, CD68, CD69, CD70, CD71, CD72, CD73, CD74, CD75, CD75s, CD76, CD77, CD78, CD79, CD79a, CD79b, CD80, CD81, CD82, CD83, CD84, CD85, CD85a, CD85b, CD85c, CD85d, CD85e, CD85f, CD85g, CD85g, CD85i, CD85j, CD85k, CD85m, CD86, CD87, CD88, CD89, CD90, CD91, CD92, CD93, CD94, CD95, CD96, CD97, CD98, CD99, CD100, CD101, CD102, CD103, CD104, CD105, CD106, CD107, CD107a, CD107b, CD108, CD109, CD110, CD111, CD112, CD113, CD114, CD115, CD116, CD117, CD118, CD119, CD120, CD120a, CD120b, CD121, CD121a, CD121b, CD122, CD123, CD123a, CD124, CD125, CD126, CD127, CD128, CD129, CD130, CD131, CD132, CD133, CD134, CD135, CD136, CD137, CD138, CD139, CD140, CD140a, CD140b, CD141, CD142, CD143, CD144, CD145, CDw145, CD146, CD147, CD148, CD149, CD150, CD151, CD152, CD153, CD154, CD155, CD156, CD156a, CD156b, CD156c, CD156d, CD157, CD158, CD158a, CD158b1, CD158b2, CD158c, CD158d, CD158e1, CD158e2, CD158f2, CD158g, CD158h, CD158i, CD158j, CD158k, CD159, CD159a, CD159b, CD159c, CD160, CD161, CD162, CD163, CD164, CD165, CD166, CD167, CD167a, CD167b, CD168, CD169, CD170, CD171, CD172, CD172a, CD172b, CD172g, CD173, CD174, CD175, CD175s, CD176, CD177, CD178, CD179, CD179a, CD179b, CD180, CD181, CD182, CD183, CD184, CD185, CD186, CDw186, CD187, CD188, CD189, CD190, CD191, CD192, CD193, CD194, CD195, CD196, CD197, CD198, CD199, CDw198,

CDw199, CD200, CD201, CD202, CD202 (a, b), CD203, CD203c, CD204, CD205, CD206, CD207, CD208, CD209, CD210, CDw210a, CDw210b, CD211, CD212, CD213, CD213a1, CD213a2, CD214, CD215, CD216, CD217, CD218, CD218a, CD218, CD21b9, CD220, CD221, CD222, CD223, CD224, CD225, CD226, CD227, CD228, CD229, CD230, CD231, CD232, CD233, CD234, CD235, CD235a, CD235b, CD236, CD237, CD238, CD239, CD240, CD240ce, CD240d, CD241, CD242, CD243, CD244, CD245, CD246, CD247, CD248, CD249, CD250, CD251, CD252, CD253, CD254, CD255, CD256, CD257, CD258, CD259, CD260, CD261, CD262, CD263, CD264, CD265, CD266, CD267, CD268, CD269, CD270, CD271, CD272, CD273, CD274, CD275, CD276, CD277, CD278, CD279, CD281, CD282, CD283, CD284, CD285, CD286, CD287, CD288, CD289, CD290, CD291, CD292, CD293, CD294, CD295, CD296, CD297, CD298, CD299, CD300, CD300a, CD300b, CD300c, CD301, CD302, CD303, CD304, CD305, CD306, CD307, CD307a, CD307b, CD307c, CD307d, CD307e, CD307f, CD308, CD309, CD310, CD311, CD312, CD313, CD314, CD315, CD316, CD317, CD318, CD319, CD320, CD321, CD322, CD323, CD324, CD325, CD326, CD327, CD328, CD329, CD330, CD331, CD332, CD333, CD334, CD335, CD336, CD337, CD338, CD339, CD340, CD341, CD342, CD343, CD344, CD345, CD346, CD347, CD348, CD349, CD350, CD351, CD352, CD353, CD354, CD355, CD356, CD357, CD358, CD359, CD360, CD361, CD362, CD363, CD364, CD365, CD366, CD367, CD368, CD369, CD370, CD371, CD372, CD373, CD374, CD375, CD376, CD377, CD378, CD379, CD381, CD382, CD383, CD384, CD385, CD386, CD387, CD388, CD389, CRIPTO, CRIPTO, CR, CR1, CRGF, CRIPTO, CXCR5, LY64, TDGF1, 4-1BB, APO2, ASLG659, BMPR1B, 4-1BB, 5AC, 5T4 (гликопротеин трофобласта, TPBG, 5T4, Wnt-активированный ингибирующий фактор 1 или WAIF1), аденокарциноманти-ген, AGS-5, AGS-22M6, киназа 1, подобная рецептору активина, AFP, AKAP-4, ALK, альфа-интегрин, альфа v бетта6, амино-пептидаза N, бета-амилоид, рецептор андрогенов, ангиопоэтин 2, ангиопоэтин 3, аннексин A1, защитный антиген от сибирской язвы, анти-трансферриновый рецептор, AOC3 (VAP-1), B7-H3, Bacillus anthracisanthrax, BAFF (фактор активации B-клеток), BCMA, 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

(хемокин с мотивом C-C 11), CCR4 (хемокиновый рецептор C-C типа 4,), CCR5, CD3E (эпсилон), CEA (карциноэмбриональный антиген), CEACAM3, CEACAM5 (карциноэмбриональный антиген) CFD (фактор D), Ch4D5, холецистокинин 2 (CCK2R), CLDN18 (клаудин-18), фактор слипания A, CRIPTO, FCSF1R (рецептор колониестимулирующего фактора 1), CSF2 (колониестимулирующий фактор 2, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF)), CSP4, CTLA4 (цитотоксический Т-лимфоцит-ассоциированный белок 4), опухолевый антиген CTAA16.88, CXCR4 , хемокиновый рецептор C-X-C типа 4, гидролаза циклического рыбозо АДФ, циклин B1, CYP1B1, цитомегаловирус, гликопротеин B цитомегаловируса, дабигатран, DLL3 (дельта-подобный лиганд 3), DLL4 (дельта-подобный лиганд 4), DPP4 (дипептидил-пептидаза 4), DR5 (рецептор смерти 5), E. coli shiga токсин тип-1, E. coli shiga токсин тип -2, ED-B, EGFL7 (EGF-подобный домен, содержащий белок 7), EGFR, EGFRII, EGFRvIII, эндолгинрецептор эндотелина B, эндотоксин, EpCAM (молекула адгезии эпителиальных клеток), EphA2, эписиалин, ERBB2 (рецептор эпидермального фактора роста 2), ERBB3, ERG (ген слияния TMPRSS2 ETS), Escherichia coli, ETV6-AML, FAP (протеин альфа 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 (антиген клеточной поверхности гливолипид), идиотип GD3, GloboH, глипикан 3, N-гликолилнейраминовая кислота, GM3, α-цепь рецептора GMCSF, фактор дифференцировки роста 8, GP100, GPNMB (трансмембранный гликопротеин NMB), GUCY2C (гуанилатциклаза 2C, гуанилатциклаза C (GC-C), гуанилатциклаза кишечника, рецептор гуанилатциклазы-C, рецептор термостабильного энтеротоксина (hSTAR)), белки теплового шока, гемагглютин, 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, гистоновый комплекс, HLA-DR (лейкоцитарный антиген человека), 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, гемаглютинин гриппа, IgE, область Fc IgE, IGHE, интерлейкины (включающие 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, $\alpha_{IIb}\beta_3$, αvβ3, $\alpha_4\beta_7$, α5β1, α6β4, α7β7, αIIβ3, α5β5, αvβ5), гамма-индуцированный белок интерферона, ITGA2, ITGB2, KIR2D, Ig каппа, LCK, Le, легумаин, антиген Lewis-Y,

LFA-1 (антиген ассоциированный с функцией лимфоцитов 1, 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 фактор ингибирования гликозилирования (GIF)), MS4A1 (член 1 подсемейства A с 4-мембранными доменами), MSLN (мезотелин), MUC1 (Муцин 1, ассоциированный с клеточной поверхностью (MUC1) или полиморфный эпителиальный муцин (PEM)), MUC1-KLH, MUC16 (CA125), MCP1 (хемотаксический белок моноцитов 1), MelanA/MART1, ML-IAP, MPG, MS4A1 (проникающий через мембрану подсемейства A с 4-мембранными доменами), 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, белок запрограммированной гибели клеток 1,), 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, Pseudomonas aeruginosa, PSMA, PSA, PSCA, гликопротеин вируса бешенства, RHD (полипептид Rh 1 (RhPI)), резус-фактор, RANKL, RhoC, мутант Ras, RGS5, ROBO4, респираторно-синцитиальный вирус, RON, ROR1, точки разрыва транслокации при саркоме, 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 (шеститрансмембранный эпителиальный антиген простаты 1), STEAP2, STn, TAG-72 (связанный с опухолью гликопротеин 72), сурвивин, T-клеточный рецептор, трансмембранный белок T-клеток, TEM1 (маркер эндотелия опухоли 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 опухолей 10B), TNFRSF-13B (член суперсемейства рецепторов фактора некроза опухолей 13B), TPBG (гликопротеин трофобласта), TRAIL-R1 (рецептор индуцирующего апоптоз лиганда, связанного с фактором некроза опухоли 1), TRAILR2 (Рецептор смерти 5 (DR5)), ассоциированный с опухолью преобразователь сигнала кальция 2, опухоль-специфическое гликозилирование MUC1, рецептор TWEAK, TYRP1 (гликопротеин 75), TRP-2 (Trop2), тирозиназа, VCAM-1, VEGF, VEGF-A, VEGF-2, VEGFR-1, VEGFR2 или виментин,

WT1, XAGE 1 или клетки, экспрессирующие любые рецепторы инсулинового фактора роста или любые рецепторы эпидермального фактора роста.

14. Опухолевая клетка по п. **13**, выбранная из группы, состоящей из клеток лимфомы, клеток миеломы, клеток почек, клеток рака молочной железы, клеток рака предстательной железы, клеток рака яичников, клеток колоректального рака, клеток рака желудка, клеток плоскоклеточного рака, клеток мелкоклеточного рака, клеток немелкоклеточного рака, клеток рака яичек, злокачественных клеток или любых клеток, которые растут и делятся в нерегулируемом, ускоренном темпе приводя к развитию рака.

15. Фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество соединений конъюгата по любому из пп. **1, 2** или **9**, и его фармацевтически приемлемую соль, носитель, разбавитель или вспомогательное вещество, или комбинацию конъюгатов для лечения или профилактики рака, или аутоиммунного заболевания, или инфекционного заболевания.

16. Фармацевтическая композиция либо в жидком составе или в составе лиофилизированного твердого вещества/порошка по п. **15**, содержащая по массе: 0,01%–99% одного или более конъюгатов по любому из пп. **1, 2** или **9**; 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 4,5–7,5; 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 их солей металлов;

при этом поверхностно-активное вещество выбрано из полисорбата 20, полисорбата 40, полисорбата 65, полисорбата 80, полисорбата 81 или полисорбата 85, полоксамера, поли(этиленоксид)-поли(пропиленоксида), полиэтилен-полипропилена; тритона; додецилсульфата натрия (SDS); лаурисульфата натрия; октилгликозида натрия; лаурила-, миристила-, линолеила- или стеарилсульфобетаина; лаурила-, миристила-, линолеила- или стеарил-саркозина; линолеила-, миристила- или цетил-бетаина; лауроамидопропила-, кокамидопропила-, линолеамидопропила-, миристамидопропила-, пальмидопропила- или изостеарамидопропилбетаина (лауроамидопропила); миристамидопропила-, пальмидопропила- или изостеарамидопропилдиметиламина; метилкокоила- или динатрийметилолеилтаурата

натрия; додецилбетаина, додецилдиметиламиноксида, кокамидопропилбетаина и кокоамфо глицината; или изостеарилэтилимидония этосульфата; полиэтилгликоля, полипропилгликоля и сополимеров этилена и пропиленгликоля;

при этом консервант выбран из бензилового спирта, хлорида октадецилдиметилбензиламмония, хлорида гексаметония, хлорида бензалкония, хлорида бензетония, фенола, бутилового и бензилового спирта, алкилпарабенов, таких как метил или пропилпарабен, катехол, резорцин, циклогексанол, 3-пентанол или м-крезол;

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 хелатирующий агент выбран из ЭДТА или ЭГТК;

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.

17. Фармацевтическая композиция по пп. 15 или 16, упакованная во флаконе, бутылке, предварительно заполненном шприце или предварительно заполненном шприце с автоинжектором, в виде раствора или лиофилизированного твердого вещества.

18. Конъюгат по пп. 1, 2, 9 или в виде фармацевтической композиции по пп. 15 или 16, обладающий активностью уничтожения клетки *in vitro, in vivo* или *ex vivo.*

19. Фармацевтическая композиция по пп. 15 или 16, введенная одновременно с химиотерапевтическим агентом, лучевой терапией, иммунотерапевтическим агентом, агентом для лечения аутоиммунного расстройства, антиинфекционными агентами или другими конъюгатами для синергетически эффективного лечения или профилактики рака, или аутоиммунного заболевания, или инфекционного заболевания.

20. Химиотерапевтический агент по п. 19, выбранный из одного или более из

(1). a). алкилирующего агента, выбранного из азотистых ипритов: хлорамбуцила, хлорнафазина, циклофосфамида, дакарбазина, эстрамустина, ифосфамида, мехлоретамина, мехлорэтаминоксид гидрохлорида, манномустина, митобронитола, мелфалана, митолактола, пипобромана, новембихина, фенестерина, преднимустина, тиотепы, трофосфамида, урацильного иприта; CC-1065 и адозелезина, карзелезина, бизелезина или их синтетических аналогов; дуокармицина и его синтетических аналогов, димеров KW-2189, CBI-TMI или CBI; димеров бензодиазепина или димеров пирролобензодиазепина (PBD), димеров томаймицина, димеров индолинобензодиазепина, димеров имидазобензотиадиазепина или димеров оксазолидинобензодиазепина; нитрозомочевин: 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, майтансиноидов, включая DM1, DM2, DM3, DM4, DM5, DM6, DM7, майтанзина, ансамитоцинов и их аналогов, криптофицинов (включая группу криптофицина 1 и криптофицина 8); эпотилонов, элеутеробина, дискодермолида, бриостатинов, долостатинов, ауристатинов, тубулизинов, цефалостатинов; панкратистатина; 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, кармофур, цитарабин, дидезоксуридин, доксифлуридин, эноцитабин, 5-фторурацил, флоксуридин, ратитрексед); аналогов цитозина: (включая цитарабин, цитозинарабинозид,

флударабин); аналогов пурина: (включая азатиоприн, флударабин, меркаптопурин, тиамиприн, тиогуанин)]; пополнителей запаса фолиевой кислоты, фролиновой кислоты};

e). гормональной терапии: выбранной из антагонистов рецепторов: [антиэстрогенов: (включая мегестрол, ралоксифен, тамоксифен); агонистов LHRH: (включая гозерелин, лейпролид ацетат); антиандрогенов: (включая бикалутамид, флутамид, калустерон, дромостанолон пропионат, эпитиостанол, гозерелин, лейпролид, мепитиостан, нилутамид, тестолактон, трилостан и другие ингибиторы андрогенов)]; ретиноидов/дельтоидов: [аналогов витамина D3: (включая CB 1093, EB 1089 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, бафетиниба, бозутиниба, кабозантиниба, висмодегиба, инипариба, руксолитиниба, CYT387, акситиниба, тивозаниба, сорафениба, бевацизумаба, цетуксимаба, трастузумаба, ранибизумаба, панитумумаба, испинесиба;

g). ингибиторов поли(АДФ-рибозо)полимеразы (PARP), выбранных из группы состоящей из олапариба, нирапариба, инипариба, талазопариба, велипариба, CEP 9722 (Cephalon), E7016 (Eisai), BGB-290 (BeiGene) или 3-аминобензамида;

h). антибиотика, выбранного из группы, состоящей из энедииновых антибиотиков (выбранных из группы, состоящей из калихеамицина, калихеамицина $\gamma 1$, $\delta 1$, $\alpha 1$ или $\beta 1$; динемицина, включая динемицин A и дезоксидинемицин; эсперамицина, кедарцидина, C-1027, мадуропептина или неокарзиностатинового хромофора и родственных хромопротеиновых хромофоров энедииновых антиобиотиков), аклациномицинов, актиномицина, аутрамициноа, азасерина, блеомицинов, кактиномицина, карабицинов, карминомицина, карзинофилина; хромомицинов, дактиномицина, даунорубицина, деторубицина, 6-диазо-5-оксо-L-норлейцина, доксорубицина, морфолино-доксорубицина, цианоморфолино-доксорубицина, 2-пирролинодоксорубицина и дезоксидоксорубицина, эпирубицина, эзорубицина, идарубицина, марцелломицина, нитомицинов, микофеноловой кислоты, ногаламицина, оливомицинов, пепломицина, потфиромицина, пуромицина, келамицина, родорубицина, стрептонигрина, стрептозоцина, туберцидина, убенимекса, зиностатина, зорубицина;

i). поликетида (ацетогенин), булатацина и булатацинона; гемцитабина, эпоксомицинов и карфилзомиба, бортезомиба, талидомида, леналидомида, помалидомида, тозедостата, зи-

брестата, PLX4032, STA-9090, стимувакса, алловектина-7, ксегева, провенжа, йервой, ингибиторов изопренилирования и ловастатина, допаминергичных нейротоксинов и 1-метил-4-фенилпиридиниевого иона, ингибиторов клеточного цикла (включая стауроспорин), актиномицинов (включая актиномицин D, дактиномицин), аманитинов, блеомицинов (включая блеомицин A2, блеомицин B2, пепломицин), антрациклинов (включая даунорубицин, доксорубицин (адриамицин), идарубицина, эпирубицина, пирарубицина, зорубицина, митоксантрона, ингибиторов MDR или верапамила, ингибиторов Ca^{2+}-АТФазы или тапсигаргина, ингибиторов гистондеацетилазы ((включая вориностат, ромидепсин, панобиностат, вальпруевую кислоту, моцетиностат (MGCD0103), белиностат, PCI-24781, энтиностат, SB939, ресминостат, гивиностат, AR-42, CUDC-101, сульфорафан, трихостатин A); тапсигаргина, целекоксиба, глитазонов, эпигаллокатехин галлата, дисульфирама, салиноспорамида A; 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 T-2, веррукарина A, роридина A и ангуидина); уретана, миРНК, антисмысловых лекарственных средств;

(2). агента для лечения аутоиммуных заболеваний: циклоспорина, циклоспорина A, аминокапроновой кислоты, азатиоприна, бромокриптина, хлорамбуцила, хлорохина, циклофосфамида, кортикостероидов (включая группу, состояющую из амцинонида, бетаметазона, будесонида, гидрокортизона, флунизолида, флутиказон пропионата, флуокортолон даназола, дексаметазона, триамцинолона ацетонида, беклометазона дипропионата), DHEA, энанерцепта, гидроксихлорохина, инфликсимаба, мелоксикама, метотрексата, мофетила, микофенилата, преднизона, сиролимуса, такролимуса;

(3). агентов для лечения инфекционного заболевания, включающего:

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, цефазедон, цефазолин, цефбуперазон, цефкапен, цефальдоксим, цефепим, цефминокс, цефокситин, цефпрозил, цефроксадин, цефтезол, цефуроксим, цефиксим, цефдинир, цефдиторен, цефепим, цефетамет, цефменоксим, цефодизим, цефоницид, цефоперазон, цефоранид, цефотаксим, цефотиам, цефозопран, цефалексин, цефпимизол, цефпирамид, цефпиром, цефподоксим, цефпрозил, цефхином, цефсулодин, цефтазидим, цефтерам, цефтибутен, цефтиолен, цефтизоксим, цефтобипрол, цефтриаксон, цефуроксим, цефузонам, цефамицин (включая цефокситин, цефотетан, цефметазол), оксацефем (фломоксеф, латамоксеф);

f). гликопептиды: блеомицин, ванкомицин (включая оритаванцин, телаванцин), тейкопланин (далбаванцин), рамопланин;

g). глицилциклины: тигециклин;

h). 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, пивампициллин, гетациллин, бакампициллин, метампициллин, талампициллин, азидоциллин, азлоциллин, бензилпенициллин, бензатин бензилпенициллин, бензатин феноксиметилпенициллин, 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/далфопристин;

r). сульфонамиды: мафенид, пронтозил, сульфацетамид, сульфаметизол, сульфанилимид, сульфасалазин, сульфизоксазол, триметоприм, триметоприм-сульфаметоксазол (котримоксазол);

s). стероидные антибактериальные средства: выбранные из фузидиевой кислоты;

t). тетрациклины: доксициклин, хлортетрациклин, кломоциклин, демеклоциклин, лимециклин, меклоциклин, метациклин, миноциклин, окситетрациклин, пенимециклин, ролитетрациклин, тетрациклин, глицилциклины (включая тигециклин);

u). другие антибиотики: выбраны из группы, состоящей из аннонацина, арсфенамина, ингибиторов бактопренола (бацитрацин), ингибиторов DADAL/AR (циклосерин), диктиостатина, дискодермолида, элейтеробина, эпотилона, этамбутола, этопозида, фаропенема, фузидиевой кислоты, фуразолидона, изониазида, лаулималида, метронидазола, мупироцина, миколактона, ингибиторов синтеза NAM (фосфомицин), нитрофурантоина, паклитаксела, платенсимицина, пиразинамида, квинупристина/дальфопристина, рифампицина (рифампина), тазобактам тинидазола, уварицина;

(4). противовирусные лекарственные средства, включающие:

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 (включая группу, состоящую из 3'-фтор-2',3'-дидезокситимидина (FLT) и 3'-фтор-2',3'-дидезоксигуанозина (FLG), фомивирсена ганцикловира, идоксуридина, ламивудина (3TC), l-нуклеозидов (включая группу, состоящую из β-1-тими-

дина и β-1-2'-дезоксицитидина), пенцикловира, рацивира, рибавирина, стампидина, ставудина (d4T), тарибавирина (вирамидина), телбивудина, тенофовира, трифлуридина валацикловира, валганцикловира, зальцитабина (ddC), зидовудина (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;

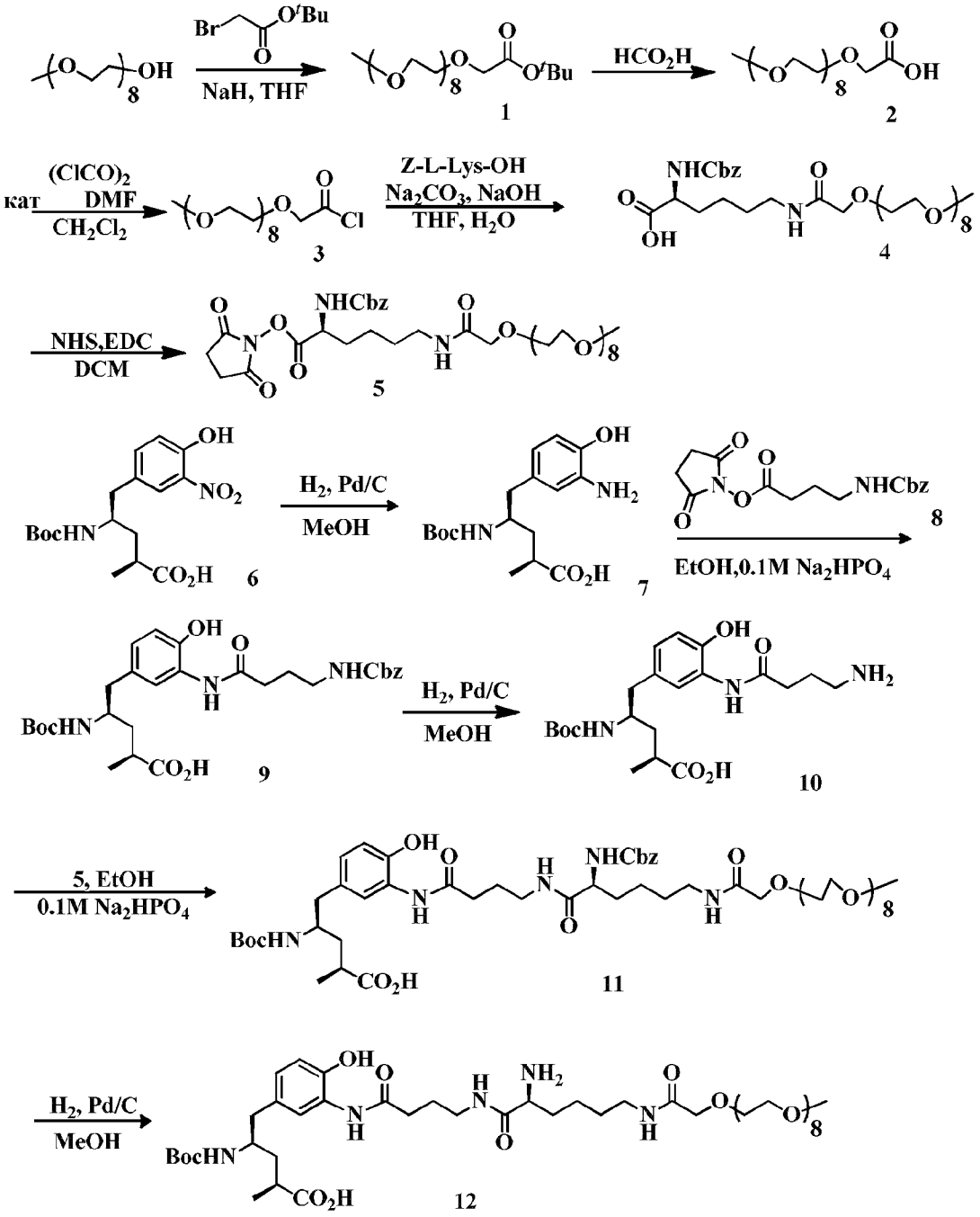
h). другие типы антивирусных лекарственных средств: абзим, арбидол, каланолид А, церагенин, циановирин-н, диарилпиримидины, эпигаллокатехин галлат (EGCG), фоскарнет, гриффитсин, тарибавирин (вирамидин), гидроксимочевина, KP-1461, милтефозин, плеконарил, комбинированные гибридные ингибиторы рибавирин, селицилиб.

(5). фармацевтически приемлемых солей, кислот, производных, гидрата или гидратированной соли; или кристаллической структуры; или оптического изомера, рацемата, диастереомера или энантиомера любого из вышеуказанных лекарственных средств.

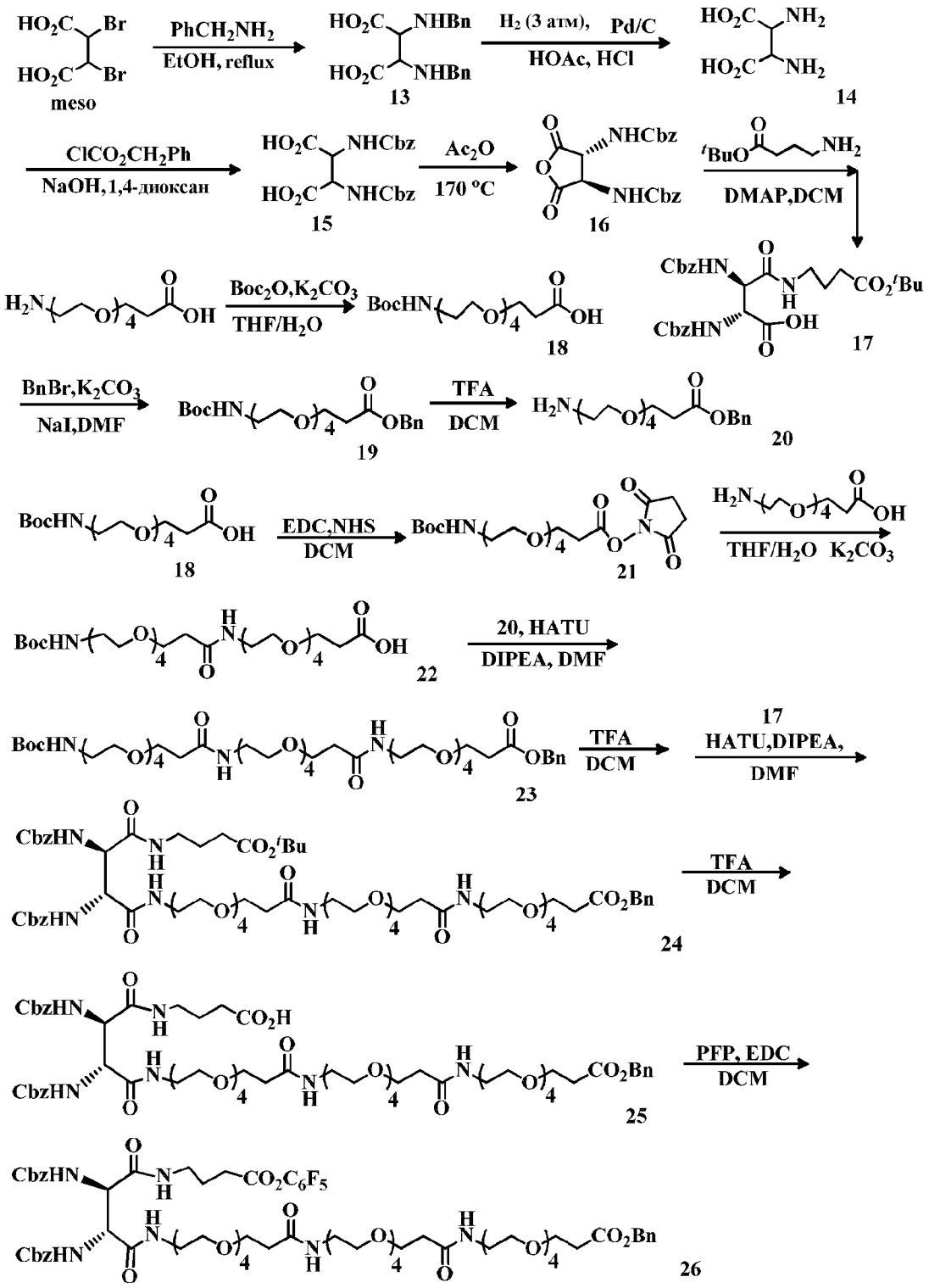
21. Синергетические агенты по п. 19, выбраны из одного или более следующих лекарственных средств: абатацепт, абемациклиб, абиратерона ацетат, абраксан, ацетаминофен/гидрокодон, акалабрутиниб, адуканумаб, адалимумаб, ADXS31-142, ADXS-HER2, афатиниба дималеат, альдеслейкин, алектиниб, алемтузумаб, алитретиноин, адо-трастузумаб эмтанзин, амфетамин/декстроамфетамин, анастрозол, арипипразол, антрациклины, арипипразол, атазанавир, атезолизумаб, аторвастатин, авелумаб, аксикабтаген цилолейцел, акситиниб, белиностат, «живая» БЦЖ, бевацизумаб, бексаротен, блинатумомаб, бортезомиб, бозутиниб, брентуксимаб ведотин, бригатиниб, будесонид, будесонид/формотерол, бупренорфин, кабазитаксел, кабозантиниб, капматиниб, капецитабин, карфилзомиб, химерные антигенные рецепторные сконструированные Т-клетки (CAR-T), целекоксиб, церитиниб, цетуксимаб, хидамид, циклоспорин, цинакальцет, кризотиниб, кобиметиниб, козентикс, кризотиниб, CTL019, дабигатран, дабрафениб, дакарбазин, даклизумаб, дакомотиниб, даптомицин, даратумумаб, дарбэпоэтин альфа, дарунавир, дасатиниб, денилейкин дифтитокс, деносумаб, депакот, декслансопразол, дексметилфенидат, дексаметазон, система охлаждения DigniCap, динутуксимаб, доксициклин, дулоксетин, дувелисиб, дурвалумаб, элотузумаб, эмтрицитабин/рилпивирин/тенофовира дизопроксила фумарат, эмтрицита-

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

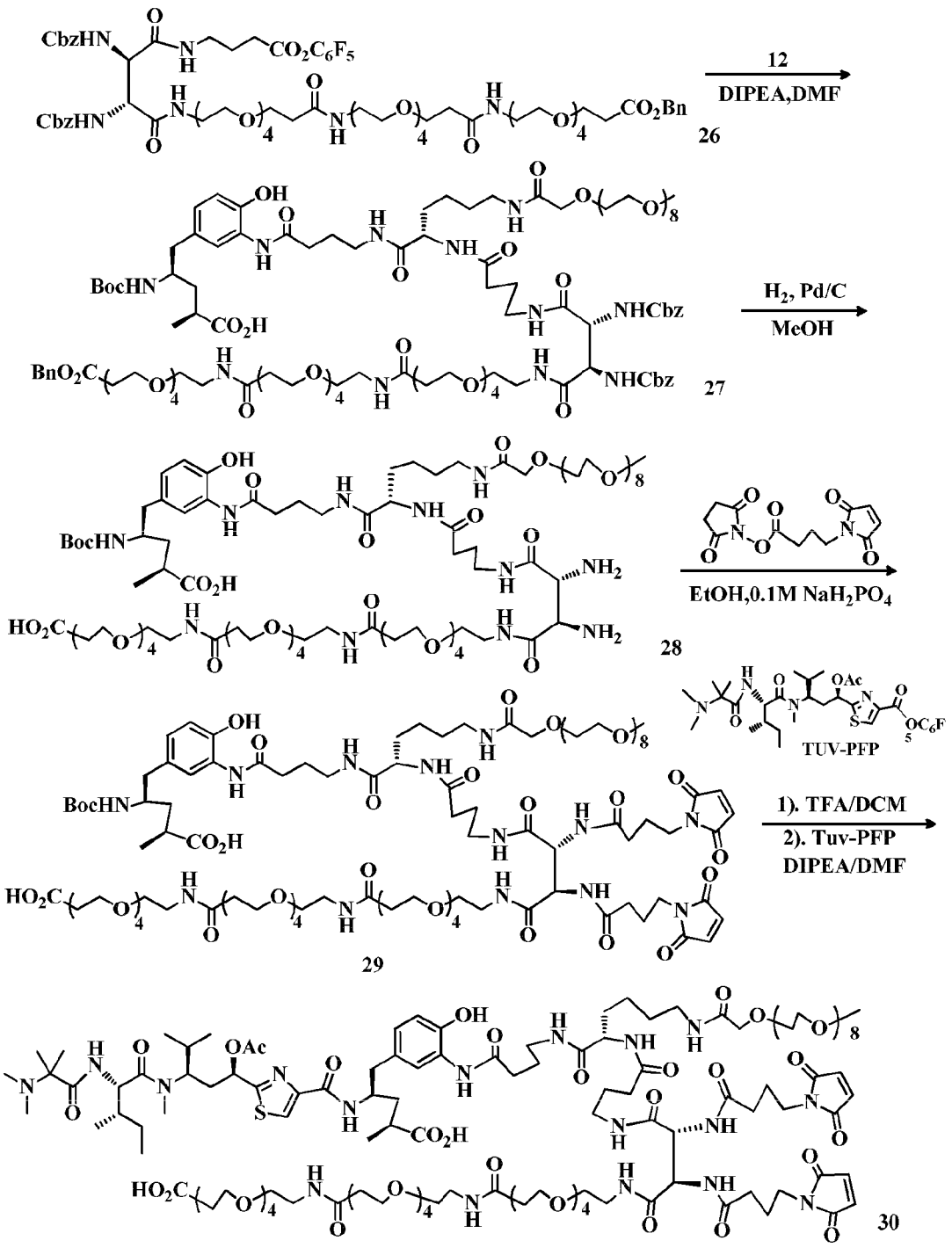
Фигуры


NaH, THF
HCO2H
кат
(ClCO)2
DMF
CH2Cl2
Z-L-Lys-OH
Na2CO3, NaOH
THF, H2O
NHS,EDC
DCM
H2, Pd/C
MeOH
EtOH,0.1M Na2HPO4
5, EtOH
0.1M Na2HPO4
BocHN
NHCbz
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12

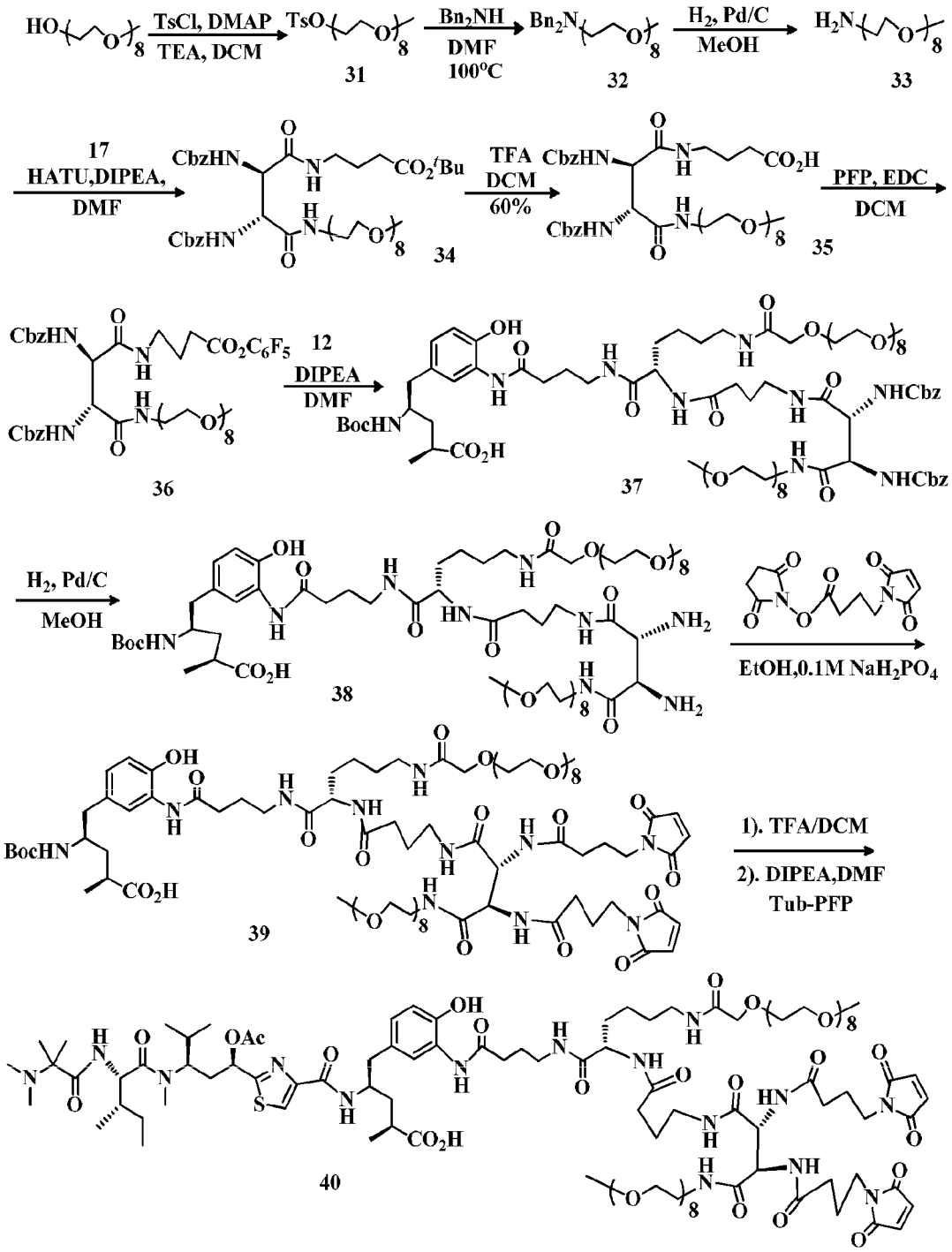
Фиг.1


meso
PhCH2NH2
EtOH, reflux
13
H2 (3 атм), Pd/C
HOAc, HCl
14
ClCO2CH2Ph
NaOH,1,4-диоксан
15
Ac2O
170 °C
16
DMAP,DCM
17
Boc2O,K2CO3
THF/H2O
18
BnBr,K2CO3
NaI,DMF
19
TFA
DCM
20
EDC,NHS
DCM
21
THF/H2O K2CO3
22
20, HATU
DIPEA, DMF
23
TFA
DCM
17
HATU,DIPEA,
DMF
24
TFA
DCM
25
PFP, EDC
DCM
26

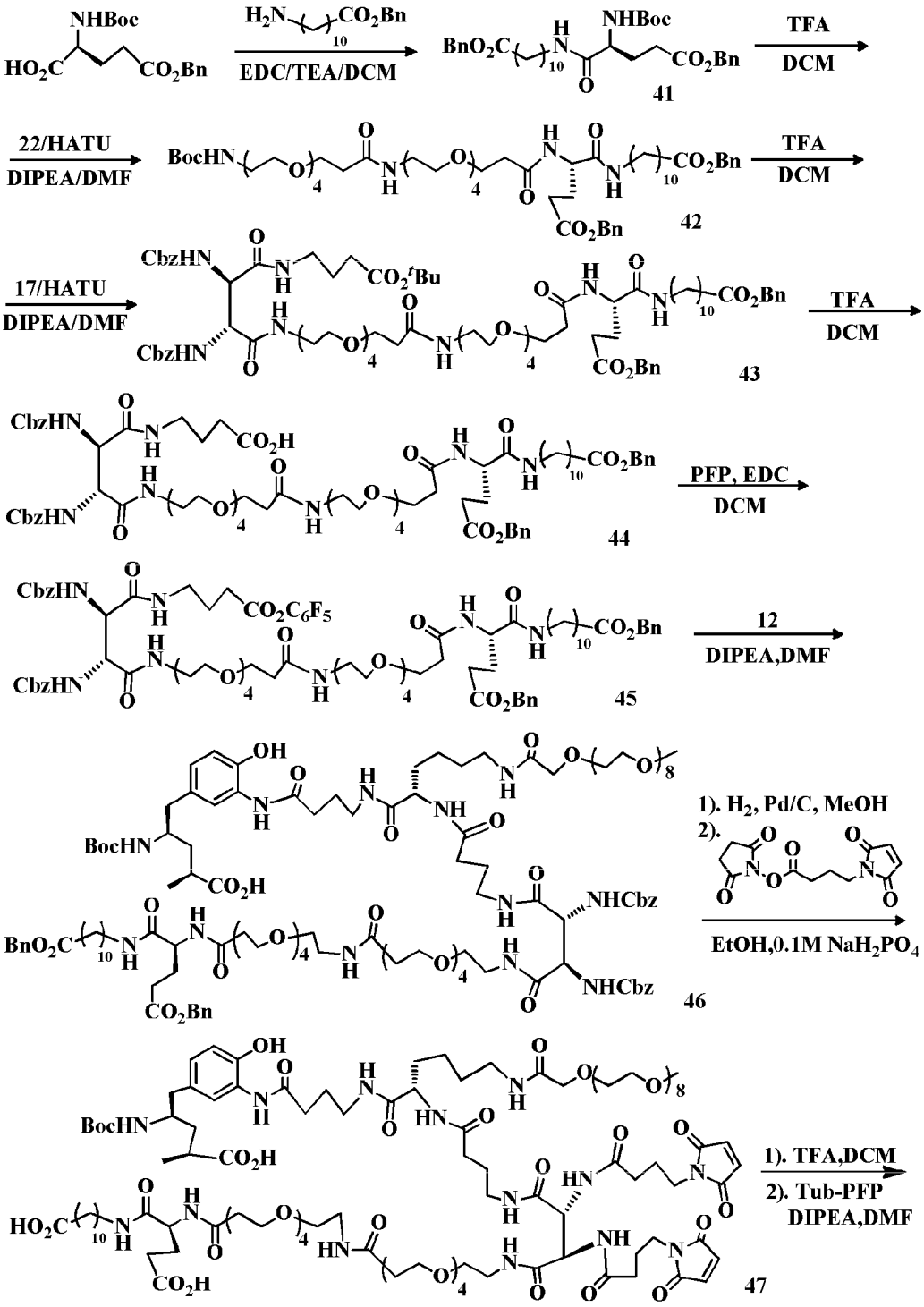
Фиг. 2


12
DIPEA,DMF
26
H2, Pd/C
MeOH
27
EtOH,0.1M NaH2PO4
28
TUV-PFP
1). TFA/DCM
2). Tuv-PFP
DIPEA/DMF
29
30

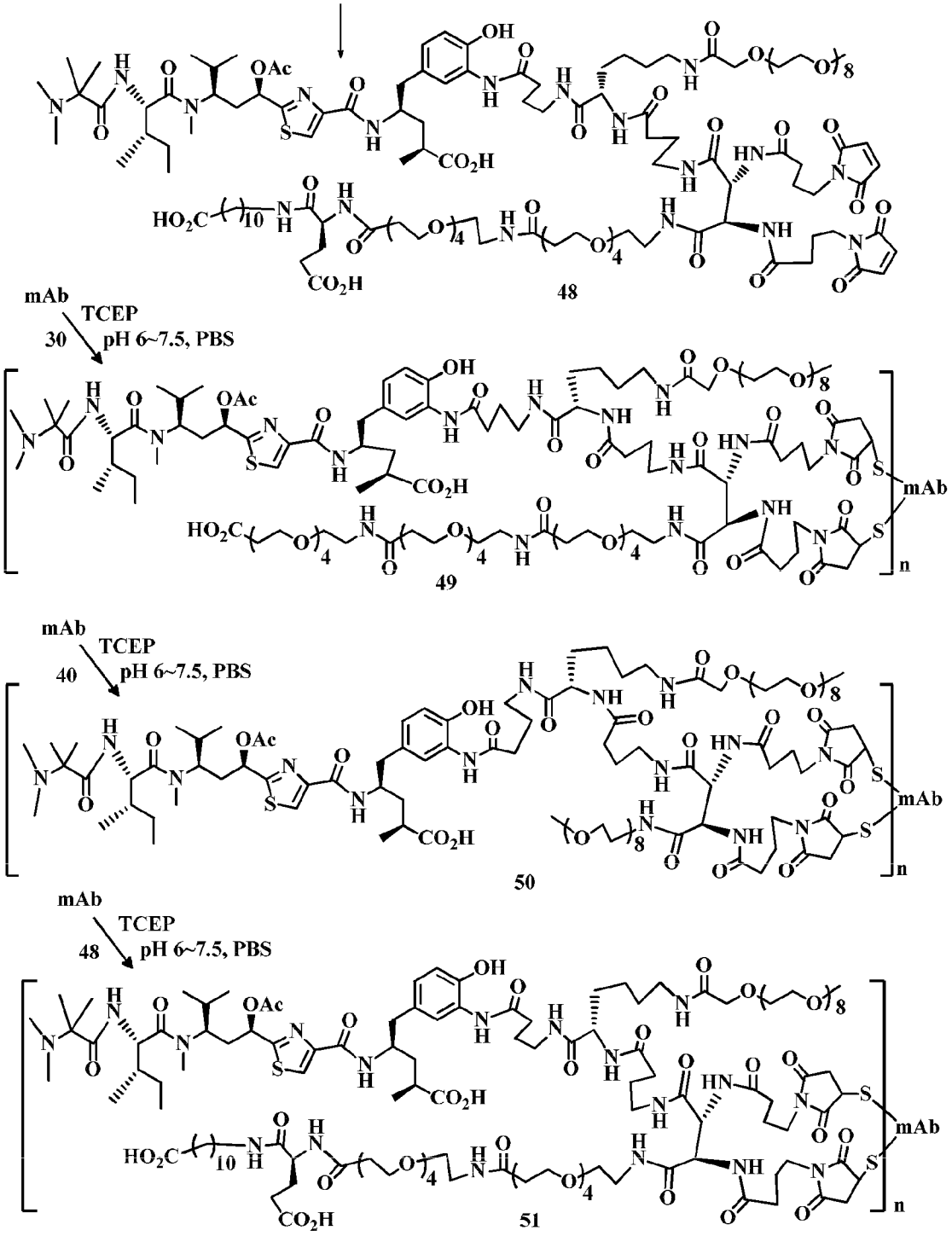
Фиг. 3


TsCl, DMAP
TEA, DCM
Bn2NH
DMF
100°C
H2, Pd/C
MeOH
31
32
33
17
HATU,DIPEA,
DMF
TFA
DCM
60%
PFP, EDC
DCM
34
35
36
12
DIPEA
DMF
37
38
EtOH,0.1M NaH2PO4
39
1). TFA/DCM
2). DIPEA,DMF
Tub-PFP
40

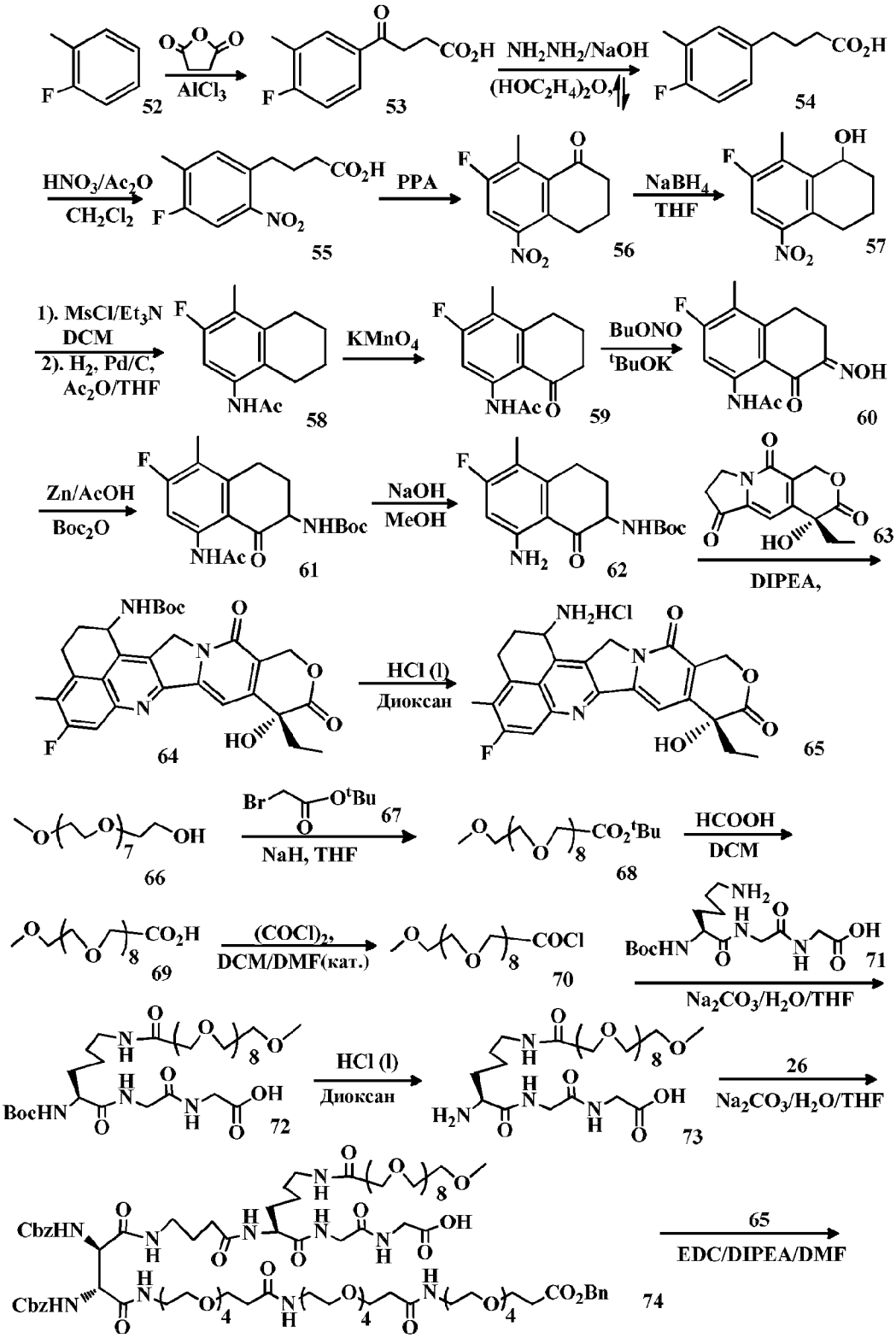
Фиг. 4


EDC/TEA/DCM
TFA
DCM
22/HATU
DIPEA/DMF
17/HATU
DIPEA/DMF
PFP, EDC
12
DIPEA,DMF
1). H2, Pd/C, MeOH
2).
EtOH,0.1M NaH2PO4
1). TFA,DCM
2). Tub-PFP
DIPEA,DMF
41
42
43
44
45
46
47

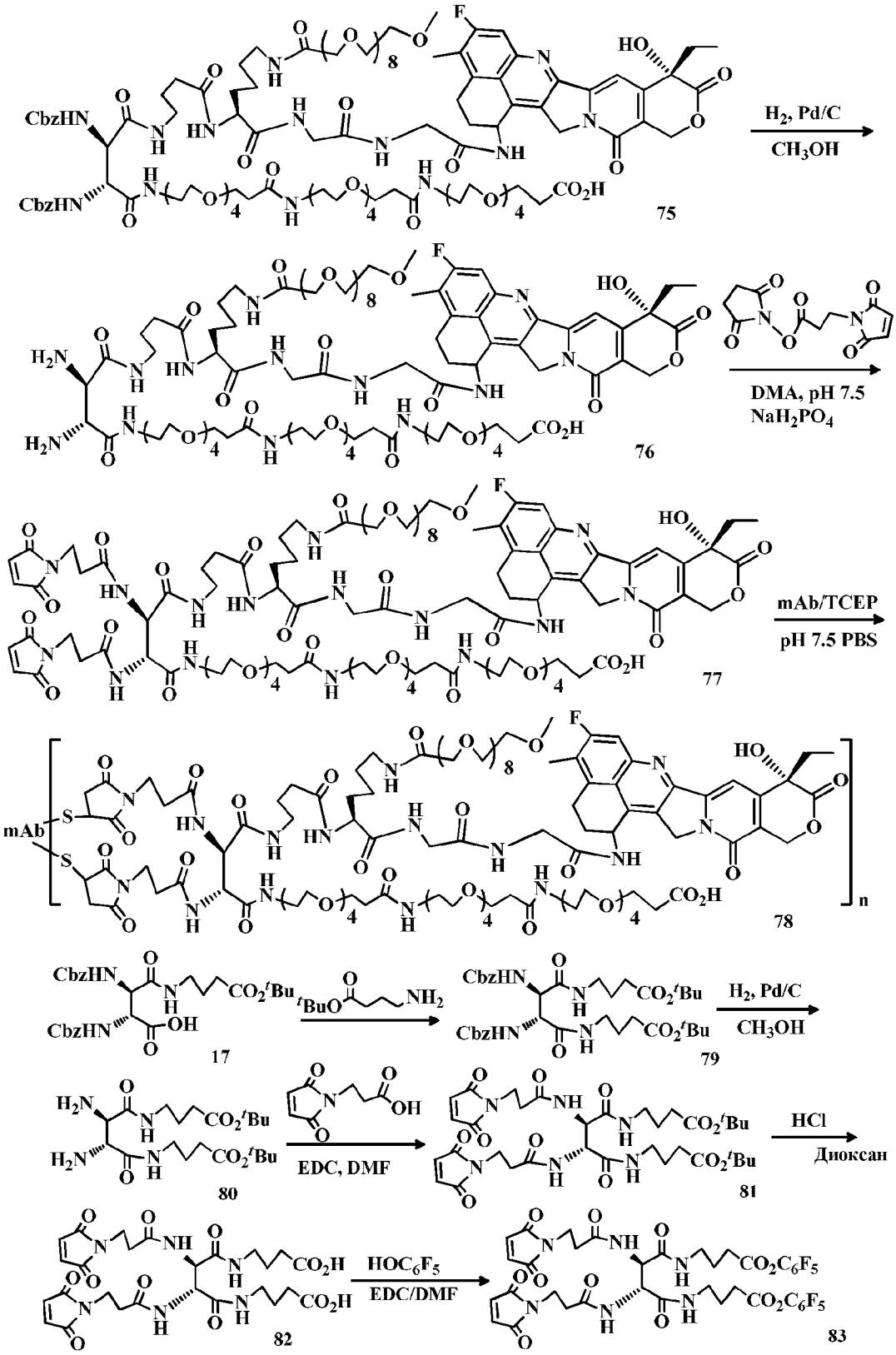
Фиг. 5.


48
mAb
TCEP
30
pH 6~7.5, PBS
49
mAb
TCEP
40
pH 6~7.5, PBS
50
mAb
TCEP
48
pH 6~7.5, PBS
51

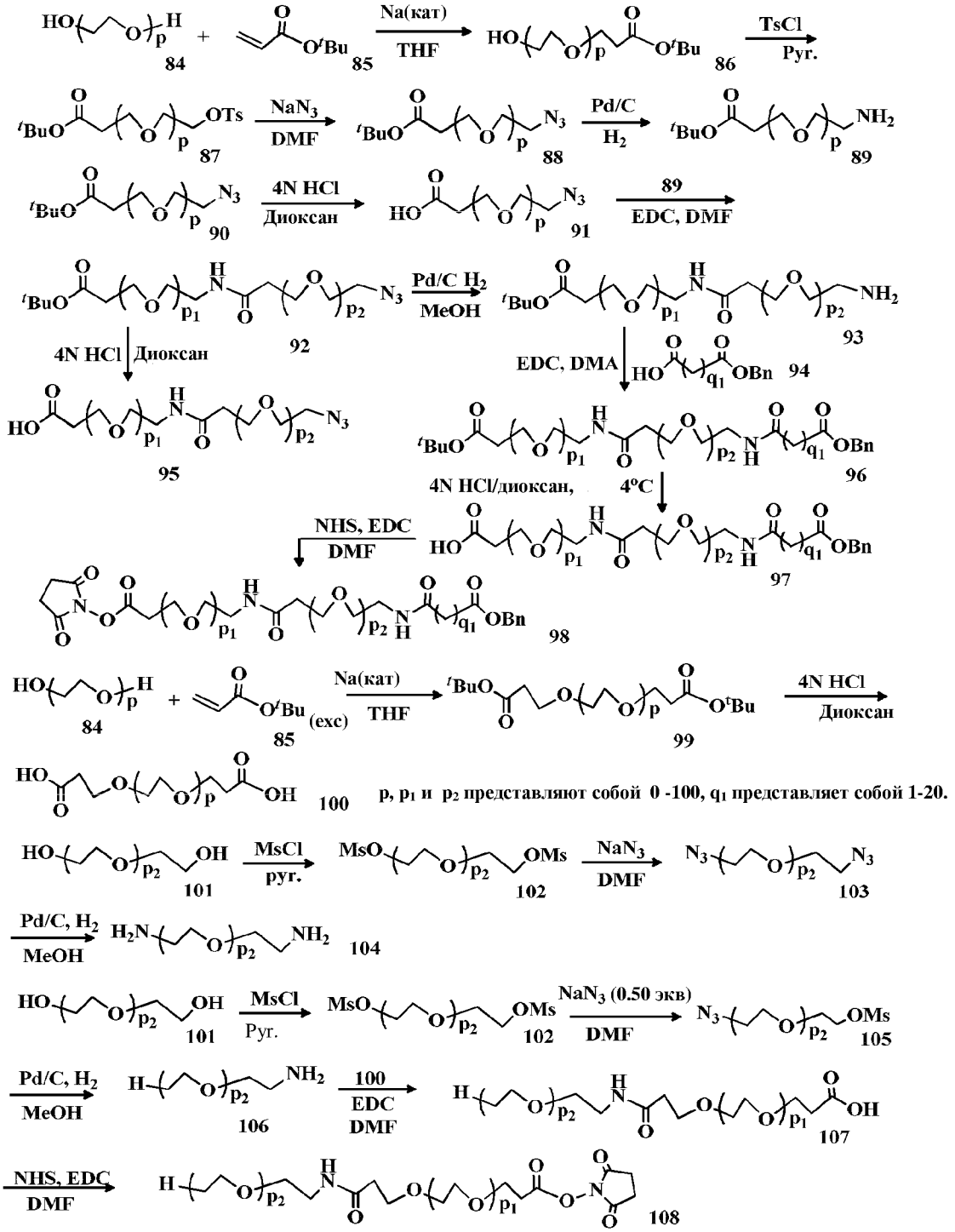
Фиг. 6


AlCl3
NH2NH2/NaOH
(HOC2H4)2O,
HNO3/Ac2O
CH2Cl2
PPA
NaBH4
THF
1). MsCl/Et3N
DCM
2). H2, Pd/C,
Ac2O/THF
KMnO4
BuONO
tBuOK
Zn/AcOH
Boc2O
NaOH
MeOH
DIPEA,
HCl (l)
Диоксан
NaH, THF
HCOOH
DCM
(COCl)2,
DCM/DMF(кат.)
Na2CO3/H2O/THF
26
EDC/DIPEA/DMF
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74

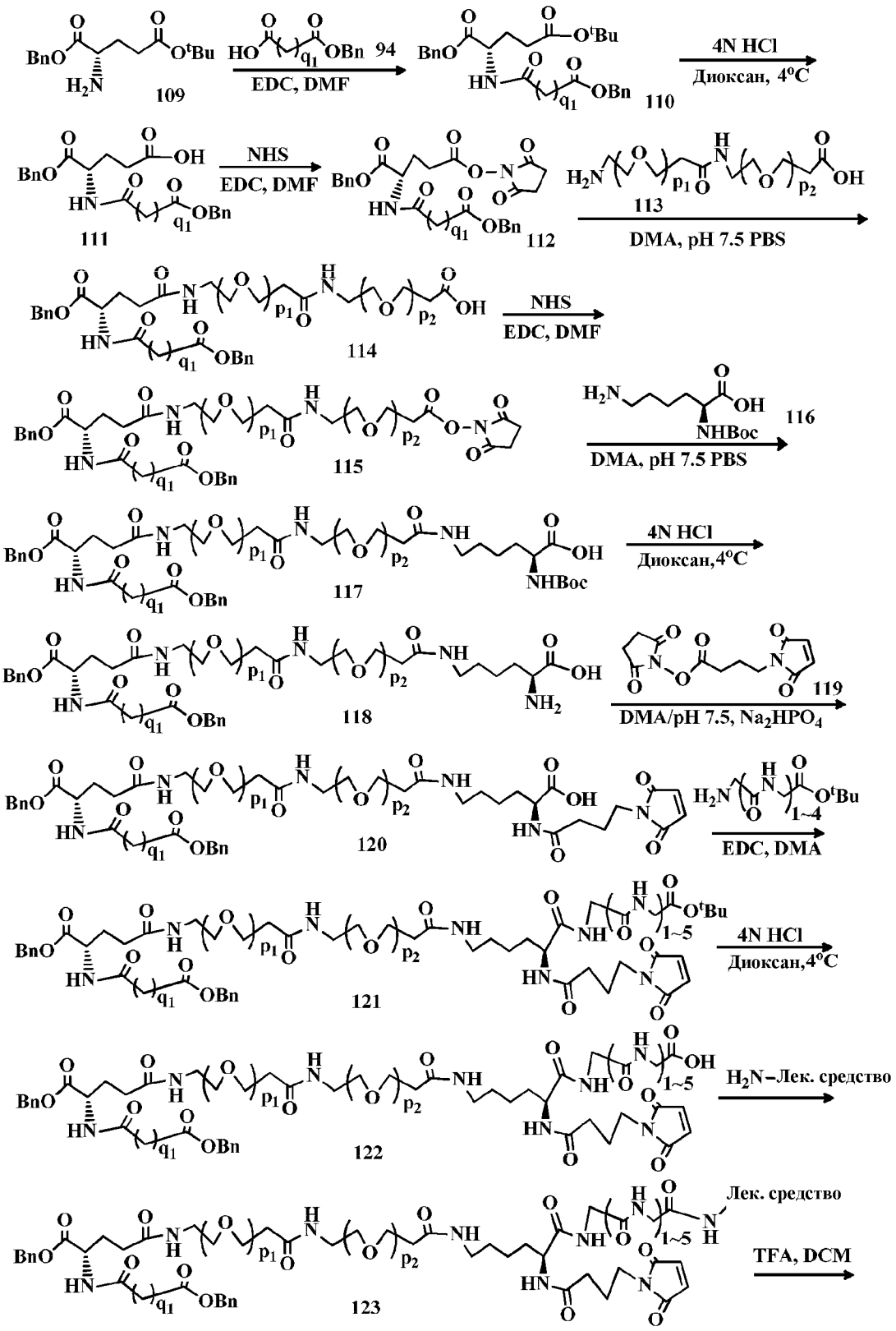
Фиг. 7


H2, Pd/C
CH3OH
75
DMA, pH 7.5
NaH2PO4
76
mAb/TCEP
pH 7.5 PBS
77
78
17
79
EDC, DMF
80
81
HCl
Диоксан
82
HOC6F5
EDC/DMF
83

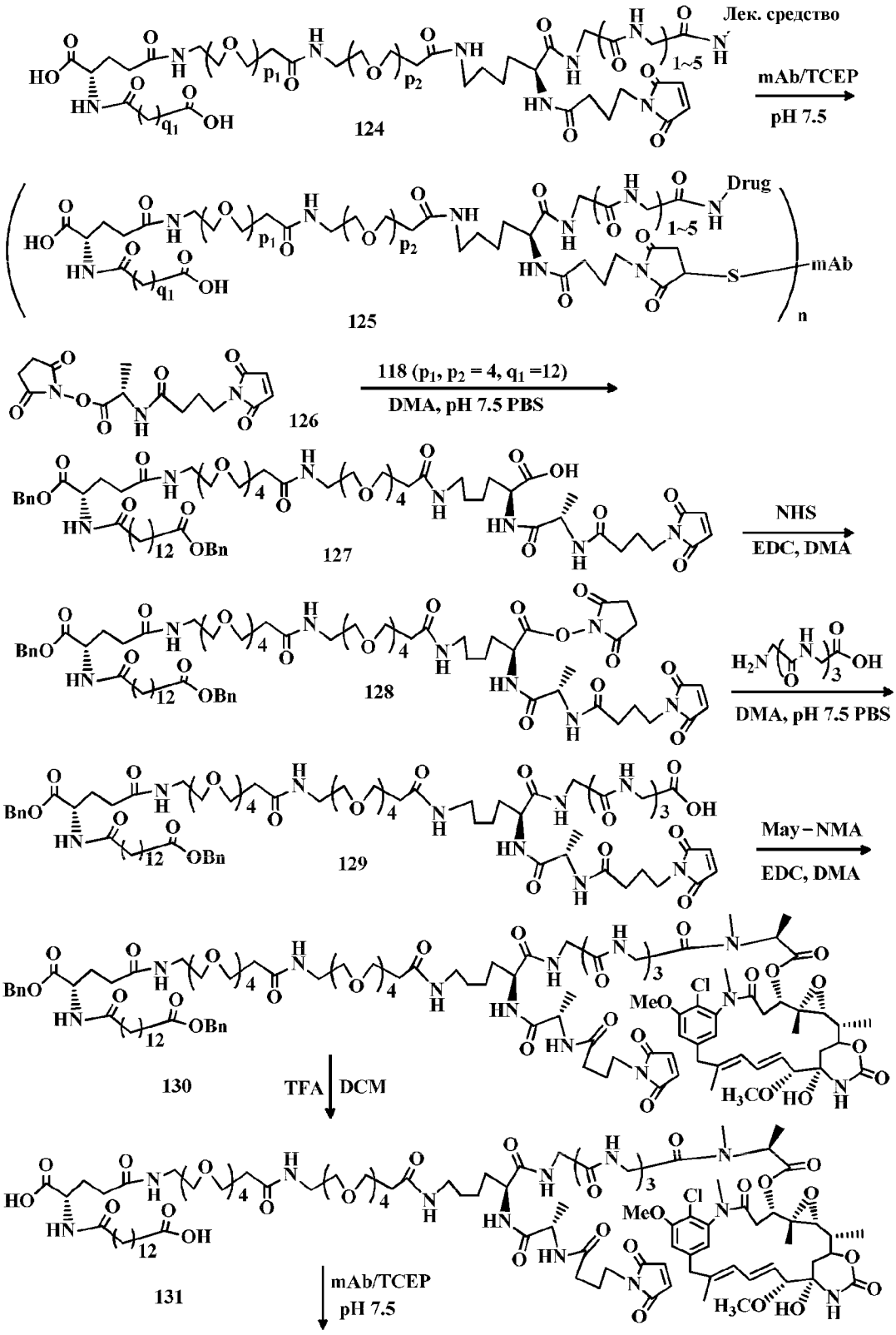
Фиг. 8


Na(кат)
THF
TsCl
Pyr.
NaN3
DMF
Pd/C
H2
4N HCl
Диоксан
89
EDC, DMF
Pd/C H2
MeOH
4N HCl
Диоксан
EDC, DMA
4N HCl/диоксан, 4°C
NHS, EDC
DMF
(exc)
p, p1 и p2 представляют собой 0 -100, q1 представляет собой 1-20.
MsCl
руг.
NaN3
DMF
Pd/C, H2
MeOH
MsCl
Руг.
NaN3 (0.50 экв)
DMF
100
EDC
DMF
NHS, EDC
DMF

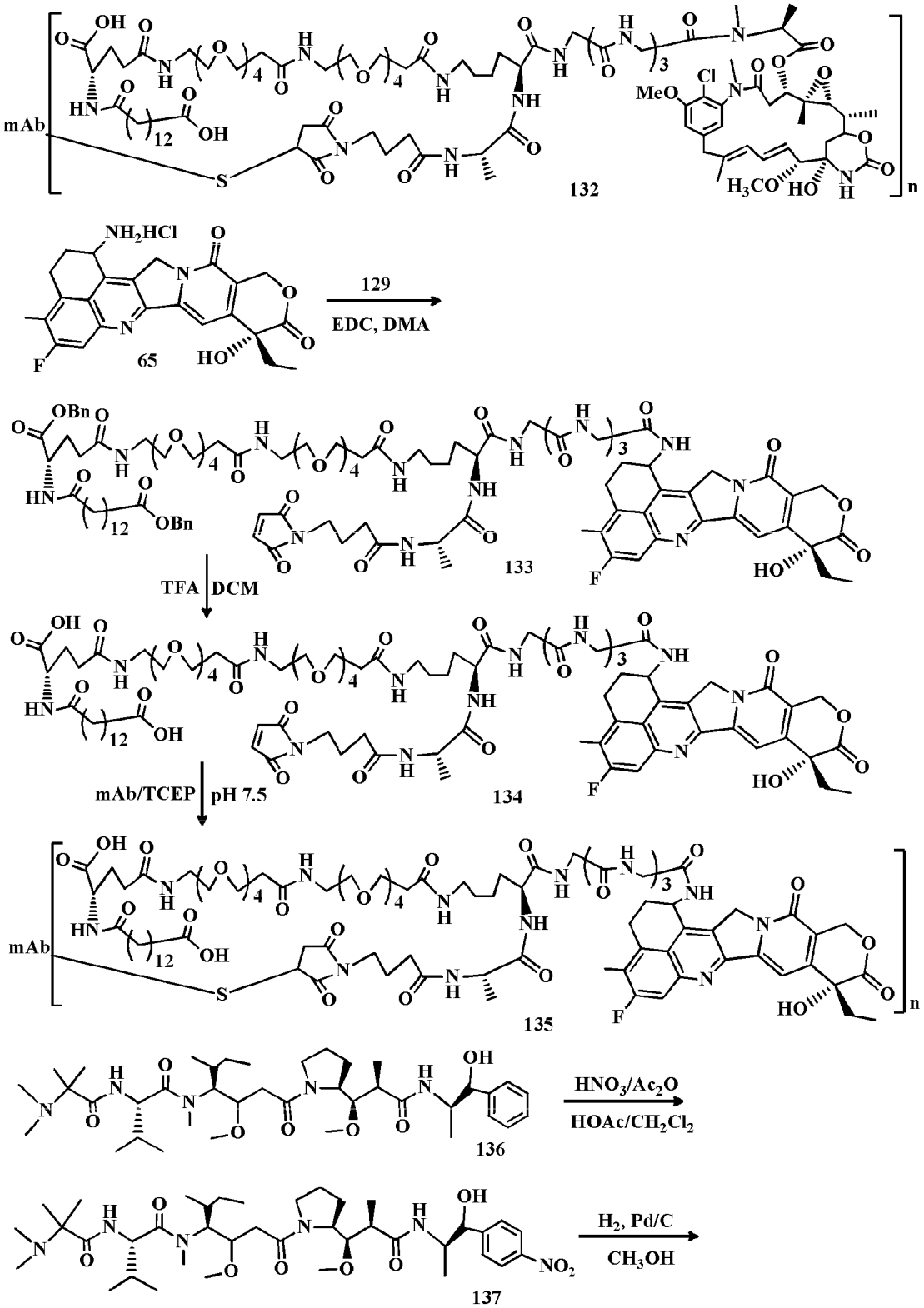
Фиг. 9


109
94
EDC, DMF
110
4N HCl
Диоксан, 4°C
111
NHS
EDC, DMF
112
113
DMA, pH 7.5 PBS
114
NHS
EDC, DMF
115
116
DMA, pH 7.5 PBS
117
4N HCl
Диоксан,4°C
118
119
DMA/pH 7.5, Na2HPO4
120
1~4
EDC, DMA
121
1~5
4N HCl
Диоксан,4°C
122
1~5
H2N–Лек. средство
123
Лек. средство
1~5
TFA, DCM

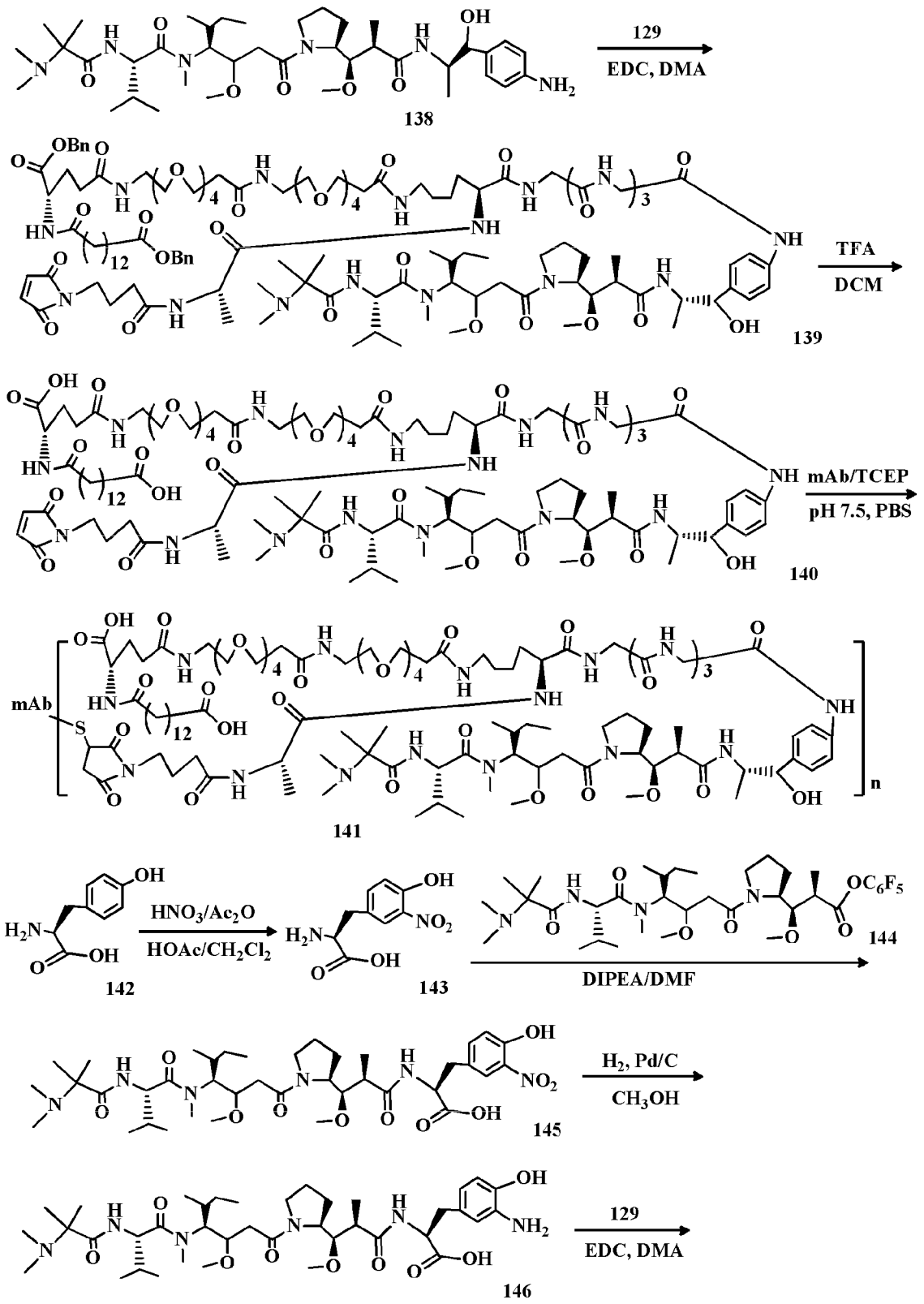
Фиг. 10


Лек. средство
124
mAb/TCEP
pH 7.5
Drug
125
mAb
n
126
118 (p1, p2 = 4, q1 =12)
DMA, pH 7.5 PBS
127
NHS
EDC, DMA
128
DMA, pH 7.5 PBS
129
May−NMA
EDC, DMA
130
TFA
DCM
131
mAb/TCEP
pH 7.5

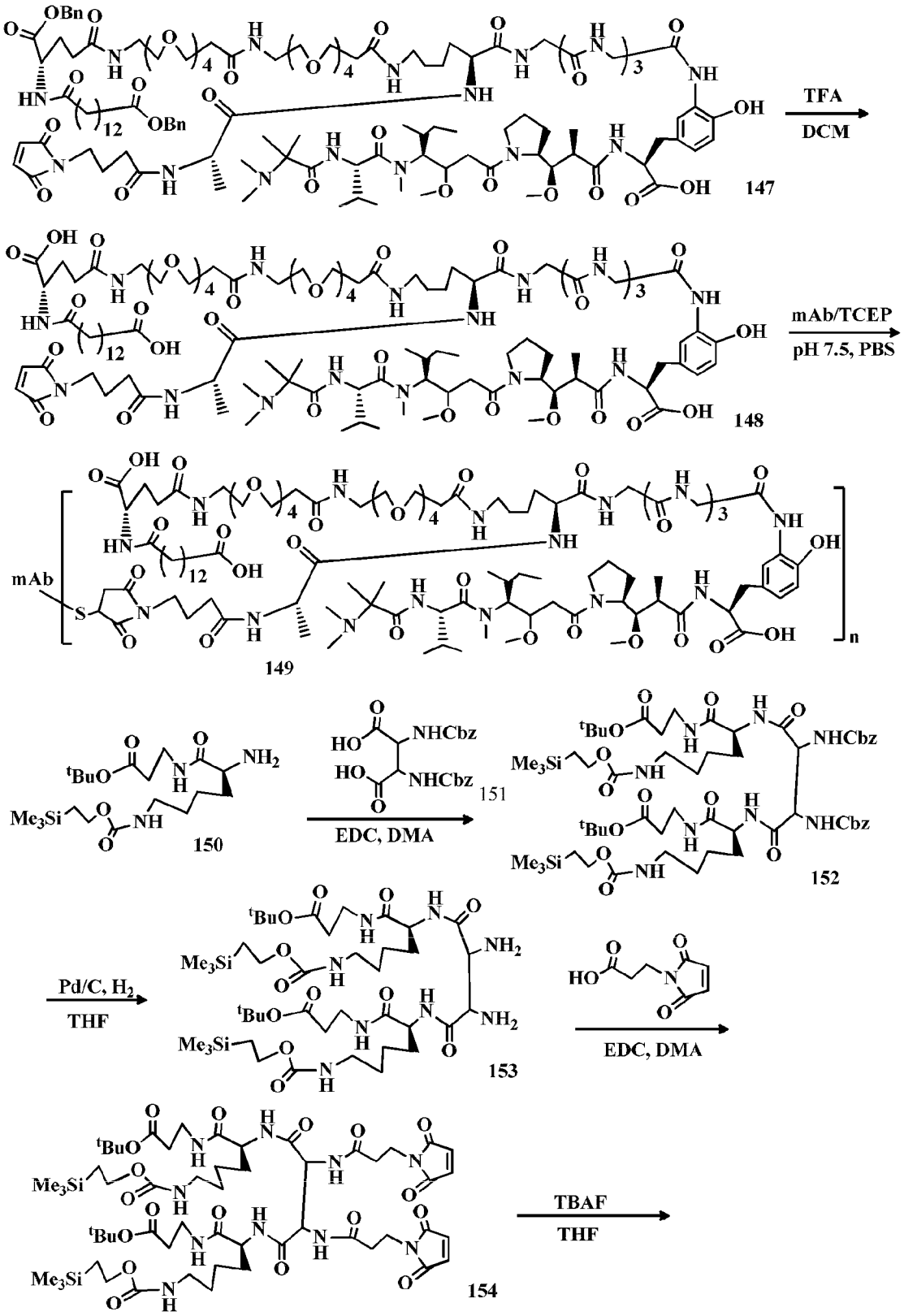
Фиг. 11


132
129
EDC, DMA
65
133
TFA
DCM
134
mAb/TCEP
pH 7.5
135
136
HNO_3/Ac_2O
$HOAc/CH_2Cl_2$
137
H_2, Pd/C
CH_3OH

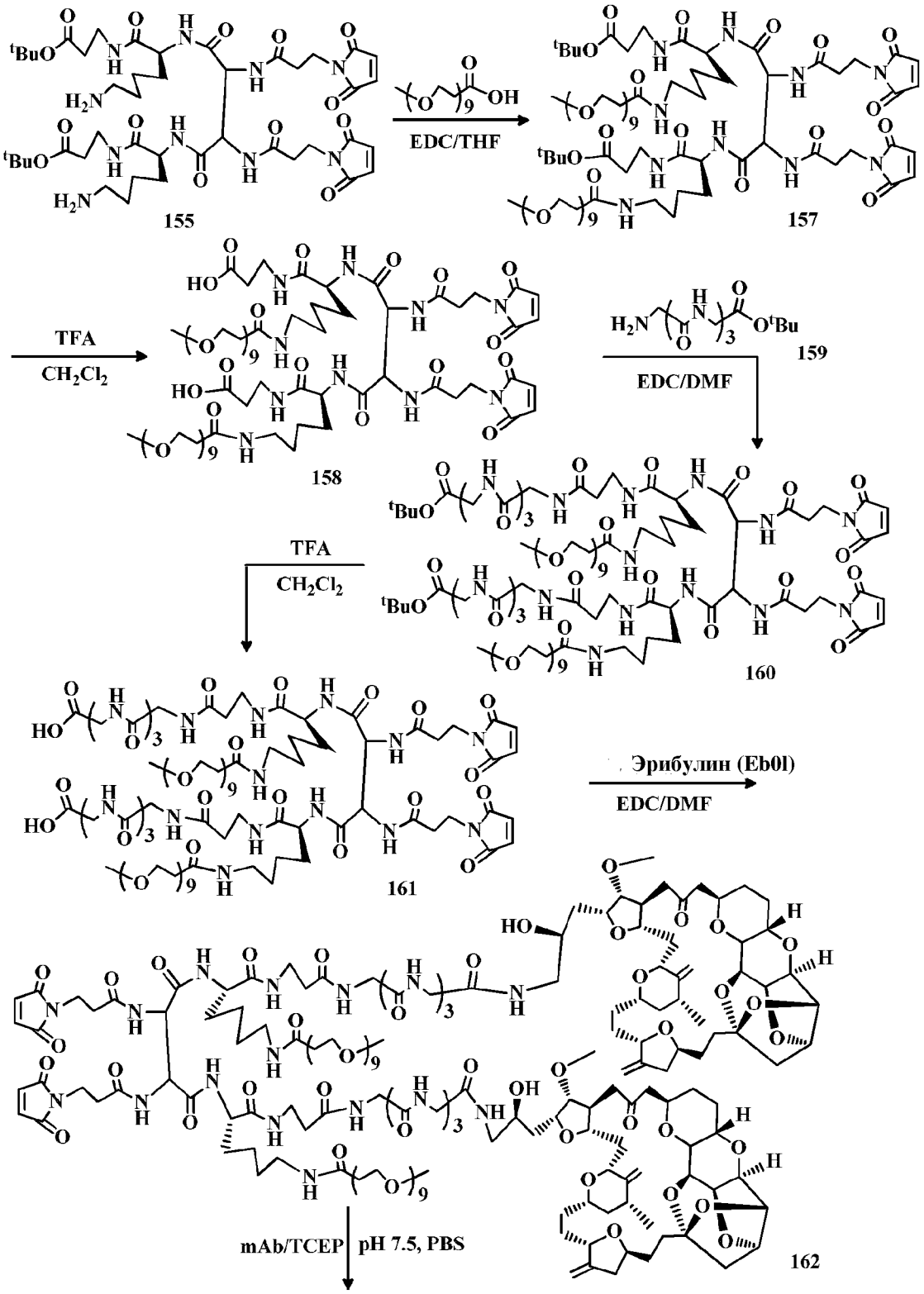
Фиг. 12


129
EDC, DMA
138
TFA
DCM
139
mAb/TCEP
pH 7.5, PBS
140
mAb
141
HNO3/Ac2O
HOAc/CH2Cl2
142
143
144
DIPEA/DMF
H2, Pd/C
CH3OH
145
146

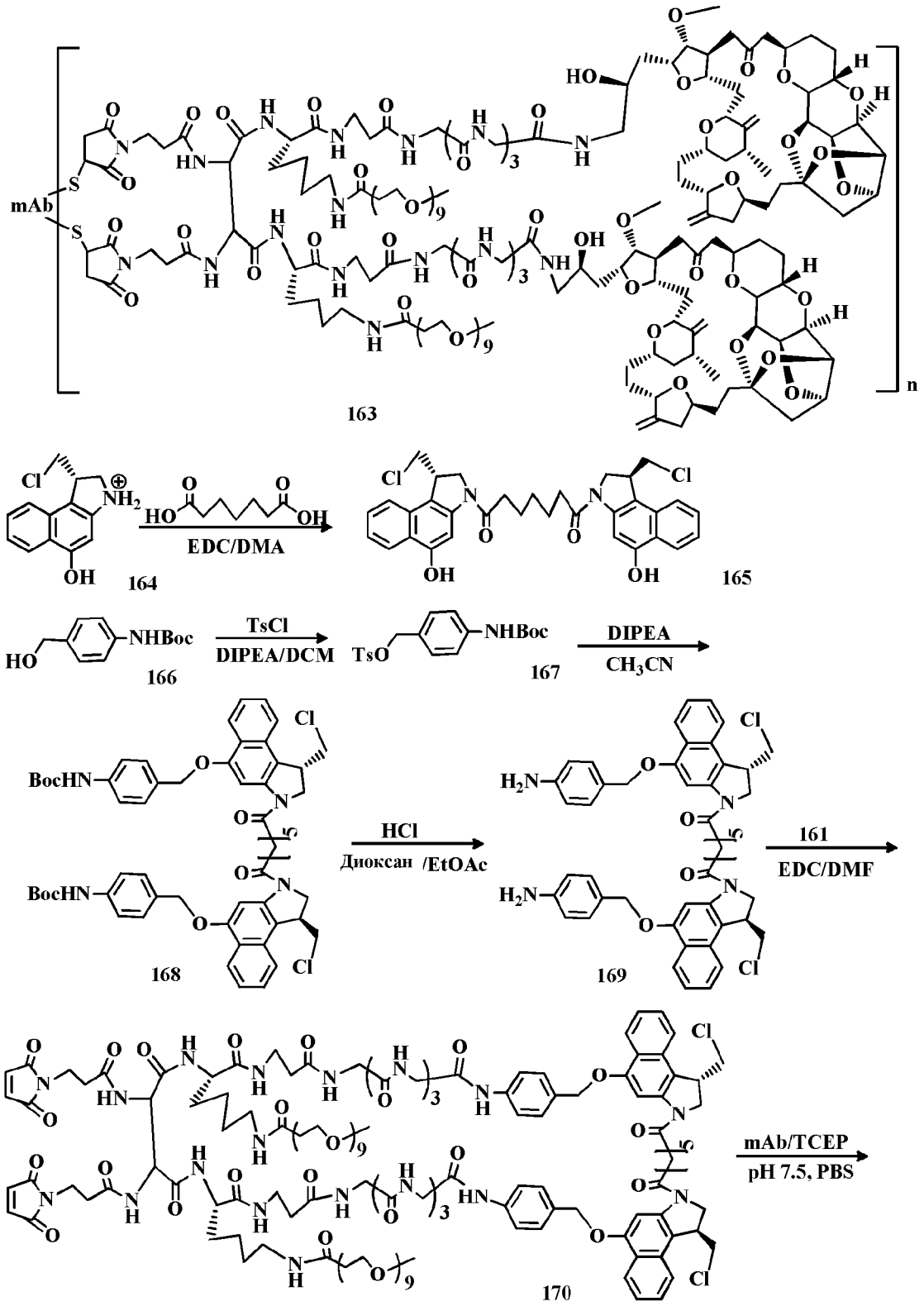
Фиг. 13


TFA
DCM
147
mAb/TCEP
pH 7.5, PBS
148
mAb
149
150
151
EDC, DMA
152
Pd/C, H2
THF
153
EDC, DMA
TBAF
THF
154

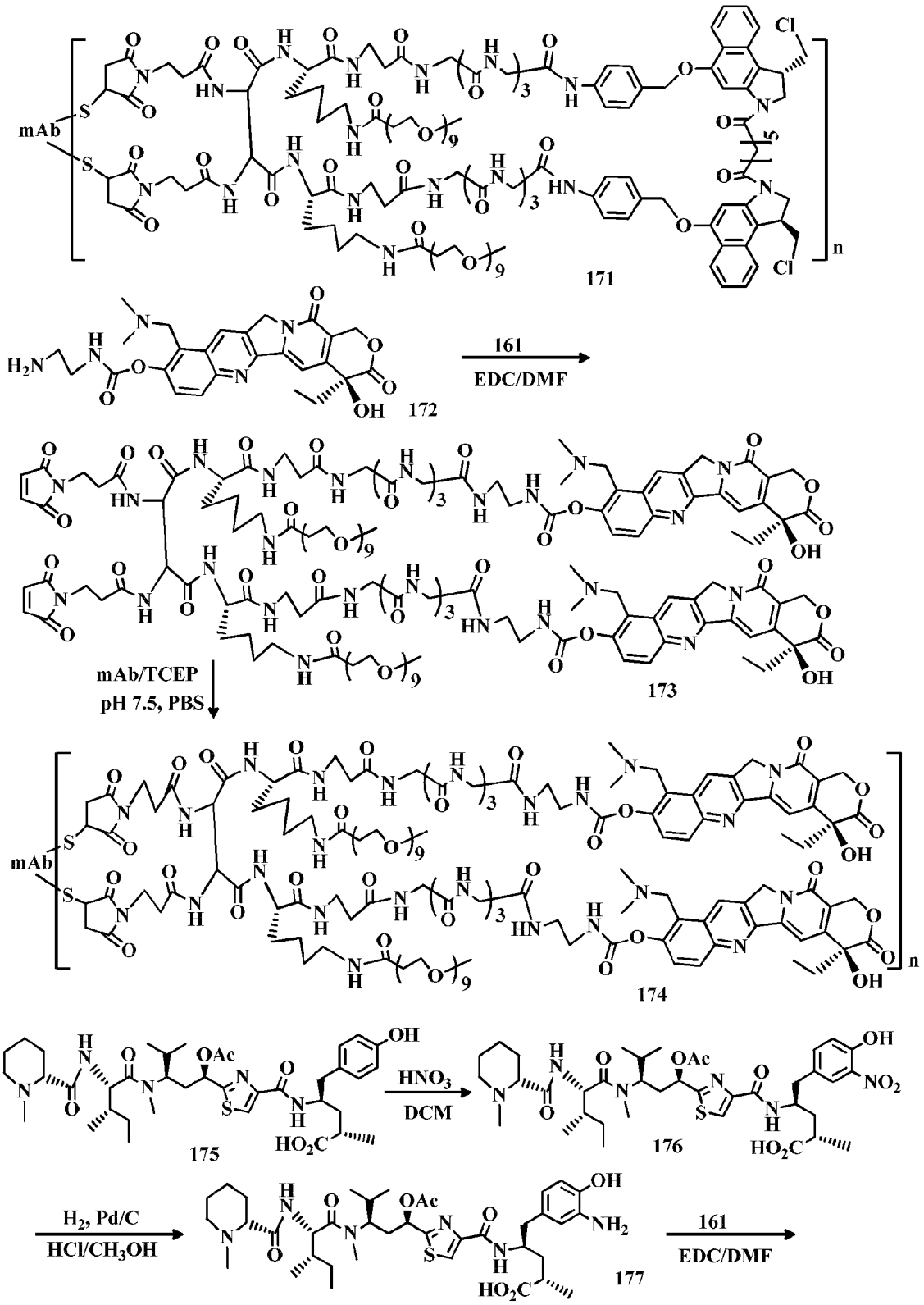
Фиг. 14


155
EDC/THF
157
TFA
CH_2Cl_2
158
159
EDC/DMF
160
TFA
CH_2Cl_2
161
Эрибулин (Eb0l)
EDC/DMF
162
mAb/TCEP
pH 7.5, PBS

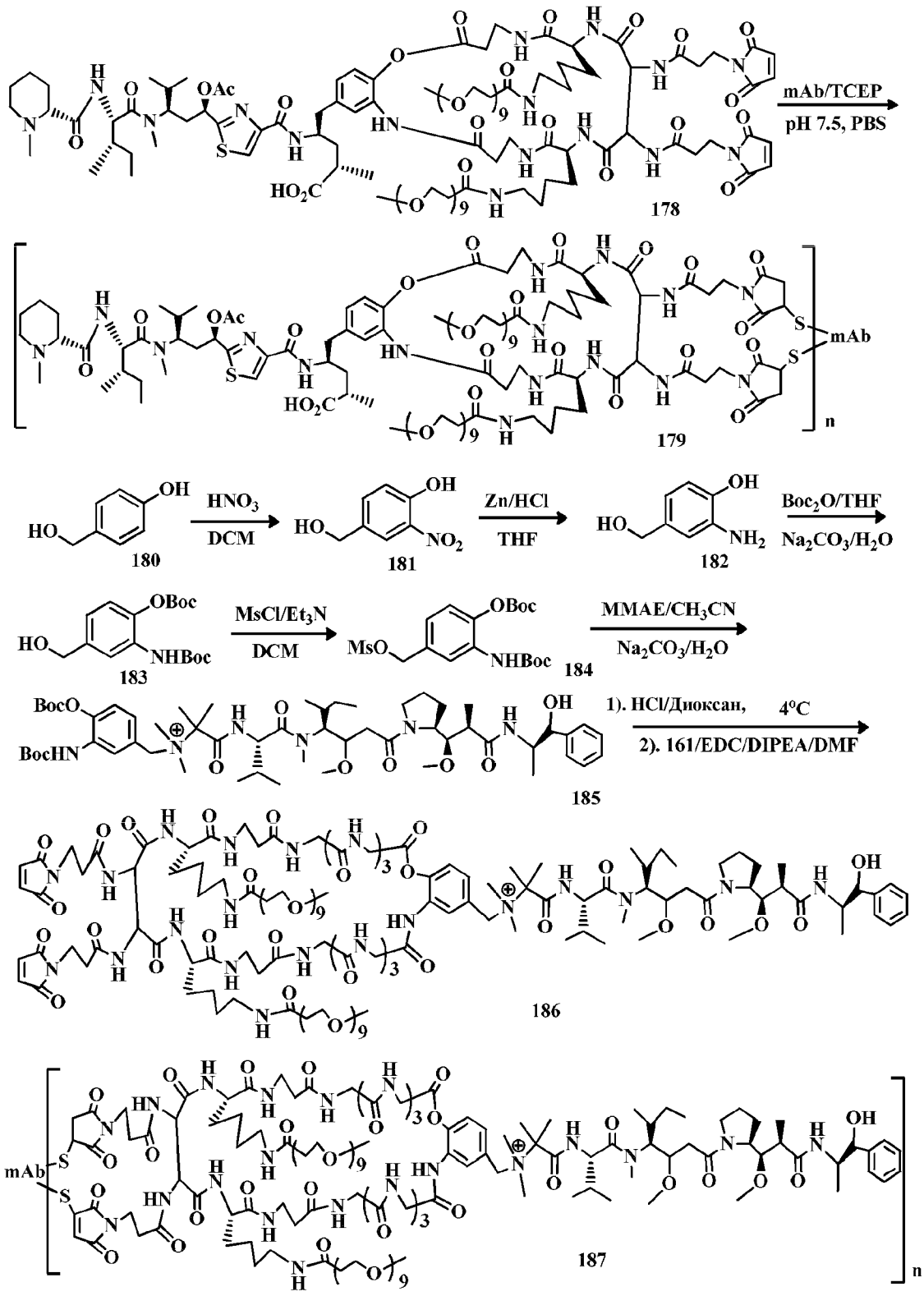
Фиг. 15


mAb
163
164
EDC/DMA
165
166
TsCl
DIPEA/DCM
167
DIPEA
CH3CN
168
HCl
Диоксан /EtOAc
169
161
EDC/DMF
170
mAb/TCEP
pH 7.5, PBS

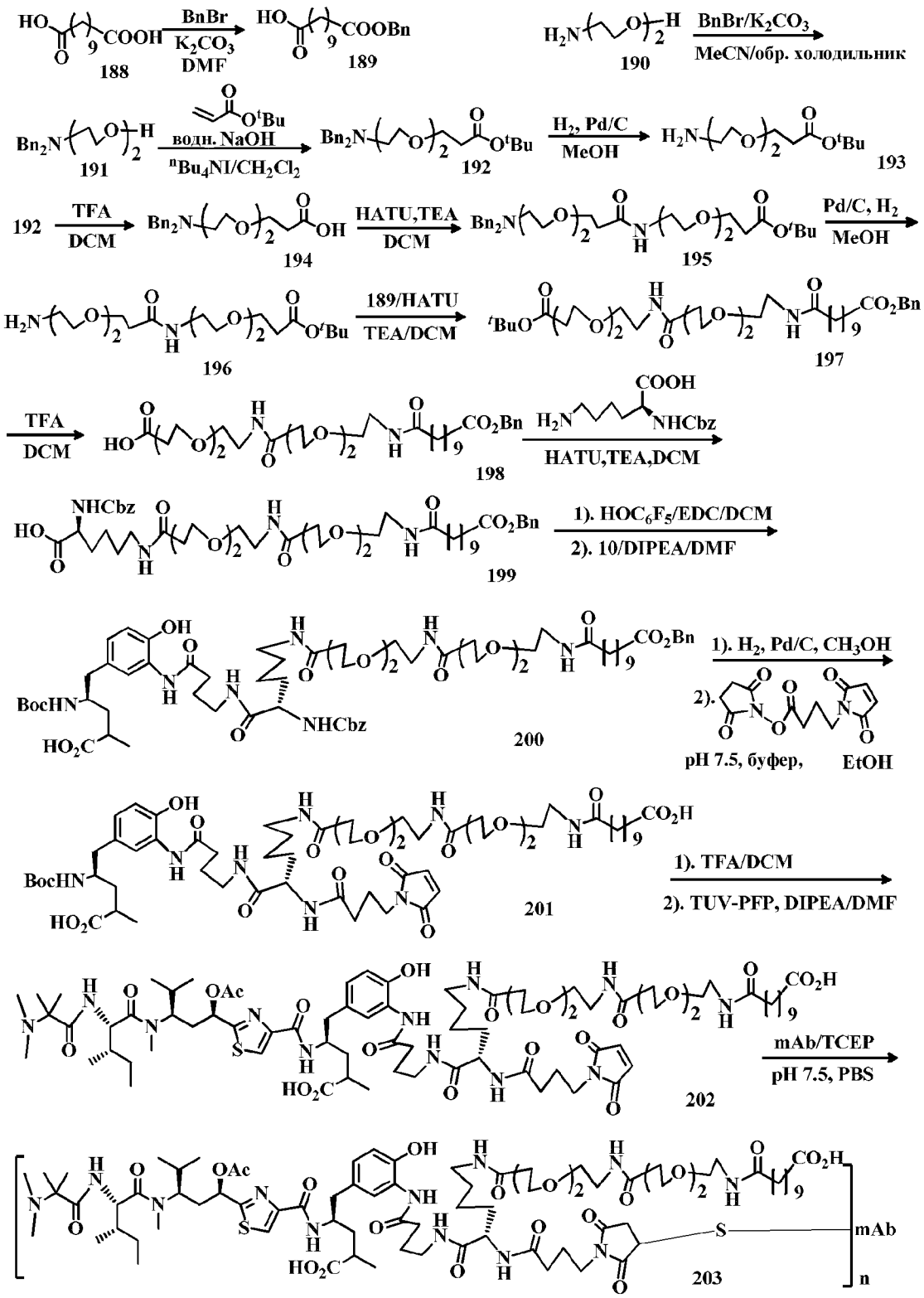
Фиг. 16


171
172
161
EDC/DMF
173
mAb/TCEP
pH 7.5, PBS
174
175
HNO3
DCM
176
H2, Pd/C
HCl/CH3OH
177
161
EDC/DMF

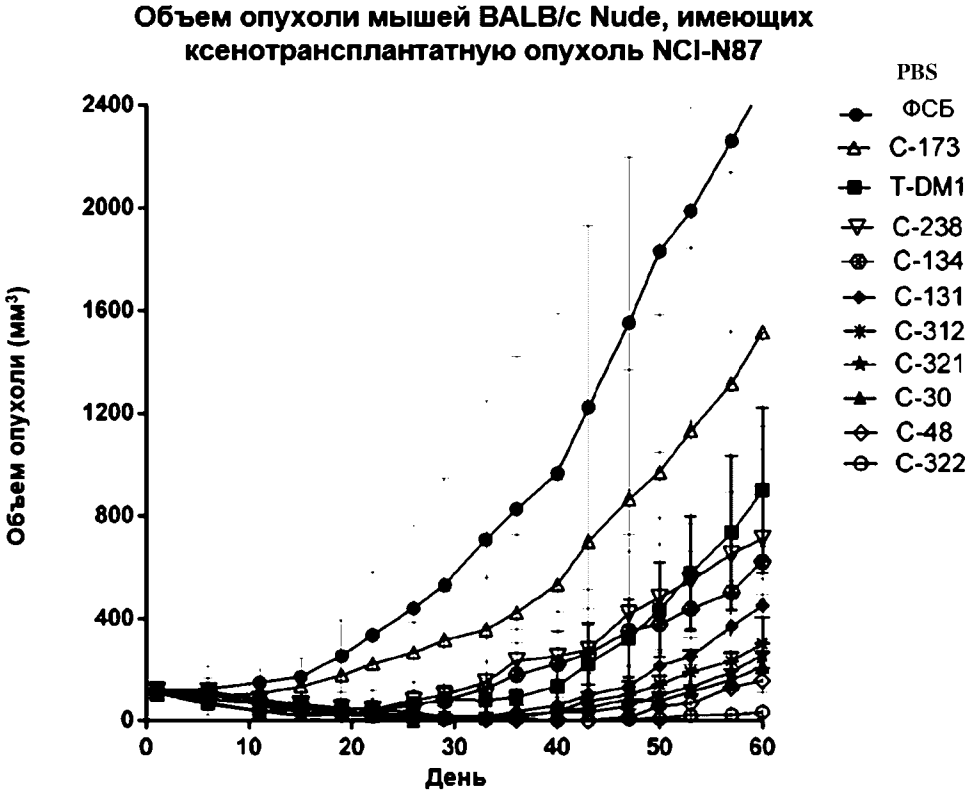
Фиг. 17


mAb/TCEP
pH 7.5, PBS
178
179
mAb
HNO3
DCM
Zn/HCl
THF
Boc2O/THF
Na2CO3/H2O
180
181
182
MsCl/Et3N
DCM
MMAE/CH3CN
Na2CO3/H2O
183
184
1). HCl/Диоксан, 4°C
2). 161/EDC/DIPEA/DMF
185
186
187

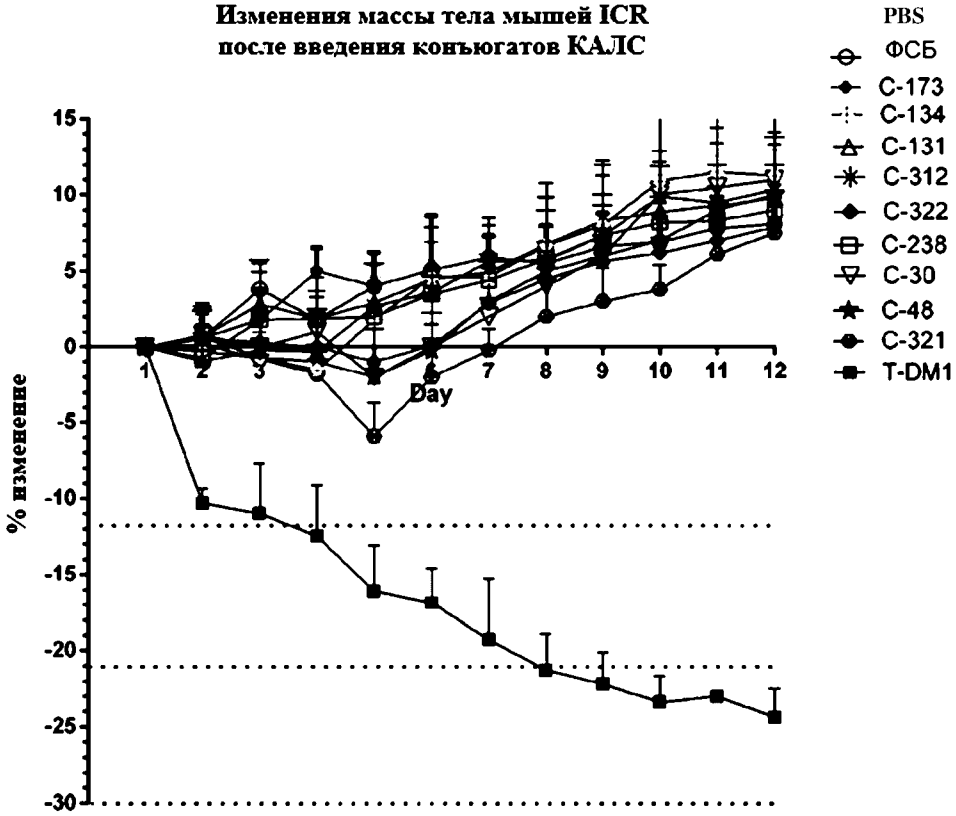
Фиг. 18


BnBr
K2CO3
DMF
188
189
BnBr/K2CO3
MeCN/обр. холодильник
190
водн. NaOH
nBu4NI/CH2Cl2
191
192
H2, Pd/C
MeOH
193
TFA
DCM
194
HATU,TEA
DCM
195
Pd/C, H2
MeOH
196
189/HATU
TEA/DCM
197
198
HATU,TEA,DCM
199
1). HOC6F5/EDC/DCM
2). 10/DIPEA/DMF
200
1). H2, Pd/C, CH3OH
2).
pH 7.5, буфер,
EtOH
201
1). TFA/DCM
2). TUV-PFP, DIPEA/DMF
202
mAb/TCEP
pH 7.5, PBS
203
mAb
n

Фиг. 19


Объем опухоли мышей BALB/c Nude, имеющих ксенотрансплантатную опухоль NCI-N87
Объем опухоли (мм³)
2400
2000
1600
1200
800
400
0
0
10
20
30
40
50
60
День
PBS
ФСБ
C-173
T-DM1
C-238
C-134
C-131
C-312
C-321
C-30
C-48
C-322

Фиг. 20


Изменения массы тела мышей ICR после введения конъюгатов КАЛС
% изменение
15
10
5
0
-5
-10
-15
-20
-25
-30
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
Day
PBS
ФСБ
C-173
C-134
C-131
C-312
C-322
C-238
C-30
C-48
C-321
T-DM1

Фиг. 21