

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202390646** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2023.10.31

(51) Int. Cl. *A61K 47/65* (2017.01)
A61K 47/68 (2017.01)
C07K 11/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2018.05.09

(54) **НОВЫЕ ПЕПТИДНЫЕ ЛИНКЕРЫ И КОНЪЮГАТЫ НА ОСНОВЕ КРИПТОФИЦИНА, ИХ ПОЛУЧЕНИЕ И ИХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ**

(31) **17305531.0**

(32) **2017.05.10**

(33) **EP**

(62) **201992667; 2018.05.09**

(71) Заявитель:
САНОФИ (FR)

(72) Изобретатель:

**Бушар Эрве, Брэн Мари-Присцилл,
Юбер Филипп (FR)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к соединениям формулы (I)
$$\text{RCG1-L-P,}$$

где RCG1 представляет собой реакционноспособную химическую группу, которая является реакционноспособной в отношении химической группы, присутствующей на полипептиде, таком как антитело; P представляет собой H, OH или активированный O; и L представляет собой конкретный линкер. Настоящее изобретение также относится к полезным нагрузкам с криптофицином, а также к конъюгатам на основе криптофицина, к композициям, содержащим их, и к их терапевтическому применению, особенно в качестве противораковых средств. Настоящее изобретение также относится к способу получения таких конъюгатов.

A1

202390646

202390646

A1

НОВЫЕ ПЕПТИДНЫЕ ЛИНКЕРЫ И КОНЬЮГАТЫ НА ОСНОВЕ КРИПТОФИЦИНА, ИХ ПОЛУЧЕНИЕ И ИХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

Настоящее изобретение относится к новым пептидным линкерам, к новым полезным нагрузкам с криптофицином, к новым конъюгатам на основе криптофицина, к композициям, содержащим их, и к их терапевтическому применению, такому как применение в качестве противораковых средств. Настоящее изобретение также относится к способу получения таких конъюгатов.

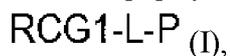
Данные линкеры ферментативно расщепляются в лизосомах клеток такими ферментами, как, например, катепсин В. Катепсин В представляет собой цистеиновую протеиназу, которая принадлежит к папаиновому семейству и является одной из основных лизосомальных протеиназ у млекопитающих. Он участвует в белковом обмене и в поддержании клеточного метаболизма, а также в нескольких других физиологических или патологических процессах, таких как, например, прогрессирование опухолей. Его сверхэкспрессия, как на генетическом, так и на белковом уровнях, была продемонстрирована в опухолях, при этом увеличение количества белка также приводит к увеличению ферментативной активности. Это служило основой для нескольких подходов, заключающихся в применении пролекарств химиотерапевтических средств (*Int J Oncology* **2013**, *42*, 373–383), а также концепции применения расщепляемых линкеров для получения конъюгатов антитело–лекарственное средство (ADC) (*Bioconj Chem* **2002**, *13*, 855–869). Что касается ADC, один общепринятый пептидный линкер состоит из последовательности валин–цитруллин (ValCit), соединенной с самоотщепляемым фрагментом, представляющим собой *n*-аминобензиловый спирт (*J Org Chem* **2002**, *67*, 1866–1872), как проиллюстрировано на примере 23 в WO2011/001052. Конструкция, полученная в результате связывания с цитотоксическим лекарственным средством, является довольно гидрофобной, что может быть затруднительным для достижения определенных соотношения лекарственного средства и антитела (DAR), мономерной чистоты и стабильности ADC. В действительности, несмотря на значительную оптимизацию конъюгации, пример 23 из WO 2011/00152 не может быть успешно конъюгирован с получением ADC с удовлетворительными DAR и мономерной чистотой, а именно $DAR > 2$ и $> 95\%$ мономеров.

Поскольку лекарственные средства, применяемые для ADC, такие как тубулин или ДНК–связывающие средства, являются по существу гидрофобными, существует потребность в более гидрофильных пептидных линкерах для улучшения растворимости полезной нагрузки, где полезная нагрузка представляет собой соединение, содержащее цитотоксическое лекарственное средство, конъюгированное с линкером, и, таким образом, потенциально его реакционной способности в отношении конъюгации с антителом и стабильности получаемого в результате ADC. Увеличение растворимости полезной нагрузки должно позволить увеличить DAR, мономерную чистоту и стабильность ADC,

особенно с точки зрения склонности к агрегации.

Краткое описание изобретения

Настоящее изобретение относится к новым пептидным соединениям, выбранным из соединений формулы (I):

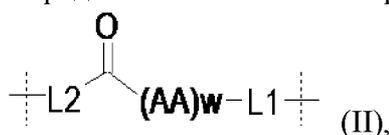


где

RCG1 представляет собой реакционноспособную химическую группу, которая является реакционноспособной в отношении химической группы, присутствующей на полипептиде, таком как антитело;

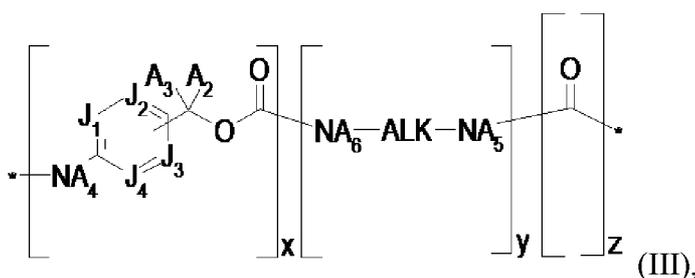
P представляет собой атом водорода, $-\text{OH}$ или активированный **O**, где активированный **O** определен ниже.

L представляет собой линкер формулы (II):



где

L1 представлен формулой (III):



где

если **P** представляет собой атом водорода, то $x=0$ или 1, и $y=1$, и $z=0$;

если **P** представляет собой $-\text{OH}$, то $x=y=z=0$;

если **P** представляет собой активированный **O**, то $x=1$, и $y=z=0$, или $x=y=z=1$;

J₁, **J₂**, **J₃** и **J₄** выбраны независимо друг от друга из CA_1 и **N**;

ALK представляет собой $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_{12})$ алкиленовую группу, например $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)$ алкилен, например, в форме $-(\text{CH}_2)_n-$, при этом n представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 12, и, например, находящееся в диапазоне от 1 до 6;

A₁, **A₂**, **A₃**, **A₄**, **A₅** и **A₆** представляют собой независимо друг от друга атом водорода или $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)$ алкильную группу, например, атом водорода или метильную группу.

(AA)_w представляет собой последовательность из w замещенных **AA_s**, или незамещенных аминокислот **AA_{ns}**, соединенных вместе посредством пептидных связей, где замещенная **AA_s** или незамещенная **AA_{ns}** определены ниже;

w представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 12, например, от 1 до 6, такое как 2 или 3;

- если **(AA)_w** содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту **AA_s**, то

L2 представляет собой одинарную связь, (C_1-C_6) алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i-O(C_1-C_6)$ алкильную группу, $(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, $CH(SO_3H)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $CH(SO_3H)$, (C_1-C_6) алкилциклогексильную группу, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-O(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-CH(SO_3H)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $CH(SO_3H)$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкилциклогексильную группу, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-O(C_1-C_6)$ алкильную группу, $NA_8-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $CH(SO_3H)$, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-O(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-NA_8-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $CH(SO_3H)$, $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- NA_7 , $NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, NA_7 -арильную группу, NA_7 -гетероарильную группу, (C_1-C_6) алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- NA_7 , $C(=O)-NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-NA_7$ -арильную группу, $C(=O)-NA_7$ -гетероарильную группу, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- NA_7 , $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- NA_7 , $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ или $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу;

- если **(AA)*w*** представляет собой последовательность из *w* незамещенных аминокислот **AA_{ns}**, то **L2** представляет собой $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, $(C_1-$

C_6 алкил- NA_7 -группу, $NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, NA_7 -арильную группу, NA_7 -гетероарильную группу, (C_1-C_6) алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, (C_1-C_6) алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ -группу, (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ -группу, (C_1-C_6) алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, (C_1-C_6) алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ -группу, (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- NA_7 -группу, $C(=O)-NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-NA_7$ -арильную группу, $C(=O)-NA_7$ -гетероарильную группу, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ -группу, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ -группу, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ -группу, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- NA_7 -группу, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ -группу, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ -группу, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- NA_7 -группу, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ -группу, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ -группу, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу или $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу;

A_7 представляет собой прямую или разветвленную, насыщенную или ненасыщенную, необязательно замещенную C_1-C_{160} углеводородную цепь, где необязательно по меньшей мере одно метиленовое звено независимо заменено $-NHC(=O)-$, $-N(алкил)C(=O)-$, $-C(=O)NH-$, $-C(=O)N(алкил)-$, $-OC(=O)-$, $-C(=O)O-$, $-OC(=O)O-$, $-CH(OH)-$, $-CH(SO_3H)-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-NHS(=O)_2-$, $-N(алкил)S(=O)_2-$, $-S(=O)_2NH-$, $-SO_2N(алкил)-$, $-P(=O)(OH)-$, $-P(=O)(OH)O-$, $-O-P(=O)(OH)-$, $-O-P(=O)(OH)-O-$ или гетероциклоалкильной группой, необязательно замещенной по меньшей мере одним заместителем, идентичным или отличающимся, выбранным из $-OH$, $-O$ алкила, $-алкила$, атома галогена, $-NH_2$, $-N$ алкила и $-N(алкил)_2$;

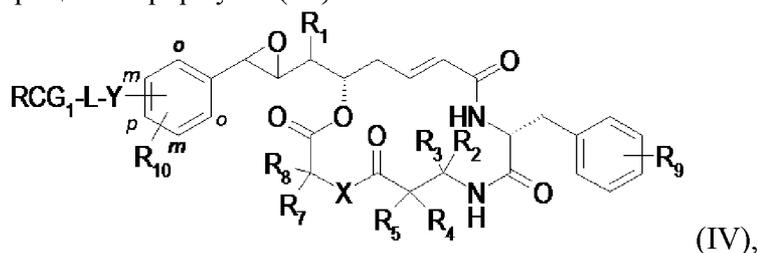
при этом следует понимать, что каждый A_7 , содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($SO_3^- +Na$);

A_8 представляет собой атом водорода или (C_1-C_6) алкильную группу, например, атом водорода или метильную группу;

i представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 50, в таком

диапазоне как от 1 до 35.

Настоящее изобретение дополнительно относится к полезным нагрузкам с криптофицином формулы (IV):



где

R₁ представляет собой (C₁–C₆)алкильную группу;

R₂ и **R₃** представляют собой независимо друг от друга атом водорода или (C₁–C₆)алкильную группу;

или в качестве альтернативы **R₂** и **R₃** образуют вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, (C₃–C₆)циклоалкил или (C₃–C₆)гетероциклоалкильную группу;

R₄ и **R₅** представляют собой независимо друг от друга атом водорода, или (C₁–C₆)алкильную группу, или группу (C₁–C₆)алкил–NH(R₁₂), или группу (C₁–C₆)алкил–OH, или группу (C₁–C₆)алкил–SH, или группу (C₁–C₆)алкил–CO₂H;

или в качестве альтернативы **R₄** и **R₅** образуют вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, (C₃–C₆)циклоалкил или (C₃–C₆)гетероциклоалкильную группу;

X представляет собой O или N(R₆);

R₆ представляет собой атом водорода или (C₁–C₆)алкильную группу;

R₇ и **R₈** представляют собой независимо друг от друга атом водорода, или (C₁–C₆)алкильную группу, или группу (C₁–C₆)алкил–CO₂H, или группу (C₁–C₆)алкил–N(C₁–C₆)алкил₂;

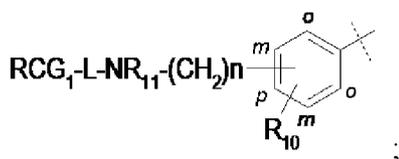
или в качестве альтернативы **R₇** и **R₈** образуют вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, (C₃–C₆)циклоалкильную группу или (C₃–C₆)гетероциклоалкильную группу;

R₉ представляет собой по меньшей мере один заместитель при фенильном ядре, выбранный независимо от других из атома водорода, –OH, (C₁–C₄)алкокси, атома галогена, –NH₂, –NH(C₁–C₆)алкила, –N(C₁–C₆)алкил₂, –NH(C₁–C₆)циклоалкила или (C₃–C₆)гетероциклоалкила;

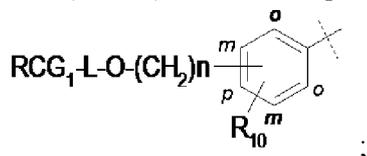
R₁₀ представляет собой по меньшей мере один заместитель при фенильном ядре, выбранный из атома водорода и (C₁–C₄)алкильной группы;

Y представляет собой

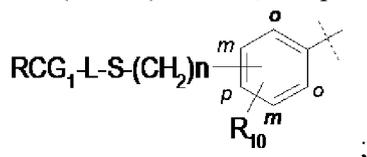
–NR₁₁–(C₁–C₆)алкил–, например –NR₁₁–(CH₂)_n–, такой как



–O–(C₁–C₆)алкил–, например –O–(CH₂)_n–, такой как



–S–(C₁–C₆)алкил–, например –S–(CH₂)_n–, такой как



при этом **Y** расположен в *орто*– (*o*), *мета*– (*m*) или *пара*– (*p*) положении фенильного ядра;

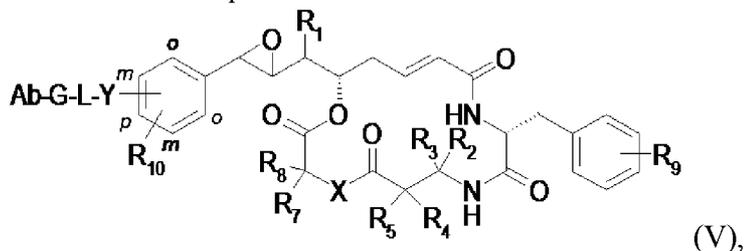
R₁₁ и **R**₁₂ представляют собой независимо друг от друга атом водорода или (C₁–C₆)алкил, например, атом водорода или метильную группу;

n представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 6.

L определен в формуле (I) и представляет собой линкер формулы (II);

RCG₁ представляет собой реакционноспособную химическую группу, присутствующую на конце линкера, при этом **RCG**₁ является реакционноспособным в отношении химической группы, присутствующей на полипептиде, таком как антитело.

Настоящее изобретение дополнительно относится к конъюгатам формулы (V):



где

R₁, **R**₂, **R**₃, **R**₄, **R**₅, **R**₆, **R**₇, **R**₈, **R**₉, **R**₁₀, **R**₁₁ и **R**₁₂ определены в формуле (IV);

X, **Y** и **L** определены в формуле (IV);

G представляет собой продукт реакции между **RCG**₁, реакционноспособной химической группой, присутствующей на конце линкера, и **RCG**₂, ортогональной реакционноспособной химической группой, присутствующей на антителе (**Ab**);

Ab представляет собой антитело.

Каждый из заместителей **R**₁ – **R**₁₂ может также принимать одну из пространственных конфигураций (например, **R** или **S** или в качестве альтернативы **Z** или **E**), как описано в примерах.

Соединения формулы (I), (II), (III), (IV) и (V) могут содержать по меньшей мере

один асимметричный атом углерода. Поэтому они могут существовать в форме энантиомеров или диастереоизомеров. Данные энантиомеры и диастереоизомеры, а также их смеси, включая рацемические смеси, составляют часть настоящего изобретения.

Соединения формулы (I), (II), (IV), включая проиллюстрированные соединения, могут существовать в форме оснований или солей присоединения кислот, например, фармацевтически приемлемых кислот. Например, если данные соединения содержат функциональную группу SO_3H , то они могут существовать в форме солей, содержащих SO_3^- и щелочной металл, таких как соли, содержащие SO_3^- и натрий ($\text{SO}_3^- \text{Na}^+$).

Определения

В контексте настоящего изобретения некоторые термины имеют следующие определения.

Алкенильная группа: углеводородная группа, полученная путем удаления одного атома водорода от алкена. Алкенильная группа может быть линейной или разветвленной. Примеры, которые могут быть упомянуты, включают этенил ($-\text{CH}=\text{CH}_2$, который также называют винилом) и пропенил ($-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$, который также называют аллилом).

Алкоксигруппа: группа $-\text{O}-$ алкил, в которой алкильная группа определена ниже.

Алкильная группа: линейная или разветвленная насыщенная алифатическая углеводородная группа, полученная путем удаления атома водорода от алкана. Примеры, которые могут быть упомянуты, включают метильную, этильную, пропильную, изопропильную, бутильную, изобутильную, *трет*-бутильную, пентильную, неопентильную, 2,2-диметилпропильную и гексильную группы.

Алкиленовая группа: насыщенная двухвалентная группа с эмпирической формулой $-\text{C}_n\text{H}_{2n}-$, полученная путем удаления двух атомов водорода от алкана. Алкиленовая группа может быть линейной или разветвленной. Примеры, которые могут быть упомянуты, включают метиленовую ($-\text{CH}_2-$), этиленовую ($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$), пропиленовую ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), бутиленовую ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$) и гексиленовую ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$) группы или следующие разветвленные группы



; например, алкиленовую группу, представленную формулой $-(\text{CH}_2)_n-$, при этом n представляет собой целое число; в диапазоны значений включены пределы (например, диапазон типа " n ", находящийся в диапазоне от 1 до 6" или "который находится в диапазоне от 1 до 6" включает пределы 1 и 6).

Антитело: антитело с аффинностью в отношении биологической мишени, например моноклональное антитело. Функцией антитела является направление биологически активного соединения в качестве цитотоксического соединения к биологической мишени. Антитело может быть моноклональным, поликлональным или полиспецифическим; оно также может представлять собой фрагмент антитела; оно также может представлять собой мышинное, химерное, гуманизированное или человеческое

антитело. "Антитело" может представлять собой природное или традиционное антитело, в котором две тяжелые цепи связаны друг с другом с помощью дисульфидных связей и каждая тяжелая цепь связана с легкой цепью с помощью дисульфидной связи (также называется "полноразмерным антителом"). Термины "традиционное (или полноразмерное) антитело" относятся как к антителу, содержащему сигнальный пептид (или пропептид, при наличии такового), так и к зрелой форме, полученной при секреции и протеолитической обработке цепи(цепей). Существует два типа легких цепей, лямбда (λ) и каппа (κ). Существуют пять основных классов (или изотипов) тяжелых цепей, определяющих функциональную активность молекулы антитела: IgM, IgD, IgG, IgA и IgE. Каждая цепь содержит домены с отличающейся последовательностью. Легкая цепь содержит два домена или области, переменный домен (VL) и константный домен (CL). Тяжелая цепь содержит четыре домена, переменный домен (VH) и три константных домена (CH1, CH2 и CH3, совместно именуемых CH). Переменные области как легких (VL), так и тяжелых (VH) цепей определяют распознавание при связывании и специфичность к антигену. Домены константных областей легких (CL) и тяжелых (CH) цепей придают важные биологические свойства, такие как объединение цепей антитела, секреция, перемещение через плаценту, связывание комплемента и связывание с Fc-рецепторами (FcR). Fv-фрагмент представляет собой N-концевую часть Fab-фрагмента иммуноглобулина и состоит из переменных частей одной легкой цепи и одной тяжелой цепи. Специфичность антитела заключается в структурной комплементарности между паратопом антитела и антигенной детерминантой. Паратопы антител образованы остатками главным образом из гиперпеременных или определяющих комплементарность областей (CDR). Остатки из негиперпеременных или каркасных областей (FR) иногда влияют на общую структуру домена и, следовательно, паратоп. CDR относятся к аминокислотным последовательностям, которые вместе определяют аффинность и специфичность связывания природной Fv-области нативного связывающего участка иммуноглобулина. Каждая из легких и тяжелых цепей иммуноглобулина имеет три CDR, обозначенные как CDR1-L, CDR2-L, CDR3-L и CDR1-H, CDR2-H, CDR3-H соответственно. Следовательно, антигенсвязывающий участок традиционного антитела содержит шесть CDR, которые включают набор CDR из каждой из V-областей тяжелой и легкой цепей.

Используемый в данном документе термин "антитело" обозначает как традиционные (полноразмерные) антитела и их фрагменты, так и однодоменные антитела и их фрагменты, такие как переменная область тяжелой цепи однодоменных антител. Фрагменты (традиционных) антител, как правило, содержат часть интактного антитела, такую как антигенсвязывающая область или переменная область интактного антитела, и сохраняют биологическую функцию традиционного антитела. Примеры таких фрагментов включают Fv, Fab, F(ab')₂, Fab', dsFv, (dsFv)₂, scFv, sc(Fv)₂, нанотела и диатела.

Функцией антитела является направление биологически активного соединения в качестве цитотоксического соединения к биологической мишени.

Арильная группа: циклическая ароматическая группа, содержащая от 5 до 10 атомов углерода. Примеры арильных групп включают фенил, толил, ксиллил, нафтил.

Биологическая мишень: антиген (или группа антигенов), например, расположенный на поверхности раковых клеток или стромальных клеток, ассоциированных с данной опухолью; такие антигены могут представлять собой, например, рецептор фактора роста, продукт онкогена или продукт гена, представляющего собой мутированный "супрессор опухоли", молекулу, связанную с ангиогенезом, или адгезивную молекулу.

Конъюгат: конъюгат антитело–лекарственное средство или ADC, т. е. полипептид, такой как антитело, к которому ковалентно присоединена посредством линкера по меньшей мере одна молекула цитотоксического соединения.

Циклоалкильная группа: циклическая алкильная группа, содержащая от 3 до 6 атомов углерода, включенных в циклическую структуру. Примеры, которые могут быть упомянуты, включают циклопропильную, циклобутильную, циклопентильную и циклогексильную группы.

DAR (соотношение лекарственного средства и антитела): среднее число цитотоксических молекул, присоединенных посредством линкера к антителу.

Галоген: любой из четырех элементов, представляющих собой фтор, хлор, бром и йод.

Гетероарильная группа: арильная группа, содержащая от 2 до 10 атомов углерода и от 1 до 5 гетероатомов, таких как азот, кислород или сера, включенных в кольцо и присоединенных к атомам углерода с образованием кольца. Примеры гетероарильных групп включают пиридил, пиримидил, тиенил, имидазолил, триазолил, индолил, имидазопиридил, пиразолил.

Гетероциклоалкильная группа: циклоалкильная группа, содержащая от 2 до 8 атомов углерода и от 1 до 3 гетероатомов, таких как азот, кислород или сера, включенных в кольцо и присоединенных к атомам углерода с образованием кольца. Примеры включают азиридилил, пирролидинил, пиперидинил, пиперазинил, морфолинил, тиоморфолинил, тетрагидрофуранил, тетрагидротиофуранил, тетрагидропиранил, азетидинил, оксетанил и пиранил.

Линкер: группа атомов или одинарная связь, с помощью которых можно ковалентно присоединять цитотоксическое соединение к полипептиду, такому как антитело, чтобы образовать конъюгат.

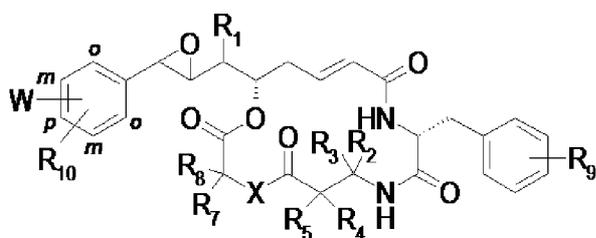
Полезная нагрузка: цитотоксическое соединение, к которому ковалентно присоединен линкер.

Реакционноспособная химическая группа: группа атомов, которая может способствовать химической реакции или вступать в нее.

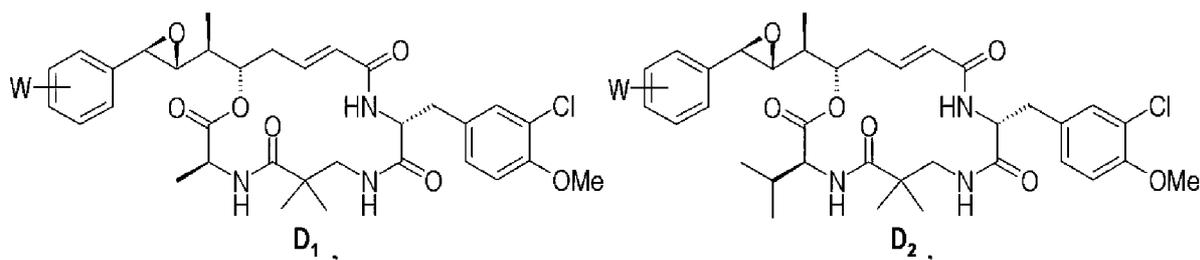
Кроме того, как указано во всем настоящем изобретении, функциональная группа SO_3H может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($\text{SO}_3^- \text{Na}^+$).

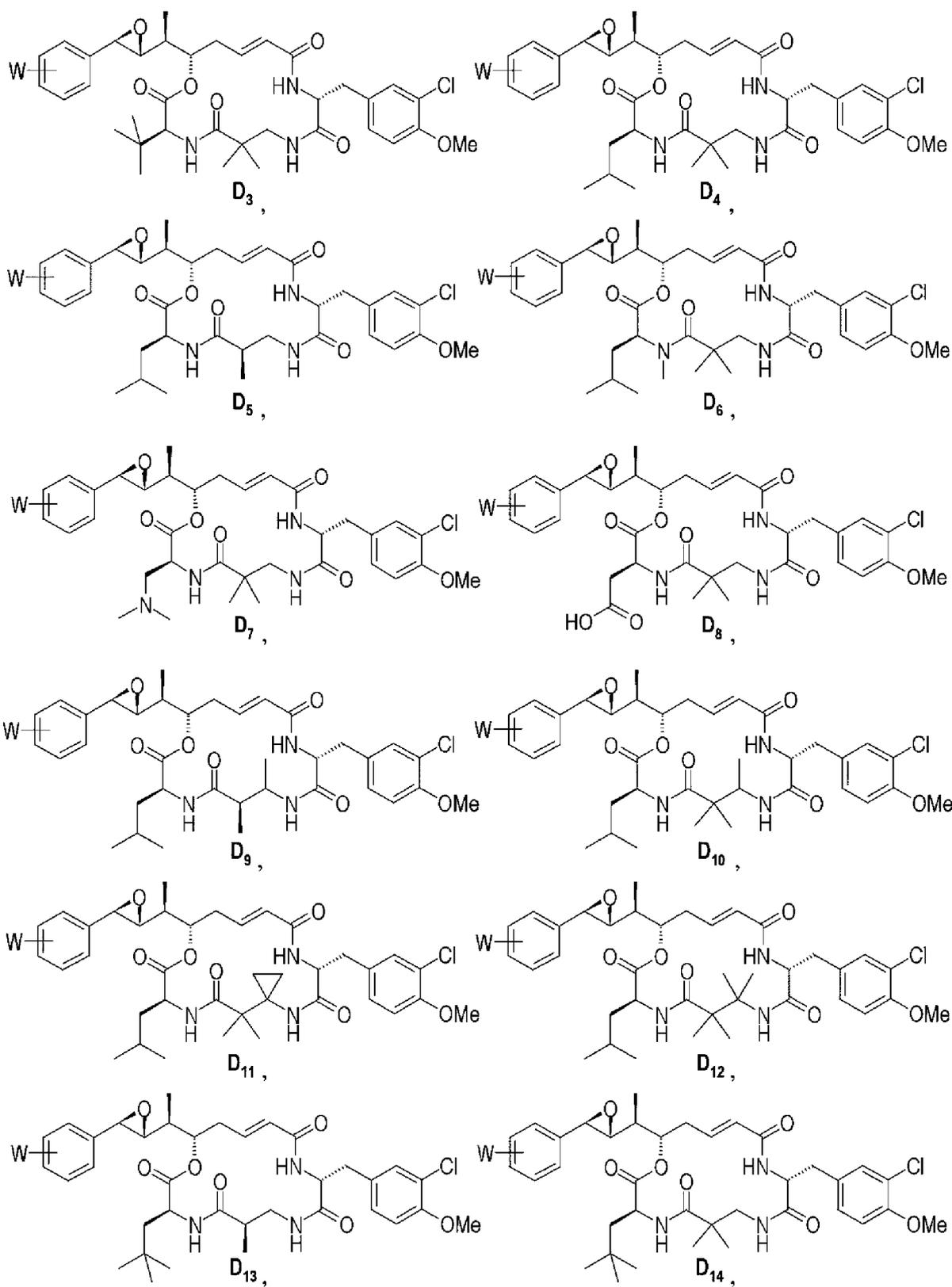
Сокращения

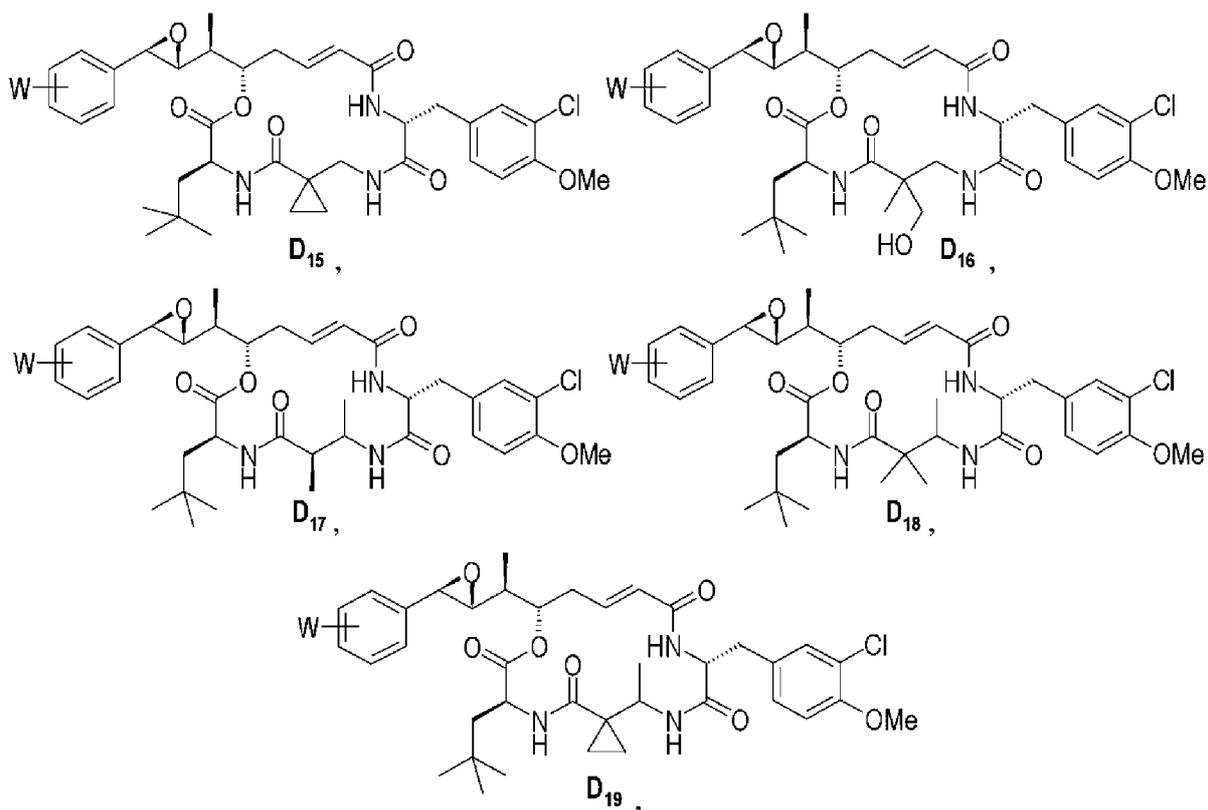
ADC: конъюгат антитело–лекарственное средство; ALK: (C₁–C₁₂)алкиленовая группа, например (C₁–C₆)алкилен, например, в форме $-(CH_2)_n-$, при этом n представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 12, и, например, находящееся в диапазоне от 1 до 6; водн.: водный; Ar: аргон ; AUC: площадь под кривой; BСN: (1 α ,8 α ,9 β)–бицикло[6.1.0]нон–4–ин–9–метанол; CHCl₃: хлороформ; CH₃CN: ацетонитрил; CO₂: диоксид углерода; CR: полный ответ; крипто обозначает единицу формулы



, при этом крипто обозначает, например, соединение криптофицина из примера, одно из соединений криптофицина **D₁–D₈**, описанных в **WO2011/001052**, или одно из представленных ниже соединений криптофицина **D₁–D₁₉**, описанных в **PCT/EP2016/076603**:







где **W** представляет собой

(C₁–C₆)алкил–NH(R₁₁), например (CH₂)_nNHR₁₁;

(C₁–C₆)алкил–OH, например (CH₂)_nOH;

(C₁–C₆)алкил–SH, например (CH₂)_nSH;

CO₂H или C(=O)NH₂;

(C₁–C₆)алкил–CO₂H или (C₁–C₆)алкил–C(=O)NH₂ или

(C₁–C₆)алкил–N₃.

W расположен в *орто*– (*o*), *мета*– (*m*) или *пара*– (*p*) положении фенильного ядра;

R₁₁ представляет собой независимо друг от друга атом водорода или (C₁–C₆)алкильную группу, например, атом водорода или метильную группу;

n представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 6;

d: день; **DAR**: соотношение лекарственного средства и антитела (D1 относится к ADC с DAR, составляющим 1, D2 относится к ADC с DAR, составляющим 2, и т. д.); **DVCO**: дибензилциклооктин; **DCC**: N, N'–дициклогексилкарбодимид; **DCM**: дихлорметан; **DIEA**: N, N–диизопропилэтиламин; **DMA**: диметилацетамид; **DMAP**: 4–(диметиламино)пиридин; **DMEM**: модифицированная по способу Дульбекко среда Игла; **DMEM/F12**: модифицированная по способу Дульбекко среда и питательная смесь F–12; **DMF**: диметилформамид; **DMSO**: диметилсульфоксид; **DPBS**: фосфатно–солевой буферный раствор Дульбекко; **DSC**: N, N'–дисукцинимидилкарбонат; **EDC**: 1–(3–диметиламинопропил)–3–этилкарбодимид; **EDTA**: этилендиаминтетрауксусная кислота; **EEDQ**: N–этоксикарбонил–2–этокси–1,2–дигидрохиолин; **ELSD**: испарительный детектор светорассеяния; экв.: эквивалент; **ES**: электрораспыление; **EtOAc**: этилацетат; **Et₂O**: простой диэтиловый эфир; прим.: пример; **FCS**: эмбриональная бычья сыворотка;

Fmoc: 9-флуоренилметоксикарбонил; GI: электроиндукционная группа; ч.: час; H₂O: вода; Hal: галоген; HATU: 1-[бис(диметиламино)метилен]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридиний-3-оксида гексафторфосфат; HCl: хлористоводородная кислота; HEPES: 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота; HIC: хроматография гидрофобного взаимодействия; HOAt: 1-гидрокси-7-азабензотриазол; HOBt: 1-гидроксibenзотриазол; HPLC: высокоэффективная жидкостная хроматография; HRMS: масс-спектрометрия с высоким разрешением; IC₅₀: средняя ингибирующая концентрация; т. е.: *id est*, что означает то есть; IEC: ионообменная хроматография; iPrOH: 2-пропанол; iPr₂O: простой диизопропиловый эфир; i.v.: внутривенно; MeCN: ацетонитрил; MeOH: метанол; MeTHF: 2-метилтетрагидрофуран; MFCO: 1-фтор-2-циклооктин-1-карбоновая кислота; MgSO₄: сульфат магния; мин.: минута; MsCl: метансульфонилхлорид; MTBE: простой метил-*трет*-бутиловый эфир; MTD: максимальная переносимая доза; NaNH: гидрид натрия; NaCl: хлорид натрия; NaHCO₃: гидрокарбонат натрия; н. о.: не определено; NHS: N-гидроксисукцинимид; NMP: 1-метил-2-пирролидон; ЯМР: ядерный магнитный резонанс; ПАВА: *пара*-аминобензиловый спирт; PBS: фосфатно-солевой буферный раствор; PEG: полиэтиленгликоль; PNGаза F: пептид-N-гликозидаза F; ppm: части на миллион; PR: частичный ответ; QS: *quantum satis*, что означает требуемое количество; Q-ToF: квадрупольная времяпролетная; колич.: количественный выход; RCG: реакционноспособная химическая группа; к. т.: комнатная температура; насыщ.: насыщенный; s.c.: подкожно; SCID: тяжелый комбинированный иммунодефицит; SEC: эксклюзионная хроматография; ТЗР: пропилфосфоновый ангидрид; TBAF: фторид тетрабутиламмония; TFA: трифторуксусная кислота; TFS: выживший без опухоли; THF: тетрагидрофуран; TLC: тонкослойная хроматография; t_{1/2}: период полужизни; t_R: время удерживания; UPLC: сверхэффективная жидкостная хроматография; УФ: ультрафиолетовое излучение.

Фигуры

Фигура 1. Эффективность *in vivo* прим. 6 в отношении ксенотрансплантата MDA-MB-231 у SCID-мышей

Фигура 2. Эффективность *in vivo* прим. 16, прим. 19, прим. 23 и прим. 32 в отношении ксенотрансплантата MDA-MB-231 у SCID-мышей при 2,5 мг/кг

Фигура 3. Эффективность *in vivo* прим. 16, прим. 19, прим. 23 и прим. 32 в отношении ксенотрансплантата MDA-MB-231 у SCID-мышей при 1,25 мг/кг

Фигура 4. Эффективность *in vivo* прим. 26 в отношении ксенотрансплантата MDA-MB-231 у SCID-мышей

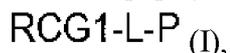
Фигура 5. Эффективность *in vivo* прим. 29 в отношении ксенотрансплантата MDA-MB-231 у SCID-мышей

Фигура 6. Эффективность *in vivo* прим. 35 в отношении ксенотрансплантата MDA-MB-231 у SCID-мышей

Фигура 7. Эффективность *in vivo* прим. 41 в отношении ксенотрансплантата MDA-MB-231 у SCID-мышей

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение относится к новым пептидным соединениям, выбранным из соединений формулы (I):



где

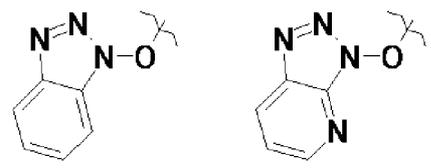
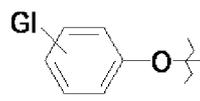
RCG1 представляет собой реакционноспособную химическую группу, которая является реакционноспособной в отношении химической группы, присутствующей на полипептиде, таком как антитело;

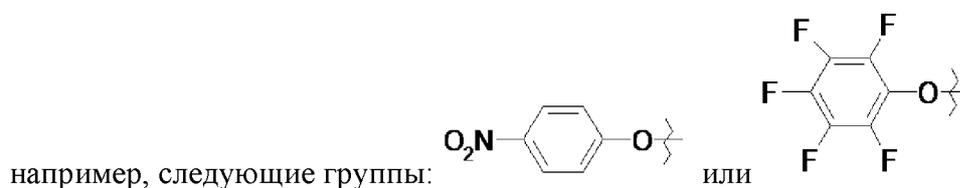
L представляет собой линкер формулы (II), определенной ниже;

P представляет собой атом водорода, –ОН или активированный О.

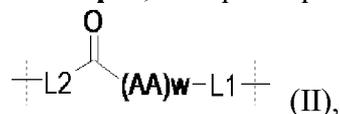
Примеры активированного О, которые могут быть упомянуты, включают



или , группу , в которой Gl представляет собой по меньшей мере одну электроиндукционную группу, такую как –NO₂ или атом галогена (–Hal), например атом фтора (–F). Они могут представлять собой,

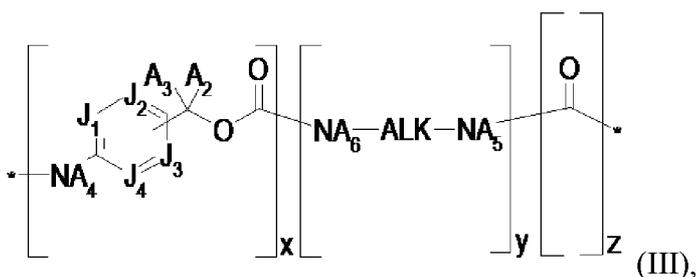


Линкер L, который присутствует в формуле (I), представлен формулой (II):



где

L1 представлен формулой (III):



где

если Р представляет собой атом водорода, то $x=0$ или 1, и $y=1$, и $z=0$;

если Р представляет собой $-OH$, то $x=y=z=0$;

если Р представляет собой активированный О, то $x=1$, и $y=z=0$, или $x=y=z=1$;

J₁, J₂, J₃ и J₄ выбраны независимо друг от друга из CA_1 и N;

ALK представляет собой (C_1-C_{12}) алкиленовую группу, например (C_1-C_6) алкилен, например, в форме $-(CH_2)_n-$, при этом n представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 12, и, например, находящееся в диапазоне от 1 до 6;

A₁, A₂, A₃, A₄, A₅ и A₆ представляют собой независимо друг от друга атом водорода или (C_1-C_6) алкильную группу, например, атом водорода или метильную группу.

(AA)_w представляет собой последовательность из w замещенных **AA_s**, или незамещенных аминокислот **AA_{ns}**, соединенных вместе посредством пептидных связей, где замещенная **AA_s** или незамещенная **AA_{ns}** определены ниже;

w представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 12, например, от 1 до 6, такое как 2 или 3;

если **(AA)_w** содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту **AA_s**, то **L2** представляет собой

одинарную связь, (C_1-C_6) алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i-O(C_1-C_6)$ алкильную группу, $(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, $CH(SO_3H)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $CH(SO_3H)$, (C_1-C_6) алкилциклогексильную группу, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-O(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-CH(SO_3H)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $CH(SO_3H)$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкилциклогексильную группу, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-O(C_1-C_6)$ алкильную группу, $NA_8-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $CH(SO_3H)$, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-O(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-NA_8-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $CH(SO_3H)$, $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- NA_7 , $NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, NA_7 -арильную группу, NA_7 -гетероарильную группу, (C_1-C_6) алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- NA_7 , $C(=O)-NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-NA_7$ -арильную группу, $C(=O)-NA_7$ -гетероарильную группу, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную

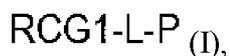
C_6 алкил- NA_7 -(C_1 - C_6)алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ или $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу;

A_7 представляет собой прямую или разветвленную, насыщенную или ненасыщенную, необязательно замещенную C_1-C_{160} углеводородную цепь, где необязательно по меньшей мере одно метиленовое звено независимо заменено $-NHCO-$, $-N(алкил)C(=O)-$, $-C(=O)NH-$, $-C(=O)N(алкил)-$, $-OC(=O)-$, $-C(=O)O-$, $-OC(=O)O-$, $-CH(OH)-$, $-CH(SO_3H)-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-NHS(=O)_2-$, $-N(алкил)S(=O)_2-$, $-S(=O)_2NH-$, $-S(=O)_2N(алкил)-$, $-P(=O)(OH)-$, $-P(=O)(OH)O-$, $-O-P(=O)(OH)-$, $-O-P(=O)(OH)-O-$ или гетероциклоалкильной группой, необязательно замещенной по меньшей мере одним заместителем, идентичным или отличающимся, выбранным из $-OH$, $-O$ алкила, $-алкила$, атома галогена, $-NH_2$, $-N$ алкила и $-N(алкил)_2$; при этом следует понимать, что каждый A_7 , содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($SO_3^- +Na$).

A_8 представляет собой атом водорода или (C_1-C_6)алкильную группу, например, атом водорода или метильную группу;

i представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 50, в таком диапазоне как от 1 до 35.

В соответствии с конкретным вариантом осуществления настоящее изобретение относится к соединениям формулы (I):

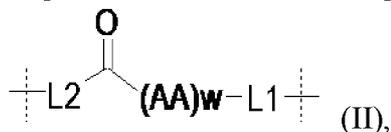


где

$RCG1$ представляет собой реакционноспособную химическую группу, которая является реакционноспособной в отношении химической группы, присутствующей на полипептиде, таком как антитело;

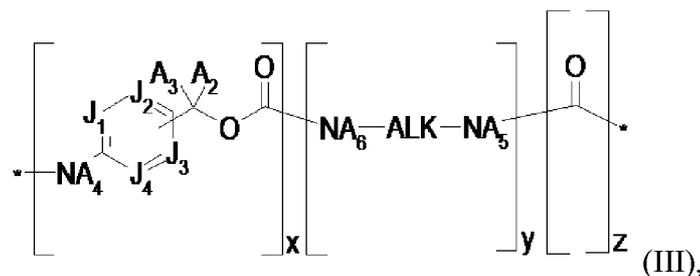
P представляет собой атом водорода, $-OH$ или активированный O ;

L представляет собой линкер формулы (II):



где

$L1$ представлен формулой (III):



где

если Р представляет собой атом водорода, то $x=0$ или 1, и $y=1$, и $z=0$;

если Р представляет собой $-OH$, то $x=y=z=0$;

если Р представляет собой активированный О, то $x=1$, и $y=z=0$, или $x=y=z=1$;

J₁, J₂, J₃ и **J₄** выбраны независимо друг от друга из CA_1 и N ;

ALK представляет собой (C_1-C_{12}) алкиленовую группу, например (C_1-C_6) алкилен, например, в форме $-(CH_2)_n-$, при этом n представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 12, и, например, находящееся в диапазоне от 1 до 6;

A₁, A₂, A₃, A₄, A₅ и **A₆** представляют собой независимо друг от друга атом водорода или (C_1-C_6) алкильную группу, например, атом водорода или метильную группу.

(AA)_w представляет собой последовательность из w замещенных **AA_s** или незамещенных аминокислот **AA_{ns}**, соединенных вместе посредством пептидных связей;

w представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 12, например, от 1 до 6, такое как 2 или 3;

если **(AA)_w** содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту **AA_s**, то **L₂** представляет собой одинарную связь, (C_1-C_6) алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i-O(C_1-C_6)$ алкильную группу, $(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, $CH(SO_3H)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $CH(SO_3H)$, (C_1-C_6) алкилциклогексильную группу, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-O(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-CH(SO_3H)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $CH(SO_3H)$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкилциклогексильную группу, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-O(C_1-C_6)$ алкильную группу, $NA_8-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $CH(SO_3H)$, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-O(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-NA_8-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $CH(SO_3H)$, $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- NA_7 , $NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, NA_7 -арильную группу, NA_7 -гетероарильную группу, (C_1-C_6) алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- NA_7 , $C(=O)-NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-NA_7$ -арильную группу, $C(=O)-NA_7$ -гетероарильную группу, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-$

C_6 алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ - NA_7 - (C_1-C_6) алкильную группу, группу NA_8 - (C_1-C_6) алкил- NA_7 , NA_8 - (C_1-C_6) алкил- $NA_7C(=O)$ - (C_1-C_6) алкильную группу, группу NA_8 - (C_1-C_6) алкил- $NA_7C(=O)$ - (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, NA_8 - (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7$ - (C_1-C_6) алкильную группу, группу NA_8 - (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7$ - (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, NA_8 - (C_1-C_6) алкил- NA_7 - (C_1-C_6) алкильную группу, группу NA_8 - (C_1-C_6) алкил- NA_7 - (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, NA_8 - (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ - NA_7 - (C_1-C_6) алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8$ - (C_1-C_6) алкил- NA_7 , $C(=O)-NA_8$ - (C_1-C_6) алкил- $NA_7C(=O)$ - (C_1-C_6) алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8$ - (C_1-C_6) алкил- $NA_7C(=O)$ - (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-NA_8$ - (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7$ - (C_1-C_6) алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8$ - (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7$ - (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-NA_8$ - (C_1-C_6) алкил- NA_7 - (C_1-C_6) алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8$ - (C_1-C_6) алкил- NA_7 - (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ или $C(=O)-NA_8$ - (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ - NA_7 - (C_1-C_6) алкильную группу;

если **(AA)** w представляет собой последовательность из w незамещенных аминокислот **AA** $_{ns}$, то **L2** представляет собой NA_7 - (C_1-C_6) алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- NA_7 , NA_7 - $(CH_2CH_2O)_i$ (C_1-C_6) алкильную группу, NA_7 -арильную группу, NA_7 -гетероарильную группу, (C_1-C_6) алкил- $NA_7C(=O)$ - (C_1-C_6) алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $NA_7C(=O)$ - (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7$ - (C_1-C_6) алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7$ - (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- NA_7 - (C_1-C_6) алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- NA_7 - (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ - NA_7 - (C_1-C_6) алкильную группу, $C(=O)-NA_7$ - (C_1-C_6) алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- NA_7 , $C(=O)-NA_7$ - $(CH_2CH_2O)_i$ (C_1-C_6) алкильную группу, $C(=O)-NA_7$ -арильную группу, $C(=O)-NA_7$ -гетероарильную группу, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)$ - (C_1-C_6) алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)$ - (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7$ - (C_1-C_6) алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7$ - (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- NA_7 - (C_1-C_6) алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- NA_7 - (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ - NA_7 - (C_1-C_6) алкильную группу, группу NA_8 - (C_1-C_6) алкил- NA_7 , NA_8 - (C_1-C_6) алкил- $NA_7C(=O)$ - (C_1-C_6) алкильную группу, группу NA_8 - (C_1-C_6) алкил- $NA_7C(=O)$ - (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, NA_8 - (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7$ - (C_1-C_6) алкильную группу, группу NA_8 - (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7$ - (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, NA_8 - (C_1-C_6) алкил- NA_7 - (C_1-C_6) алкильную группу, группу NA_8 - (C_1-C_6) алкил- NA_7 - (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, NA_8 - (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ - NA_7 - (C_1-C_6) алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8$ - (C_1-C_6) алкил- NA_7 , $C(=O)-NA_8$ - (C_1-C_6) алкил- $NA_7C(=O)$ - (C_1-C_6) алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8$ - (C_1-C_6) алкил- $NA_7C(=O)$ - (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-NA_8$ - (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7$ - (C_1-C_6) алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8$ - (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7$ - (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-NA_8$ - (C_1-C_6) алкил- NA_7 - (C_1-C_6) алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8$ - (C_1-C_6) алкил- NA_7 - (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ или $C(=O)-NA_8$ - (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ - NA_7 - (C_1-C_6) алкильную группу;

A₇ представляет собой прямую или разветвленную, насыщенную или

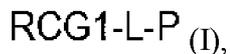
ненасыщенную, необязательно замещенную C_1-C_{160} углеводородную цепь, где необязательно по меньшей мере одно метиленовое звено независимо заменено $-NHC(=O)-$, $-N(\text{алкил})C(=O)-$, $-C(=O)NH-$, $-C(=O)N(\text{алкил})-$, $-OC(=O)-$, $-C(=O)O-$, $-OC(=O)O-$, $-CH(OH)-$, $-CH(SO_3H)-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-NHS(=O)_2-$, $-N(\text{алкил})S(=O)_2-$, $-S(=O)_2NH-$, $-S(=O)_2N(\text{алкил})-$, $-P(=O)(OH)-$, $-P(=O)(OH)O-$, $-O-P(=O)(OH)-$, $-O-P(=O)(OH)-O-$ или гетероциклоалкильной группой, необязательно замещенной по меньшей мере одним заместителем, идентичным или отличающимся, выбранным из $-OH$, $-O\text{алкила}$, $-алкила$, атома галогена, $-NH_2$, $-NH\text{алкила}$ и $-N(\text{алкил})_2$, при этом следует понимать, что каждый A_7 , содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($SO_3^- +Na$);

A_8 представляет собой атом водорода или (C_1-C_6) алкильную группу, например, атом водорода или метильную группу;

i представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 50, в таком диапазоне как от 1 до 35,

незамещенная аминокислота AA_{ns} обозначает природную или неприродную аминокислоту D- или L-конфигурации, идентичную аланину (Ala), β -аланину, γ -аминомасляной кислоте, 2-амино-2-циклогексилуксусной кислоте, 2-амино-2-фенилуксусной кислоте, аргинину (Arg), аспарагину (Asn), аспарагиновой кислоте (Asp), цитруллину (Cit), цистеину (Cys), α,α -диметил- γ -аминомасляной кислоте, β,β -диметил- γ -аминомасляной кислоте, глутамину (Gln), глутаминовой кислоте (Glu), глицину (Gly), гомоцистеину, селеноцистеину, гомоселеноцистеину, гистидину (His), изолейцину (Ile), лейцину (Leu), лизину (Lys), ϵ -ацетиллизину (AcLys), метионину (Met), орнитину (Orn), фенилаланину (Phe), пролину (Pro), серину (Ser), треонину (Thr), триптофану (Trp), тирозину (Tyr) и валину (Val) или являющуюся их производным.

В соответствии с другим конкретным вариантом осуществления настоящее изобретение относится к соединениям формулы (I):

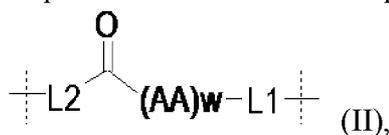


где

$RCG1$ представляет собой реакционноспособную химическую группу, которая является реакционноспособной в отношении химической группы, присутствующей на полипептиде, таком как антитело;

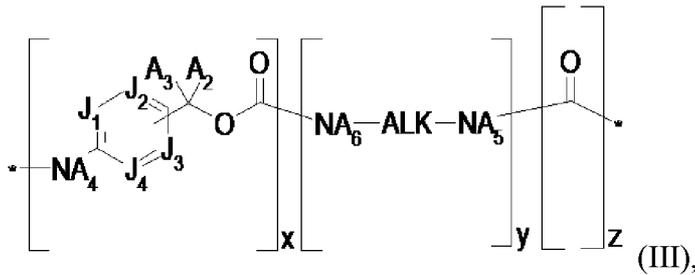
P представляет собой атом водорода, $-OH$ или активированный O;

L представляет собой линкер формулы (II):



где

$L1$ представлен формулой (III):



где

если Р представляет собой атом водорода, то $x=0$ или 1, и $y=1$, и $z=0$;

если Р представляет собой $-\text{OH}$, то $x=y=z=0$;

если Р представляет собой активированный О, то $x=1$, и $y=z=0$, или $x=y=z=1$;

$\mathbf{J}_1, \mathbf{J}_2, \mathbf{J}_3$ и \mathbf{J}_4 выбраны независимо друг от друга из CA_1 и N ;

\mathbf{ALK} представляет собой $(\text{C}_1-\text{C}_{12})$ алкиленовую группу, например (C_1-C_6) алкилен, например, в форме $-(\text{CH}_2)_n-$, при этом n представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 12, и, например, находящееся в диапазоне от 1 до 6;

$\mathbf{A}_1, \mathbf{A}_2, \mathbf{A}_3, \mathbf{A}_4, \mathbf{A}_5$ и \mathbf{A}_6 представляют собой независимо друг от друга атом водорода или (C_1-C_6) алкильную группу, например, атом водорода или метильную группу.

$(\mathbf{AA})_w$ представляет собой последовательность из w замещенных \mathbf{AA}_s или незамещенных аминокислот \mathbf{AA}_{ns} , соединенных вместе посредством пептидных связей;

w представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 12, например, от 1 до 6, такое как 2 или 3;

если $(\mathbf{AA})_w$ содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту \mathbf{AA}_s , то $\mathbf{L2}$ представляет собой одинарную связь, (C_1-C_6) алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i-\text{O}(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_i(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, $\text{CH}(\text{SO}_3\text{H})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $\text{CH}(\text{SO}_3\text{H})$, (C_1-C_6) алкилциклогексильную группу, $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i-\text{O}(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, $\text{C}(=\text{O})-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_i(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, $\text{C}(=\text{O})-\text{CH}(\text{SO}_3\text{H})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $\text{CH}(\text{SO}_3\text{H})$, $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкилциклогексильную группу, $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i-\text{O}(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, $\text{NA}_8-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_i(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $\text{CH}(\text{SO}_3\text{H})$, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i-\text{O}(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_i(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $\text{CH}(\text{SO}_3\text{H})$, $\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- NA_7 , $\text{NA}_7-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_i(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, NA_7 -арильную группу, NA_7 -гетероарильную группу, (C_1-C_6) алкил- $\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i-\text{NA}_7-(\text{C}_1-$

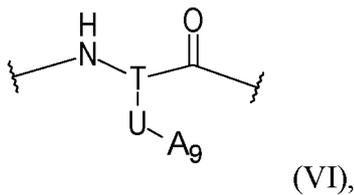
NA₇C(=O)-(C₁-C₆)алкильную группу, группу C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)алкил-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)алкил-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, группу C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)алкил-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i, C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)алкил-NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, группу C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)алкил-NA₇-(C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i или C(=O)-NA₈-(C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу;

A₇ представляет собой прямую или разветвленную, насыщенную или ненасыщенную, необязательно замещенную C₁-C₁₆₀углеводородную цепь, где необязательно по меньшей мере одно метиленовое звено независимо заменено -NHC(=O)-, -N(алкил)C(=O)-, -C(=O)NH-, -C(=O)N(алкил)-, -OC(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -CH(OH)-, -CH(SO₃H)-, -O-, -C(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, -N(алкил)S(=O)₂-, -S(=O)₂NH-, -S(=O)₂N(алкил)-, -P(=O)(OH)-, -P(=O)(OH)O-, -O-P(=O)(OH)-, -O-P(=O)(OH)-O- или гетероциклоалкильной группой, необязательно замещенной по меньшей мере одним заместителем, идентичным или отличающимся, выбранным из -OH, -Оалкила, -алкила, атома галогена, -NH₂, -NHалкила и -N(алкил)₂, при этом следует понимать, что каждый **A₇**, содержащий функциональную группу SO₃H, может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли (SO₃⁻Na⁺);

A₈ представляет собой атом водорода или (C₁-C₆)алкильную группу, например, атом водорода или метильную группу;

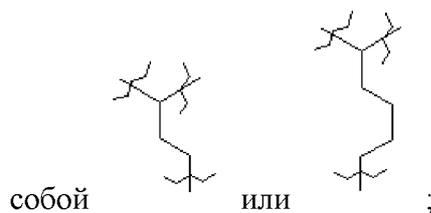
i представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 50, в таком диапазоне как от 1 до 35,

где указанные замещенные аминокислоты **AA_s** характеризуются формулой (VI):



где

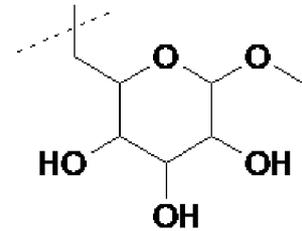
T представляет собой насыщенную или ненасыщенную, линейную или разветвленную тривалентную (C₁-C₈)алкильную группу, предпочтительно **T** представляет



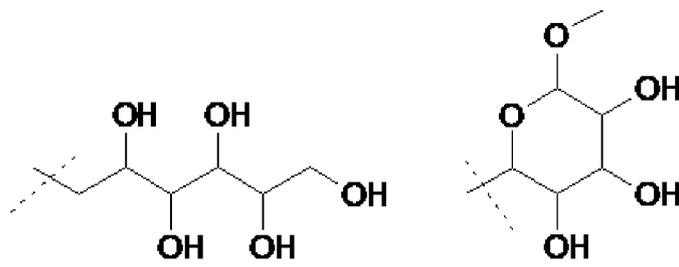
U группа представляет собой одинарную связь, -NHC(=O)-, -N(алкил)C(=O)-, -C(=O)NH-, -C(=O)N(алкил)-, -NHC(=O)NH-, -NHC(=NH)NH-, -OC(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -S-, -Se-, -O-, -NH-, -N(алкил)-, -C(=O)-, -OP(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, -N(алкил)S(=O)₂-, -S(=O)₂NH-, -S(=O)₂N(алкил)-, -P(=O)(OH)-, -

$P(=O)(OH)O-$, $-O-P(=O)(OH)-$ или $-O-P(=O)(OH)-O$, например, группа **U** представляет собой $-NH-C(=O)-$ или $-C(=O)NH-$;

A9 представляет собой прямую или разветвленную, насыщенную или ненасыщенную, необязательно замещенную C_1-C_{160} углеводородную цепь, где необязательно по меньшей мере одно метиленовое звено независимо заменено $-NH-C(=O)-$, $-N(\text{алкил})C(=O)-$, $-C(=O)NH-$, $-C(=O)N(\text{алкил})-$, $-NHC(=O)NH-$, $-NHC(=NH)NH-$, $-OC(=O)-$, $-C(=O)O-$, $-OC(=O)O-$, $-CH(OH)-$, $-CH(SO_3H)-$, $-CH(O\text{алкил})-$, $-CHF-$, $-CF_2-$, $-S-$, $-Se-$, $-O-$, $-NH-$, $-N(\text{алкил})-$, $-N^+(\text{алкил})-$, $-N^+(\text{алкил})_2-$, $-C(=O)-$, $-OP(=O)-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-NHS(=O)_2-$, $-N(\text{алкил})S(=O)_2-$, $-S(=O)_2NH-$, $-S(=O)_2N(\text{алкил})-$, $-P(=O)(OH)-$, $-P(=O)(OH)O-$, $-O-P(=O)(OH)-$, $-O-P(=O)(OH)-O-$ или гетероциклоалкильной группой, необязательно замещенной по меньшей мере одним заместителем, идентичным или отличающимся, выбранным из $-OH$, $-O\text{алкила}$, $-алкила$, атома галогена, $-NH_2$, $-N\text{алкила}$ и $-N(\text{алкил})_2$, например, **A9**



представляет собой $-[(CH_2)_2-O]_4-CH_3$, $-[(CH_2)_2-O]_{24}-CH_3$,

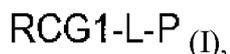


или $-[(CH_2)_2-O]_4-(CH_2)_2-C(=O)-NH-$

$(CH_2)_2-SO_3H$;

при этом следует понимать, что каждый **A9**, содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($SO_3^- Na$).

В соответствии с другим конкретным вариантом осуществления настоящее изобретение относится к соединениям формулы (I):

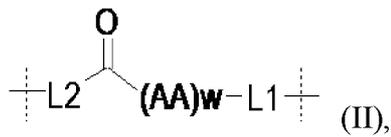


где

RCG1 представляет собой реакционноспособную химическую группу, которая является реакционноспособной в отношении химической группы, присутствующей на полипептиде, таком как антитело;

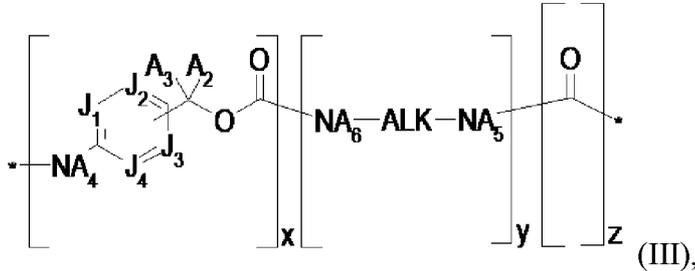
P представляет собой атом водорода, $-OH$ или активированный O ;

L представляет собой линкер формулы (II):



где

L1 представлен формулой (III):



где

если **P** представляет собой атом водорода, то $x=0$ или 1, и $y=1$, и $z=0$;

если **P** представляет собой $-\text{OH}$, то $x=y=z=0$;

если **P** представляет собой активированный **O**, то $x=1$, и $y=z=0$, или $x=y=z=1$;

J₁, **J₂**, **J₃** и **J₄** выбраны независимо друг от друга из **CA₁** и **N**;

ALK представляет собой $(\text{C}_1\text{--C}_{12})$ алкиленовую группу, например $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкилен, например, в форме $-(\text{CH}_2)_n-$, при этом n представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 12, и, например, находящееся в диапазоне от 1 до 6;

A₁, **A₂**, **A₃**, **A₄**, **A₅** и **A₆** представляют собой независимо друг от друга атом водорода или $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкильную группу, например, атом водорода или метильную группу.

(AA)_w представляет собой последовательность из w замещенных **AA_s** или незамещенных аминокислот **AA_{ns}**, соединенных вместе посредством пептидных связей;

w представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 12, например, от 1 до 6, такое как 2 или 3;

если **(AA)_w** содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту **AA_s**, то **L2** представляет собой одинарную связь, $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкильную группу, группу $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ - $\text{O}(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкильную группу, $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_i(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкильную группу, $\text{CH}(\text{SO}_3\text{H})$ - $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкильную группу, группу $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкил- $\text{CH}(\text{SO}_3\text{H})$, $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкилциклогексильную группу, $\text{C}(=\text{O})$ - $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкильную группу, группу $\text{C}(=\text{O})$ - $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, $\text{C}(=\text{O})$ - $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ - $\text{O}(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкильную группу, $\text{C}(=\text{O})$ - $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_i(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкильную группу, $\text{C}(=\text{O})$ - $\text{CH}(\text{SO}_3\text{H})$ - $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкильную группу, группу $\text{C}(=\text{O})$ - $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкил- $\text{CH}(\text{SO}_3\text{H})$, $\text{C}(=\text{O})$ - $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкилциклогексильную группу, NA_8 - $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкильную группу, группу NA_8 - $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, NA_8 - $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ - $\text{O}(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкильную группу, NA_8 - $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_i(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкильную группу, группу NA_8 - $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкил- $\text{CH}(\text{SO}_3\text{H})$, $\text{C}(=\text{O})$ - NA_8 - $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкильную группу, группу $\text{C}(=\text{O})$ - NA_8 - $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, $\text{C}(=\text{O})$ - NA_8 - $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ - $\text{O}(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкильную группу, $\text{C}(=\text{O})$ - NA_8 - $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_i(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкильную группу, группу $\text{C}(=\text{O})$ - NA_8 - $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкил- $\text{CH}(\text{SO}_3\text{H})$, NA_7 - $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкильную группу, группу $(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкил- NA_7 , NA_7 - $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_i(\text{C}_1\text{--C}_6)$ алкильную

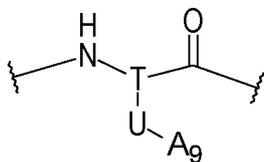
группу $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкил}-\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкил}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкил}-\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкильную}$ группу, группу $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкил}-\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкил}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкил}-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкильную}$ группу, группу $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкил}-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкил}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкил}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкильную}$ группу, группу $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкил}-\text{NA}_7$, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкил}-\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкильную}$ группу, группу $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкил}-\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкил}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкил}-\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкильную}$ группу, группу $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкил}-\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкил}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкил}-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкильную}$ группу, группу $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкил}-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкил}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ или $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкил}-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)\text{алкильную}$ группу;

A_7 представляет собой прямую или разветвленную, насыщенную или ненасыщенную, необязательно замещенную $\text{C}_1-\text{C}_{160}$ углеводородную цепь, где необязательно по меньшей мере одно метиленовое звено независимо заменено $-\text{NHC}(=\text{O})-$, $-\text{N}(\text{алкил})\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{OC}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{CH}(\text{OH})-$, $-\text{CH}(\text{SO}_3\text{H})-$, $-\text{O}-$, $-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{NHS}(=\text{O})_2-$, $-\text{N}(\text{алкил})\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}-$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})\text{O}-$, $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$, $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-\text{O}-$ или гетероциклоалкильной группой, необязательно замещенной по меньшей мере одним заместителем, идентичным или отличающимся, выбранным из $-\text{OH}$, $-\text{Oалкила}$, $-\text{алкила}$, атома галогена, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHалкила}$ и $-\text{N}(\text{алкил})_2$, при этом следует понимать, что каждый A_7 , содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($\text{SO}_3^- \text{Na}^+$);

A_8 представляет собой атом водорода или (C_1-C_6) алкильную группу, например, атом водорода или метильную группу;

i представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 50, в таком диапазоне как от 1 до 35,

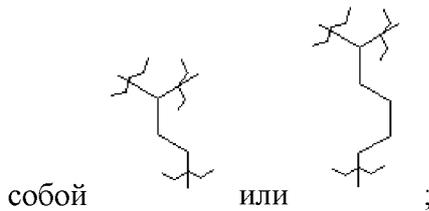
где указанные замещенные аминокислоты AA_8 характеризуются формулой (VI):



(VI),

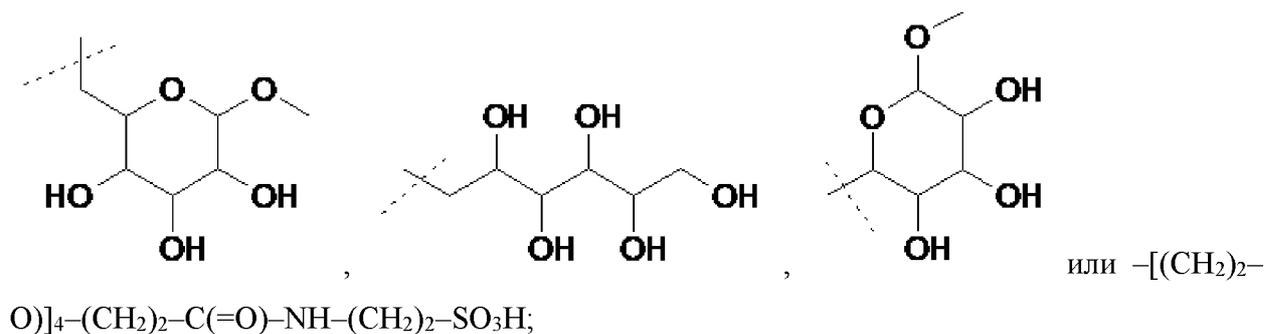
где

T представляет собой насыщенную или ненасыщенную, линейную или разветвленную тривалентную (C_1-C_8) алкильную группу, предпочтительно T представляет



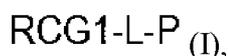
группа **U** представляет собой одинарную связь, $-\text{NHC}(=\text{O})-$, $-\text{N}(\text{алкил})\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}-$, $-\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}-$, $-\text{OC}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{Se}-$, $-\text{O}-$, $-\text{NH}-$, $-\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{OP}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{NHS}(=\text{O})_2-$, $-\text{N}(\text{алкил})\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}-$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})\text{O}-$, $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$ или $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-\text{O}$, например, группа **U** представляет собой $-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-$ или $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$;

A9 представляет собой прямую или разветвленную, насыщенную или ненасыщенную, необязательно замещенную $\text{C}_1-\text{C}_{160}$ углеводородную цепь, где необязательно по меньшей мере одно метиленовое звено независимо заменено $-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{N}(\text{алкил})\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}-$, $-\text{OC}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{CH}(\text{OH})-$, $-\text{CH}(\text{SO}_3\text{H})-$, $-\text{CH}(\text{Оалкил})-$, $-\text{CHF}-$, $-\text{CF}_2-$, $-\text{S}-$, $-\text{Se}-$, $-\text{O}-$, $-\text{NH}-$, $-\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{N}^+\text{H}(\text{алкил})-$, $-\text{N}^+(\text{алкил})_2-$, $-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{OP}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{NHS}(=\text{O})_2-$, $-\text{N}(\text{алкил})\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}-$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})\text{O}-$, $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$, $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-\text{O}$ или гетероциклоалкильной группой, необязательно замещенной по меньшей мере одним заместителем, идентичным или отличающимся, выбранным из $-\text{OH}$, $-\text{Оалкила}$, $-\text{алкила}$, атома галогена, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHалкила}$ и $-\text{N}(\text{алкил})_2$, например, **A9** представляет собой $-\text{[(CH}_2)_2\text{-O]}_4-\text{CH}_3$, $-\text{[(CH}_2)_2\text{-O]}_{24}-\text{CH}_3$,



при этом следует понимать, что каждый **A9**, содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($\text{SO}_3^- + \text{Na}$).

В соответствии с другим конкретным вариантом осуществления настоящее изобретение относится к соединениям формулы (I):



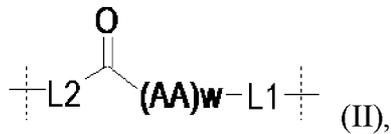
где

RCG1 представляет собой реакционноспособную химическую группу, которая

является реакционноспособной в отношении химической группы, присутствующей на полипептиде, таком как антитело;

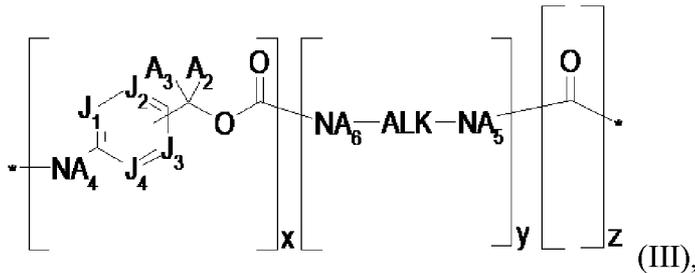
P представляет собой атом водорода, –ОН или активированный О;

L представляет собой линкер формулы (II):



где

L1 представлен формулой (III):



где

если **P** представляет собой атом водорода, то $x=0$ или 1, и $y=1$, и $z=0$;

если **P** представляет собой –ОН, то $x=y=z=0$;

если **P** представляет собой активированный О, то $x=1$, и $y=z=0$, или $x=y=z=1$;

J₁, **J₂**, **J₃** и **J₄** выбраны независимо друг от друга из **CA₁** и **N**;

ALK представляет собой (C₁–C₁₂)алкиленовую группу, например (C₁–C₆)алкилен, например, в форме –(CH₂)_n–, при этом *n* представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 12, и, например, находящееся в диапазоне от 1 до 6;

A₁, **A₂**, **A₃**, **A₄**, **A₅** и **A₆** представляют собой независимо друг от друга атом водорода или (C₁–C₆)алкильную группу, например, атом водорода или метильную группу.

(AA)_w представляет собой последовательность из *w* замещенных **AA_s** или незамещенных аминокислот **AA_{ns}**, соединенных вместе посредством пептидных связей;

w представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 12, например, от 1 до 6, такое как 2 или 3;

если **(AA)_w** содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту **AA_s**, то **L2** представляет собой одинарную связь, (C₁–C₆)алкильную группу, группу (C₁–C₆)алкил–(OCH₂CH₂)_i, (C₁–C₆)алкил–(OCH₂CH₂)_i–O(C₁–C₆)алкильную группу, (CH₂CH₂O)_i(C₁–C₆)алкильную группу, CH(SO₃H)–(C₁–C₆)алкильную группу, группу (C₁–C₆)алкил–CH(SO₃H), (C₁–C₆)алкилциклогексильную группу, C(=O)–(C₁–C₆)алкильную группу, группу C(=O)–(C₁–C₆)алкил–(OCH₂CH₂)_i, C(=O)–(C₁–C₆)алкил–(OCH₂CH₂)_i–O(C₁–C₆)алкильную группу, C(=O)–(CH₂CH₂O)_i(C₁–C₆)алкильную группу, C(=O)–CH(SO₃H)–(C₁–C₆)алкильную группу, группу C(=O)–(C₁–C₆)алкил–CH(SO₃H), C(=O)–(C₁–C₆)алкилциклогексильную группу, NA₈–(C₁–C₆)алкильную группу, группу NA₈–(C₁–C₆)алкил–(OCH₂CH₂)_i, NA₈–(C₁–C₆)алкил–(OCH₂CH₂)_i–O(C₁–C₆)алкильную группу, NA₈–(CH₂CH₂O)_i(C₁–C₆)алкильную группу, группу NA₈–(C₁–C₆)алкил–CH(SO₃H), C(=O)–NA₈–

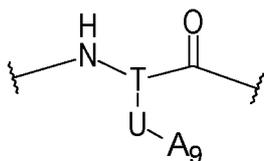
группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- NA_7 , $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- NA_7 , $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ или $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу;

A_7 представляет собой прямую или разветвленную, насыщенную или ненасыщенную, необязательно замещенную C_1-C_{160} углеводородную цепь, где необязательно по меньшей мере одно метиленовое звено независимо заменено $-NHC(=O)-$, $-N(алкил)C(=O)-$, $-C(=O)NH-$, $-C(=O)N(алкил)-$, $-OC(=O)-$, $-C(=O)O-$, $-OC(=O)O-$, $-CH(OH)-$, $-CH(SO_3H)-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-NHS(=O)_2-$, $-N(алкил)S(=O)_2-$, $-S(=O)_2NH-$, $-S(=O)_2N(алкил)-$, $-P(=O)(OH)-$, $-P(=O)(OH)O-$, $-O-P(=O)(OH)-$, $-O-P(=O)(OH)O-$ или гетероциклоалкильной группой, необязательно замещенной по меньшей мере одним заместителем, идентичным или отличающимся, выбранным из $-OH$, $-Oалкила$, $-алкила$, атома галогена, $-NH_2$, $-NHалкила$ и $-N(алкил)_2$, при этом следует понимать, что каждый A_7 , содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($SO_3^- +Na$);

A_8 представляет собой атом водорода или (C_1-C_6) алкильную группу, например, атом водорода или метильную группу;

i представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 50, в таком диапазоне как от 1 до 35,

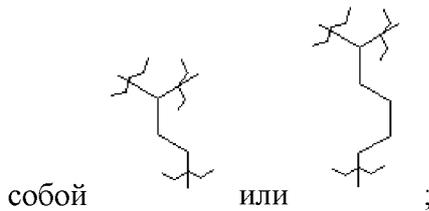
где указанные замещенные аминокислоты AA_8 характеризуются формулой (VI):



(VI),

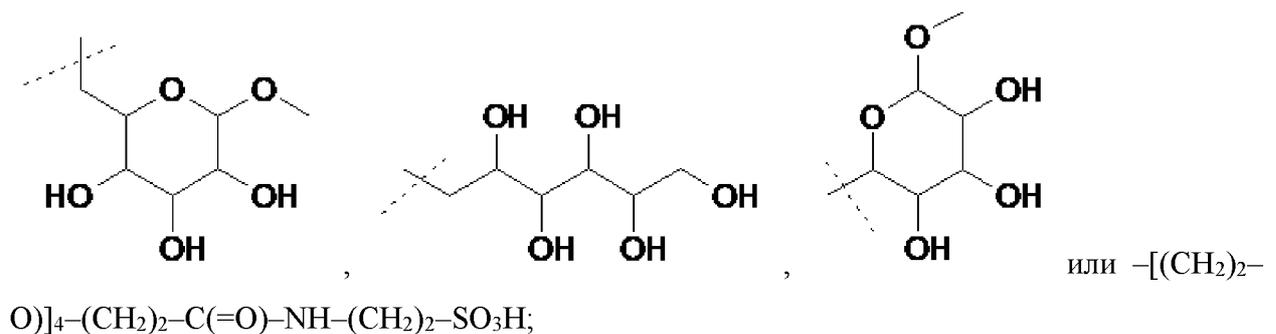
где

T представляет собой насыщенную или ненасыщенную, линейную или разветвленную тривалентную (C_1-C_8) алкильную группу, предпочтительно T представляет



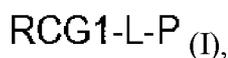
группа **U** представляет собой одинарную связь, $-\text{NHC}(=\text{O})-$, $-\text{N}(\text{алкил})\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}-$, $-\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}-$, $-\text{OC}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{Se}-$, $-\text{O}-$, $-\text{NH}-$, $-\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{OP}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{NHS}(=\text{O})_2-$, $-\text{N}(\text{алкил})\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}-$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})\text{O}-$, $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$ или $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-\text{O}$, например, группа **U** представляет собой $-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-$ или $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$;

A9 представляет собой прямую или разветвленную, насыщенную или ненасыщенную, необязательно замещенную $\text{C}_1-\text{C}_{160}$ углеводородную цепь, где необязательно по меньшей мере одно метиленовое звено независимо заменено $-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{N}(\text{алкил})\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}-$, $-\text{OC}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{CH}(\text{OH})-$, $-\text{CH}(\text{SO}_3\text{H})-$, $-\text{CH}(\text{Оалкил})-$, $-\text{CHF}-$, $-\text{CF}_2-$, $-\text{S}-$, $-\text{Se}-$, $-\text{O}-$, $-\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{N}^+\text{H}(\text{алкил})-$, $-\text{N}^+(\text{алкил})_2-$, $-\text{OP}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{NHS}(=\text{O})_2-$, $-\text{N}(\text{алкил})\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}-$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})\text{O}-$, $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$, $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-\text{O}$ или гетероциклоалкильной группой, необязательно замещенной по меньшей мере одним заместителем, идентичным или отличающимся, выбранным из $-\text{OH}$, $-\text{Оалкила}$, $-\text{алкила}$, атома галогена, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHалкила}$ и $-\text{N}(\text{алкил})_2$, например, **A9** представляет собой $-\text{[(CH}_2)_2\text{O}]_4-\text{CH}_3$, $-\text{[(CH}_2)_2\text{O}]_{24}-\text{CH}_3$,



при этом следует понимать, что каждый **A9**, содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($\text{SO}_3^- + \text{Na}$).

В соответствии с другим конкретным вариантом осуществления настоящее изобретение относится к соединениям формулы (I):



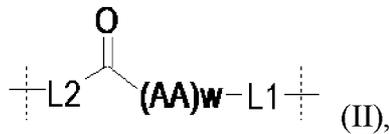
где

RCG1 представляет собой реакционноспособную химическую группу, которая

является реакционноспособной в отношении химической группы, присутствующей на полипептиде, таком как антитело;

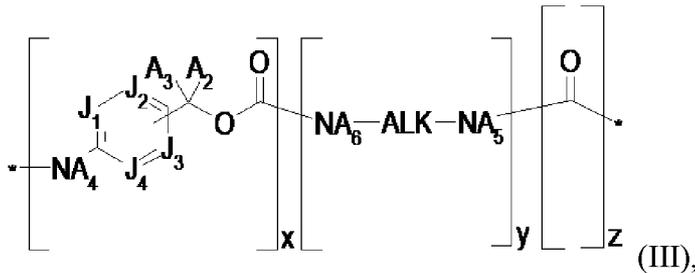
P представляет собой атом водорода, –ОН или активированный О;

L представляет собой линкер формулы (II):



где

L1 представлен формулой (III):



где

если **P** представляет собой атом водорода, то $x=0$ или 1, и $y=1$, и $z=0$;

если **P** представляет собой –ОН, то $x=y=z=0$;

если **P** представляет собой активированный О, то $x=1$, и $y=z=0$, или $x=y=z=1$;

J₁, **J₂**, **J₃** и **J₄** выбраны независимо друг от друга из **CA₁** и **N**;

ALK представляет собой (C₁–C₁₂)алкиленовую группу, например (C₁–C₆)алкилен, например, в форме –(CH₂)_n–, при этом *n* представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 12, и, например, находящееся в диапазоне от 1 до 6;

A₁, **A₂**, **A₃**, **A₄**, **A₅** и **A₆** представляют собой независимо друг от друга атом водорода или (C₁–C₆)алкильную группу, например, атом водорода или метильную группу.

(AA)w представляет собой последовательность из *w* замещенных **AA_s** или незамещенных аминокислот **AA_{ns}**, соединенных вместе посредством пептидных связей;

w представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 12, например, от 1 до 6, такое как 2 или 3;

если **(AA)w** содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту **AA_s**, то **L2** представляет собой одинарную связь, (C₁–C₆)алкильную группу, группу (C₁–C₆)алкил–(OCH₂CH₂)_i, (C₁–C₆)алкил–(OCH₂CH₂)_i–O(C₁–C₆)алкильную группу, (CH₂CH₂O)_i(C₁–C₆)алкильную группу, CH(SO₃H)–(C₁–C₆)алкильную группу, группу (C₁–C₆)алкил–CH(SO₃H), (C₁–C₆)алкилциклогексильную группу, C(=O)–(C₁–C₆)алкильную группу, группу C(=O)–(C₁–C₆)алкил–(OCH₂CH₂)_i, C(=O)–(C₁–C₆)алкил–(OCH₂CH₂)_i–O(C₁–C₆)алкильную группу, C(=O)–(CH₂CH₂O)_i(C₁–C₆)алкильную группу, C(=O)–CH(SO₃H)–(C₁–C₆)алкильную группу, группу C(=O)–(C₁–C₆)алкил–CH(SO₃H), C(=O)–(C₁–C₆)алкилциклогексильную группу, NA₈–(C₁–C₆)алкильную группу, группу NA₈–(C₁–C₆)алкил–(OCH₂CH₂)_i, NA₈–(C₁–C₆)алкил–(OCH₂CH₂)_i–O(C₁–C₆)алкильную группу, NA₈–(CH₂CH₂O)_i(C₁–C₆)алкильную группу, группу NA₈–(C₁–C₆)алкил–CH(SO₃H), C(=O)–NA₈–

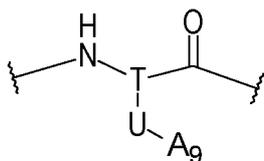
группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- NA_7 , $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- NA_7 , $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ или $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу;

A_7 представляет собой прямую или разветвленную, насыщенную или ненасыщенную, необязательно замещенную C_1-C_{160} углеводородную цепь, где необязательно по меньшей мере одно метиленовое звено независимо заменено $-NHC(=O)-$, $-N(алкил)C(=O)-$, $-C(=O)NH-$, $-C(=O)N(алкил)-$, $-OC(=O)-$, $-C(=O)O-$, $-OC(=O)O-$, $-CH(OH)-$, $-CH(SO_3H)-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-NHS(=O)_2-$, $-N(алкил)S(=O)_2-$, $-S(=O)_2NH-$, $-S(=O)_2N(алкил)-$, $-P(=O)(OH)-$, $-P(=O)(OH)O-$, $-O-P(=O)(OH)-$, $-O-P(=O)(OH)O-$ или гетероциклоалкильной группой, необязательно замещенной по меньшей мере одним заместителем, идентичным или отличающимся, выбранным из $-OH$, $-Oалкила$, $-алкила$, атома галогена, $-NH_2$, $-NHалкила$ и $-N(алкил)_2$, при этом следует понимать, что каждый A_7 , содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($SO_3^- +Na$);

A_8 представляет собой атом водорода или (C_1-C_6) алкильную группу, например, атом водорода или метильную группу;

i представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 50, в таком диапазоне как от 1 до 35,

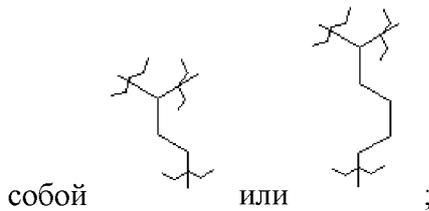
где указанные замещенные аминокислоты AA_8 характеризуются формулой (VI):



(VI),

где

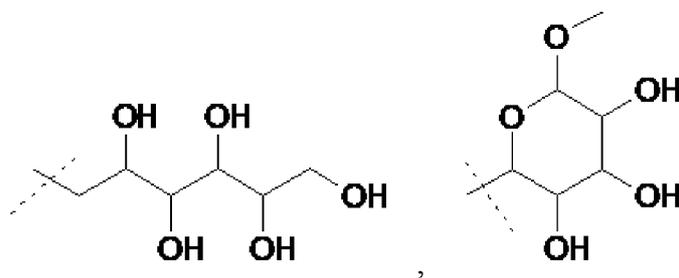
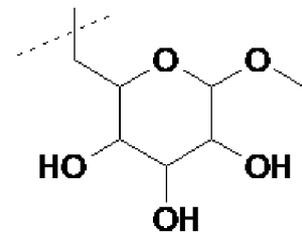
T представляет собой насыщенную или ненасыщенную, линейную или разветвленную тривалентную (C_1-C_8) алкильную группу, предпочтительно T представляет



группа **U** представляет собой одинарную связь, $-\text{NHC}(=\text{O})-$, $-\text{N}(\text{алкил})\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}-$, $-\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}-$, $-\text{OC}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{Se}-$, $-\text{O}-$, $-\text{NH}-$, $-\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{OP}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{NHS}(=\text{O})_2-$, $-\text{N}(\text{алкил})\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}-$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})\text{O}-$, $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$ или $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-\text{O}$, например, группа **U** представляет собой $-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-$ или $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$;

A9 представляет собой прямую или разветвленную, насыщенную или ненасыщенную, необязательно замещенную $\text{C}_1-\text{C}_{160}$ углеводородную цепь, где необязательно по меньшей мере одно метиленовое звено независимо заменено $-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{N}(\text{алкил})\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{CH}(\text{OH})-$, $-\text{CH}(\text{SO}_3\text{H})-$, $-\text{CH}(\text{Оалкил})-$, $-\text{CHF}-$, $-\text{CF}_2-$, $-\text{Se}-$, $-\text{O}-$, $-\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{N}^+\text{H}(\text{алкил})-$, $-\text{N}^+(\text{алкил})_2-$, $-\text{OP}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{NHS}(=\text{O})_2-$, $-\text{N}(\text{алкил})\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}-$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})\text{O}-$, $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$, $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-\text{O}-$ или гетероциклоалкильной группой, необязательно замещенной по меньшей мере одним заместителем, идентичным или отличающимся, выбранным из $-\text{OH}$, $-\text{Оалкила}$, $-\text{алкила}$, атома галогена, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHалкила}$ и $-\text{N}(\text{алкил})_2$, например, **A9**

представляет собой $-\text{[(CH}_2)_2\text{O}]_4-\text{CH}_3$, $-\text{[(CH}_2)_2\text{O}]_{24}-\text{CH}_3$,



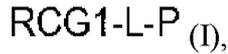
или $-\text{[(CH}_2)_2\text{O}]_4-(\text{CH}_2)_2-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-$

$(\text{CH}_2)_2-\text{SO}_3\text{H}$;

при этом следует понимать, что каждый **A9**, содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($\text{SO}_3^- \text{ } ^+\text{Na}$).

В соответствии с другим конкретным вариантом осуществления настоящее

изобретение относится к соединениям формулы (I):

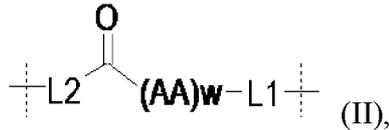


где

RCG1 представляет собой реакционноспособную химическую группу, которая является реакционноспособной в отношении химической группы, присутствующей на полипептиде, таком как антитело;

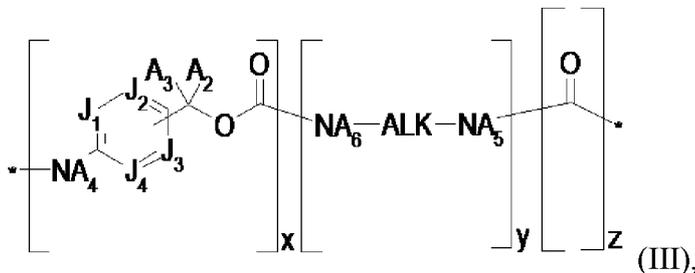
P представляет собой атом водорода, $-\text{OH}$ или активированный O ;

L представляет собой линкер формулы (II):



где

L1 представлен формулой (III):



где

если **P** представляет собой атом водорода, то $x=0$ или 1, и $y=1$, и $z=0$;

если **P** представляет собой $-\text{OH}$, то $x=y=z=0$;

если **P** представляет собой активированный O , то $x=1$, и $y=z=0$, или $x=y=z=1$;

J₁, **J₂**, **J₃** и **J₄** выбраны независимо друг от друга из CA_1 и N ;

ALK представляет собой $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_{12})$ алкиленовую группу, например $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)$ алкилен, например, в форме $-(\text{CH}_2)_n-$, при этом n представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 12, и, например, находящееся в диапазоне от 1 до 6;

A₁, **A₂**, **A₃**, **A₄**, **A₅** и **A₆** представляют собой независимо друг от друга атом водорода или $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)$ алкильную группу, например, атом водорода или метильную группу.

(AA)_w представляет собой последовательность из w замещенных **AA_s** или незамещенных аминокислот **AA_{ns}**, соединенных вместе посредством пептидных связей;

w представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 12, например, от 1 до 6, такое как 2 или 3;

(AA)_w содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту **AA_s** и/или w незамещенных аминокислот **AA_{ns}**, и **L2** представляет собой $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_6)$ алкил-**NA₇**-($\text{C}_1\text{--}\text{C}_6$)алкильную группу;

A₇ определен выше.

В соответствии с по меньшей мере одним вариантом осуществления **(AA)_w** содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту **AA_s**, и **L2** представляет

собой

- (C₁–C₆)алкильную группу, например группу (CH₂)₃;
- C(=O)–(C₁–C₆)алкильную группу, например группу C(=O)–(CH₂)₃; или
- (C₁–C₆)алкил–NA₇–(C₁–C₆)алкильную группу, например группу (CH₂)₂–NA₇–(CH₂)₂, в которой A₇ определен выше.

В соответствии с по меньшей мере одним вариантом осуществления (AA)**w** содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту AA_s, и L2 представляет собой

- (C₁–C₆)алкильную группу, например группу (CH₂)₃;
- C(=O)–(C₁–C₆)алкильную группу, например группу C(=O)–(CH₂)₃; или
- (C₁–C₆)алкил–NA₇–(C₁–C₆)алкильную группу, например группу –(CH₂)₂–NA₇–(CH₂)₂–, в которой A₇ представляет собой группу –C(=O)–(CH₂)₂–C(=O)–NH–(CH₂)₂–SO₃H; при этом следует понимать, что каждый A₇, содержащий функциональную группу SO₃H, может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли (SO₃[–] +Na).

В соответствии с другим вариантом осуществления (AA)**w** содержит w незамещенных аминокислот AA_{ns}, и L2 представляет собой

(C₁–C₆)алкил–NA₇–(C₁–C₆)алкильную группу, например группу (CH₂)₂–NA₇–(CH₂)₂, в которой A₇ определен выше.

В соответствии с другим вариантом осуществления (AA)**w** содержит w незамещенных аминокислот AA_{ns}, и L2 представляет собой

(C₁–C₆)алкил–NA₇–(C₁–C₆)алкильную группу, например группу (CH₂)₂–NA₇–(CH₂)₂, в которой A₇ представляет собой

- группу C(=O)–[(CH₂)₂–O]_a–CH₃, где "a" представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 50, например, находящееся в диапазоне от 1 до 24, такое как 4, 7 и 24, например, A₇ представляет собой группу C(=O)–[(CH₂)₂–O]₄–CH₃, группу C(=O)–[(CH₂)₂–O]₇–CH₃ или группу C(=O)–[(CH₂)₂–O]₂₄–CH₃;

- группу –C(=O)–(CH₂)₂–C(=O)–NH–(CH₂)₂–SO₃H или

- группу C(=O)–(CH₂)₂–C(=O)–NH–[(CH₂)₂–O]_a–(CH₂)₂–C(=O)–NH–(CH₂)₂–SO₃H, где "a" представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 50, в таком диапазоне как от 1 до 24, например 4, например, A₇ представляет собой группу –C(=O)–(CH₂)₂–C(=O)–NH–[(CH₂)₂–O]₄–(CH₂)₂–C(=O)–NH–(CH₂)₂–SO₃H;

при этом следует понимать, что каждый A₇, содержащий функциональную группу SO₃H, может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли (SO₃[–] +Na);

В соответствии с по меньшей мере одним вариантом осуществления (AA)**w** содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту AA_s и/или w незамещенных аминокислот AA_{ns}, и L2 представляет собой

NA₇–(C₁–C₆)алкильную группу, группу (C₁–C₆)алкил–NA₇, NA₇–(CH₂CH₂O)_i(C₁–C₆)алкильную группу, NA₇–арильную группу, NA₇–гетероарильную группу, (C₁–

C_6 алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- NA_7 , $C(=O)-NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-NA_7$ -арильную группу, $C(=O)-NA_7$ -гетероарильную группу, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- NA_7 , $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- NA_7 , $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ или $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу; где i , A_7 и A_8 определены выше.

В соответствии с другим вариантом осуществления **(AA)w** содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту AA_s и/или w незамещенных аминокислот AA_{ns} , и **L2** представляет собой

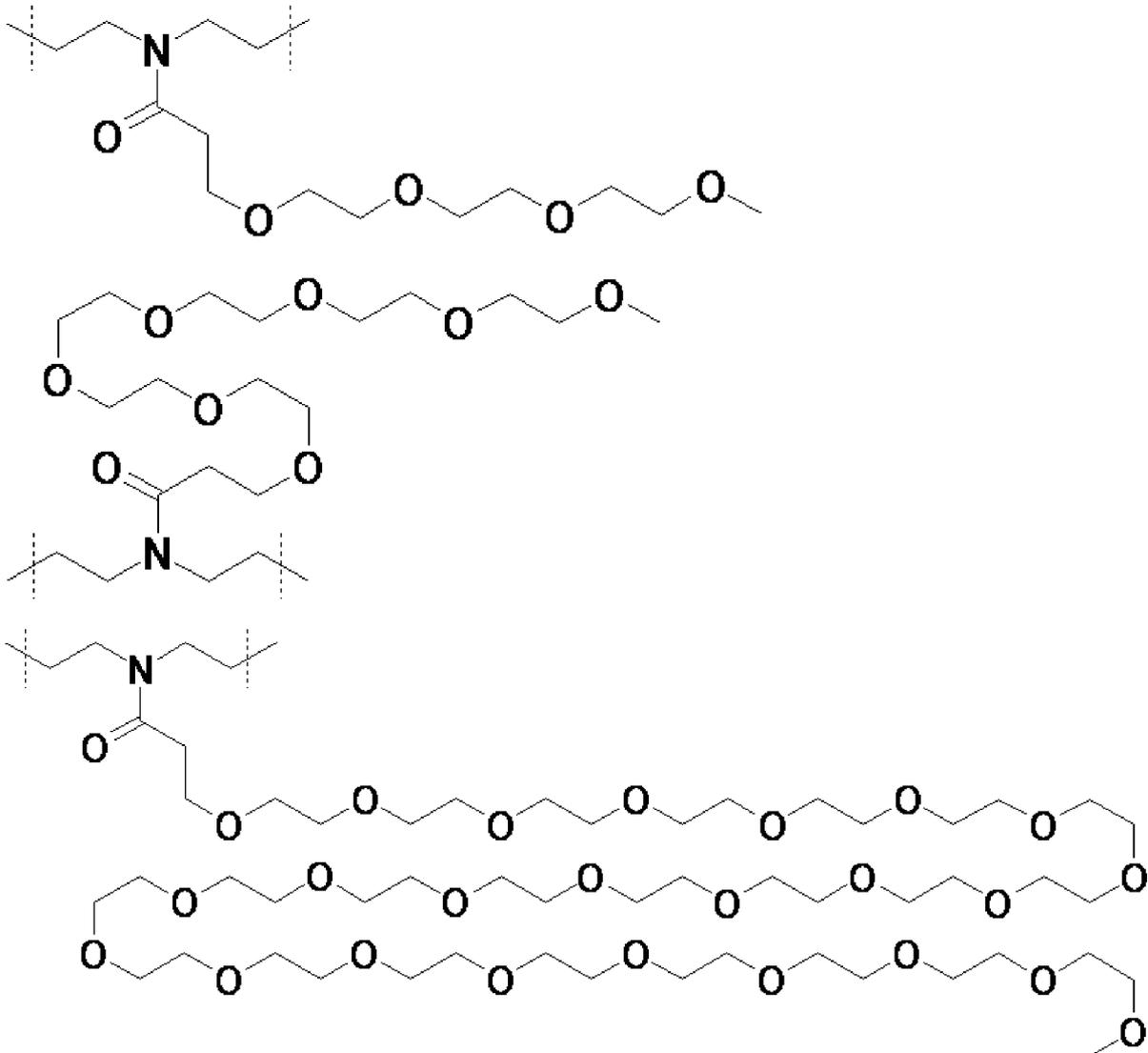
$NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- NA_7 , $NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, NA_7 -арильную группу, NA_7 -гетероарильную группу, (C_1-C_6) алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- NA_7 , $C(=O)-NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-NA_7$ -арильную группу, $C(=O)-NA_7$ -гетероарильную группу, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$,

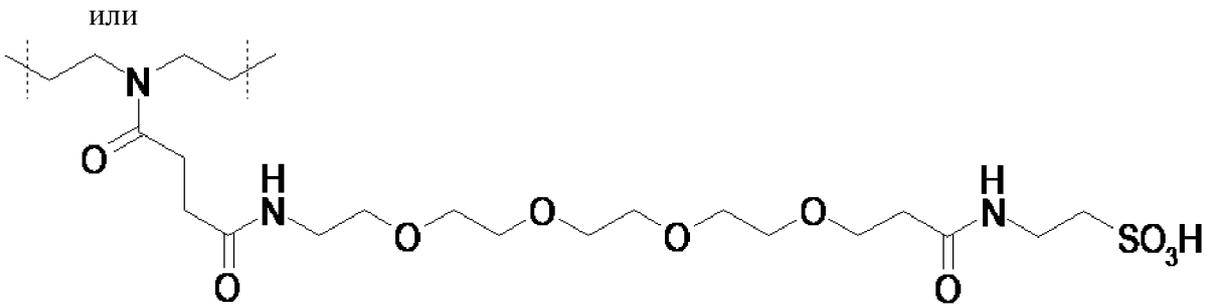
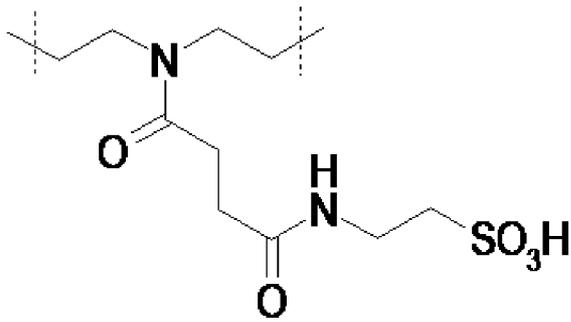
В соответствии с по меньшей мере другим вариантом осуществления **(AA)w** содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту **AA_s** и/или **w** незамещенных аминокислот **AA_{ns}**, и **L2** содержит **A₇**, представляющий собой

группу $C(=O)-[(CH_2)_2-O]_4-CH_3$; группу $C(=O)-[(CH_2)_2-O]_7-CH_3$; группу $C(=O)-[(CH_2)_2-O]_{24}-CH_3$; группу $C(=O)-(CH_2)_2-C(=O)-NH-(CH_2)_2-SO_3H$; группу $C(=O)-(CH_2)_2-C(=O)-NH-[(CH_2)_2-O]_4-(CH_2)_2-C(=O)-NH-(CH_2)_2-SO_3H$;

при этом следует понимать, что каждый **A₇**, содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($SO_3^- +Na$).

В соответствии с по меньшей мере другим вариантом осуществления **(AA)w** содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту **AA_s** и/или **w** незамещенных аминокислот **AA_{ns}**, и **L2** представляет собой





L1 может представлять собой одно из следующих (III1–5):

Р	Примеры L1
Н	$\text{—NA}_6\text{—ALK—NA}_7\text{—} \quad (\text{III1})$
ОН	$\text{—} \quad (\text{III3})$
активированный О	$\text{—NA}_4\text{—} \begin{matrix} \text{J}_1 & \text{J}_2 & \text{A}_3 & \text{A}_2 \\ & & & \\ \text{J}_4 & \text{J}_3 & \text{O} & \text{C=O} \end{matrix} \quad (\text{III4})$
	$\text{—NA}_4\text{—} \begin{matrix} \text{J}_1 & \text{J}_2 & \text{A}_3 & \text{A}_2 \\ & & & \\ \text{J}_4 & \text{J}_3 & \text{O} & \text{C=O} \end{matrix} \text{—NA}_6\text{—ALK—NA}_5\text{—C=O} \quad (\text{III5})$

где

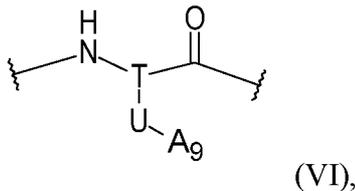
- J₁, J₂, J₃ и J₄ выбраны независимо друг от друга из CA₁ и N;
- ALK представляет собой (C₁–C₁₂)алкиленовую группу, например (C₁–C₆)алкилен, например, в форме $\text{—(CH}_2\text{)}_n\text{—}$, при этом n представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 12, и, например, находящееся в диапазоне от 1 до 6;
- A₁, A₂, A₃, A₄, A₅ и A₆ представляют собой независимо друг от друга атом водорода или (C₁–C₆)алкильную группу, например, атом водорода или метильную группу.

AA обозначает аминокислоту. Аминокислота представляет собой соединение формулы $\text{NH}_2\text{-CH(A}_{10}\text{)-COOH}$, где **A**₁₀ представляет собой боковую цепь **AA**. **AA** может представлять собой замещенную **AA**_s или незамещенную **AA**_{ns} аминокислоту.

Незамещенная аминокислота **AA**_{ns} обозначает природную или неприродную аминокислоту D- или L-конфигурации, идентичную аланину (Ala), β-аланину, γ-аминомасляной кислоте, 2-амино-2-циклогексилуксусной кислоте, 2-амино-2-фенилуксусной кислоте, аргинину (Arg), аспарагину (Asn), аспарагиновой кислоте (Asp), цитруллину (Cit), цистеину (Cys), α,α-диметил-γ-аминомасляной кислоте, β,β-диметил-γ-аминомасляной кислоте, глутамину (Gln), глутаминовой кислоте (Glu), глицину (Gly), гомоцистеину, селеноцистеину, гомоселеноцистеину, гистидину (His), изолейцину (Ile), лейцину (Leu), лизину (Lys), ε-ацетиллизину (AcLys), метионину (Met), орнитину (Orn), фенилаланину (Phe), пролину (Pro), серину (Ser), треонину (Thr), триптофану (Trp), тирозину (Tyr) и валину (Val) или являющуюся их производным.

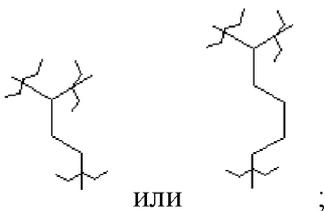
Например, **AA**_{ns} представляет собой аланин (Ala), цитруллин (Cit), глицин (Gly), изолейцин (Ile), лейцин (Leu), лизин (Lys), ε-ацетиллизин (AcLys), фенилаланин (Phe), триптофан (Trp) и валин (Val).

Замещенные аминокислоты **AA**_s характеризуются формулой (VI):



где

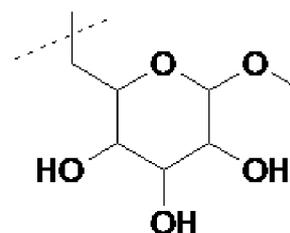
T представляет собой насыщенную или ненасыщенную, линейную или разветвленную тривалентную (C₁-C₈)алкильную группу, например, **T** представляет собой



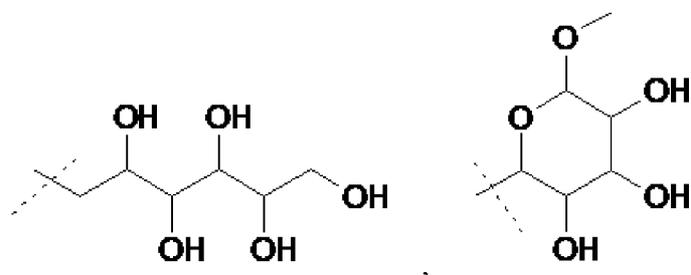
группа **U** представляет собой одинарную связь, -NHC(=O)- , -N(алкил)C(=O)- , -C(=O)NH- , -C(=O)N(алкил)- , -NHC(=O)NH- , -NHC(=NH)NH- , -OC(=O)- , -C(=O)O- , -OC(=O)O- , -S- , -Se- , -O- , -NH- , -N(алкил)- , -C(=O)- , -OP(=O)- , -S(=O)- , $\text{-S(=O)}_2\text{-}$, $\text{-NHS(=O)}_2\text{-}$, $\text{-N(алкил)S(=O)}_2\text{-}$, $\text{-S(=O)}_2\text{NH-}$, $\text{-S(=O)}_2\text{N(алкил)-}$, -P(=O)(OH)- , -P(=O)(OH)O- , -O-P(=O)(OH)- или -O-P(=O)(OH)-O- , например, группа **U** представляет собой -NH-C(=O)- или -C(=O)NH- ;

A₉ представляет собой прямую или разветвленную, насыщенную или ненасыщенную, необязательно замещенную C₁-C₁₆₀углеводородную цепь, где необязательно по меньшей мере одно метиленовое звено независимо заменено -NH-C(=O)- , -N(алкил)C(=O)- , -C(=O)NH- , -C(=O)N(алкил)- , -NHC(=O)NH- , $\text{-$

NHC(=NH)NH-, -OC(=O)-, -C(=O)O-, -OC(=O)O-, -CH(OH)-, -CH(SO₃H)-, -CH(Оалкил)-, -CHF-, -CF₂-, -S-, -Se-, -O-, -NH-, -N(алкил)-, -N⁺H(алкил)-, -N⁺(алкил)₂-, -C(=O)-, -OP(=O)-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NHS(=O)₂-, -N(алкил)S(=O)₂-, -S(=O)₂NH-, -S(=O)₂N(алкил)-, -P(=O)(OH)-, -P(=O)(OH)O-, -O-P(=O)(OH)-, -O-P(=O)(OH)-O- или гетероциклоалкильной группой, необязательно замещенной по меньшей мере одним заместителем, идентичным или отличающимся, выбранным из -OH, -Оалкила, -алкила, атома галогена, -NH₂, -NHалкила и -N(алкил)₂, например, **A₉**



представляет собой [(CH₂)₂-O]₄-CH₃, [(CH₂)₂-O]₂₄-CH₃,

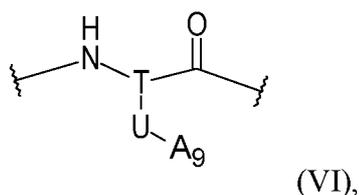


или [(CH₂)₂-O]₄-(CH₂)₂-C(=O)-NH-

(CH₂)₂-SO₃H;

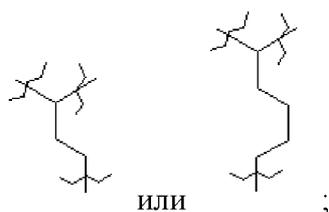
при этом следует понимать, что каждый **A₉**, содержащий функциональную группу SO₃H, может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли (SO₃⁻Na).

В соответствии с конкретным вариантом осуществления замещенные аминокислоты **AA_s** характеризуются формулой (VI):



где

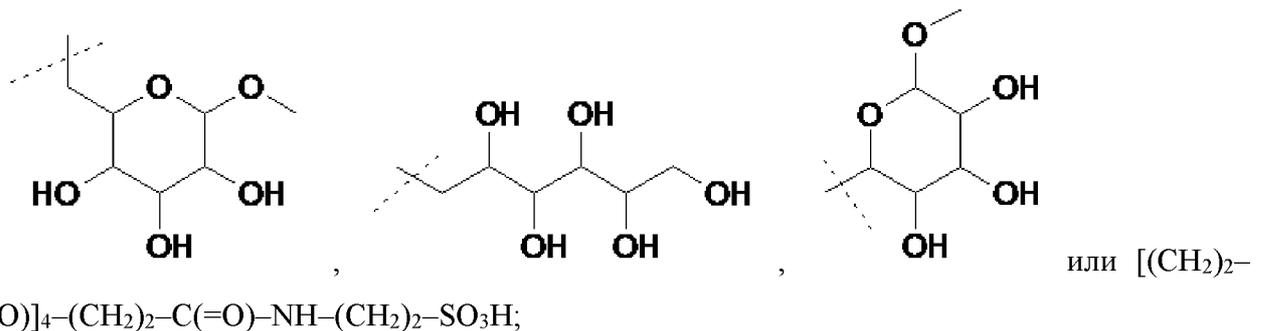
T представляет собой насыщенную или ненасыщенную, линейную или разветвленную тривалентную (C₁-C₈)алкильную группу, например, **T** представляет собой



группа **U** представляет собой одинарную связь, -NHC(=O)-, -N(алкил)C(=O)-, -

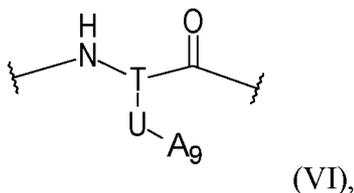
$C(=O)NH-$, $-C(=O)N(\text{алкил})-$, $-NHC(=O)NH-$, $-NHC(=NH)NH-$, $-OC(=O)-$, $-C(=O)O-$, $-OC(=O)O-$, $-S-$, $-Se-$, $-O-$, $-NH-$, $-N(\text{алкил})-$, $-C(=O)-$, $-OP(=O)-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-NHS(=O)_2-$, $-N(\text{алкил})S(=O)_2-$, $-S(=O)_2NH-$, $-S(=O)_2N(\text{алкил})-$, $-P(=O)(OH)-$, $-P(=O)(OH)O-$, $-O-P(=O)(OH)-$ или $-O-P(=O)(OH)-O-$, например, группа **U** представляет собой $-NH-C(=O)-$ или $-C(=O)NH-$;

A₉ представляет собой прямую или разветвленную, насыщенную или ненасыщенную, необязательно замещенную C_1-C_{160} углеводородную цепь, где необязательно по меньшей мере одно метиленовое звено независимо заменено $-NH-C(=O)-$, $-N(\text{алкил})C(=O)-$, $-C(=O)NH-$, $-C(=O)N(\text{алкил})-$, $-NHC(=NH)NH-$, $-OC(=O)-$, $-C(=O)O-$, $-OC(=O)O-$, $-CH(OH)-$, $-CH(SO_3H)-$, $-CH(O\text{алкил})-$, $-CHF-$, $-CF_2-$, $-S-$, $-Se-$, $-O-$, $-NH-$, $-N(\text{алкил})-$, $-N^+H(\text{алкил})-$, $-N^+(\text{алкил})_2-$, $-C(=O)-$, $-OP(=O)-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-NHS(=O)_2-$, $-N(\text{алкил})S(=O)_2-$, $-S(=O)_2NH-$, $-S(=O)_2N(\text{алкил})-$, $-P(=O)(OH)-$, $-P(=O)(OH)O-$, $-O-P(=O)(OH)-$, $-O-P(=O)(OH)-O-$ или гетероциклоалкильной группой, необязательно замещенной по меньшей мере одним заместителем, идентичным или отличающимся, выбранным из $-OH$, $-O\text{алкила}$, $-алкила$, атома галогена, $-NH_2$, $-NH\text{алкила}$ и $-N(\text{алкил})_2$, например, **A₉** представляет собой $[(CH_2)_2-O]_4-CH_3$, $[(CH_2)_2-O]_{24}-CH_3$,



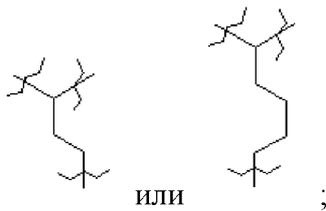
при этом следует понимать, что каждый **A₉**, содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($SO_3^- +Na$).

В соответствии с другим конкретным вариантом осуществления замещенные аминокислоты **AA_s** характеризуются формулой (VI):



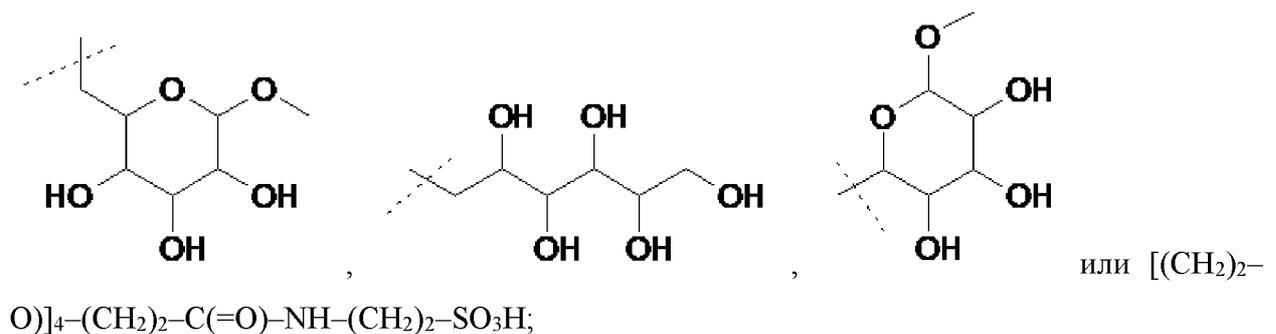
где

T представляет собой насыщенную или ненасыщенную, линейную или разветвленную тривалентную (C_1-C_8)алкильную группу, например, **T** представляет собой



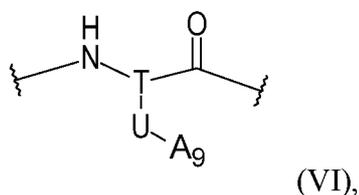
группа **U** представляет собой одинарную связь, $-\text{NHC}(=\text{O})-$, $-\text{N}(\text{алкил})\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{NHC}(=\text{O})\text{NH}-$, $-\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}-$, $-\text{OC}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{Se}-$, $-\text{O}-$, $-\text{NH}-$, $-\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{OP}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{NHS}(=\text{O})_2-$, $-\text{N}(\text{алкил})\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}-$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})\text{O}-$, $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$ или $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-\text{O}$, например, группа **U** представляет собой $-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-$ или $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$;

A₉ представляет собой прямую или разветвленную, насыщенную или ненасыщенную, необязательно замещенную $\text{C}_1-\text{C}_{160}$ углеводородную цепь, где необязательно по меньшей мере одно метиленовое звено независимо заменено $-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{N}(\text{алкил})\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}-$, $-\text{OC}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{CH}(\text{OH})-$, $-\text{CH}(\text{SO}_3\text{H})-$, $-\text{CH}(\text{Оалкил})-$, $-\text{CHF}-$, $-\text{CF}_2-$, $-\text{S}-$, $-\text{Se}-$, $-\text{O}-$, $-\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{N}^+\text{H}(\text{алкил})-$, $-\text{N}^+(\text{алкил})_2-$, $-\text{OP}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{NHS}(=\text{O})_2-$, $-\text{N}(\text{алкил})\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}-$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})\text{O}-$, $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$, $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-\text{O}$ или гетероциклоалкильной группой, необязательно замещенной по меньшей мере одним заместителем, идентичным или отличающимся, выбранным из $-\text{OH}$, $-\text{Оалкила}$, $-\text{алкила}$, атома галогена, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHалкила}$ и $-\text{N}(\text{алкил})_2$, например, **A₉** представляет собой $[(\text{CH}_2)_2-\text{O}]_4-\text{CH}_3$, $[(\text{CH}_2)_2-\text{O}]_{24}-\text{CH}_3$,



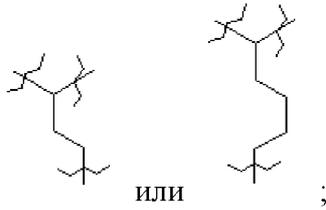
при этом следует понимать, что каждый **A₉**, содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($\text{SO}_3^- + \text{Na}$).

В соответствии с другим конкретным вариантом осуществления замещенные аминокислоты **AA_s** характеризуются формулой (VI):



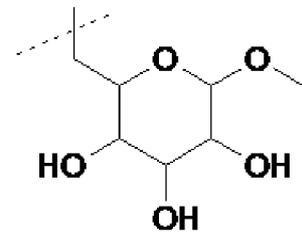
где

T представляет собой насыщенную или ненасыщенную, линейную или разветвленную тривалентную (C_1-C_8)алкильную группу, например, **T** представляет собой

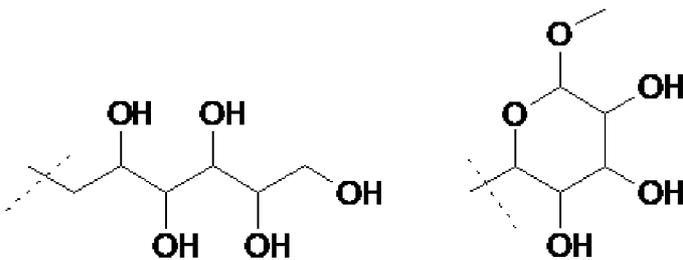


группа **U** представляет собой одинарную связь, $-NHC(=O)-$, $-N(\text{алкил})C(=O)-$, $-C(=O)NH-$, $-C(=O)N(\text{алкил})-$, $-NHC(=O)NH-$, $-NHC(=NH)NH-$, $-OC(=O)-$, $-C(=O)O-$, $-OC(=O)O-$, $-S-$, $-Se-$, $-O-$, $-NH-$, $-N(\text{алкил})-$, $-C(=O)-$, $-OP(=O)-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-NHS(=O)_2-$, $-N(\text{алкил})S(=O)_2-$, $-S(=O)_2NH-$, $-S(=O)_2N(\text{алкил})-$, $-P(=O)(OH)-$, $-P(=O)(OH)O-$, $-O-P(=O)(OH)-$ или $-O-P(=O)(OH)-O-$, например, группа **U** представляет собой $-NH-C(=O)-$ или $-C(=O)NH-$;

A₉ представляет собой прямую или разветвленную, насыщенную или ненасыщенную, необязательно замещенную C_1-C_{160} углеводородную цепь, где необязательно по меньшей мере одно метиленовое звено независимо заменено $-NH-C(=O)-$, $-N(\text{алкил})C(=O)-$, $-C(=O)NH-$, $-C(=O)N(\text{алкил})-$, $-C(=O)O-$, $-OC(=O)O-$, $-CH(OH)-$, $-CH(SO_3H)-$, $-CH(\text{Оалкил})-$, $-CHF-$, $-CF_2-$, $-Se-$, $-O-$, $-N(\text{алкил})-$, $-N^+(\text{алкил})-$, $-N^+(\text{алкил})_2-$, $-OP(=O)-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-NHS(=O)_2-$, $-N(\text{алкил})S(=O)_2-$, $-S(=O)_2NH-$, $-S(=O)_2N(\text{алкил})-$, $-P(=O)(OH)-$, $-P(=O)(OH)O-$, $-O-P(=O)(OH)-$, $-O-P(=O)(OH)-O-$ или гетероциклоалкильной группой, необязательно замещенной по меньшей мере одним заместителем, идентичным или отличающимся, выбранным из $-OH$, $-O\text{алкила}$, $-алкила$, атома галогена, $-NH_2$, $-NH\text{алкила}$ и $-N(\text{алкил})_2$, например, **A₉**



представляет собой $[(CH_2)_2-O]_4-CH_3$, $[(CH_2)_2-O]_{24}-CH_3$,



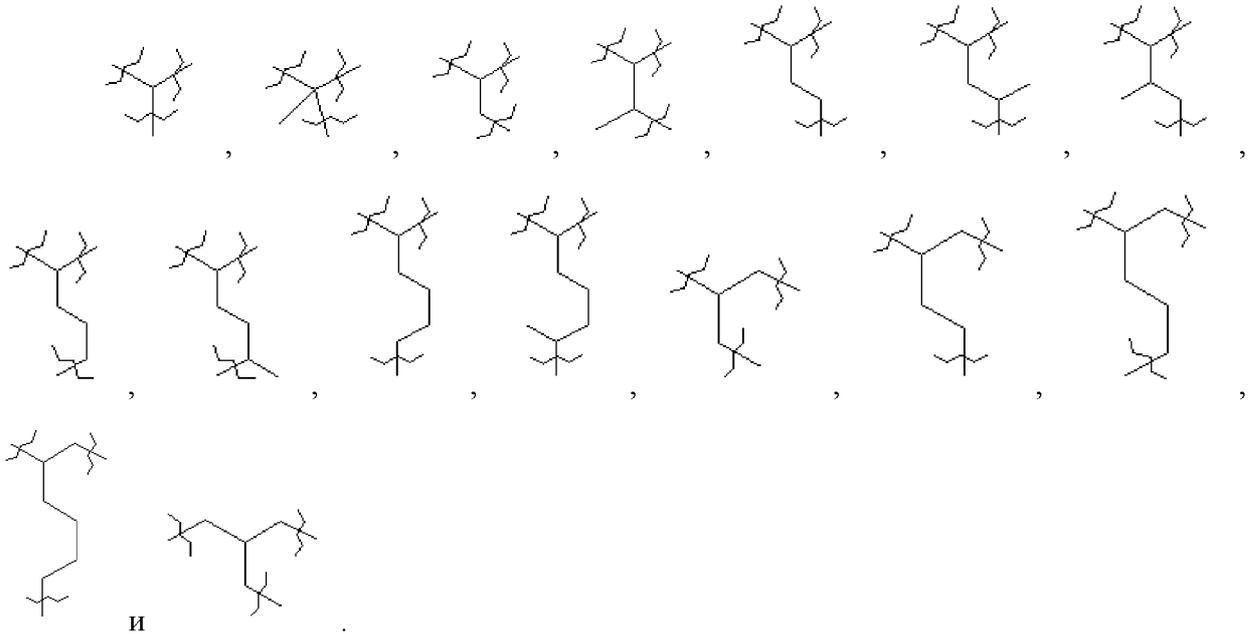
или $[(CH_2)_2-O]_4-(CH_2)_2-C(=O)-NH-$

$(CH_2)_2-SO_3H$;

при этом следует понимать, что каждый **A₉**, содержащий функциональную группу

SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($\text{SO}_3^- \text{Na}$).

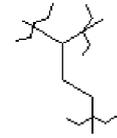
Примеры **T**, которые могут быть упомянуты, включают



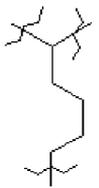
В соответствии с по меньшей мере одним вариантом осуществления замещенные аминокислоты **AA_s** характеризуются формулой (VI), где

T представляет собой насыщенную или ненасыщенную, линейную или

разветвленную тривалентную ($\text{C}_1\text{--C}_8$)алкильную группу, такую как



или



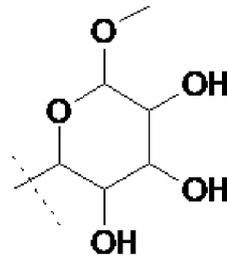
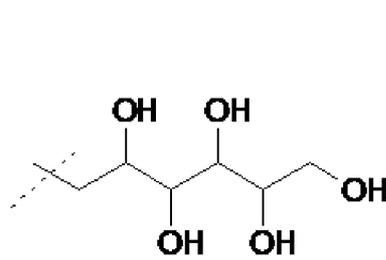
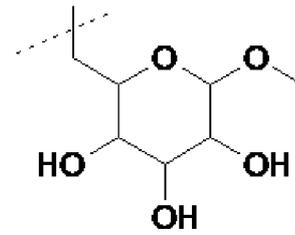
;

группа **U** представляет собой --NH--C(=O)-- или --C(=O)NH-- ;

A₉ представляет собой прямую или разветвленную, насыщенную или ненасыщенную, необязательно замещенную $\text{C}_1\text{--C}_{160}$ углеводородную цепь, где необязательно по меньшей мере одно метиленовое звено независимо заменено --C(=O)NH-- , --CH(OH)-- , $\text{--CH(SO}_3\text{H)--}$, --O-- , --NH-- , или --C(=O)-- , или гетероциклоалкильной группой, необязательно замещенной по меньшей мере одним заместителем, идентичным или отличающимся, выбранным из --OH , --Oалкила , --алкила , например, **A₉** представляет

собой $[(\text{CH}_2)_2\text{-O}]_4\text{-CH}_3$,

$[(\text{CH}_2)_2\text{-O}]_{24}\text{-CH}_3$,

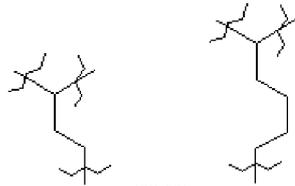


или $[(\text{CH}_2)_2\text{-O}]_4\text{-(CH}_2)_2\text{-C(=O)-NH-}$

$(\text{CH}_2)_2\text{-SO}_3\text{H}$;

при этом следует понимать, что каждый **A₉**, содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($\text{SO}_3^- \text{ } ^+\text{Na}$).

В соответствии с другим вариантом осуществления замещенные аминокислоты **AA_s** характеризуются формулой (VI), где

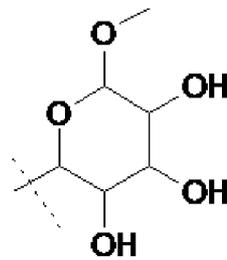
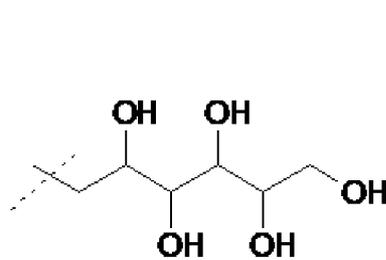
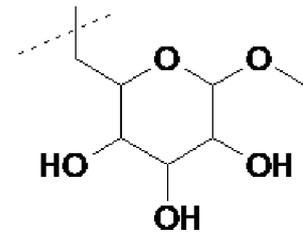


T представляет собой

или ;

группа **U** представляет собой -NH-C(=O)- или -C(=O)NH- ;

A₉ представляет собой $[(\text{CH}_2)_2\text{-O}]_4\text{-CH}_3$, $[(\text{CH}_2)_2\text{-O}]_{24}\text{-CH}_3$,

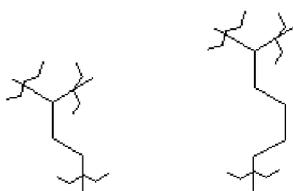


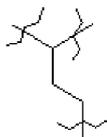
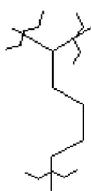
или $[(\text{CH}_2)_2\text{-O}]_4\text{-(CH}_2)_2\text{-C(=O)-NH-}$

$(\text{CH}_2)_2\text{-SO}_3\text{H}$;

при этом следует понимать, что каждый **A₉**, содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($\text{SO}_3^- \text{ } ^+\text{Na}$).

В соответствии с еще одним вариантом осуществления замещенные аминокислоты **AA_s** характеризуются формулой (VI), где

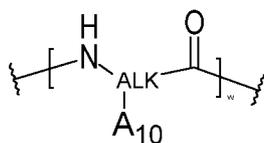


T представляет собой  или  ;

группа **U** представляет собой $-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-$ или $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$;

A₉ представляет собой $-\text{[(CH}_2\text{)}_2\text{-O}]_b\text{-CH}_3$, где "**b**" представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 50, например, находящееся в диапазоне от 1 до 24, такое как 4, 7 и 24, например 4 или 24.

Последовательность **(AA)_w** характеризуется формулой:

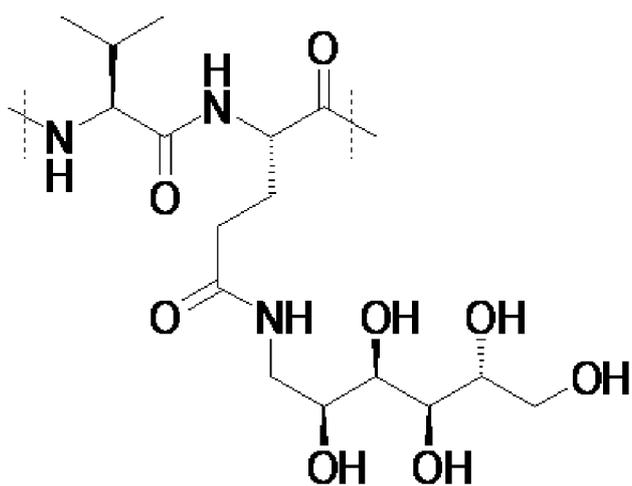
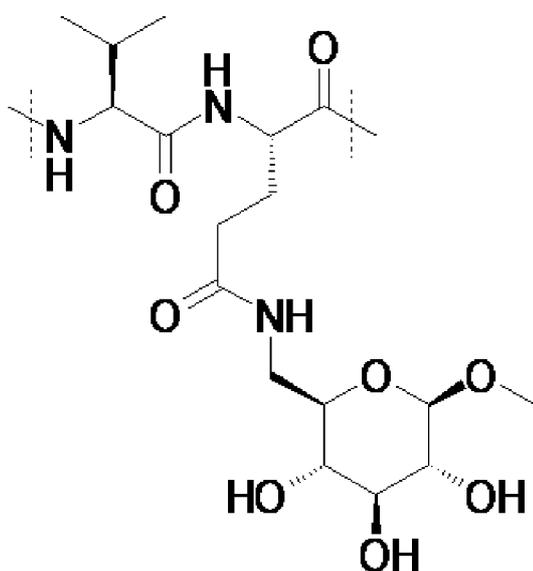
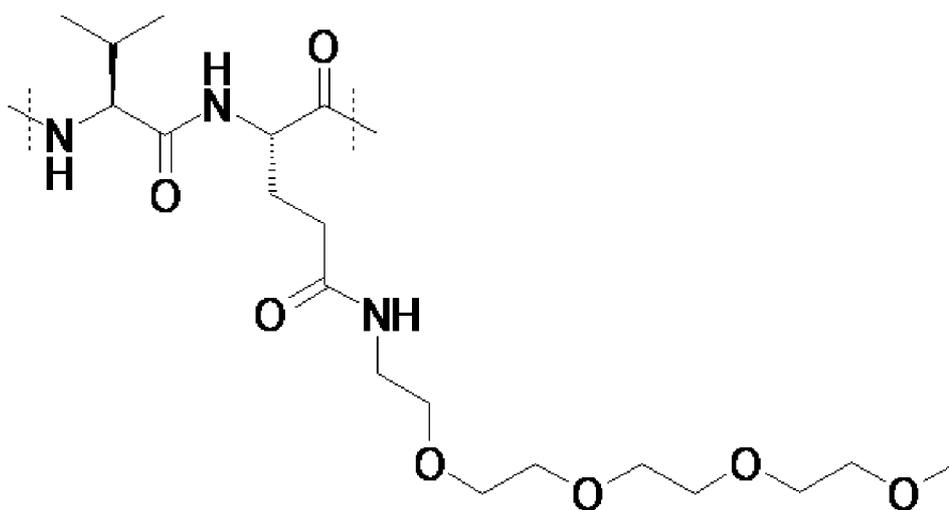


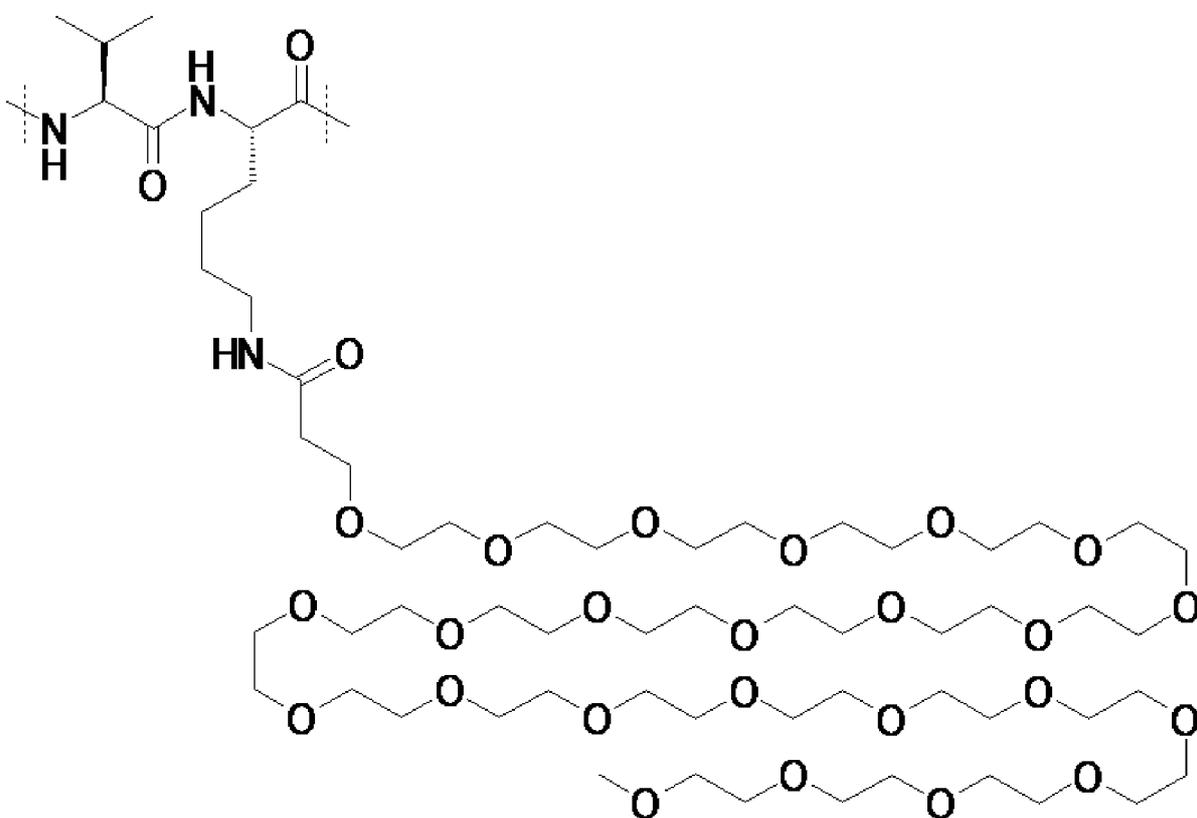
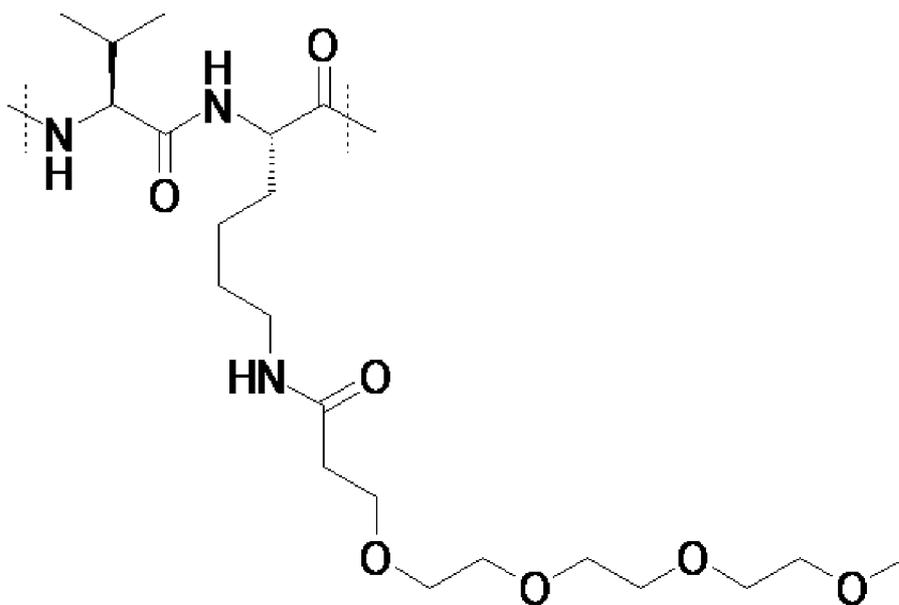
, в которой **A₁₀** представляет собой боковую цепь одной из замещенных **AA_s** или незамещенных **AA_{ns}** аминокислот, описанных выше.

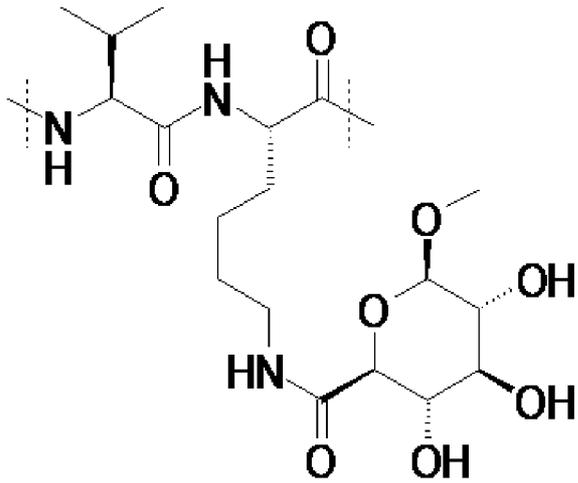
Примеры последовательностей из незамещенных аминокислот **(AA_{ns})_w** являются следующими: Gly–Gly, Phe–Lys, Val–Lys, Val–AcLys, Val–Cit, Phe–Phe–Lys, D–Phe–Phe–Lys, Gly–Phe–Lys, Ala–Lys, Val–Ala, Phe–Cit, Phe–Gly, Leu–Cit, Ile–Cit, Trp–Cit, Phe–Ala, Ala–Phe, Gly–Gly–Gly, Gly–Ala–Phe, Gly–Phe–Gly, Gly–Val–Cit, Gly–Phe–Leu–Cit (SEQ ID No. 3), Gly–Phe–Leu–Gly (SEQ ID No. 4), Ala–Leu–Ala–Leu (SEQ ID No. 5).

В соответствии с по меньшей мере одним вариантом осуществления последовательность **(AA_{ns})_w** из незамещенных аминокислот **AA_{ns}** выбрана из следующего перечня: Gly–Gly, Phe–Lys, Val–Lys, Val–AcLys, Val–Cit, Phe–Phe–Lys, D–Phe–Phe–Lys, Gly–Phe–Lys, Ala–Lys, Val–Ala, Phe–Cit, Phe–Gly, Leu–Cit, Ile–Cit, Trp–Cit, Phe–Ala, Ala–Phe, Gly–Gly–Gly, Gly–Ala–Phe, Gly–Phe–Gly, Gly–Val–Cit, Gly–Phe–Leu–Cit (SEQ ID No. 3), Gly–Phe–Leu–Gly (SEQ ID No. 4), и Ala–Leu–Ala–Leu (SEQ ID No. 5), например, Val–Ala и Val–Cit, например, Val–Ala.

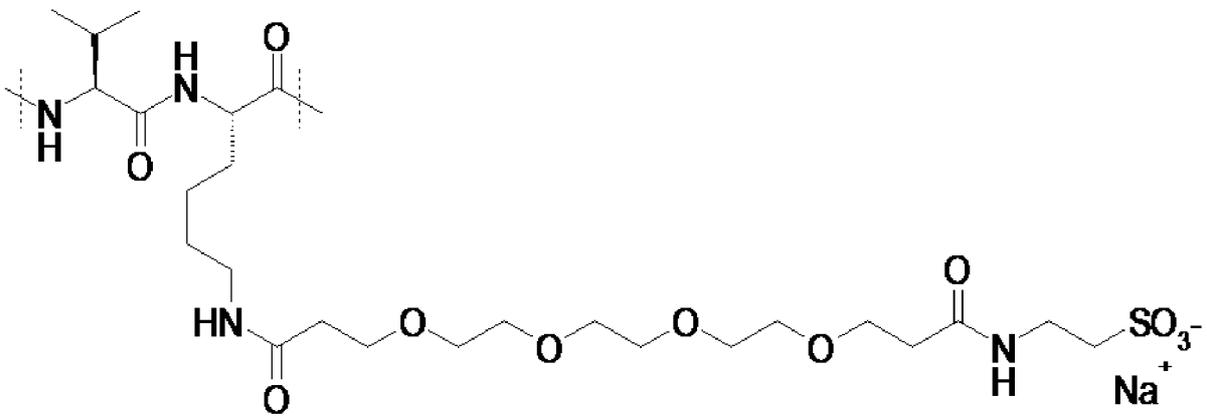
В соответствии с по меньшей мере другим вариантом осуществления последовательность **(AA_s)_w**, содержащая по меньшей мере одну замещенную аминокислоту **AA_s**, выбрана из перечня:



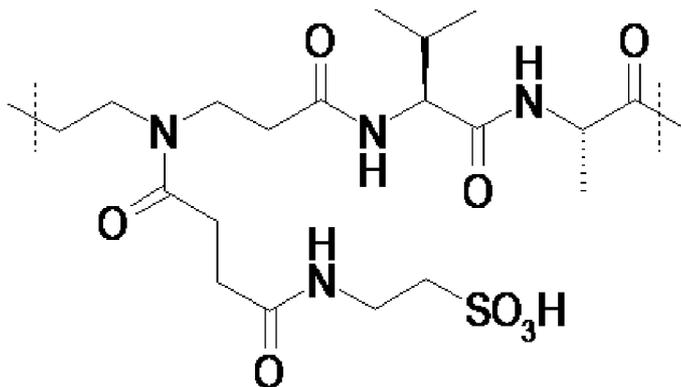
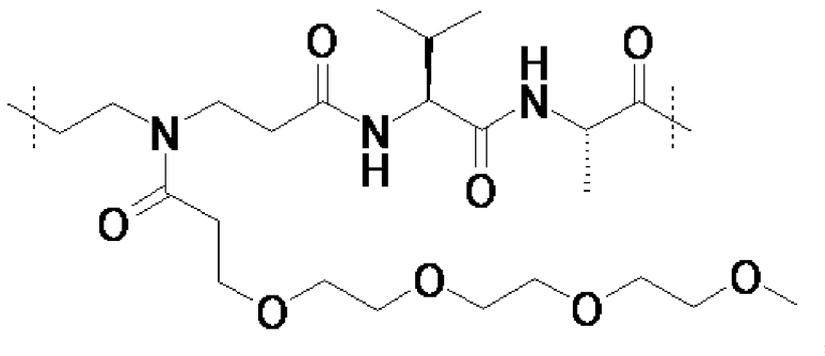


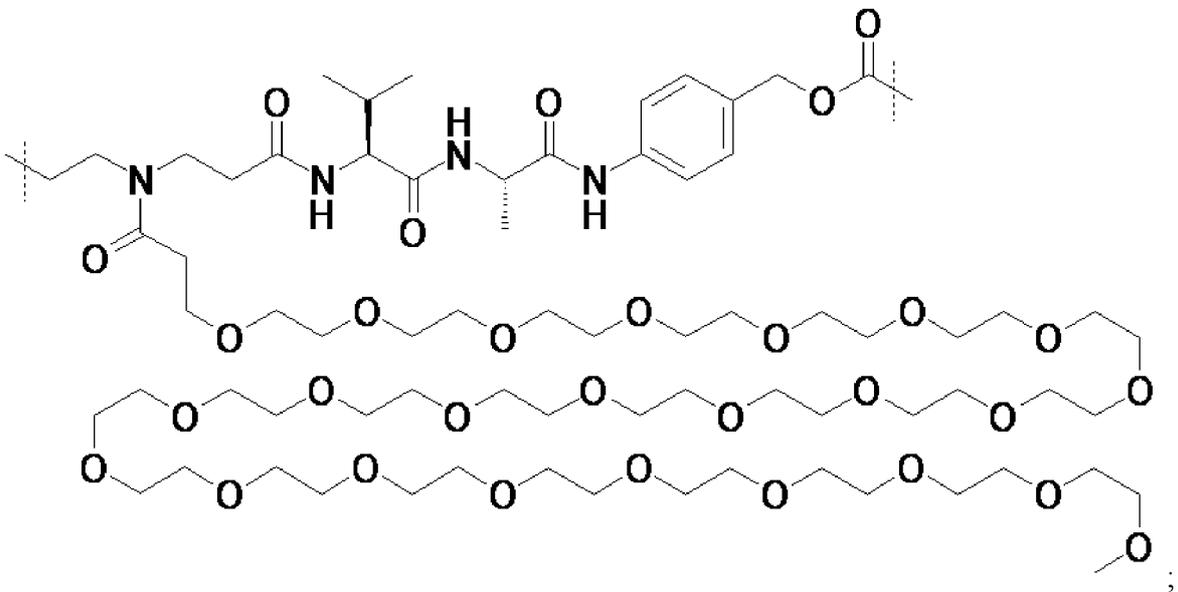
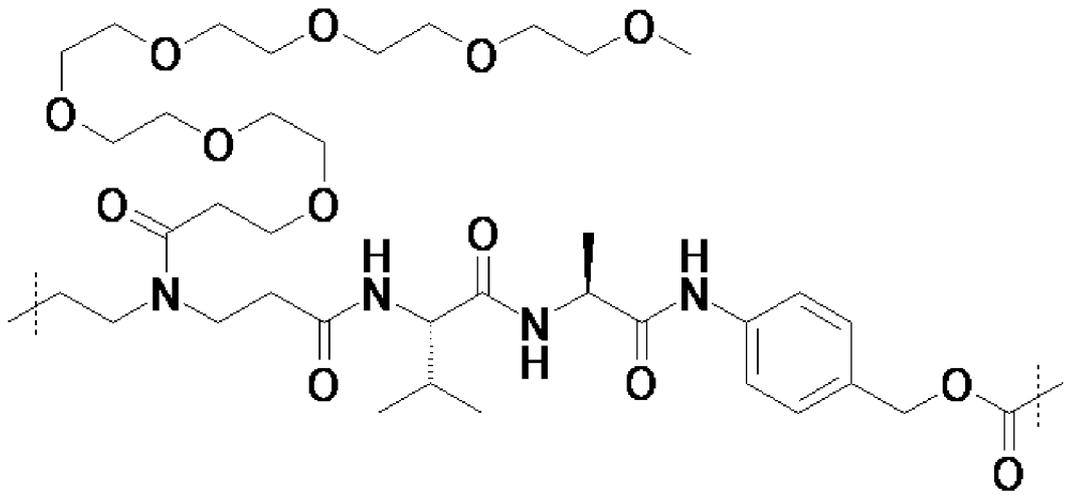
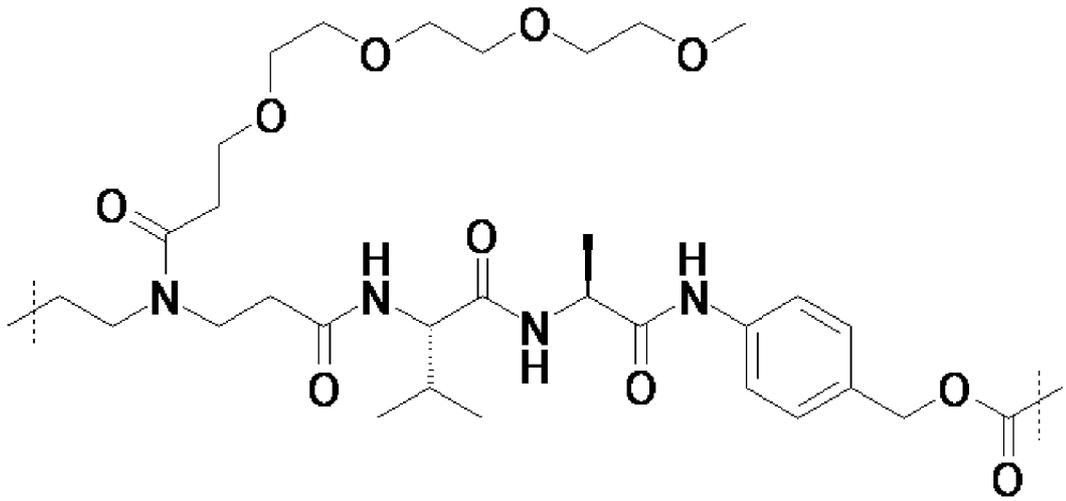


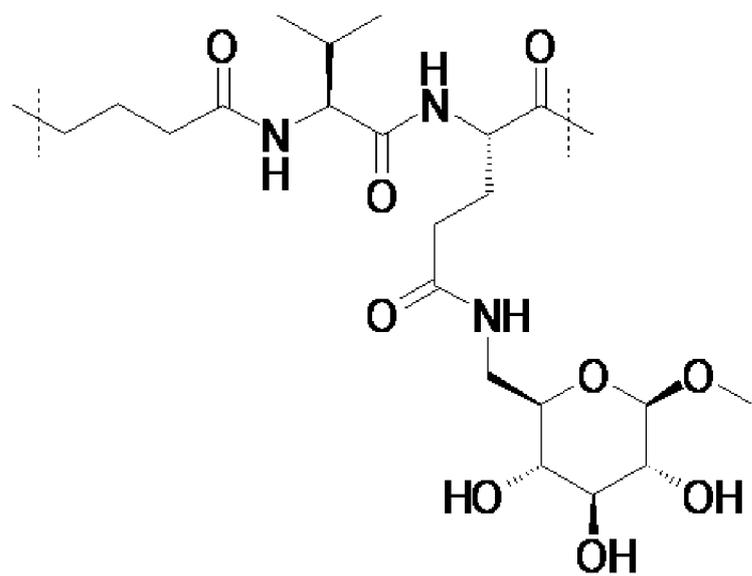
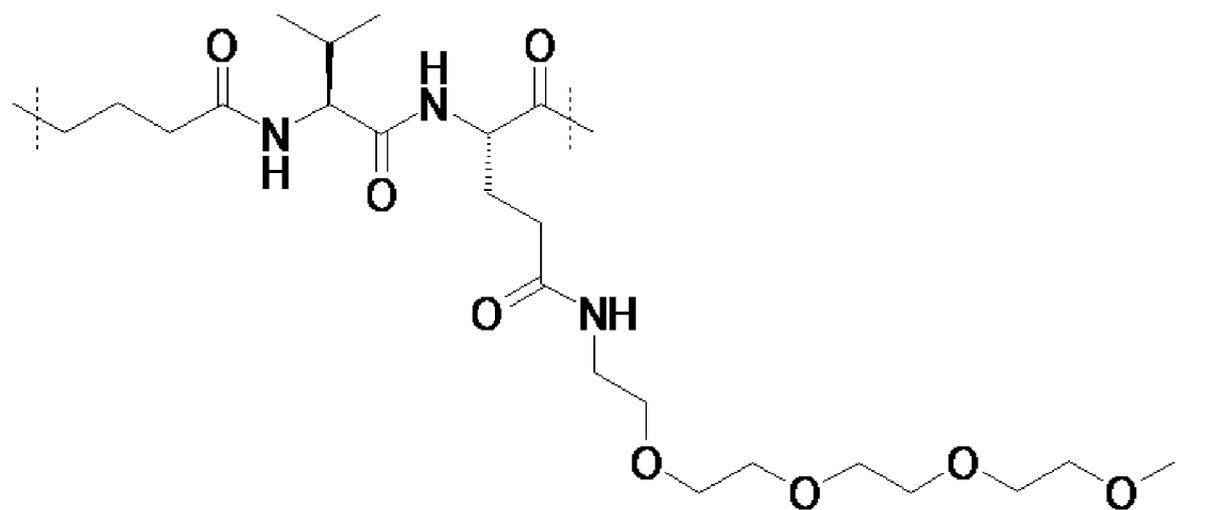
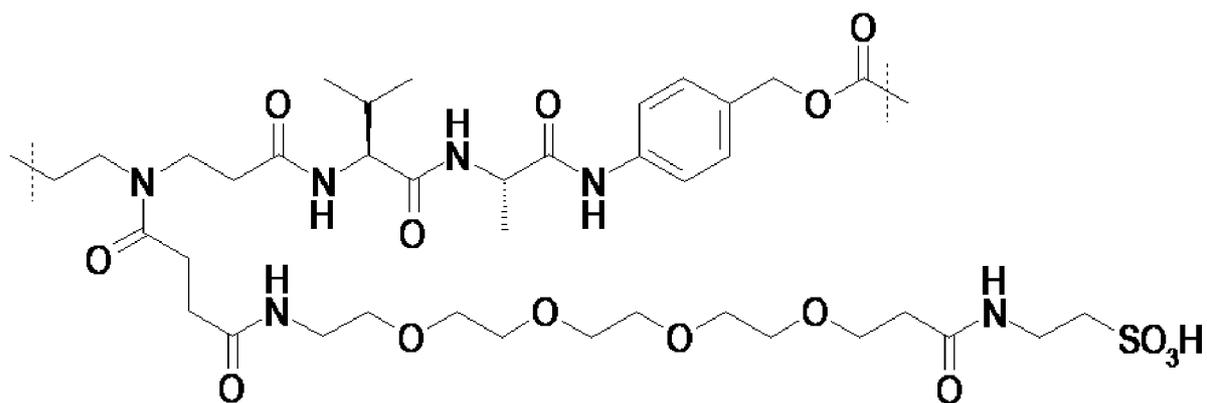
или

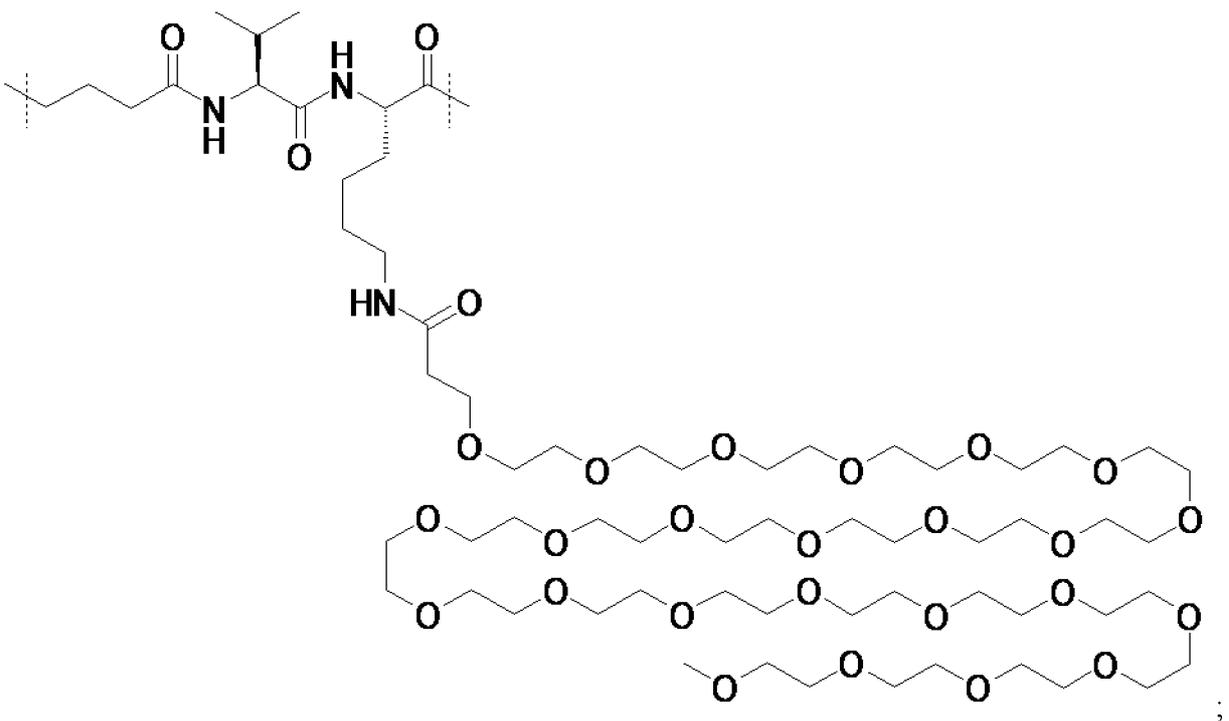
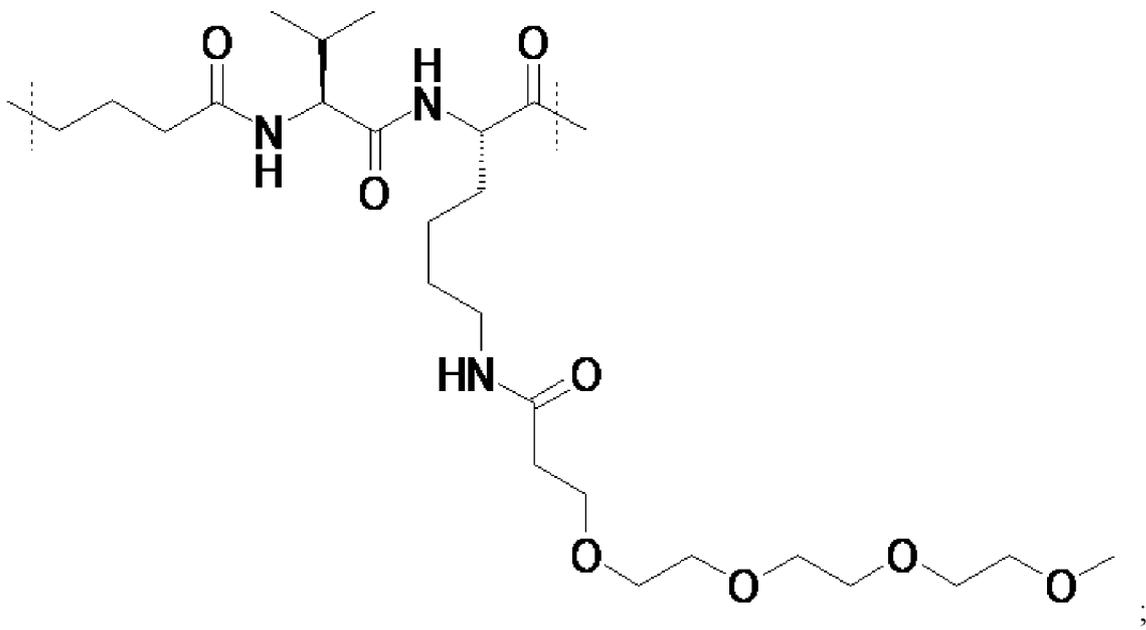
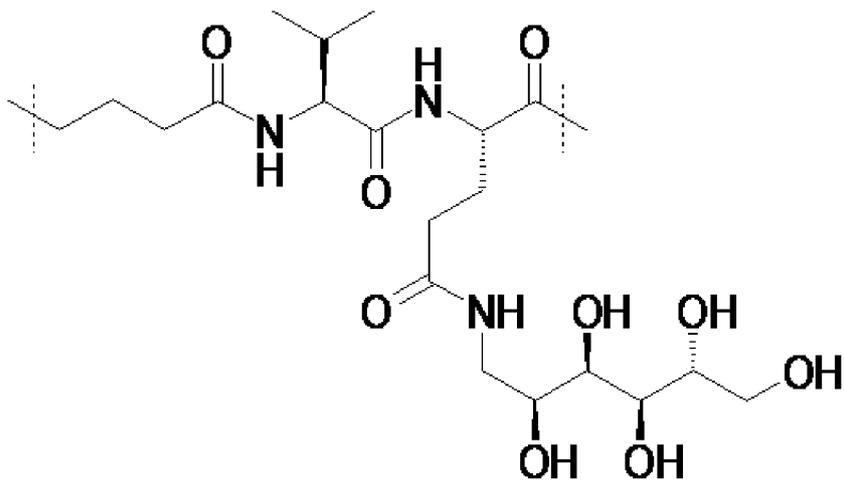


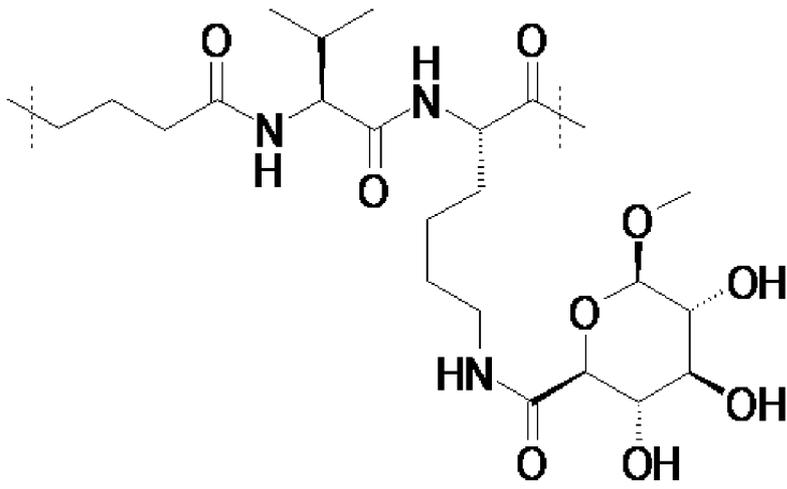
Среди линкеров L формулы (II), которые являются объектом настоящего изобретения, можно отметить, например, следующие соединения:



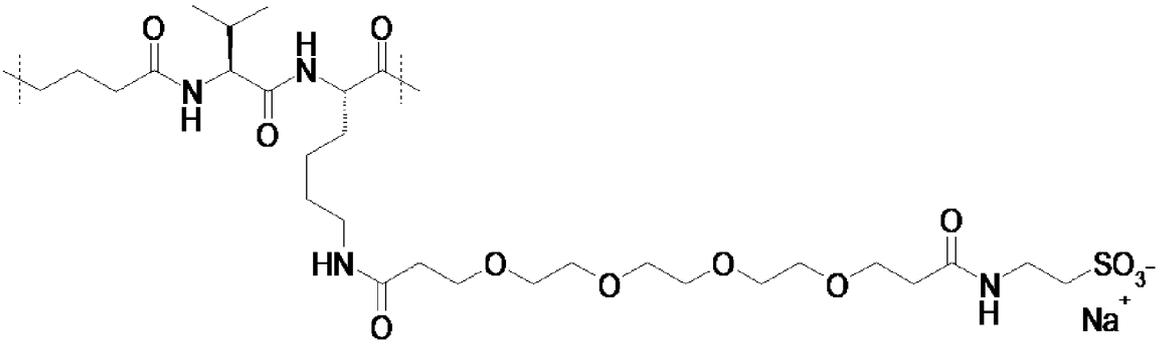




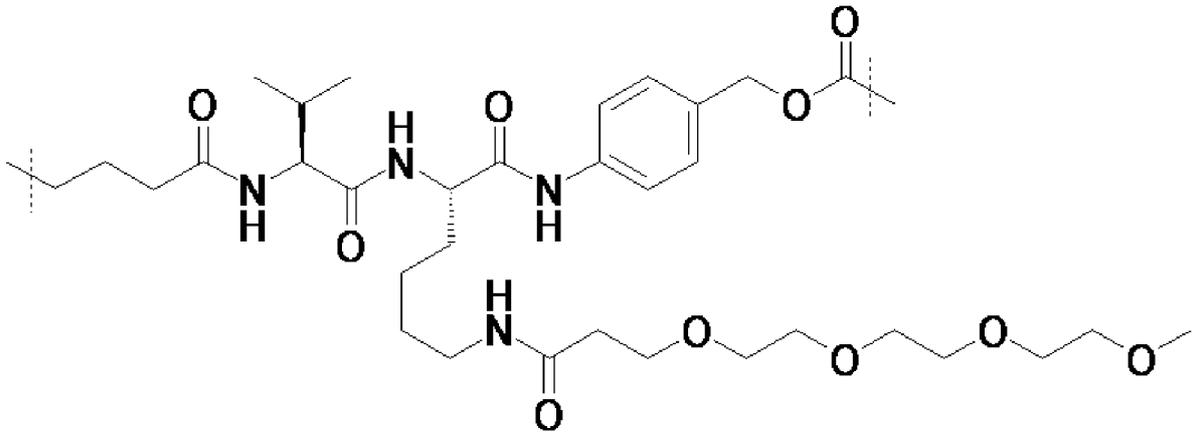




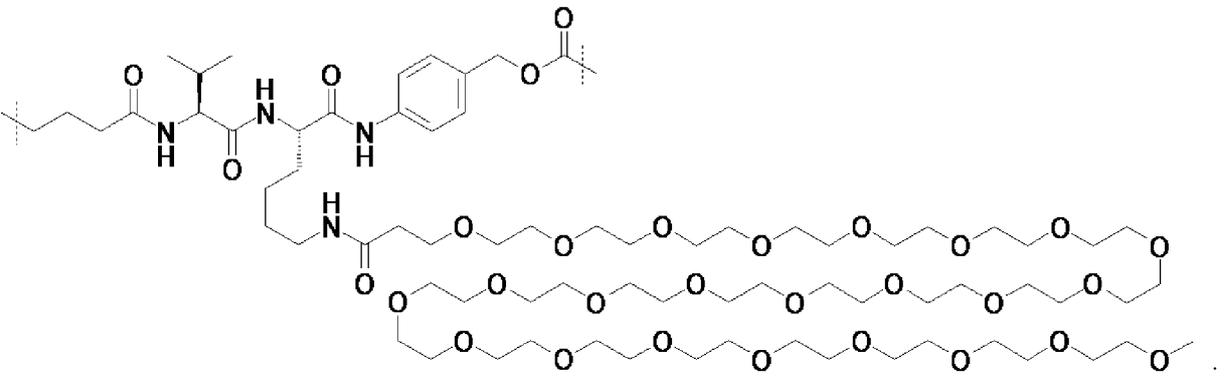
;



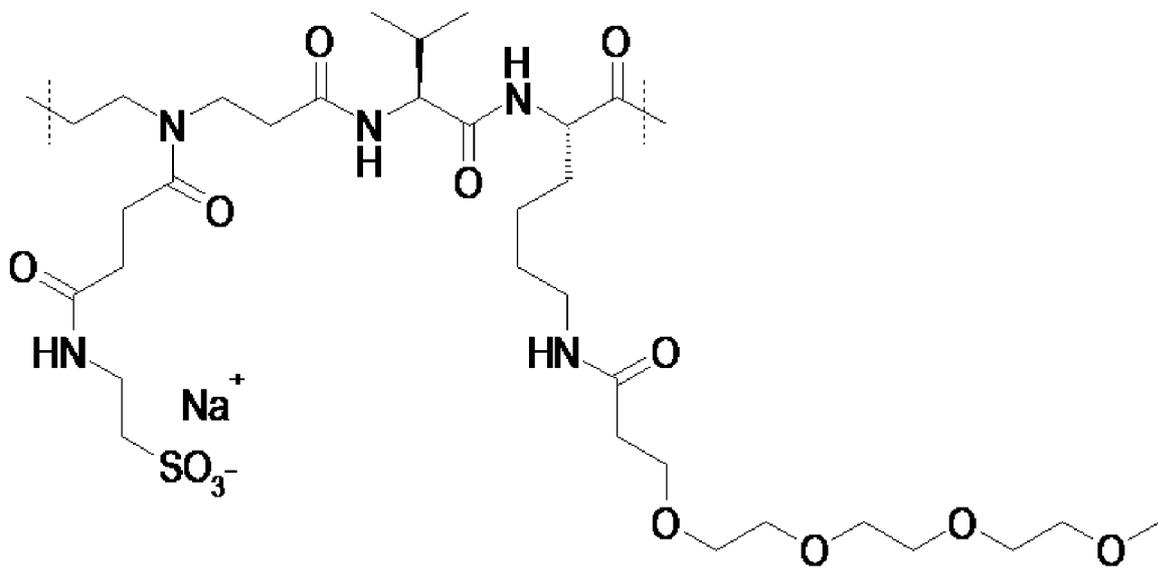
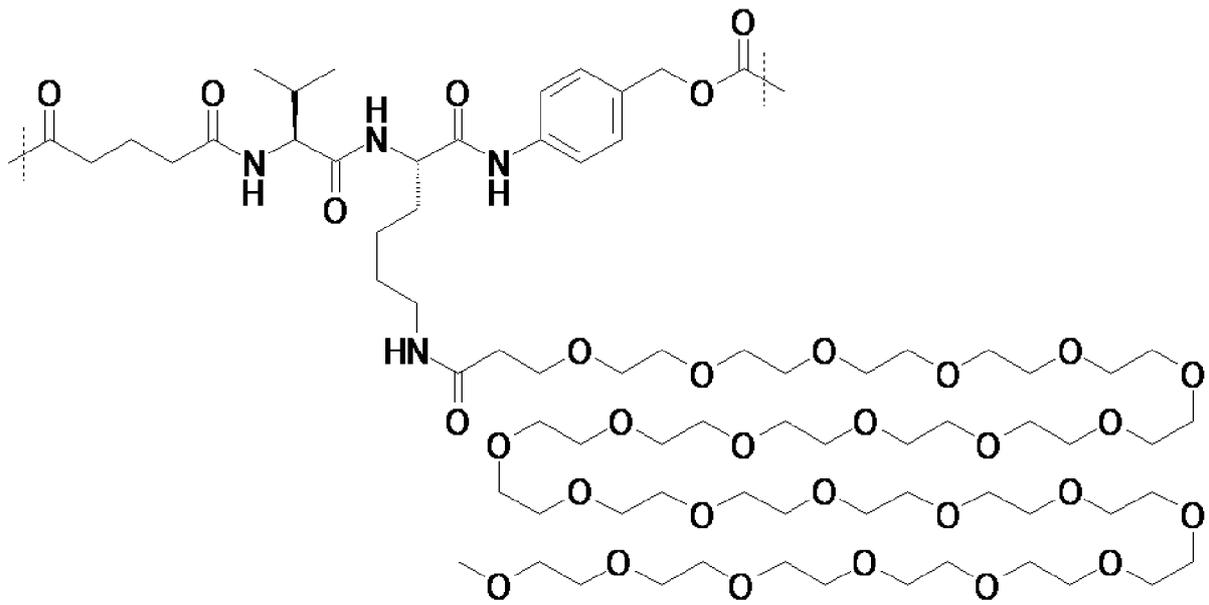
;



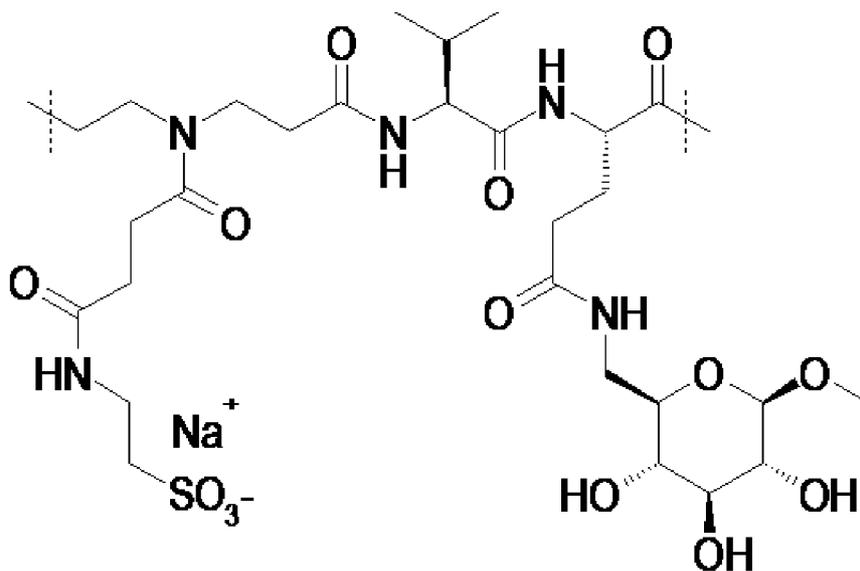
;



;



и

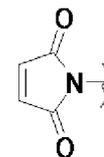


Примеры **RCG1**, которые могут быть упомянуты, включают

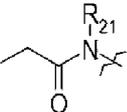
(i) реакционноспособную группу $R_aZ_a-C(=O)-$, в которой

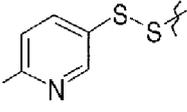
Z_a представляет собой одинарную связь, $-O-$ или $-NH$, например $-O-$, и

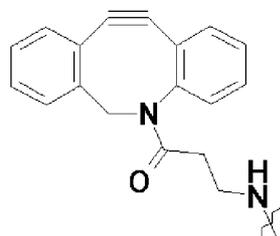
R_a представляет собой атом водорода, (C_1-C_6) алкил, (C_3-C_7) циклоалкил, алкенил, арил, гетероарил или (C_3-C_7) гетероциклоалкильную группу. Арильная группа, гетероарильная группа и/или (C_3-C_7) гетероциклоалкильная группа могут быть замещены 1–5 атомами/группами, выбранными из атома галогена, такого как атом фтора, алкильной группы, алкоксигруппы, гидроксильной группы, оксогруппы, нитрогруппы и цианогруппы;



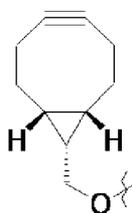
(ii) одну из следующих реакционноспособных групп: малеимидогруппа ;

галогенацетидамидогруппа Cl, Br или I , при этом R_{21} представляет собой атом водорода или (C_1-C_6) алкильную группу, например Me ; $Cl-$; N_3- ; $HO-$; $HS-$;

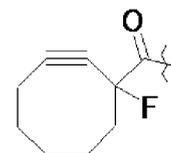
активированный дисульфид, такой как H или O_2N  ; H_2N- ; $HC\equiv C-$ или активированный $C\equiv C$, например, циклооктиновый фрагмент, например DBCO-амин



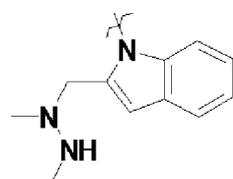
, или BCSN



, или MFCO



алкилгидроксиламин или субстрат реакции Пикте–Шпенглера, такой как



, описанный в Agarwal P., *et al.*, *Bioconjugate Chem* **2013**, *24*, 846–851.

В соответствии с конкретным вариантом осуществления **RCG1** может представлять собой

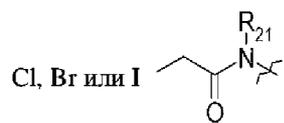
(i) реакционноспособную группу $R_aZ_a-C(=O)-$, в которой

Z_a представляет собой одинарную связь, $-O-$ или $-NH$, например $-O-$, и

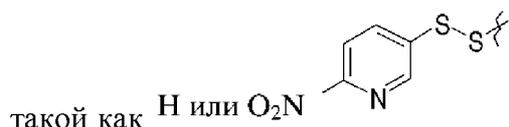
R_a представляет собой атом водорода, (C_1-C_6) алкил, (C_3-C_7) циклоалкил, алкенил, арил, гетероарил или (C_3-C_7) гетероциклоалкильную группу. Арильная группа, гетероарильная группа и/или (C_3-C_7) гетероциклоалкильная группа могут быть замещены

1–5 атомами/группами, выбранными из атома галогена, такого как атом фтора, алкильной группы, алкоксигруппы, гидроксильной группы, оксогруппы, нитрогруппы и цианогруппы;

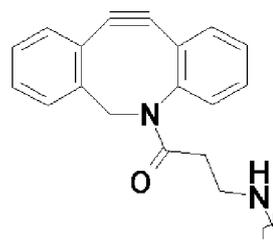
(ii) одну из следующих реакционноспособных групп: галогенацетида группа



, при этом R_{21} представляет собой атом водорода или (C₁–C₆)алкильную группу, например Me; Cl–; N₃–; HO–; HS–; активированный дисульфид,

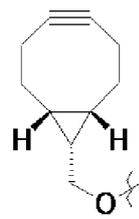


; H₂N–; HC≡C– или активированный C≡C, например,

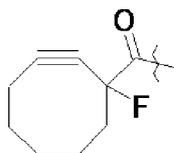


циклооктиновый фрагмент, например DBCO–амин

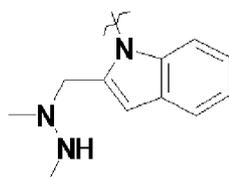
, или BCN



, или MFCO



; O–алкилгидроксиламин или субстрат реакции

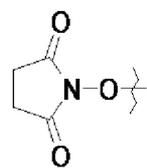


Пикте–Шпенглера, такой как

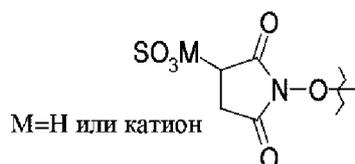
, описанный в Agarwal P., *et al.*,

Bioconjugate Chem **2013**, *24*, 846–851.

Например, R_aZ_a – может представлять собой HO–, CH₃O–, CH₂=CH–CH₂O–,

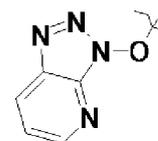
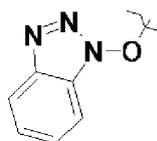


(O–NHS),

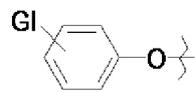


M=H или катион

, где катион представляет собой,



например, натрий, калий или цезий, или

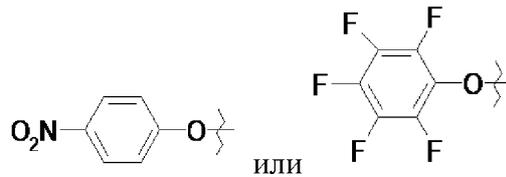


, в которой

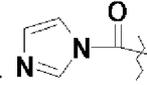
GI представляет собой по меньшей мере одну электроиндукционную группу,

такую как $-\text{NO}_2$ или атом галогена, например атом фтора (F). Они могут представлять

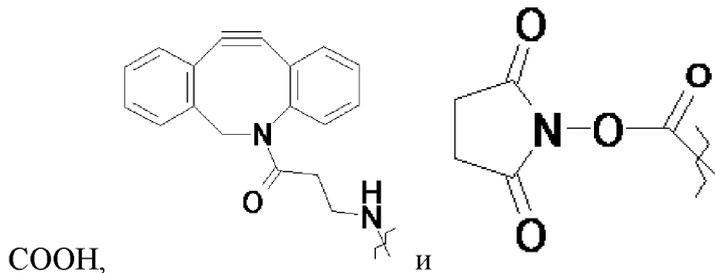
собой, например, следующие группы:



Другим типом группы $\text{R}_a\text{Z}_a-\text{C}(=\text{O})-$ является следующей:

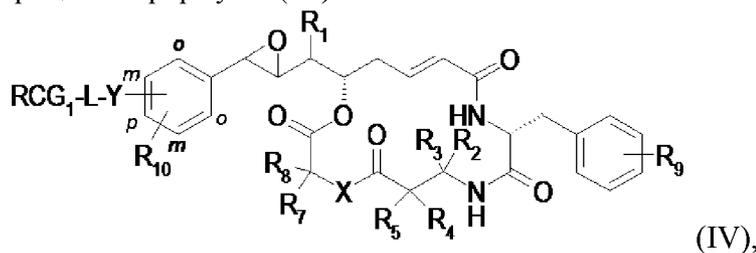


Например, **RCG1** может быть выбран из одного из описанных в примерах, то есть выбран из следующих групп:



COOH ,

Настоящее изобретение дополнительно относится к полезным нагрузкам с криптофицином формулы (IV):



где

R_1 представляет собой (C_1-C_6) алкильную группу,

R_2 и R_3 представляют собой независимо друг от друга атом водорода или (C_1-C_6) алкильную группу;

или в качестве альтернативы R_2 и R_3 образуют вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, (C_3-C_6) циклоалкил или (C_3-C_6) гетероциклоалкильную группу;

R_4 и R_5 представляют собой независимо друг от друга атом водорода, или (C_1-C_6) алкильную группу, или группу (C_1-C_6) алкил- $\text{NH}(\text{R}_{12})$, или группу (C_1-C_6) алкил- OH , или группу (C_1-C_6) алкил- SH , или группу (C_1-C_6) алкил- $\text{C}(=\text{O})_2\text{H}$;

или в качестве альтернативы R_4 и R_5 образуют вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, (C_3-C_6) циклоалкил или (C_3-C_6) гетероциклоалкильную группу;

X представляет собой O или $\text{N}(\text{R}_6)$;

R_6 представляет собой атом водорода или (C_1-C_6) алкильную группу;

R_7 и R_8 представляют собой независимо друг от друга атом водорода, или $(\text{C}_1-$

C₆)алкильную группу, или группу (C₁–C₆)алкил–C(=O)₂H, или группу (C₁–C₆)алкил–N(C₁–C₆)алкил₂;

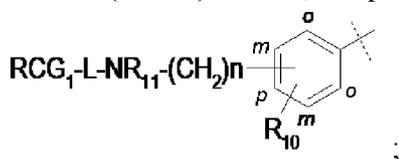
или в качестве альтернативы **R₇** и **R₈** образуют вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, (C₃–C₆)циклоалкильную группу или (C₃–C₆)гетероциклоалкильную группу;

R₉ представляет собой по меньшей мере один заместитель при фенильном ядре, выбранный независимо от других из атома водорода, –OH, (C₁–C₄)алкокси, атома галогена, –NH₂, –NH(C₁–C₆)алкила, или –N(C₁–C₆)алкил₂, или –NH(C₁–C₆)циклоалкила, или (C₃–C₆)гетероциклоалкильной группы;

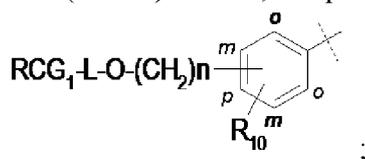
R₁₀ представляет собой по меньшей мере один заместитель при фенильном ядре, выбранный из атома водорода и (C₁–C₄)алкильной группы;

Y представляет собой

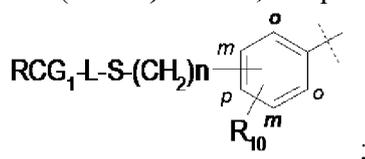
–NR₁₁–(C₁–C₆)алкил–, например –NR₁₁–(CH₂)_n–, такой как



–O–(C₁–C₆)алкил–, например –O–(CH₂)_n–, такой как



–S–(C₁–C₆)алкил–, например –S–(CH₂)_n–, такой как



при этом **Y** расположен в *орто*– (*o*), *мета*– (*m*) или *пара*– (*p*) положении фенильного ядра;

R₁₁ и **R₁₂** представляют собой независимо друг от друга атом водорода или (C₁–C₆)алкил, например, атом водорода или метильную группу;

n представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 6;

L определен в формуле (I) и представляет собой линкер формулы (II), как определено в настоящем изобретении;

RCG1 представляет собой реакционноспособную химическую группу, присутствующую на конце линкера **L**, при этом **RCG1** является реакционноспособным в отношении химической группы, присутствующей на полипептиде, таком как антитело. **RCG1** определен выше.

Каждый из заместителей **R₁** – **R₁₂** может также принимать одну из пространственных конфигураций (например, **R** или **S** или в качестве альтернативы **Z** или **E**), как описано в примерах. Соединения формулы (IV) могут содержать по меньшей мере

один асимметричный атом углерода. Поэтому они могут существовать в форме энантиомеров или диастереоизомеров. Данные энантиомеры и диастереоизомеры, а также их смеси, включая рацемические смеси, составляют часть настоящего изобретения.

В качестве примера, соединение криптофицина формулы (IV) может представлять собой одно из соединений криптофицина формулы (I), описанных в **WO2011/001052** (например, одно из **D₁–D₈**) или в **PCT/EP2016/076603** (например, одно из **D₁–D₁₉**), как упоминалось выше.

Или соединение криптофицина может представлять собой эквивалентную единицу, описанную в одном из примеров.

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых **R₁** представляет собой (C₁–C₆)алкил, например метильную группу.

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых каждый из **R₂** и **R₃** представляет собой атом водорода.

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых один из **R₂** и **R₃** представляет собой (C₁–C₆)алкил, например метильную группу, а другой представляет собой атом водорода.

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых **R₂** и **R₃** образуют вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, (C₃–C₆)циклоалкильную группу, например циклопропильную группу.

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых каждый из **R₄** и **R₅** представляет собой (C₁–C₆)алкил, например метильную группу.

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых **X** представляет собой атом кислорода, то есть O.

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых **X** представляет собой NH.

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых **R₇** и **R₈** представляют собой независимо друг от друга атом водорода или (C₁–C₆)алкильную группу, например изобутильную группу или неопентильную группу.

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых **R₉** представляет собой два заместителя, выбранные из метоксигруппы и атома хлора, например, два заместителя **R₉** представляют собой 3–Cl и 4–метокси. Например, фенильное ядро содержит два

заместителя в положениях 3 и 4 фенильного ядра.

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых R_{10} представляет собой атом водорода.

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых Y расположен в *para*-положении фенильного ядра.

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых Y представляет собой $NR_{11}-(C_1-C_6)$ алкил, такой как $NR_{11}-(C_1-C_3)$ алкил, например $NH-CH_2$.

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых L формулы (II) содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту AA_s в последовательности из w аминокислот $(AA)_w$, $L1$ и $L2$ определены в формуле (II).

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых L формулы (II) содержит последовательность из w незамещенных аминокислот AA_{ns} , $L1$ и $L2$ определены в формуле (II).

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых $(AA)_w$ в L формулы (II) содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту AA_s , и $L2$ представляет собой

- (C_1-C_6) алкильную группу, например группу $(CH_2)_3$;
- $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, например группу $C(=O)-(CH_2)_3$; или
- (C_1-C_6) алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, например группу $(CH_2)_2-NA_7-(CH_2)_2$, в которой A_7 определен выше.

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых $(AA)_w$ в L формулы (II) содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту AA_s , и $L2$ представляет собой

- (C_1-C_6) алкильную группу, например группу $(CH_2)_3$;
- $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, например группу $C(=O)-(CH_2)_3$; или
- (C_1-C_6) алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, например группу $-(CH_2)_2-NA_7-(CH_2)_2-$, в которой A_7 представляет собой группу $-C(=O)-(CH_2)_2-C(=O)-NH-(CH_2)_2-SO_3H$; при этом следует понимать, что каждый A_7 , содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($SO_3^- +Na$).

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых $(AA)_w$ в L формулы (II) содержит w незамещенных аминокислот AA_{ns} , и $L2$ представляет собой

(C₁-C₆)алкил-NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, например группу (CH₂)₂-NA₇-(CH₂)₂, в которой A₇ определен выше.

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых (AA)^w в L формулы (II) содержит w незамещенных аминокислот AA_{ns}, и L2 представляет собой

(C₁-C₆)алкил-NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, например группу (CH₂)₂-NA₇-(CH₂)₂, в которой A₇ представляет собой

- группу C(=O)-[(CH₂)₂-O]_a-CH₃, где "a" представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 50, например, находящееся в диапазоне от 1 до 24, такое как 4, 7 и 24, например, A₇ представляет собой группу C(=O)-[(CH₂)₂-O]₄-CH₃, группу C(=O)-[(CH₂)₂-O]₇-CH₃ или группу C(=O)-[(CH₂)₂-O]₂₄-CH₃;

- группу -C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H или

- группу C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-[(CH₂)₂-O]_a-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H, где "a" представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 50, в таком диапазоне как от 1 до 24, например 4, например, A₇ представляет собой группу -C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-[(CH₂)₂-O]₄-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H;

при этом следует понимать, что каждый A₇, содержащий функциональную группу SO₃H, может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли (SO₃⁻Na);

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых (AA)^w в L формулы (II) содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту AA_s и/или w незамещенных аминокислот AA_{ns}, и L2 представляет собой

NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, группу (C₁-C₆)алкил-NA₇, NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)алкильную группу, NA₇-арильную группу, NA₇-гетероарильную группу, (C₁-C₆)алкил-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)алкильную группу, группу (C₁-C₆)алкил-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i, (C₁-C₆)алкил-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, группу (C₁-C₆)алкил-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i, (C₁-C₆)алкил-NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, группу (C₁-C₆)алкил-NA₇-(C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i, (C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, C(=O)-NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, группу C(=O)-(C₁-C₆)алкил-NA₇, C(=O)-NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)алкильную группу, C(=O)-NA₇-арильную группу, C(=O)-NA₇-гетероарильную группу, C(=O)-(C₁-C₆)алкил-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)алкильную группу, группу C(=O)-(C₁-C₆)алкил-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i, C(=O)-(C₁-C₆)алкил-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, группу C(=O)-(C₁-C₆)алкил-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i, C(=O)-(C₁-C₆)алкил-NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, группу C(=O)-(C₁-C₆)алкил-NA₇-(C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i, C(=O)-(C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, группу NA₈-(C₁-C₆)алкил-NA₇, NA₈-(C₁-C₆)алкил-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)алкильную группу, группу NA₈-(C₁-C₆)алкил-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i, NA₈-(C₁-C₆)алкил-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, группу NA₈-(C₁-C₆)алкил-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i,

C_6 алкил- NA_7 -(C_1-C_6)алкильную группу, группу (C_1-C_6)алкил- NA_7 -(C_1-C_6)алкил-(OCH_2CH_2) $_i$, (C_1-C_6)алкил-(OCH_2CH_2) $_i$ - NA_7 -(C_1-C_6)алкильную группу, $C(=O)$ - NA_7 -(C_1-C_6)алкильную группу, группу $C(=O)$ -(C_1-C_6)алкил- NA_7 , $C(=O)$ - NA_7 -(CH_2CH_2O) $_i$ (C_1-C_6)алкильную группу, $C(=O)$ -(C_1-C_6)алкил- $NA_7C(=O)$ -(C_1-C_6)алкильную группу, группу $C(=O)$ -(C_1-C_6)алкил- $NA_7C(=O)$ -(C_1-C_6)алкил-(OCH_2CH_2) $_i$, $C(=O)$ -(C_1-C_6)алкил- $C(=O)NA_7$ -(C_1-C_6)алкильную группу, группу $C(=O)$ -(C_1-C_6)алкил- $C(=O)NA_7$ -(C_1-C_6)алкил-(OCH_2CH_2) $_i$, $C(=O)$ -(C_1-C_6)алкил- NA_7 -(C_1-C_6)алкильную группу, группу $C(=O)$ -(C_1-C_6)алкил- NA_7 -(C_1-C_6)алкил-(OCH_2CH_2) $_i$, группу NA_8 -(C_1-C_6)алкил- NA_7 , NA_8 -(C_1-C_6)алкил- $NA_7C(=O)$ -(C_1-C_6)алкильную группу, NA_8 -(C_1-C_6)алкил- $C(=O)NA_7$ -(C_1-C_6)алкильную группу, NA_8 -(C_1-C_6)алкил- NA_7 -(C_1-C_6)алкильную группу, группу $C(=O)$ - NA_8 -(C_1-C_6)алкил- NA_7 , $C(=O)$ - NA_8 -(C_1-C_6)алкил- $NA_7C(=O)$ -(C_1-C_6)алкильную группу, $C(=O)$ - NA_8 -(C_1-C_6)алкил- $C(=O)NA_7$ -(C_1-C_6)алкильную группу или $C(=O)$ - NA_8 -(C_1-C_6)алкил- NA_7 -(C_1-C_6)алкильную группу; где i , A_7 и A_8 определены выше.

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, еще более предпочтительная группа соединений состоит из соединений, в которых $(AA)w$ в L формулы (II) содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту AA_s и/или w незамещенных аминокислот AA_{ns} , и L2 представляет собой

NA_7 -(C_1-C_6)алкильную группу, группу (C_1-C_6)алкил- NA_7 , (C_1-C_6)алкил- $NA_7C(=O)$ -(C_1-C_6)алкильную группу, (C_1-C_6)алкил- $C(=O)NA_7$ -(C_1-C_6)алкильную группу, (C_1-C_6)алкил- NA_7 -(C_1-C_6)алкильную группу, $C(=O)$ - NA_7 -(C_1-C_6)алкильную группу, группу $C(=O)$ -(C_1-C_6)алкил- NA_7 , $C(=O)$ -(C_1-C_6)алкил- $NA_7C(=O)$ -(C_1-C_6)алкильную группу, $C(=O)$ -(C_1-C_6)алкил- $C(=O)NA_7$ -(C_1-C_6)алкильную группу, $C(=O)$ -(C_1-C_6)алкил- NA_7 -(C_1-C_6)алкильную группу, группу NA_8 -(C_1-C_6)алкил- NA_7 , NA_8 -(C_1-C_6)алкил- $NA_7C(=O)$ -(C_1-C_6)алкильную группу, NA_8 -(C_1-C_6)алкил- $C(=O)NA_7$ -(C_1-C_6)алкильную группу, NA_8 -(C_1-C_6)алкил- NA_7 -(C_1-C_6)алкильную группу, группу $C(=O)$ - NA_8 -(C_1-C_6)алкил- NA_7 , $C(=O)$ - NA_8 -(C_1-C_6)алкил- $NA_7C(=O)$ -(C_1-C_6)алкильную группу, $C(=O)$ - NA_8 -(C_1-C_6)алкил- $C(=O)NA_7$ -(C_1-C_6)алкильную группу или $C(=O)$ - NA_8 -(C_1-C_6)алкил- NA_7 -(C_1-C_6)алкильную группу; где A_7 и A_8 определены выше.

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, наиболее предпочтительная группа соединений состоит из соединений, в которых $(AA)w$ в L формулы (II) содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту AA_s и/или w незамещенных аминокислот AA_{ns} , и L2 представляет собой

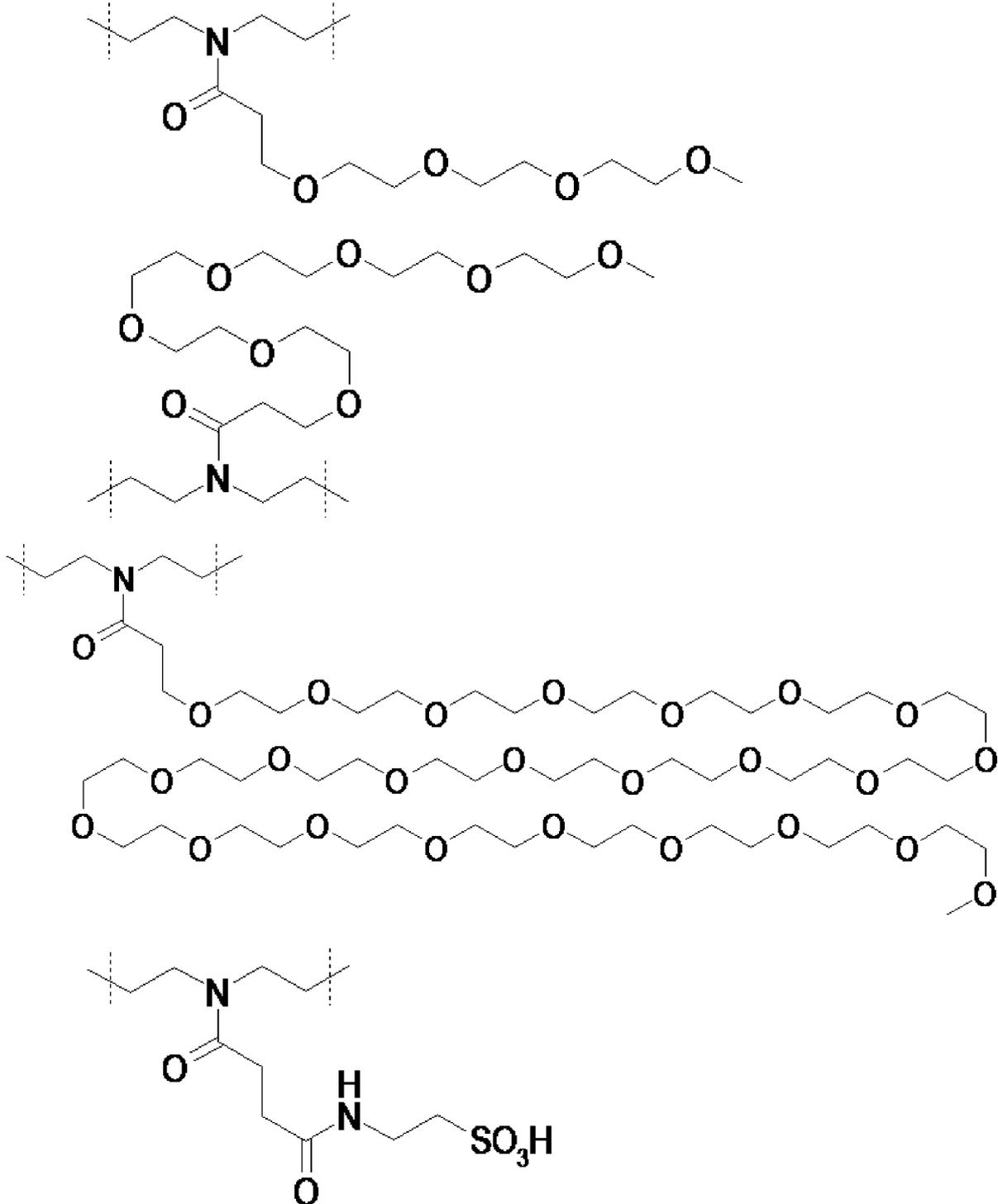
(C_1-C_6)алкил- NA_7 -(C_1-C_6)алкильную группу; где A_7 определен выше.

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых $(AA)w$ в L формулы (II) содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту AA_s и/или w незамещенных аминокислот AA_{ns} , и L2 содержит A_7 , представляющий собой

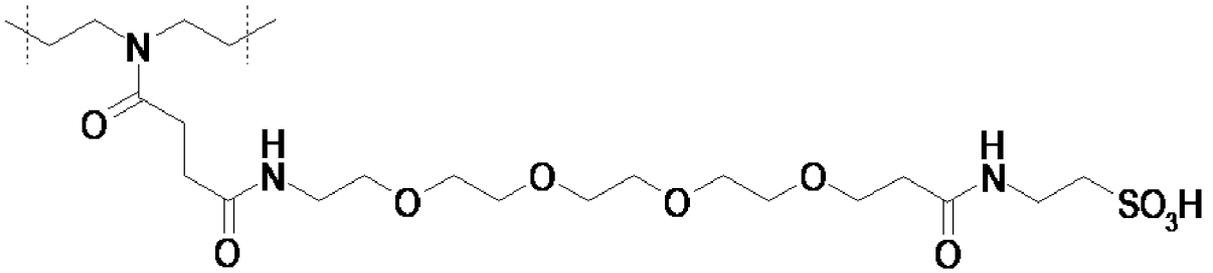
группу $C(=O)$ -[(CH_2) $_2$ -O] $_4$ -CH $_3$; группу $C(=O)$ -[(CH_2) $_2$ -O] $_7$ -CH $_3$; группу $C(=O)$ -[(CH_2) $_2$ -O] $_{24}$ -CH $_3$; группу $C(=O)$ -(CH_2) $_2$ -C(=O)-NH-(CH_2) $_2$ -SO $_3$ H; группу $C(=O)$ -(CH_2) $_2$ -C(=O)-NH-[(CH_2) $_2$ -O] $_4$ -(CH_2) $_2$ -C(=O)-NH-(CH_2) $_2$ -SO $_3$ H;

при этом следует понимать, что каждый A_7 , содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($SO_3^- Na$).

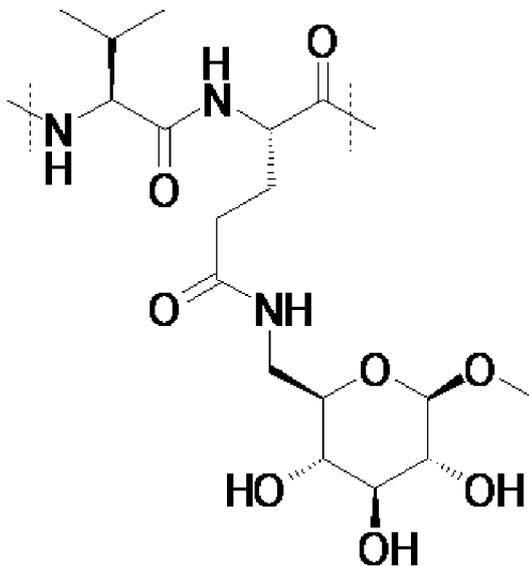
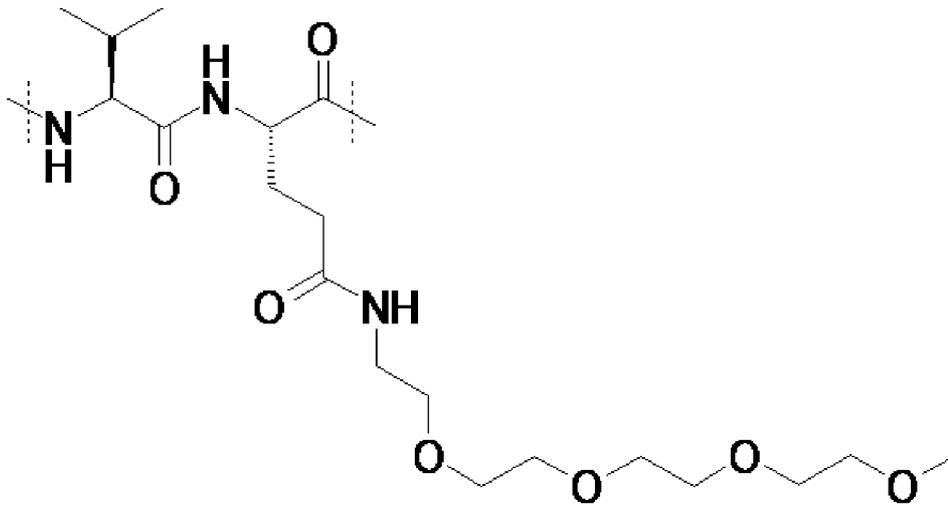
Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых $(AA)_w$ в L формулы (II) содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту AA_s и/или w незамещенных аминокислот AA_{ns} , и L2 представляет собой

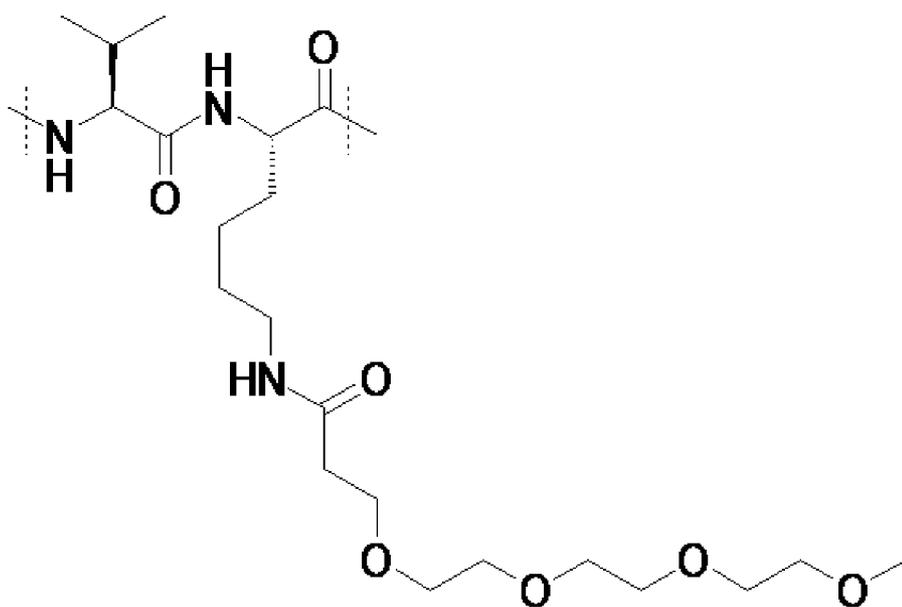
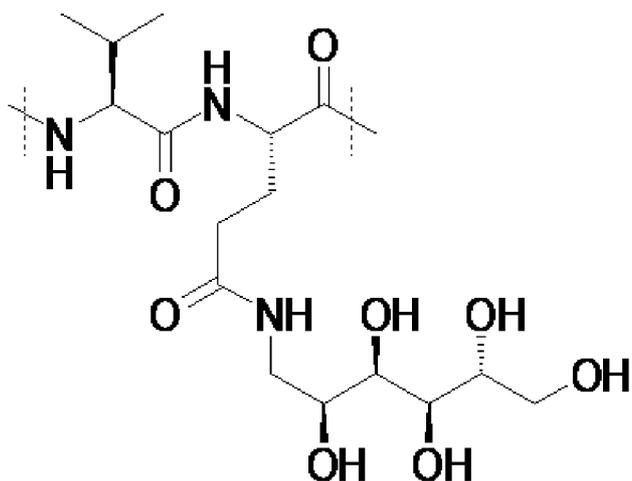


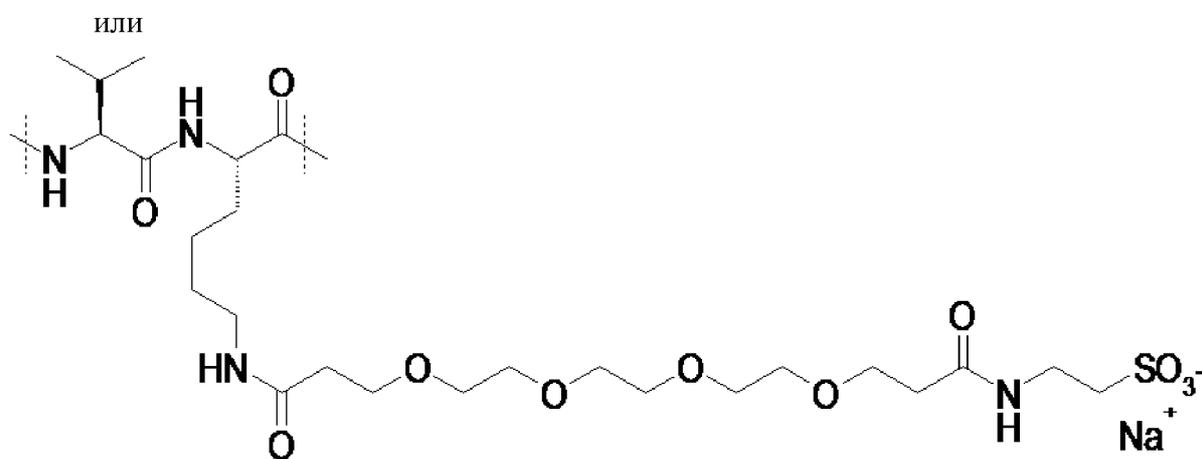
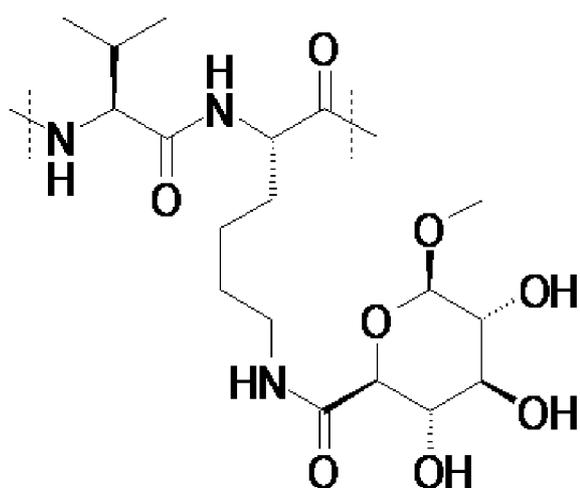
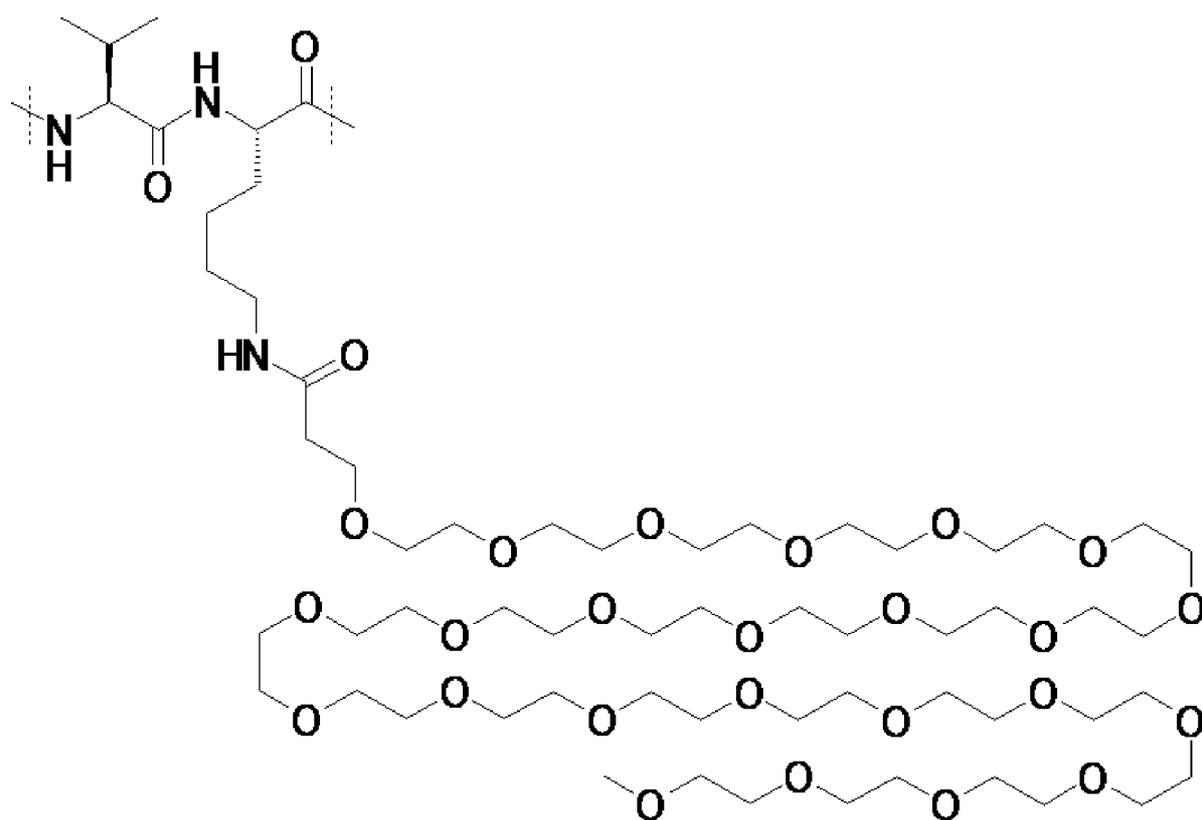
ИЛИ



Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, содержащих в **L** последовательность **(AA_s)_w**, содержащую по меньшей мере одну замещенную аминокислоту **AA_s**, при этом **(AA_s)_w** выбрана из перечня:

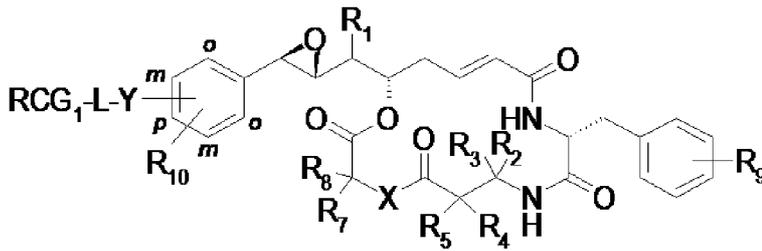






Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего

изобретения, группа соединений состоит из соединений со следующей структурой (бета-эпоксидная конфигурация):

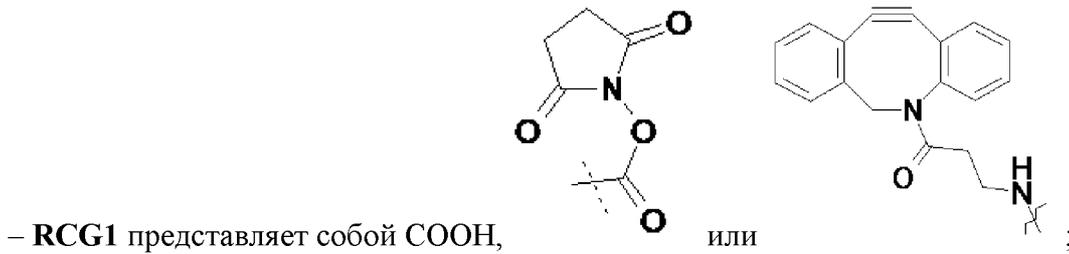


где

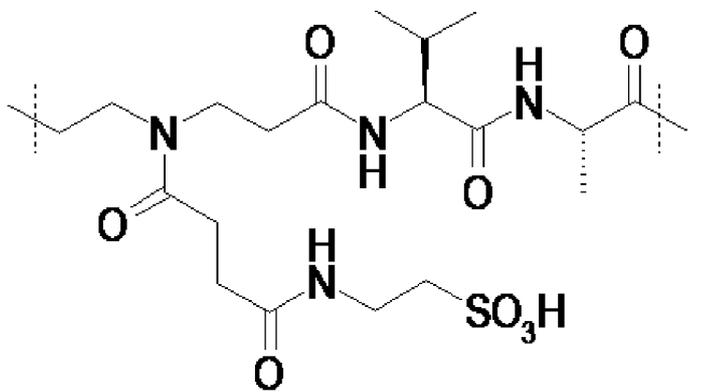
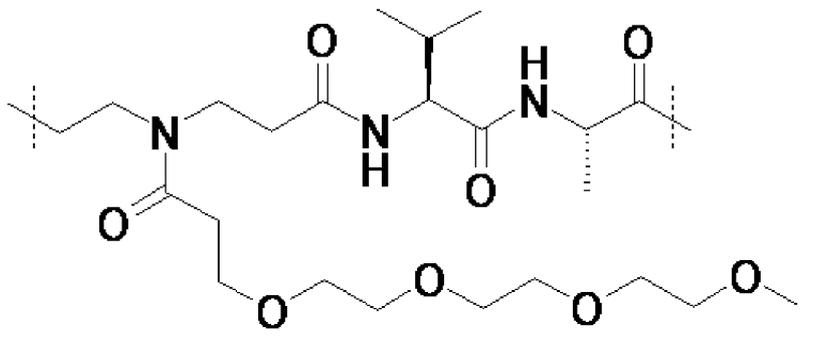
R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, R₁₁, R₁₂, n, RCG₁, X, Y и L определены в формуле (IV).

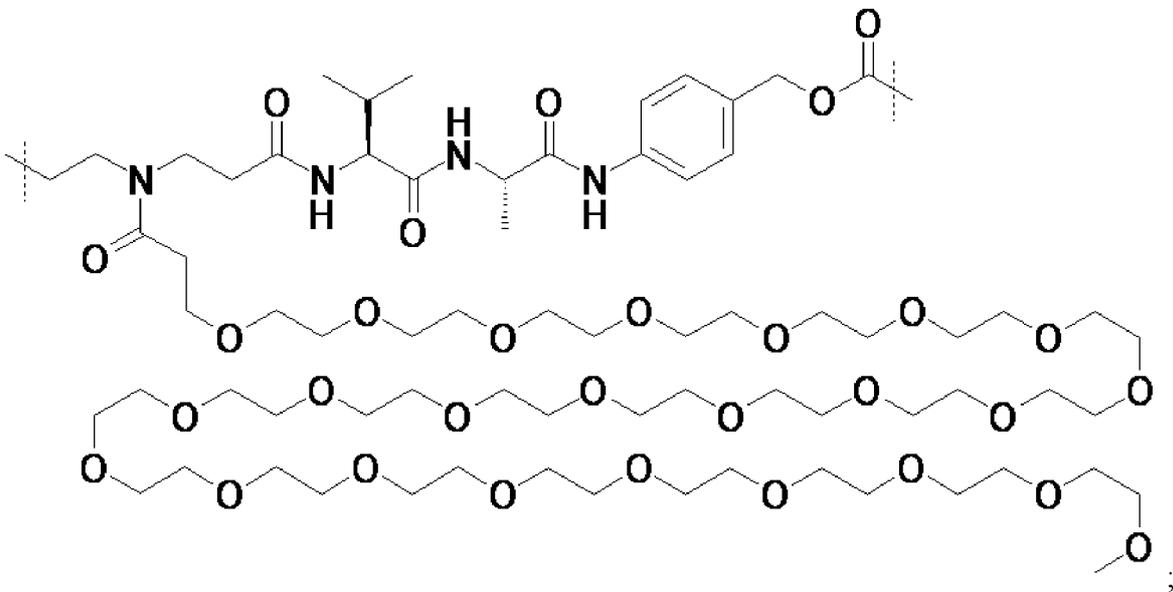
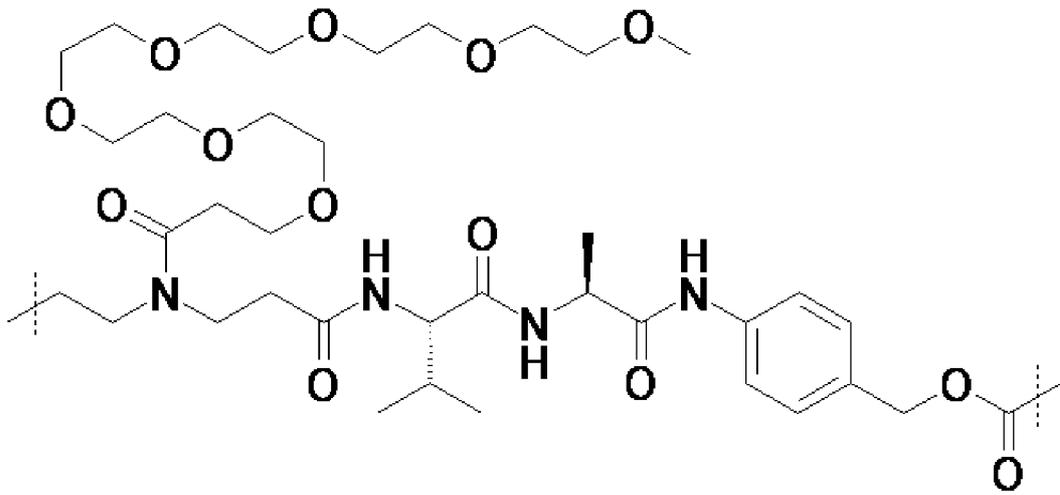
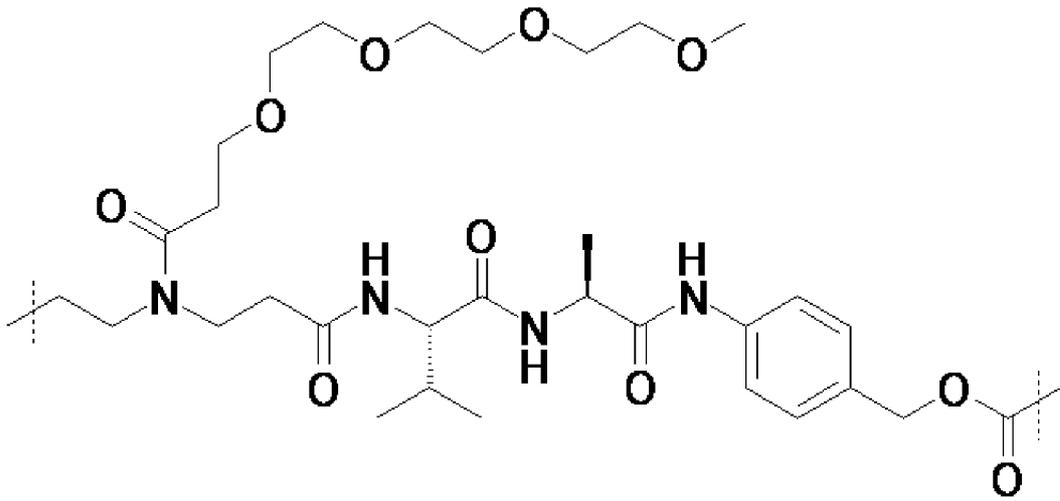
Все данные подгруппы, взятые отдельно или в комбинации, являются частью настоящего изобретения.

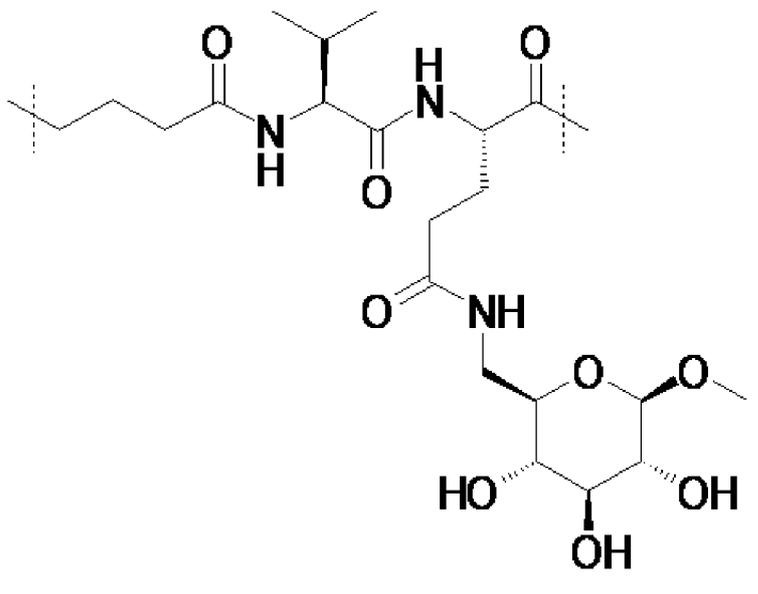
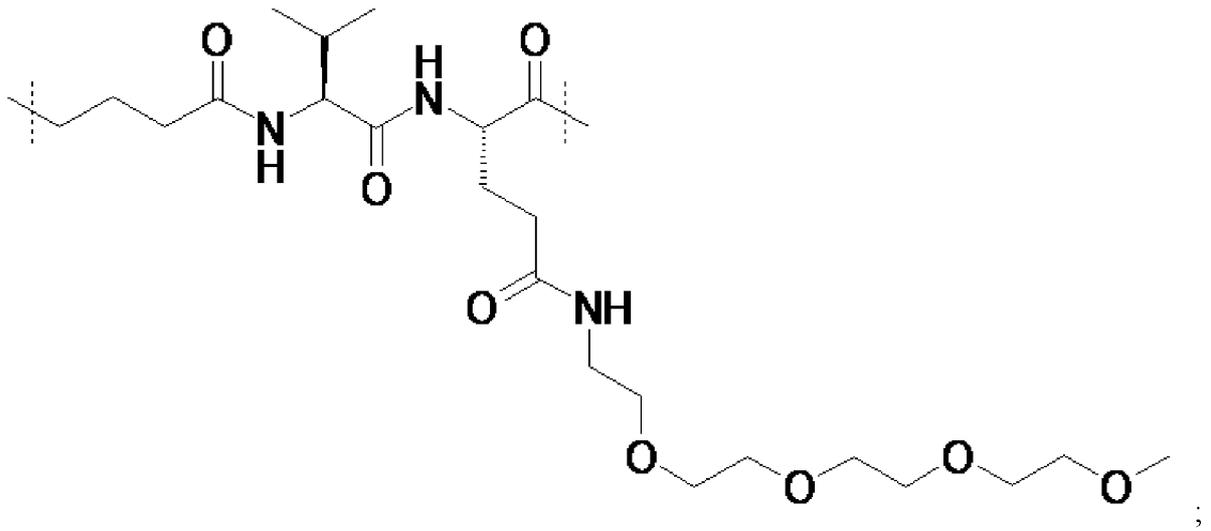
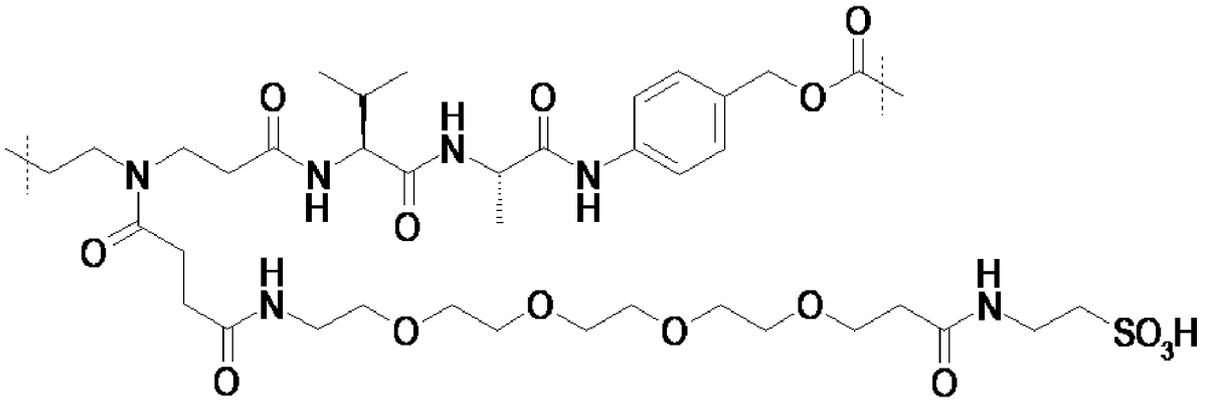
В соответствии с по меньшей мере одним вариантом осуществления настоящее изобретение относится к соединениям формулы (IV), где

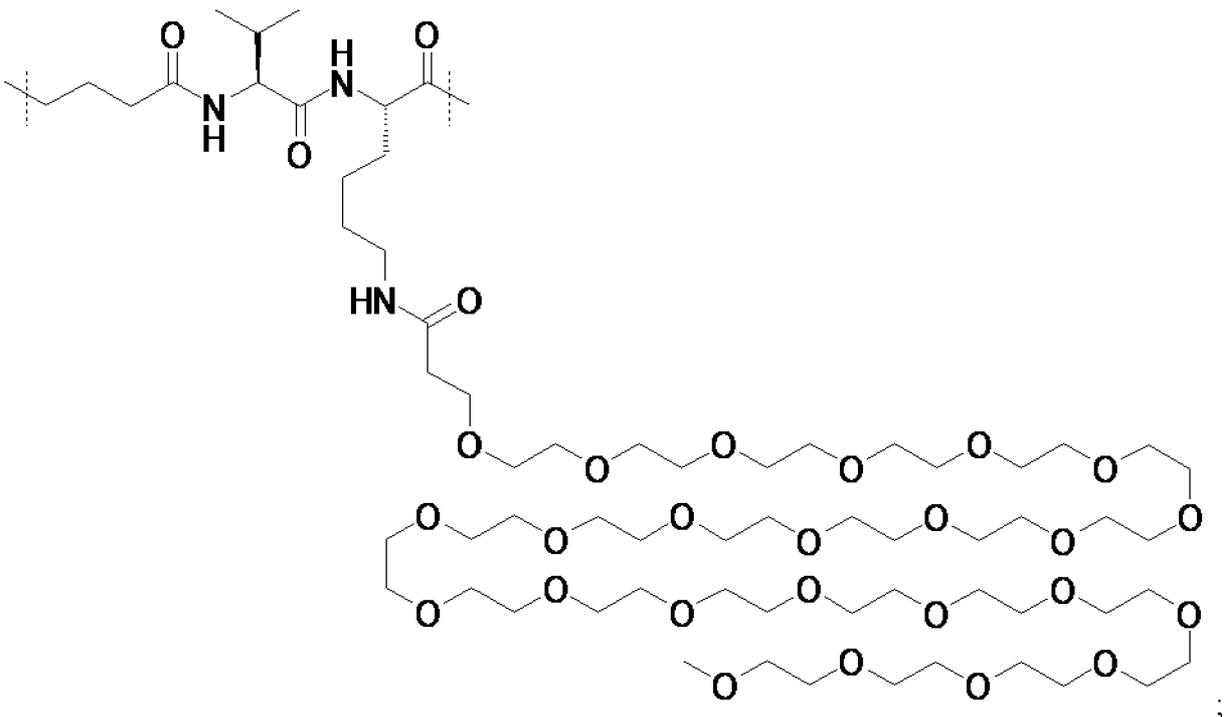
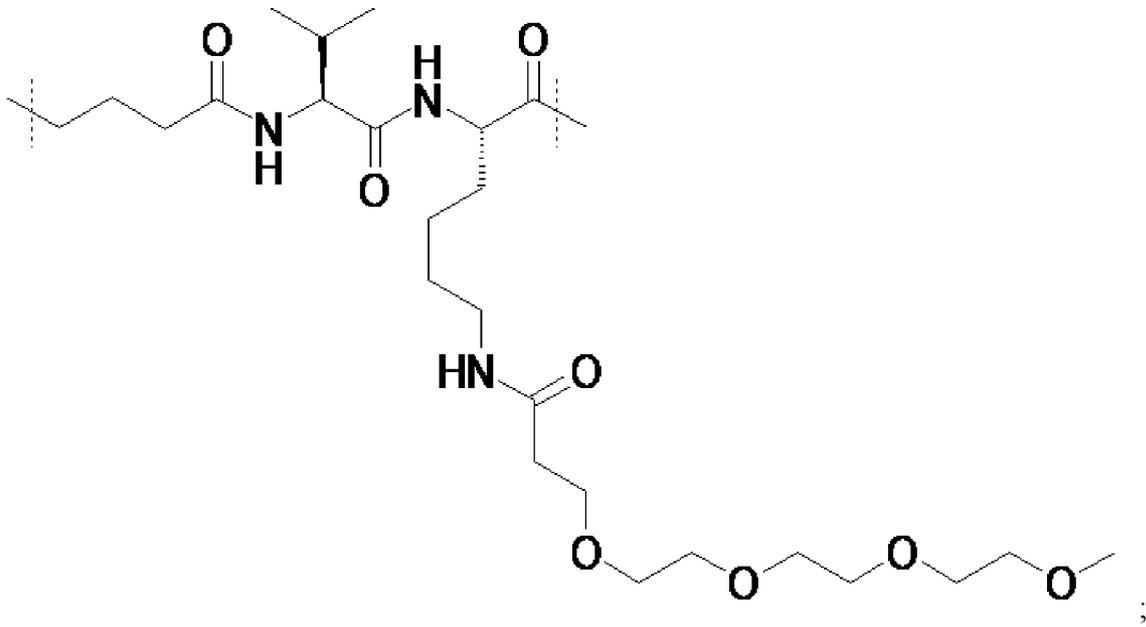
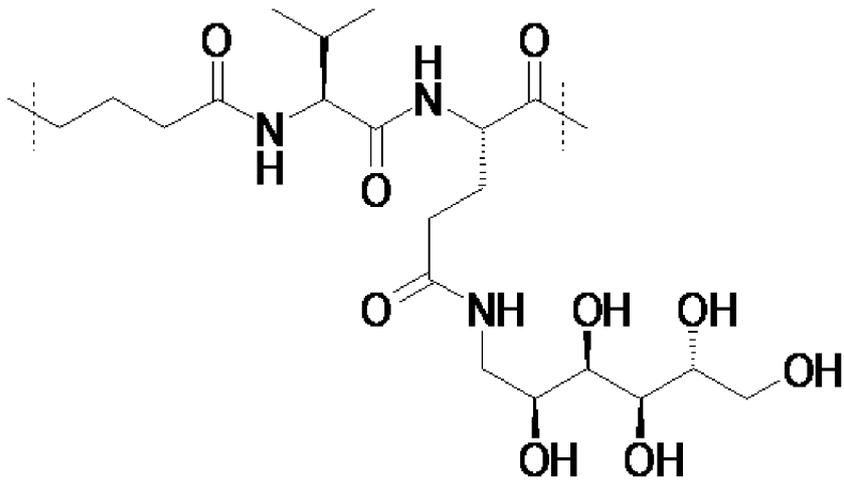


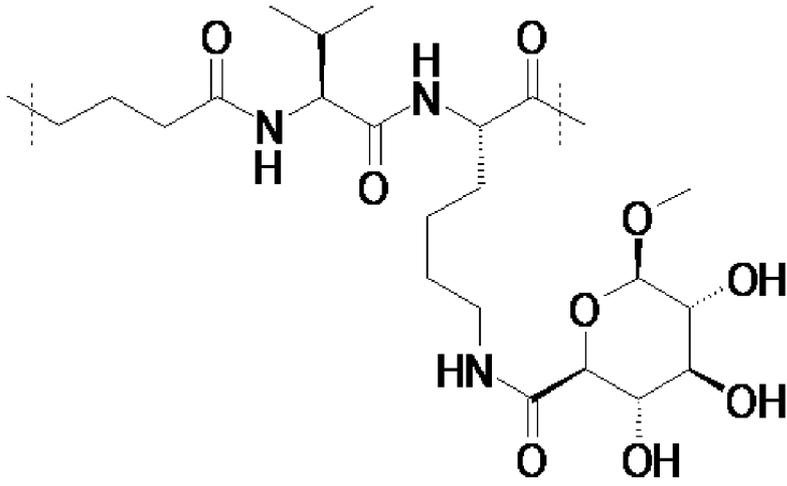
– L представляет собой одно из нижеприведенных соединений формулы (II):



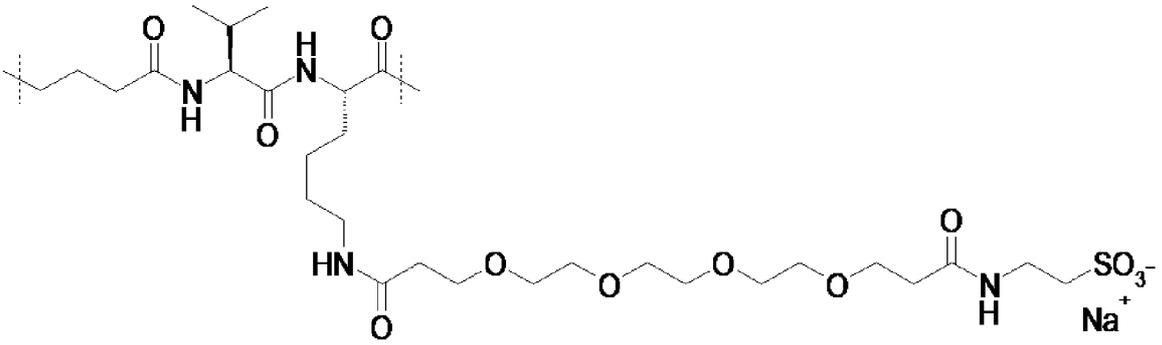




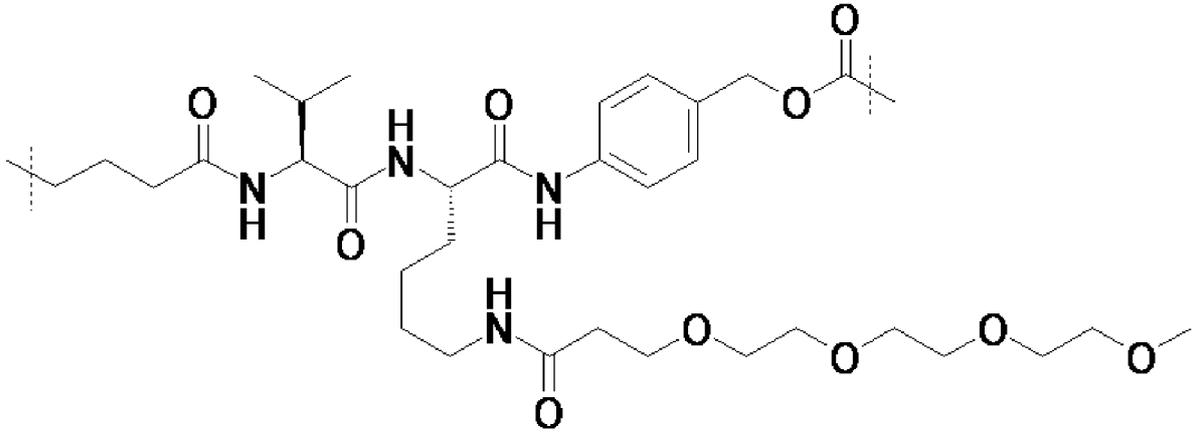




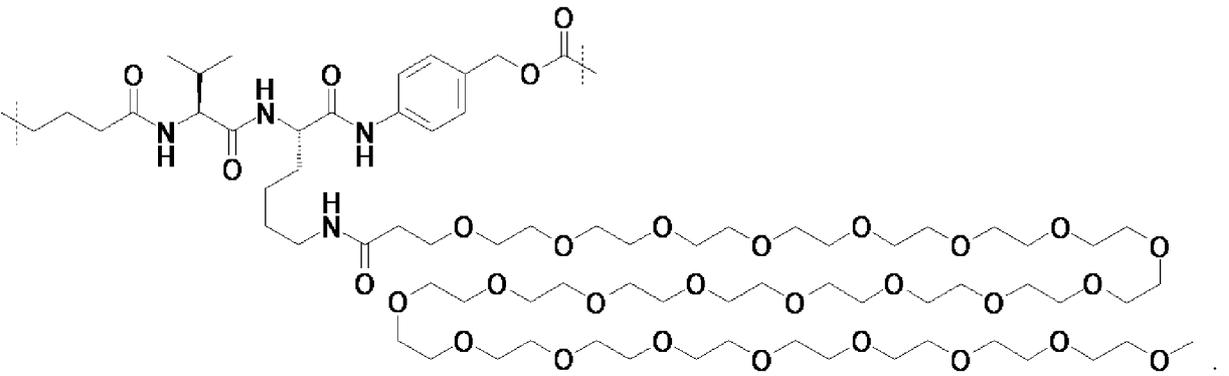
;



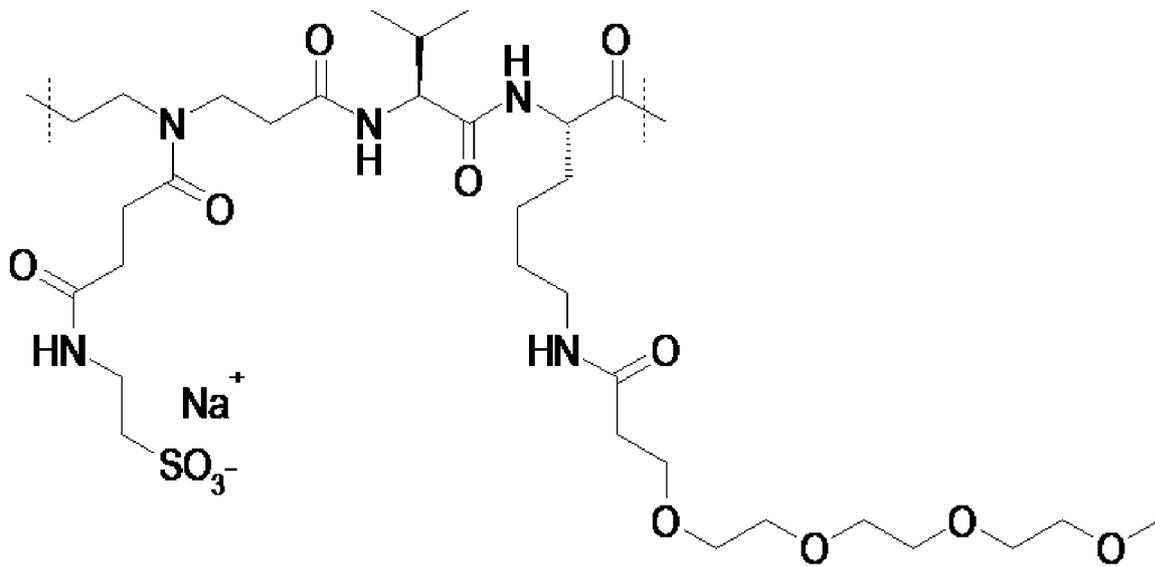
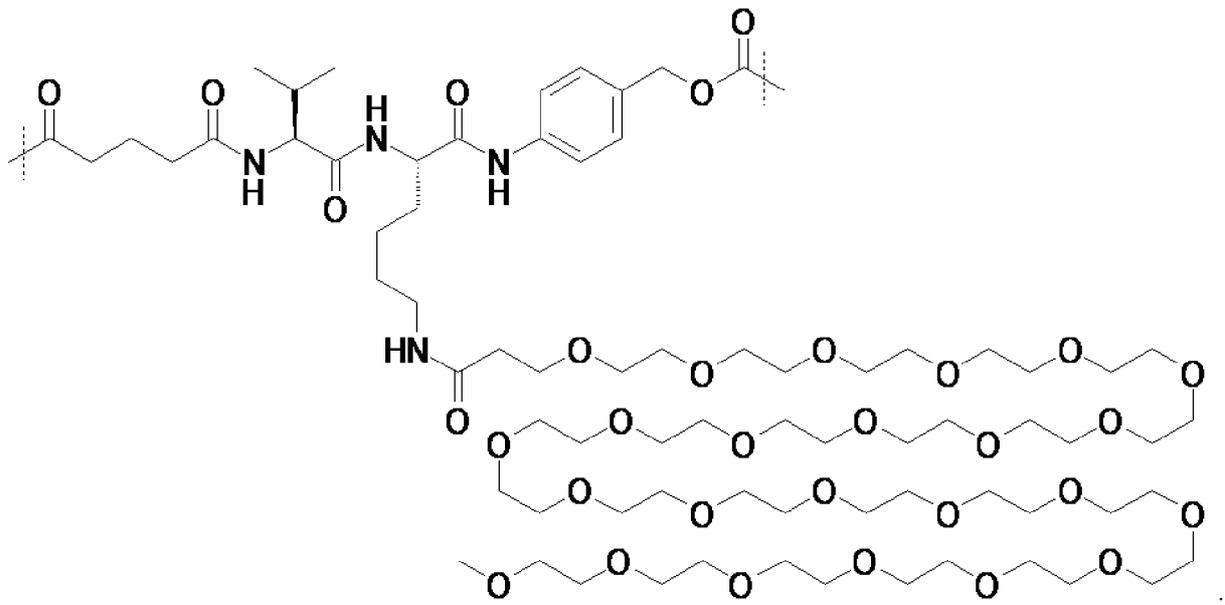
;



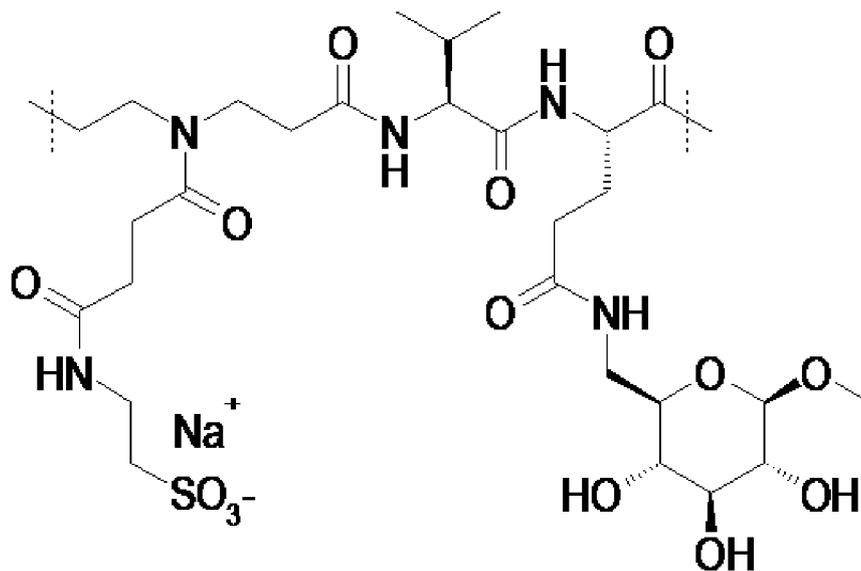
;



;

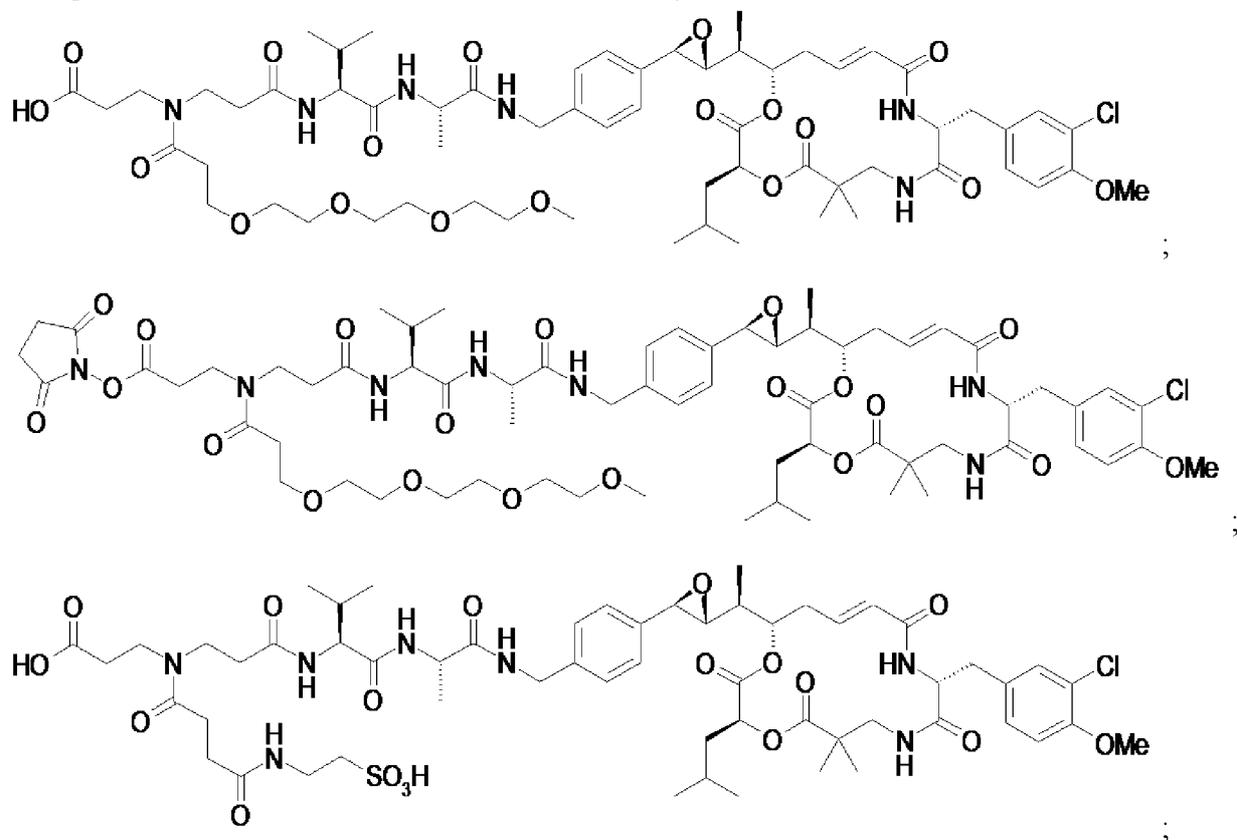


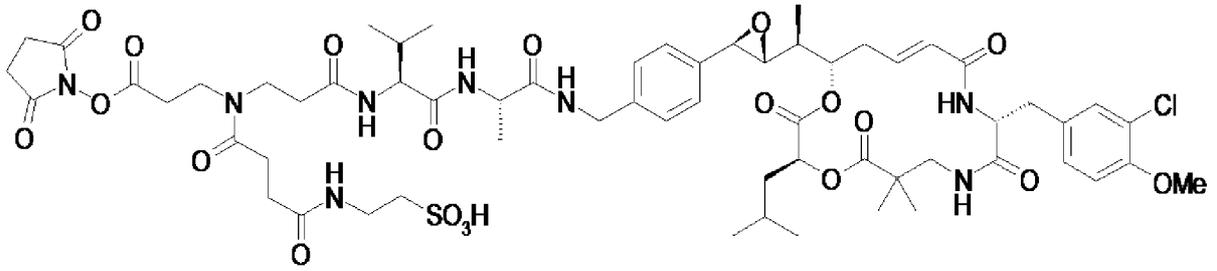
и



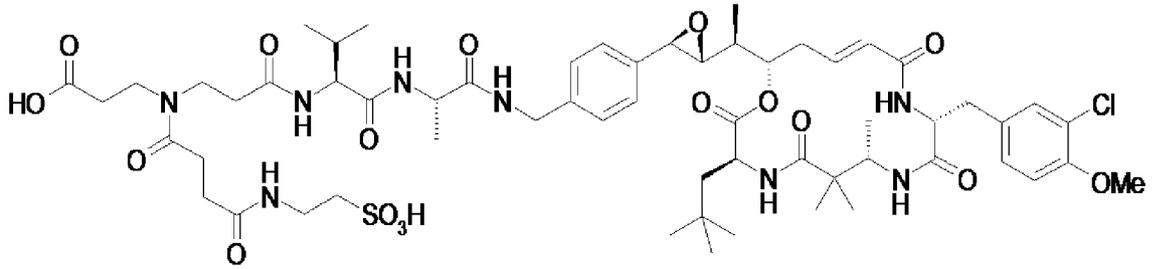
- **Y** представляет собой NR₁₁–(C_{1–6})алкил, в котором **R**₁₁ представляет собой атом водорода, например, **Y** представляет собой NH–CH₂;
- **R**₁ представляет собой (C_{1–6})алкильную группу, например метильную группу;
- **R**₂ и **R**₃ представляют собой независимо друг от друга атом водорода или (C_{1–6})алкильную группу, например метильную группу;
- **R**₄ и **R**₅ представляют собой независимо друг от друга (C_{1–6})алкильную группу, например метильную группу;
- **R**₇ и **R**₈ представляют собой независимо друг от друга атом водорода или (C_{1–6})алкильную группу, например изобутильную группу или неопентильную группу, например, один из **R**₇ и **R**₈ представляет собой (C_{1–6})алкильную группу, например изобутильную группу или неопентильную группу, а другой из **R**₇ и **R**₈ представляет собой атом водорода;
- **X** представляет собой атом кислорода или NH;
- **R**₉ представляет собой два заместителя, выбранные из (C_{1–4})алкоксигруппы, например метоксигруппы, и атома галогена, например атома хлора, например, **R**₉ представляет собой 3–Cl и 4–метокси; и
- **R**₁₀ представляет собой атом водорода.

Среди соединений формулы (IV), которые являются объектом настоящего изобретения, можно отметить, в частности, следующие соединения:

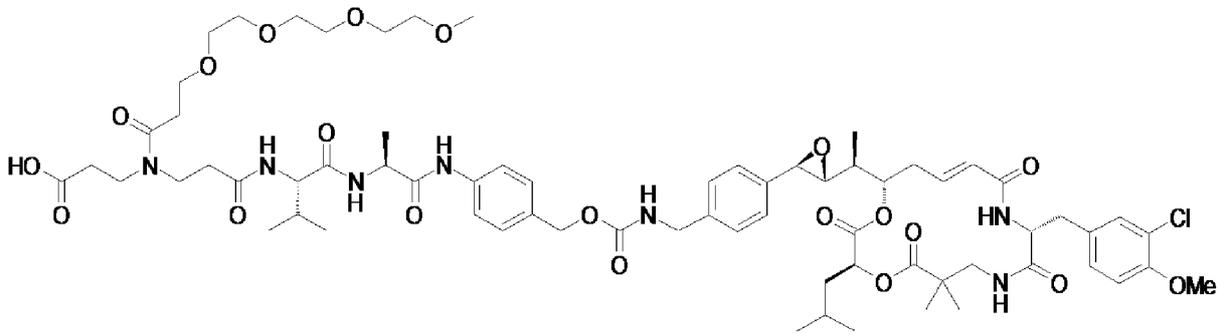




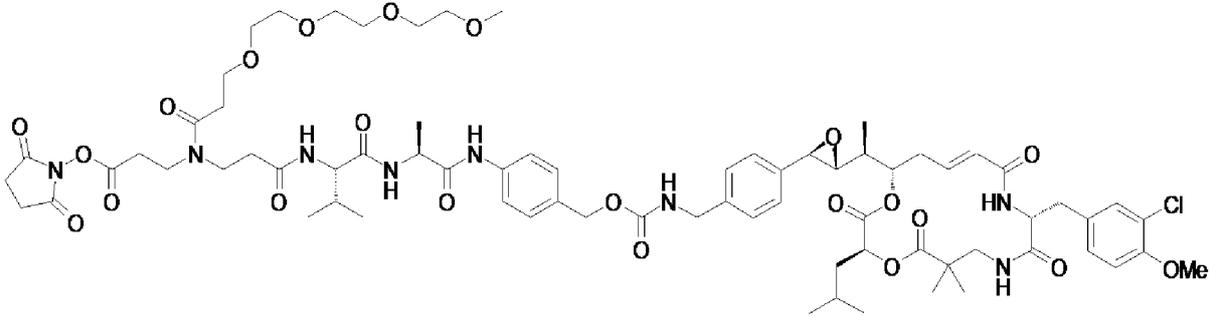
;



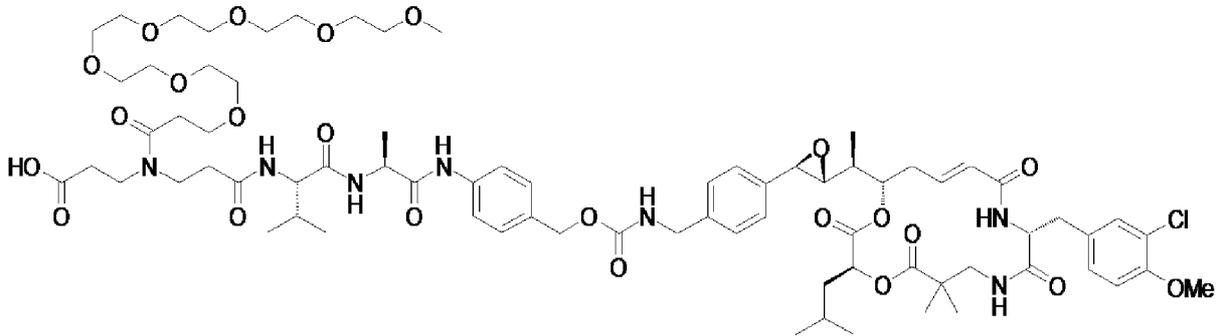
;



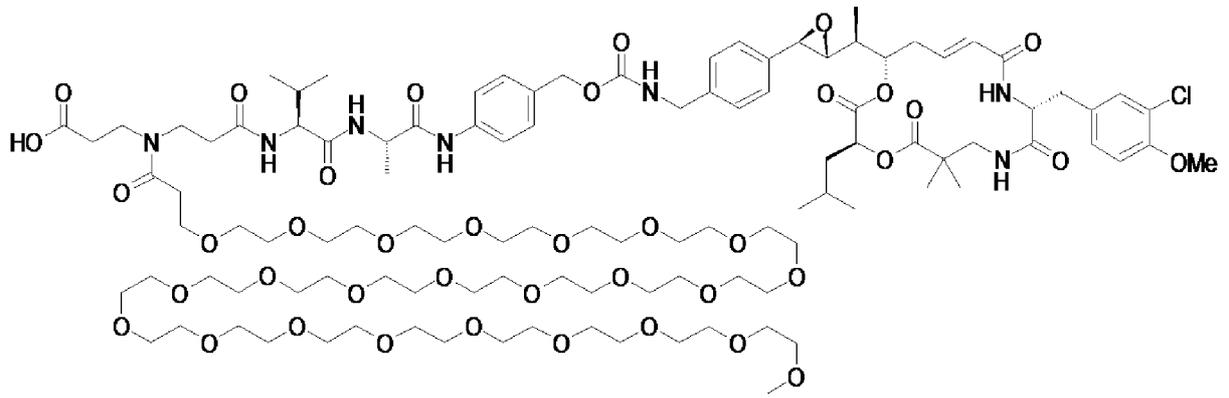
;



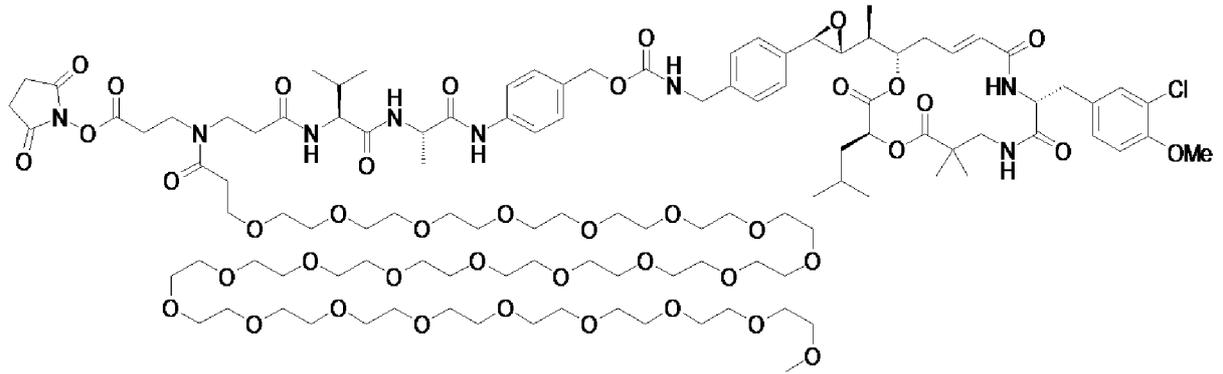
;



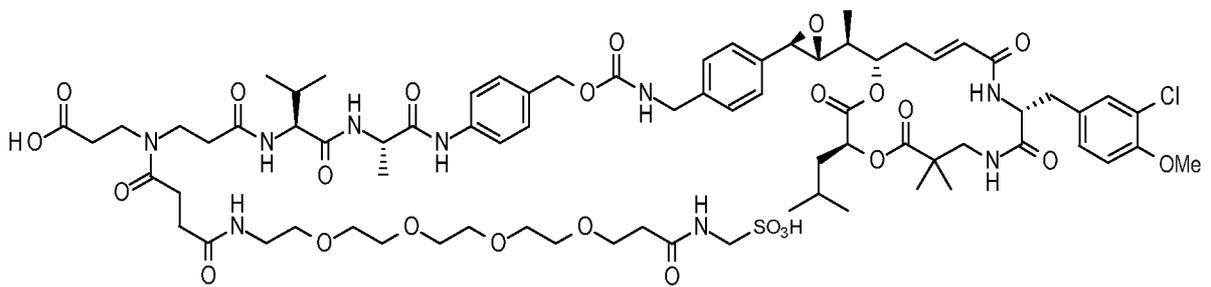
;



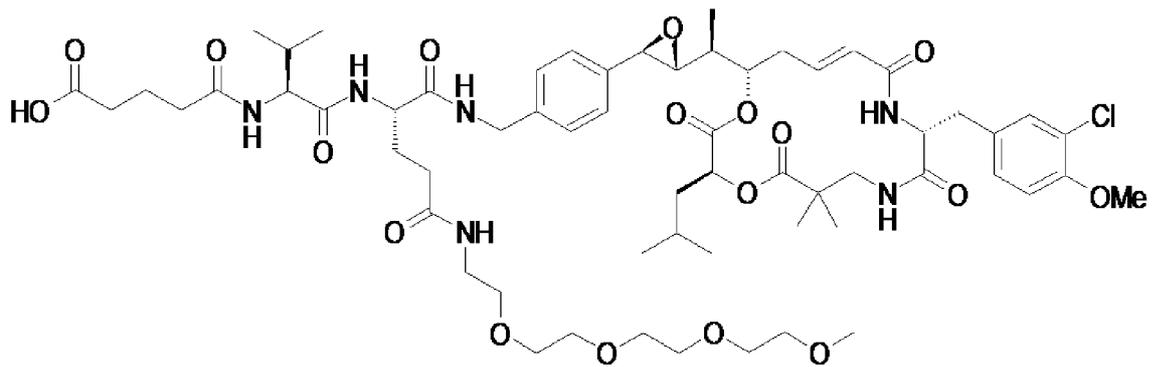
;



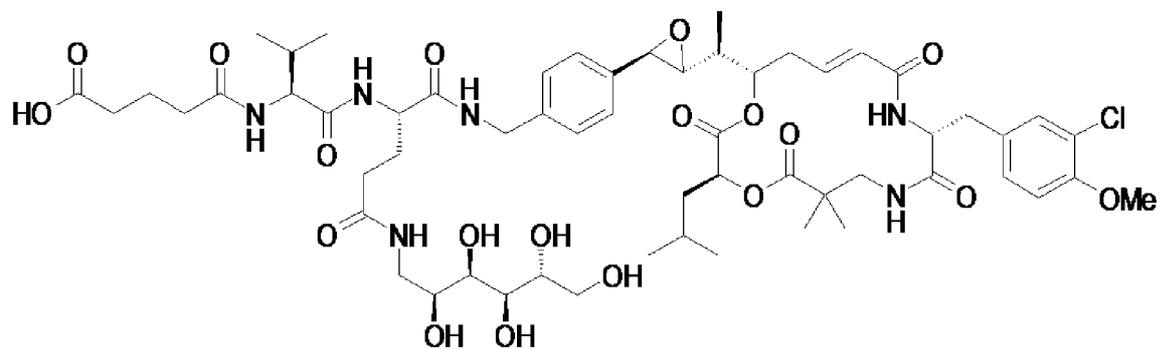
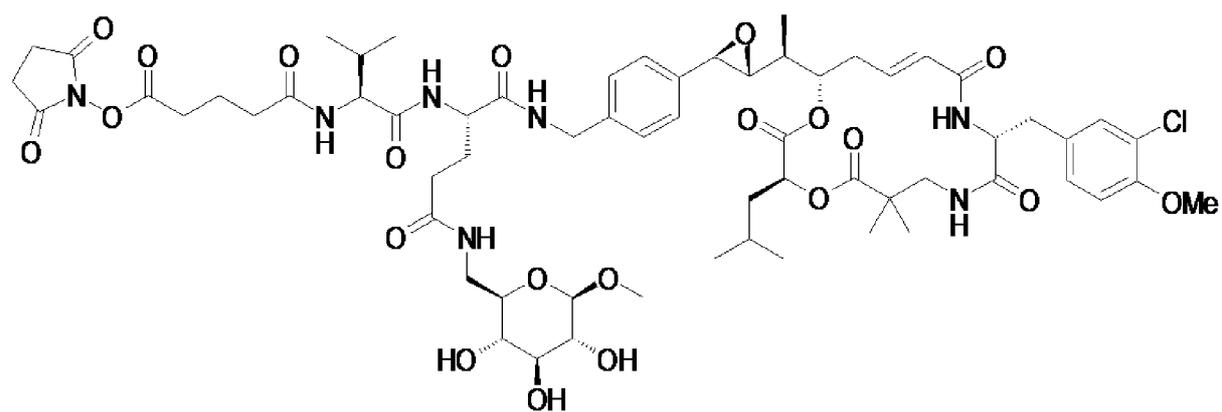
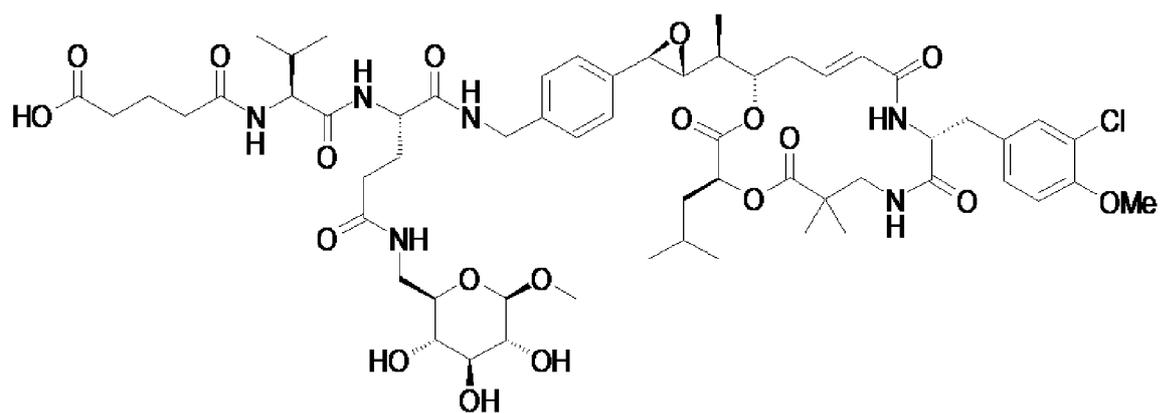
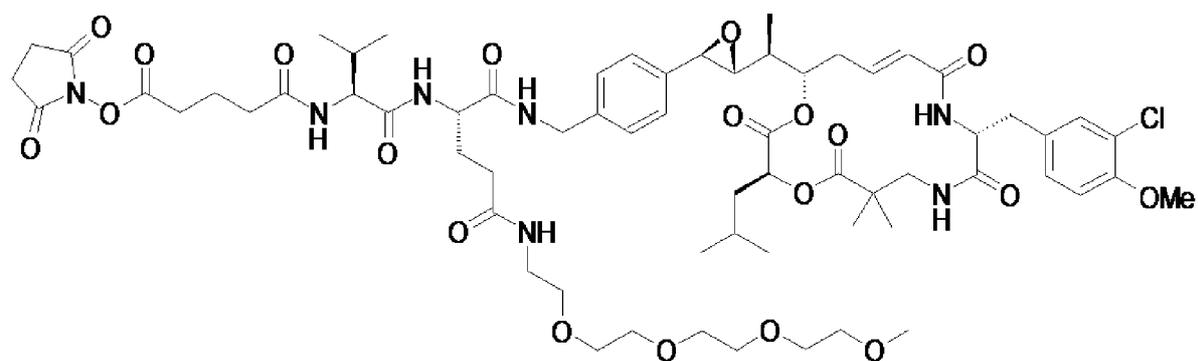
;

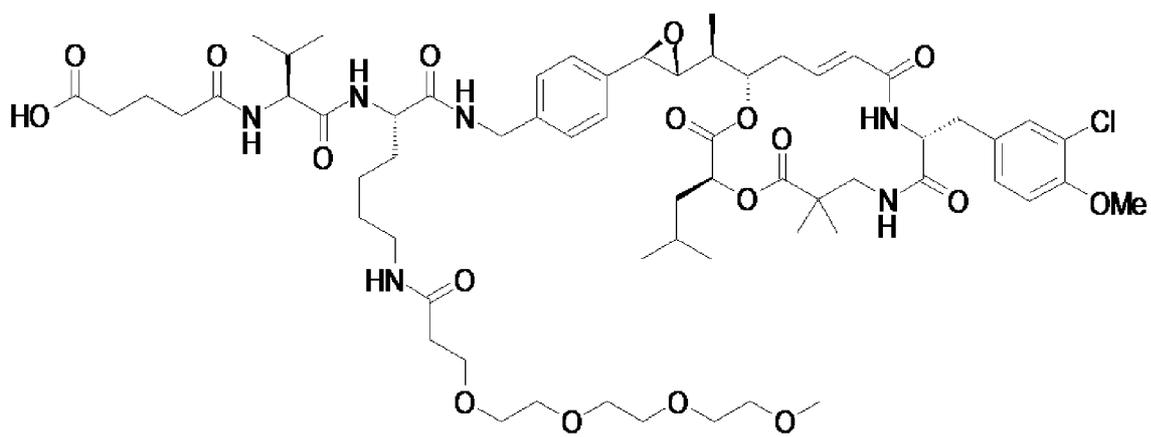


;

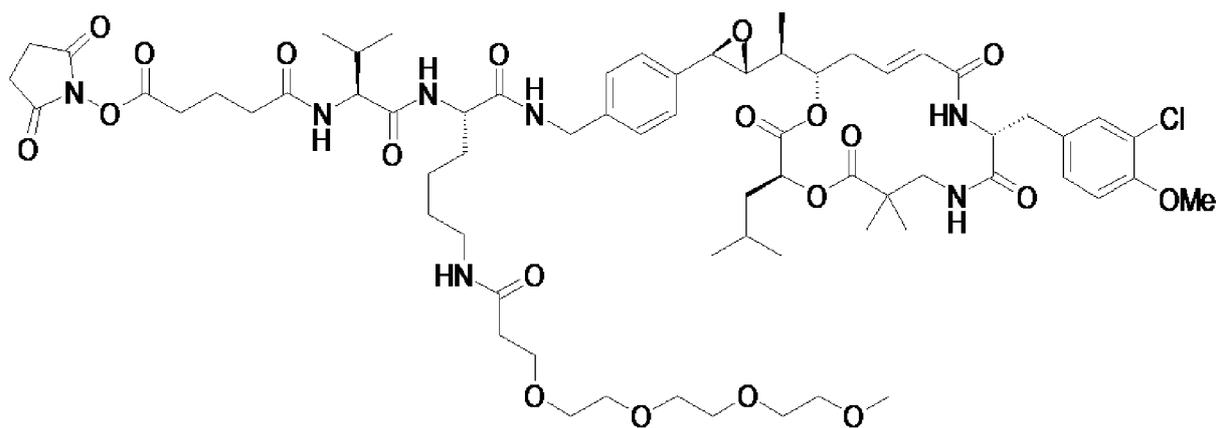


;

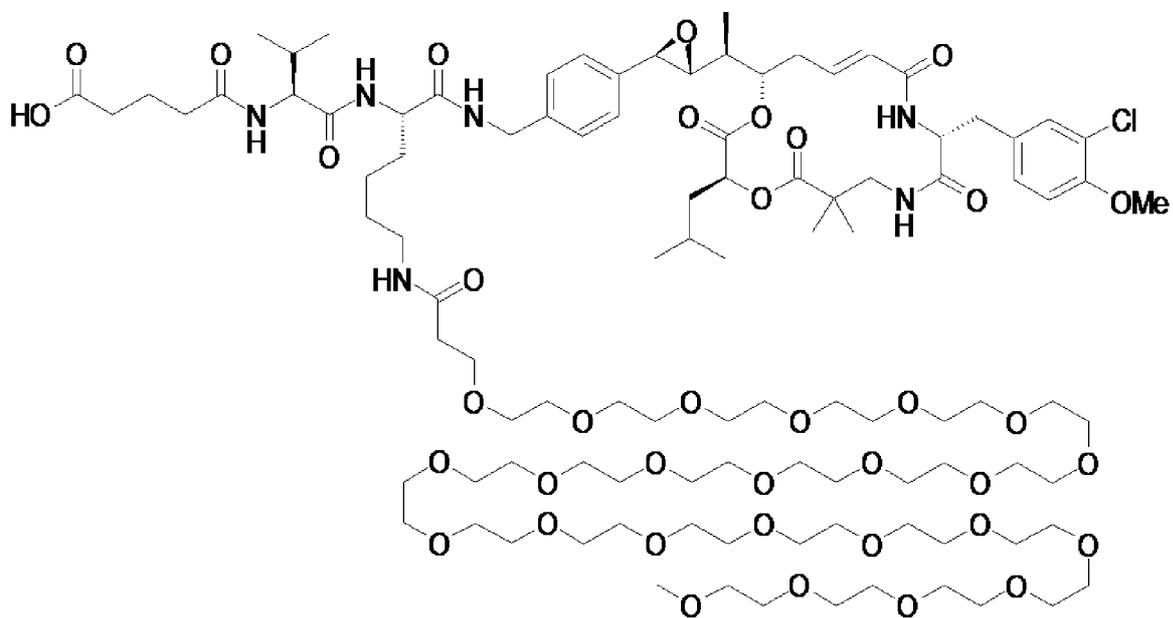




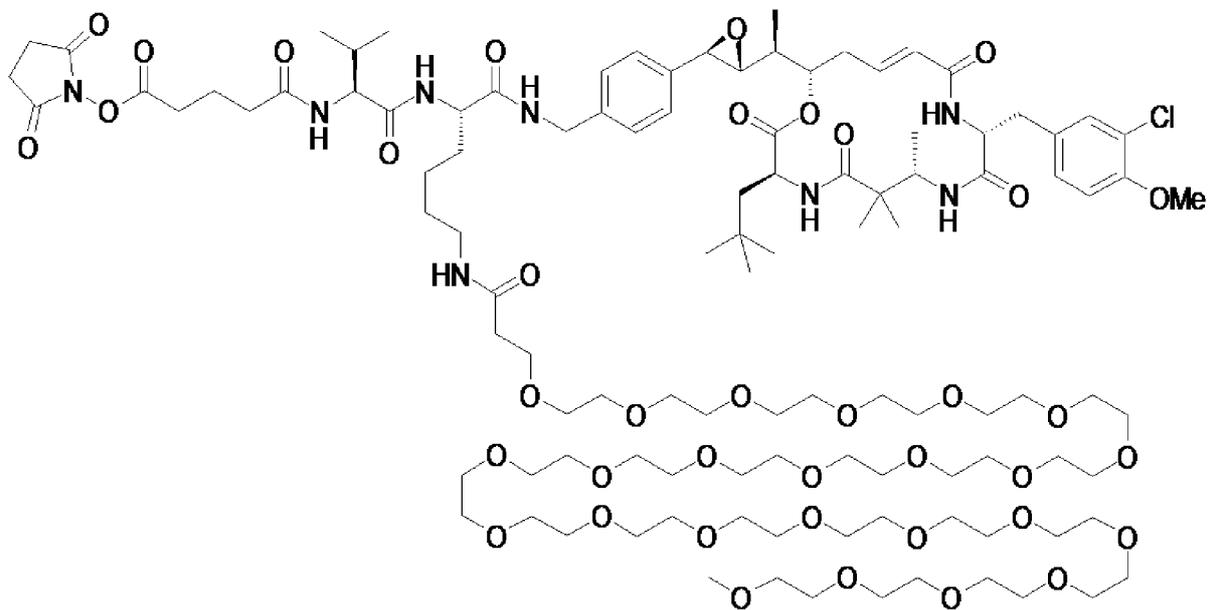
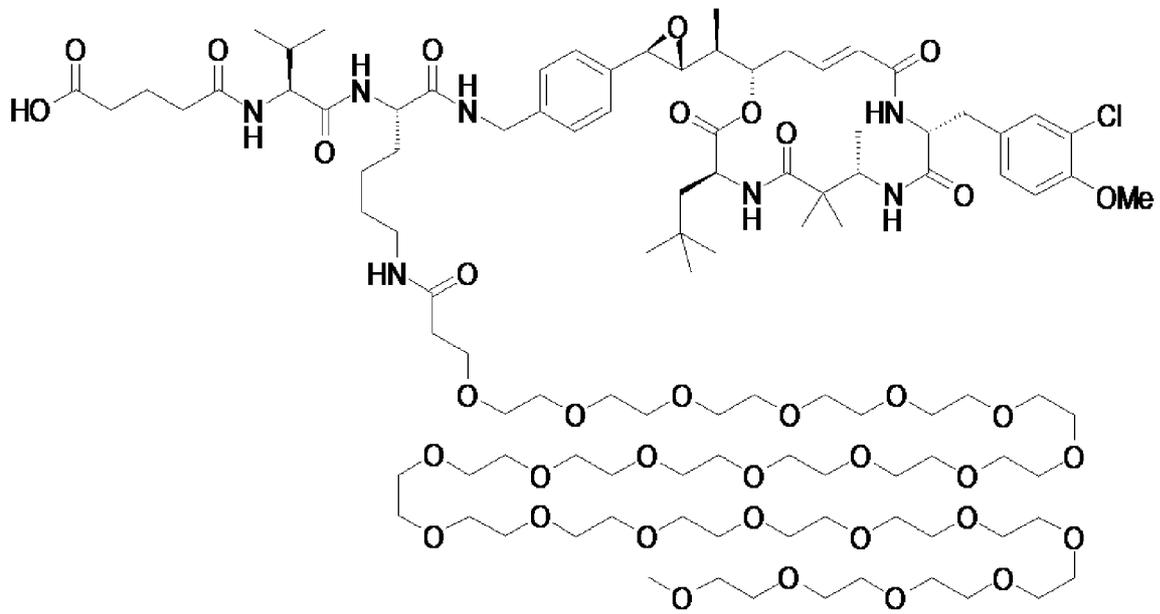
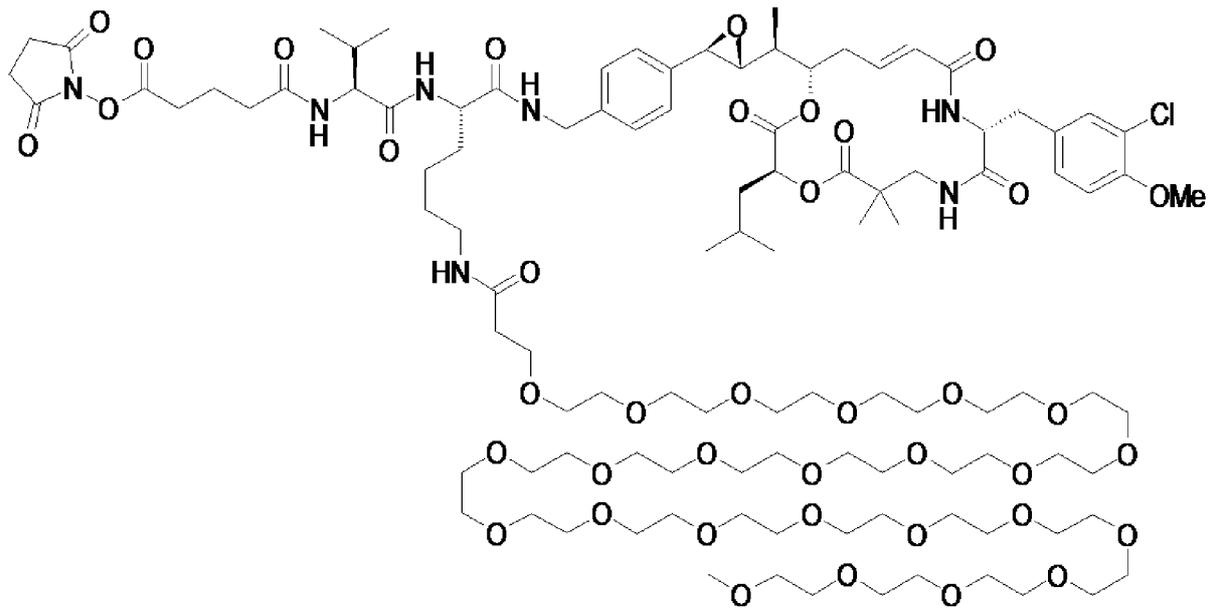
;

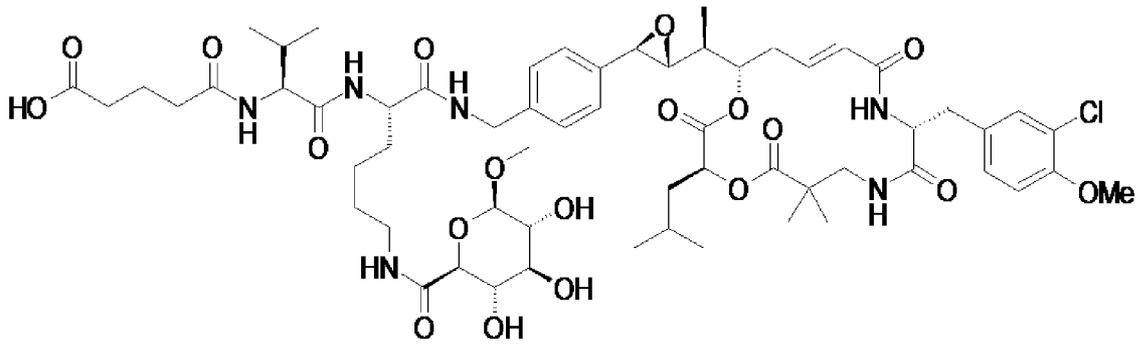


;

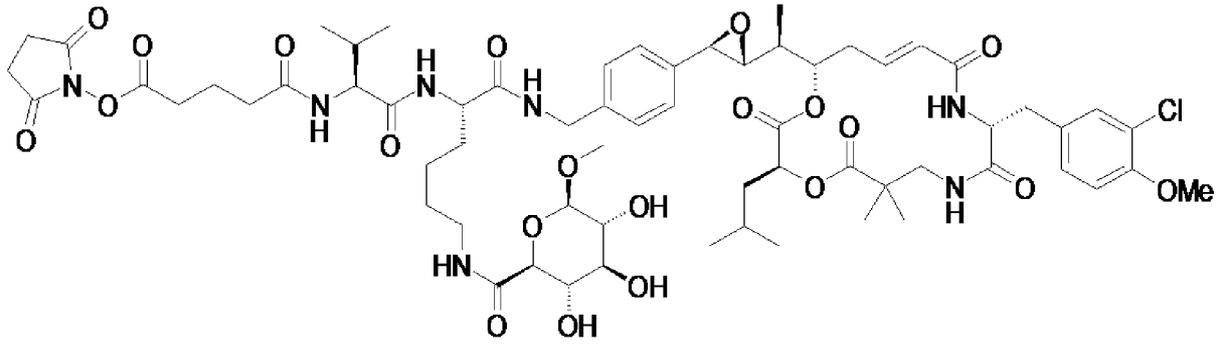


;

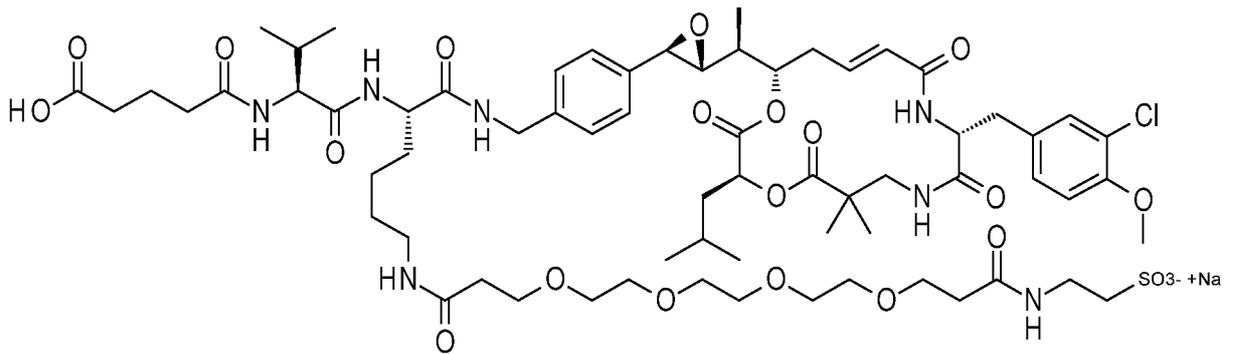




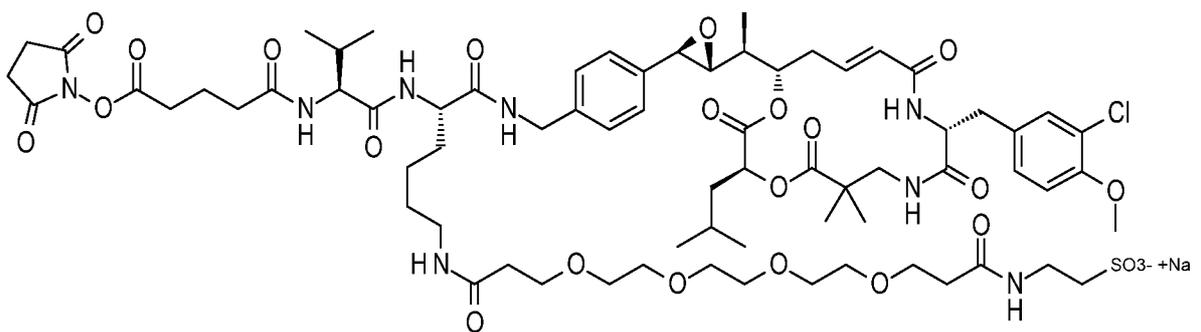
;



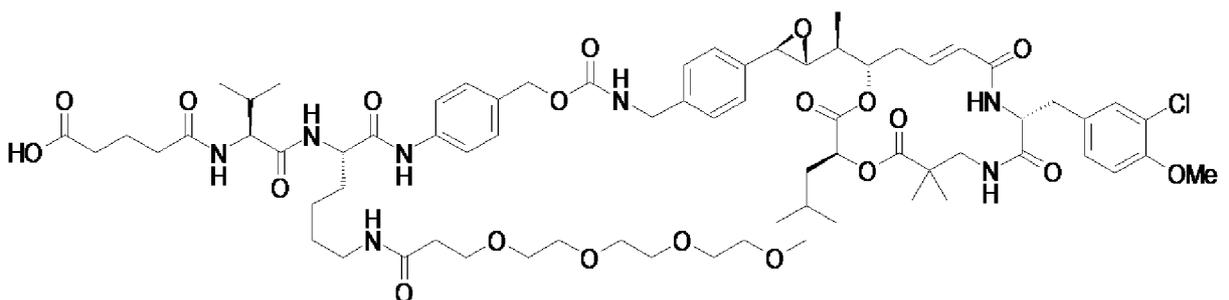
;



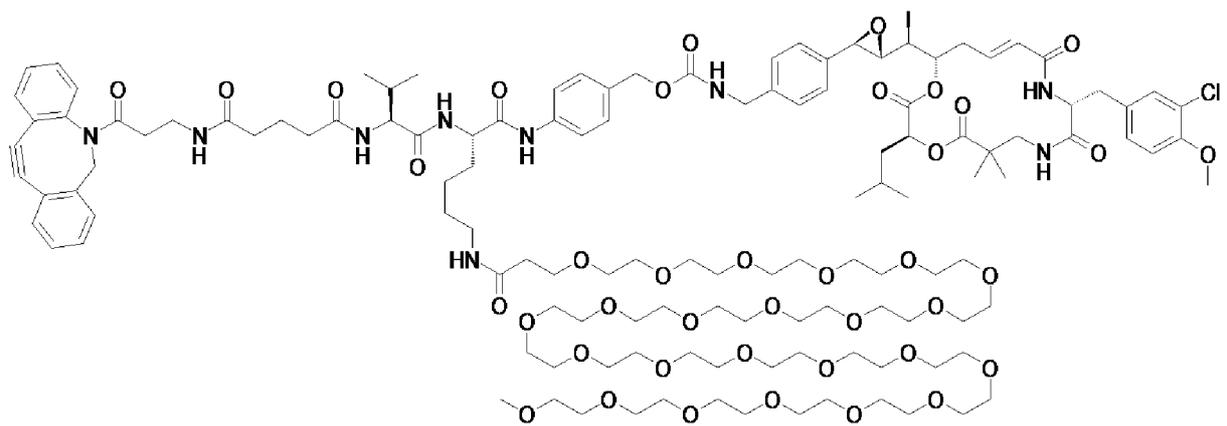
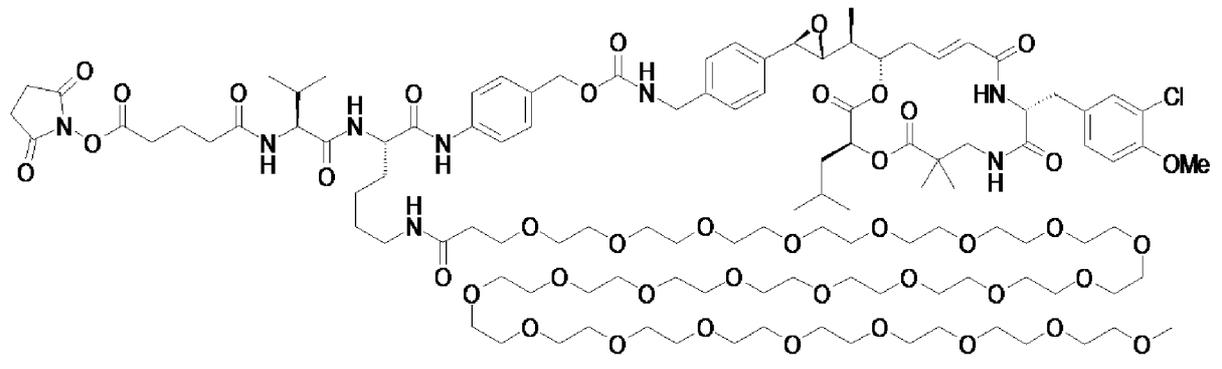
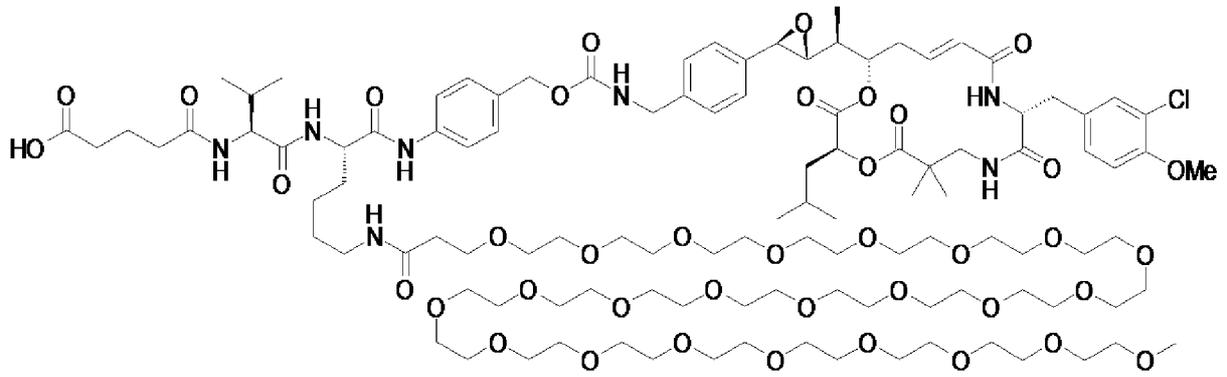
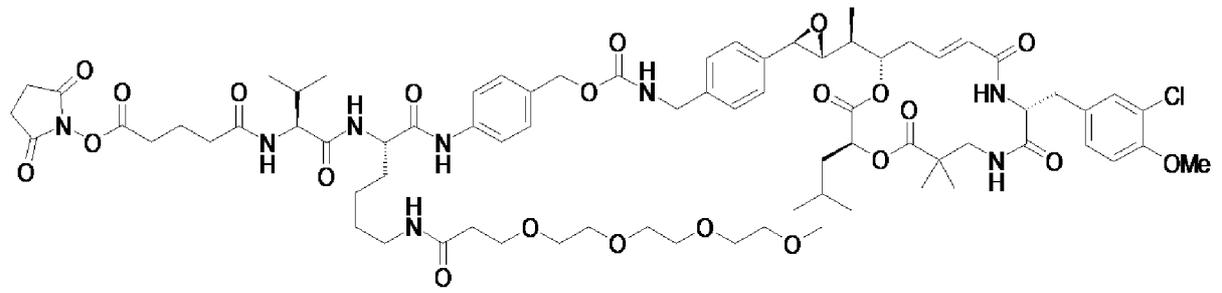
;

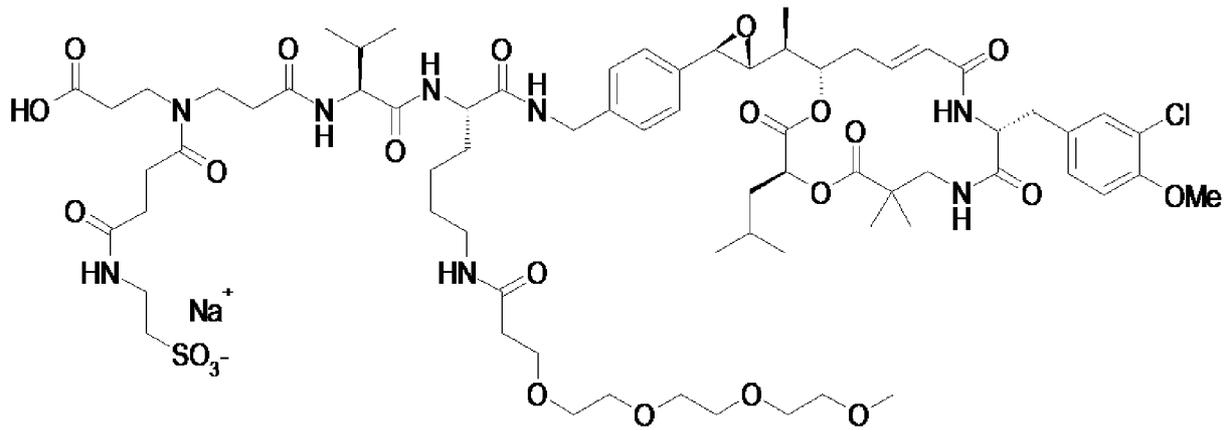


;

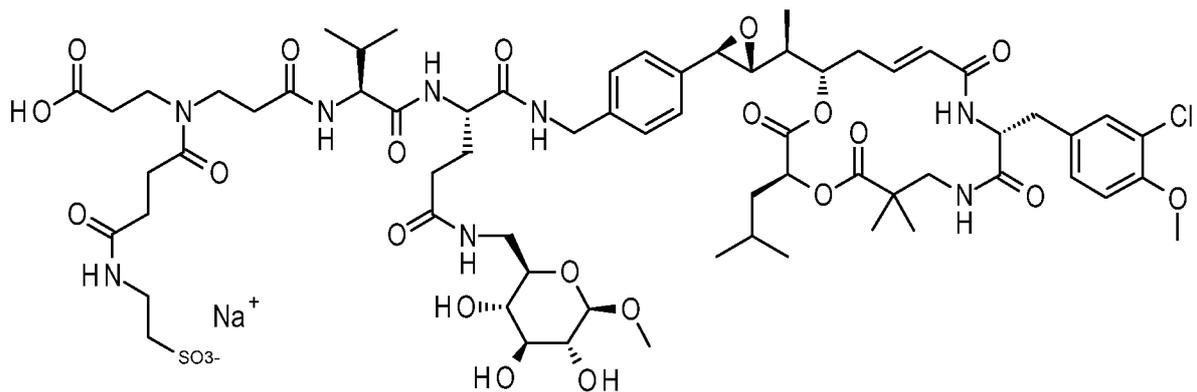


;

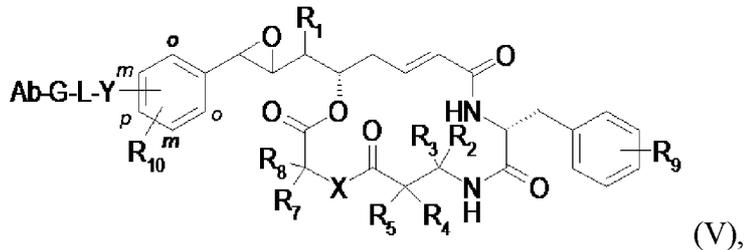




и



Настоящее изобретение дополнительно относится к конъюгатам формулы (V):



где

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, R₁₁ и R₁₂ определены в формуле (IV);

X, Y и L определены в формуле (IV);

G представляет собой продукт реакции между **RCG₁**, реакционноспособной химической группой, присутствующей на конце линкера **L** формулы (II), и **RCG₂**, ортогональной реакционноспособной химической группой, присутствующей на полипептиде, таком как антитело (**Ab**);

Ab представляет собой антитело.

Присоединение полезной нагрузки с криптофицином формулы (IV) к антителу для получения конъюгата формулы (V) обеспечивается посредством реакции между реакционноспособной химической группой **RCG₁**, присутствующей на полезной нагрузке, как определено выше, которая является реакционноспособной в отношении реакционноспособной группы **RCG₂**, присутствующей на полипептиде, таком как антитело. Реакция между **RCG₁** и **RCG₂** обеспечивает присоединение соединения

формулы (IV) к антителу посредством образования ковалентной связи. В конъюгате формулы (V) части **RCG1** и **RCG2** могут оставаться с обеспечением присоединения линкера к антителу.

Примеры **RCG2**, которые могут быть упомянуты, включают (Garnett M.C., *et al.*, *Advanced Drug Delivery Reviews* **2001**, 53, 171–216):

- (i) ε–аминогруппы лизинов, находящиеся на боковых цепях лизиновых остатков, которые присутствуют на поверхности антитела;
- (ii) α–аминогруппы N–концевых аминокислот тяжелых и легких цепей антитела;
- (iii) группы сахаридов шарнирной области;
- (iv) тиолы цистеинов, образованные посредством восстановления внутрицепочечных дисульфидных связей, или тиолы сконструированных цистеинов;
- (v) амидные группы, находящиеся на боковых цепях некоторых глутаминовых остатков, которые присутствуют на поверхности антитела;
- (vi) альдегидные группы, введенные с применением формилглицин–образующего фермента.

Недавно были рассмотрены другие подходы к конъюгации, например, введение цистеинов посредством мутации (Junutula J.R., *et al.*, *Nature Biotechnology* **2008**, 26, 925–932), введение неприродных аминокислот, что позволяет применять другие типы химических структур (Ахур J.Y., *et al.*, *PNAS* **2012**, 109, 40, 16101–16106), или конъюгация с применением гликанов антител (Zhou Q., *et al.*, *Bioconjugate Chem.* **2014**, 25, 510–520). Также было описано применение диброммалеимидов с цистеиновым мостиком (Behrens C.R., *et al.*, *Mol. Pharmaceutics* **2015** 3986–3998) и бис–сульфоновых реагентов (Bryant P., *et al.*, *Mol. Pharmaceutics* **2015** 1872–1879) для поперечного сшивания антител, и оно может использоваться в настоящем изобретении.

Другой подход к сайт–специфическим модификациям антител основан на ферментативной конъюгации с применением, например, бактериальной трансглутаминазы (Jeger S., *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 9995–9997; Strop P., *et al.*, *Chem. Biol.* **2013**, 20, 161–167) или формилглицин–образующего фермента (Hudak J.E., *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 4161–4165). Для обзора стратегий сайт–специфической конъюгации см. Agarwal P. and Bertozzi C.R., *Bioconjugate Chem* **2015**, 26, 176–192. Данные технологии конъюгации также можно применять в отношении полезных нагрузок с криптофицином, описанных в настоящем изобретении.

Полипептид, такой как антитело, также можно химически модифицировать таким образом, чтобы ввести новые реакционноспособные химические группы **RCG2**. Таким образом, специалистам в данной области техники хорошо известно то, как модифицировать антитело с помощью введения модифицирующего средства, например, активированного дисульфида, тиола, мелеимило–, галогенацетамидо–, азидо–, алкиновых или циклоалкиновых групп (см., в частности, **WO2005/077090**, страница 14 и **WO2011/001052**). Модификация позволяет улучшить реакцию конъюгации и применять более широкое разнообразие групп **RCG1**.

Например, в случае, если **RCG1** относится к типу (ii), указанному выше, то антитело можно химически модифицировать с применением соответствующего модифицирующего средства или вводить в него одну или несколько неприродных аминокислот таким образом, чтобы обеспечить введение соответствующих функциональных групп **RCG2**. Например:

– если **RCG1** представляет собой сложный N-гидроксисукцинимидильный эфир, **RCG2** представляет собой группу $-\text{NH}_2$;

– если **RCG1** представляет собой функциональную малеимидогруппу, функциональную галогенацетидагруппу, атом хлора или активированный дисульфид, **RCG2** может представлять собой группу SH;

– если **RCG1** представляет собой группу N_3 , **RCG2** может представлять собой функциональную группу $\text{C}\equiv\text{CH}$ или активированную функциональную группу $\text{C}\equiv\text{C}$, например циклооктиновый фрагмент;

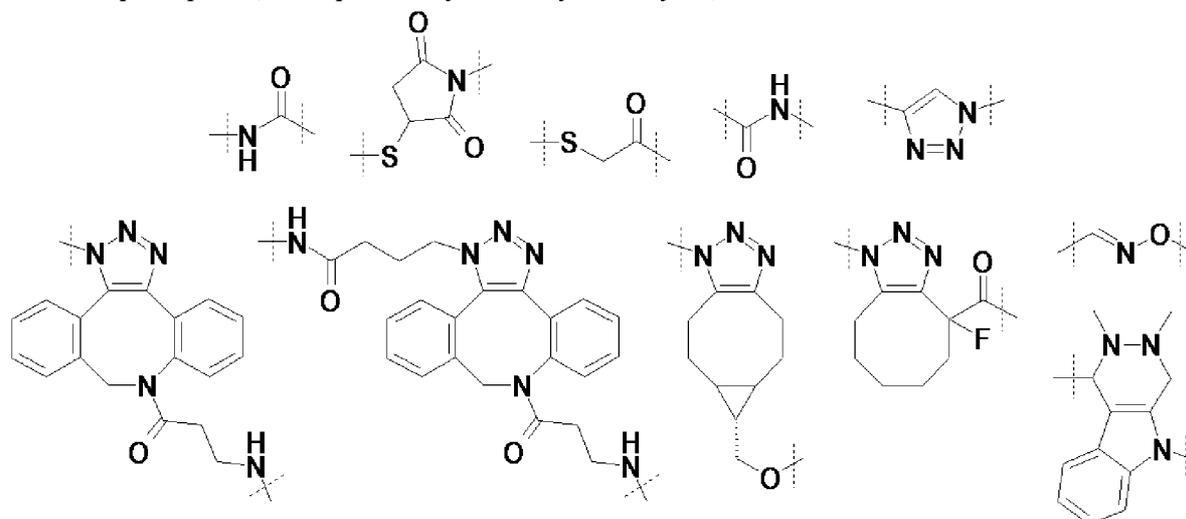
– если **RCG1** представляет собой группу OH или группу NH_2 , **RCG2** может представлять собой функциональную группу карбоновой кислоты или функциональную амидную группу;

– если **RCG1** представляет собой группу SH, **RCG2** может представлять собой функциональную малеимидогруппу, функциональную галогенацетидагруппу или функциональную группу, представляющую собой активированный дисульфид;

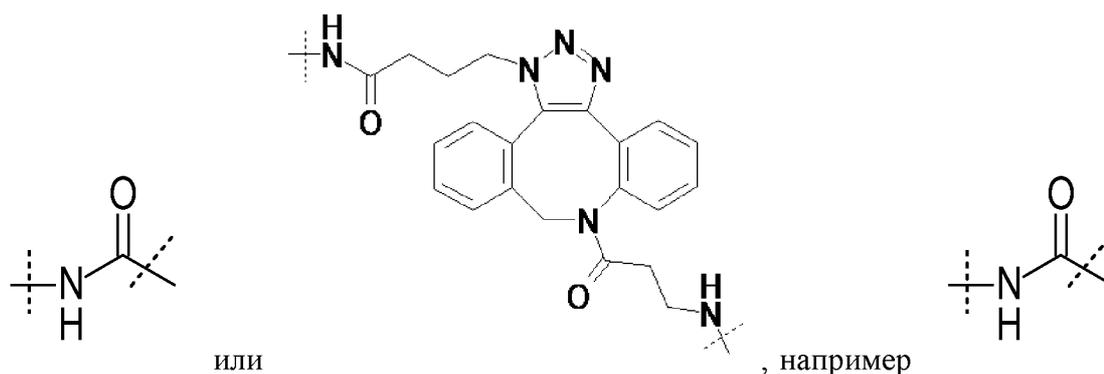
– если **RCG1** представляет собой функциональную группу $\text{C}\equiv\text{CH}$ или активированную функциональную группу $\text{C}\equiv\text{C}$, **RCG2** может представлять собой группу N_3 ;

– если **RCG1** представляет собой функциональную группу, представляющую собой O-алкилгидроксиламин, или субстрат реакции Пикте-Шпенглера, **RCG2** может представлять собой функциональную альдегидную или кетонную группу.

Примеры **G**, которые могут быть упомянуты, включают



Например, **G** представляет собой следующие группы:



Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых **R₁** представляет собой (C₁–C₆)алкил, например метильную группу.

Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых каждый из **R₂** и **R₃** представляет собой атом водорода.

Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых один из **R₂** и **R₃** представляет собой (C₁–C₆)алкильную группу, например метильную группу, а другой представляет собой атом водорода.

Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых **R₂** и **R₃** образуют вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, (C₃–C₆)циклоалкильную группу, например циклопропильную группу.

Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых каждый из **R₄** и **R₅** представляет собой (C₁–C₆)алкильную группу, в частности метильную группу.

Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых **X** представляет собой атом кислорода, то есть O.

Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых **X** представляет собой NH.

Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых **R₇** и **R₈** представляют собой независимо друг от друга атом водорода или (C₁–C₆)алкильную группу, например изобутильную группу или неопентильную группу.

Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых **R₉** представляет собой два заместителя, выбранных из метоксигруппы и атома хлора. Например, фенильное ядро содержит два заместителя в положениях 3 и 4 фенильного ядра. Например, 3–Cl и 4–

метокси.

Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых R_{10} представляет собой атом водорода.

Среди соединений формулы (v), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых Y расположен в *para*-положении фенильного ядра.

Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых Y представляет собой $NR_{11}-(C_1-C_6)$ алкил, такой как $NR_{11}-(C_1-C_3)$ алкил, например $NH-CH_2$.

Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых L формулы (II) содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту AA_s в последовательности из w аминокислот $(AA)_w$, L1 и L2 определены в формуле (II).

Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых L формулы (II) содержит последовательность из w незамещенных аминокислот AA_{ns} , L1 и L2 определены в формуле (II).

Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых $(AA)_w$ в L формулы (II) содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту AA_s , и L2 представляет собой

- (C_1-C_6) алкильную группу, например группу $(CH_2)_3$;
- $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, например группу $C(=O)-(CH_2)_3$; или
- (C_1-C_6) алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, например группу $(CH_2)_2-NA_7-(CH_2)_2$, в которой A_7 определен выше.

Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых $(AA)_w$ в L формулы (II) содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту AA_s , и L2 представляет собой

- (C_1-C_6) алкильную группу, например группу $(CH_2)_3$;
- $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, например группу $C(=O)-(CH_2)_3$; или
- (C_1-C_6) алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, например группу $-(CH_2)_2-NA_7-(CH_2)_2-$, в которой A_7 представляет собой группу $-C(=O)-(CH_2)_2-C(=O)-NH-(CH_2)_2-SO_3H$; при этом следует понимать, что каждый A_7 , содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($SO_3^- +Na$).

Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых $(AA)_w$ в L формулы (II) содержит w незамещенных аминокислот AA_{ns} , и L2 представляет собой

(C₁-C₆)алкил-NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, например группу (CH₂)₂-NA₇-(CH₂)₂, в которой А₇ определен выше.

Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых (AA)^w в L формулы (II) содержит w незамещенных аминокислот AA_{ns}, и L2 представляет собой

(C₁-C₆)алкил-NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, например группу (CH₂)₂-NA₇-(CH₂)₂, в которой А₇ представляет собой

- группу C(=O)-[(CH₂)₂-O]_a-CH₃, где "a" представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 50, например, находящееся в диапазоне от 1 до 24, такое как 4, 7 и 24, например, А₇ представляет собой группу C(=O)-[(CH₂)₂-O]₄-CH₃, группу C(=O)-[(CH₂)₂-O]₇-CH₃ или группу C(=O)-[(CH₂)₂-O]₂₄-CH₃;

- группу -C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H или

- группу C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-[(CH₂)₂-O]_a-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H, где "a" представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 50, в таком диапазоне как от 1 до 24, например 4, например, А₇ представляет собой группу -C(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-[(CH₂)₂-O]₄-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H;

при этом следует понимать, что каждый А₇, содержащий функциональную группу SO₃H, может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли (SO₃⁻Na);

Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых (AA)^w в L формулы (II) содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту AA_s и/или w незамещенных аминокислот AA_{ns}, и L2 представляет собой

NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, группу (C₁-C₆)алкил-NA₇, NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)алкильную группу, NA₇-арильную группу, NA₇-гетероарильную группу, (C₁-C₆)алкил-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)алкильную группу, группу (C₁-C₆)алкил-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i, (C₁-C₆)алкил-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, группу (C₁-C₆)алкил-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i, (C₁-C₆)алкил-NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, группу (C₁-C₆)алкил-NA₇-(C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i, (C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, C(=O)-NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, группу C(=O)-(C₁-C₆)алкил-NA₇, C(=O)-NA₇-(CH₂CH₂O)_i(C₁-C₆)алкильную группу, C(=O)-NA₇-арильную группу, C(=O)-NA₇-гетероарильную группу, C(=O)-(C₁-C₆)алкил-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)алкильную группу, группу C(=O)-(C₁-C₆)алкил-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i, C(=O)-(C₁-C₆)алкил-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, группу C(=O)-(C₁-C₆)алкил-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i, C(=O)-(C₁-C₆)алкил-NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, группу C(=O)-(C₁-C₆)алкил-NA₇-(C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i, C(=O)-(C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, группу NA₈-(C₁-C₆)алкил-NA₇, NA₈-(C₁-C₆)алкил-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)алкильную группу, группу NA₈-(C₁-C₆)алкил-NA₇C(=O)-(C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i, NA₈-(C₁-C₆)алкил-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)алкильную группу, группу NA₈-(C₁-C₆)алкил-C(=O)NA₇-(C₁-C₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i,

С₆алкил-NA₇-(С₁-С₆)алкильную группу, группу (С₁-С₆)алкил-NA₇-(С₁-С₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i, (С₁-С₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i-NA₇-(С₁-С₆)алкильную группу, С(=O)-NA₇-(С₁-С₆)алкильную группу, группу С(=O)-(С₁-С₆)алкил-NA₇, С(=O)-NA₇-(CH₂CH₂O)_i(С₁-С₆)алкильную группу, С(=O)-(С₁-С₆)алкил-NA₇С(=O)-(С₁-С₆)алкильную группу, группу С(=O)-(С₁-С₆)алкил-NA₇С(=O)-(С₁-С₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i, С(=O)-(С₁-С₆)алкил-С(=O)NA₇-(С₁-С₆)алкильную группу, группу С(=O)-(С₁-С₆)алкил-С(=O)NA₇-(С₁-С₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i, С(=O)-(С₁-С₆)алкил-NA₇-(С₁-С₆)алкильную группу, группу С(=O)-(С₁-С₆)алкил-NA₇-(С₁-С₆)алкил-(OCH₂CH₂)_i, группу NA₈-(С₁-С₆)алкил-NA₇, NA₈-(С₁-С₆)алкил-NA₇С(=O)-(С₁-С₆)алкильную группу, NA₈-(С₁-С₆)алкил-С(=O)NA₇-(С₁-С₆)алкильную группу, NA₈-(С₁-С₆)алкил-NA₇-(С₁-С₆)алкильную группу, группу С(=O)-NA₈-(С₁-С₆)алкил-NA₇, С(=O)-NA₈-(С₁-С₆)алкил-NA₇С(=O)-(С₁-С₆)алкильную группу, С(=O)-NA₈-(С₁-С₆)алкил-С(=O)NA₇-(С₁-С₆)алкильную группу или С(=O)-NA₈-(С₁-С₆)алкил-NA₇-(С₁-С₆)алкильную группу; где **i**, **A₇** и **A₈** определены выше.

Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, еще более предпочтительная группа соединений состоит из соединений, в которых **(AA)^w** в **L** формулы (II) содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту **AA_s** и/или **w** незамещенных аминокислот **AA_{ns}**, и **L2** представляет собой

NA₇-(С₁-С₆)алкильную группу, группу (С₁-С₆)алкил-NA₇, (С₁-С₆)алкил-NA₇С(=O)-(С₁-С₆)алкильную группу, (С₁-С₆)алкил-С(=O)NA₇-(С₁-С₆)алкильную группу, (С₁-С₆)алкил-NA₇-(С₁-С₆)алкильную группу, С(=O)-NA₇-(С₁-С₆)алкильную группу, группу С(=O)-(С₁-С₆)алкил-NA₇, С(=O)-(С₁-С₆)алкил-NA₇С(=O)-(С₁-С₆)алкильную группу, С(=O)-(С₁-С₆)алкил-С(=O)NA₇-(С₁-С₆)алкильную группу, С(=O)-(С₁-С₆)алкил-NA₇-(С₁-С₆)алкильную группу, группу NA₈-(С₁-С₆)алкил-NA₇, NA₈-(С₁-С₆)алкил-NA₇С(=O)-(С₁-С₆)алкильную группу, NA₈-(С₁-С₆)алкил-С(=O)NA₇-(С₁-С₆)алкильную группу, NA₈-(С₁-С₆)алкил-NA₇-(С₁-С₆)алкильную группу, группу С(=O)-NA₈-(С₁-С₆)алкил-NA₇, С(=O)-NA₈-(С₁-С₆)алкил-NA₇С(=O)-(С₁-С₆)алкильную группу, С(=O)-NA₈-(С₁-С₆)алкил-С(=O)NA₇-(С₁-С₆)алкильную группу или С(=O)-NA₈-(С₁-С₆)алкил-NA₇-(С₁-С₆)алкильную группу; где **A₇** и **A₈** определены выше.

Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, наиболее предпочтительная группа соединений состоит из соединений, в которых **(AA)^w** в **L** формулы (II) содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту **AA_s** и/или **w** незамещенных аминокислот **AA_{ns}**, и **L2** представляет собой

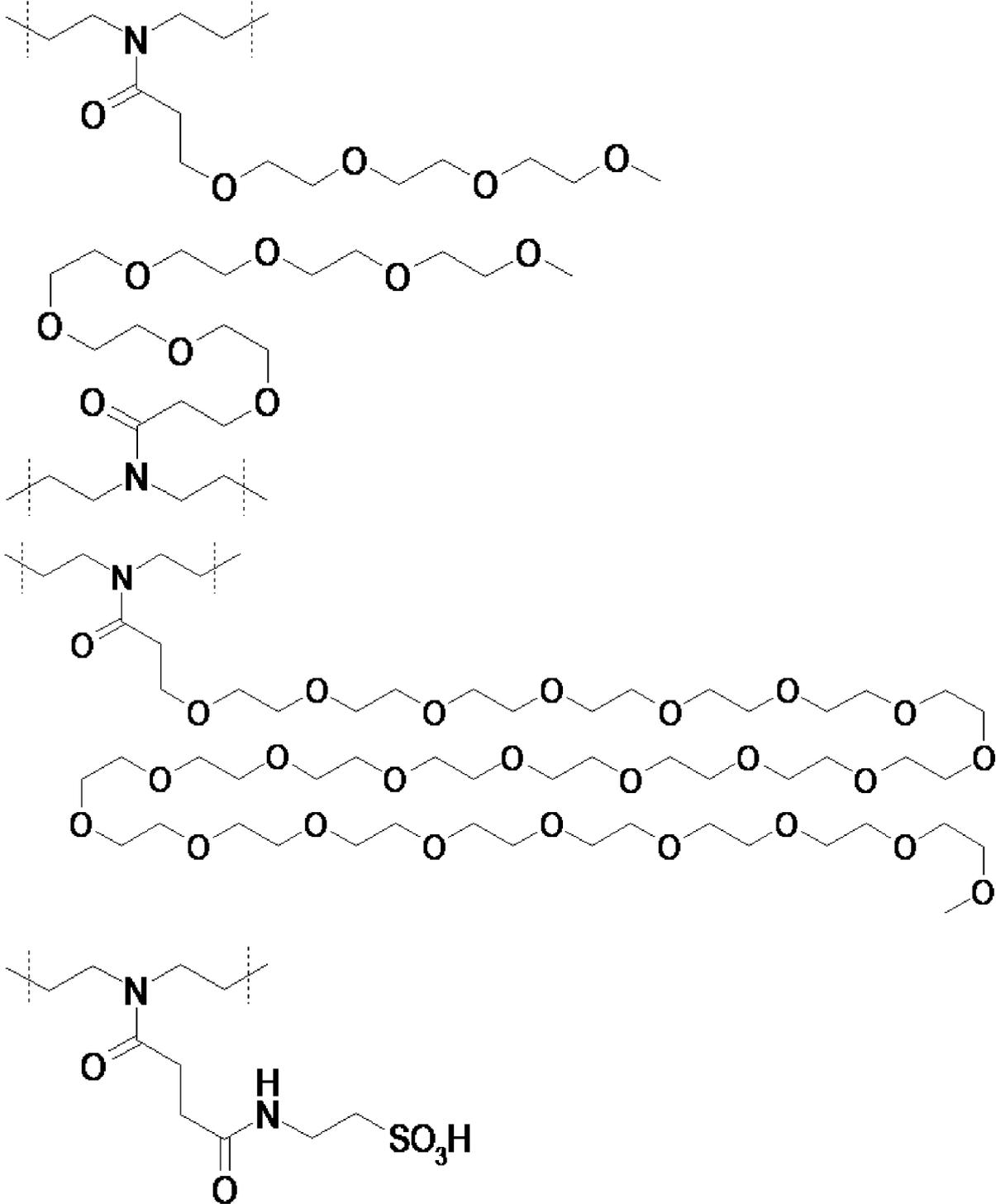
(С₁-С₆)алкил-NA₇-(С₁-С₆)алкильную группу; где **A₇** определен выше.

Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых **(AA)^w** в **L** формулы (II) содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту **AA_s** и/или **w** незамещенных аминокислот **AA_{ns}**, и **L2** содержит **A₇**, представляющий собой

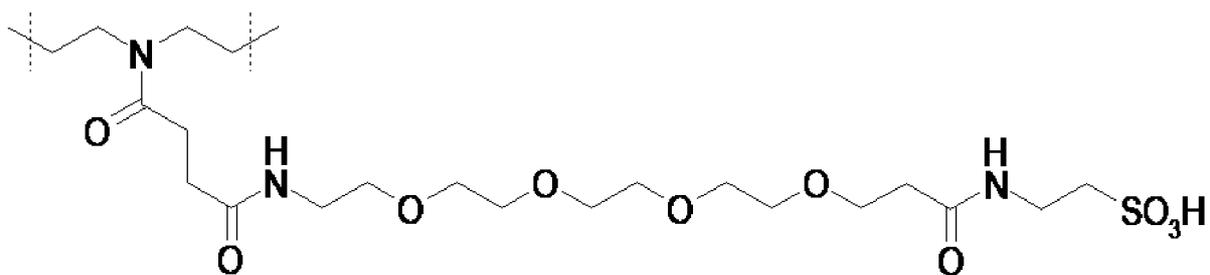
группу С(=O)-[(CH₂)₂-O]₄-CH₃; группу С(=O)-[(CH₂)₂-O]₇-CH₃; группу С(=O)-[(CH₂)₂-O]₂₄-CH₃; группу С(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H; группу С(=O)-(CH₂)₂-C(=O)-NH-[(CH₂)₂-O]₄-(CH₂)₂-C(=O)-NH-(CH₂)₂-SO₃H;

при этом следует понимать, что каждый A_7 , содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($SO_3^- Na$).

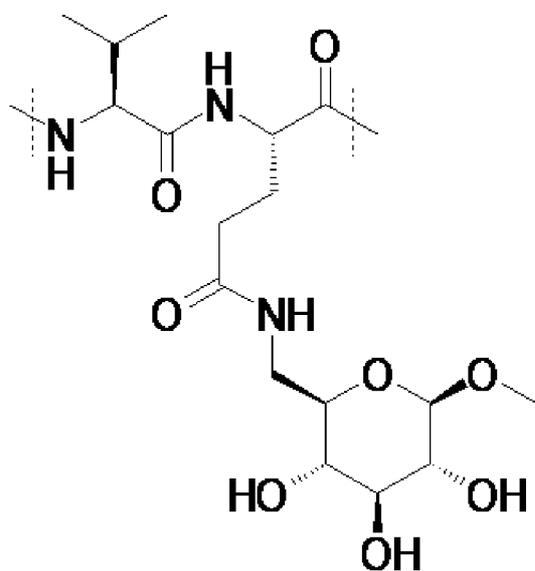
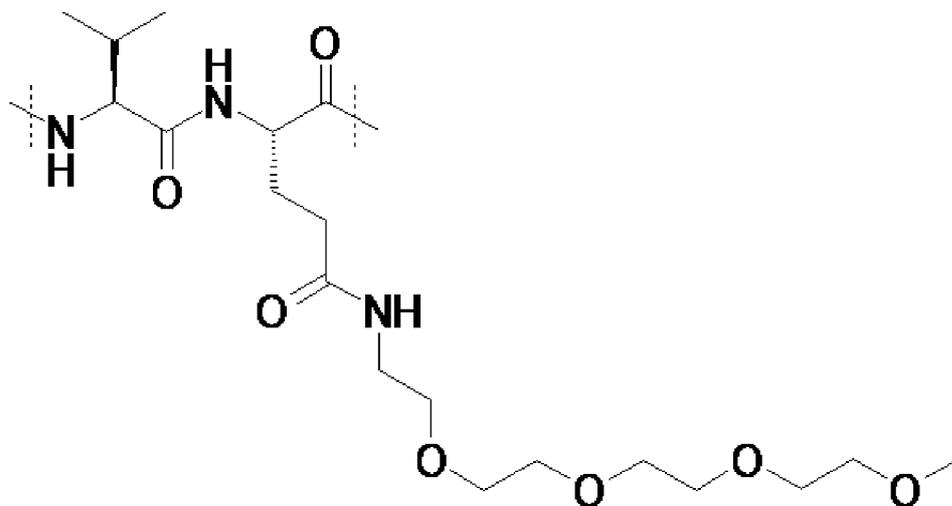
Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых $(AA)_w$ в L формулы (II) содержит по меньшей мере одну замещенную аминокислоту AA_s и/или w незамещенных аминокислот AA_{ns} , и L2 представляет собой

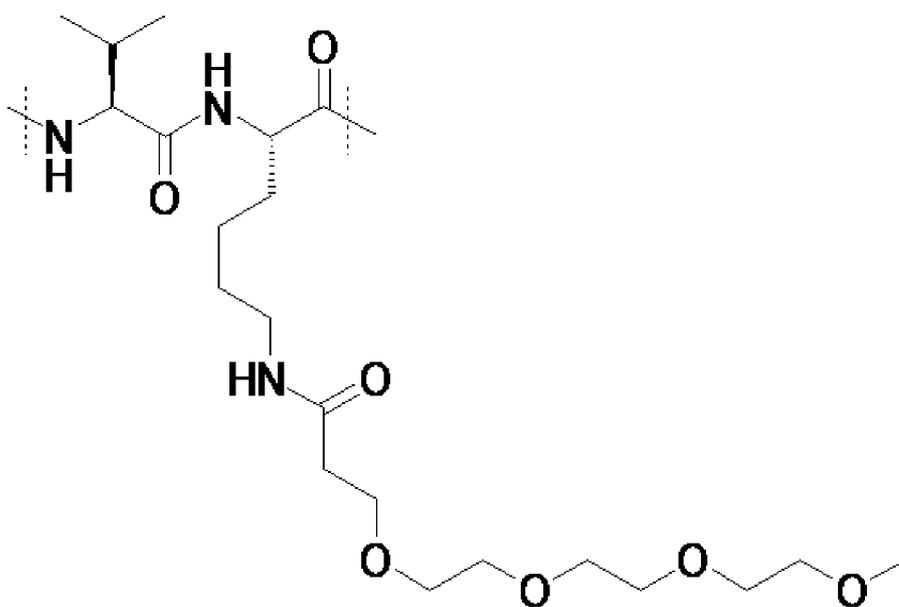
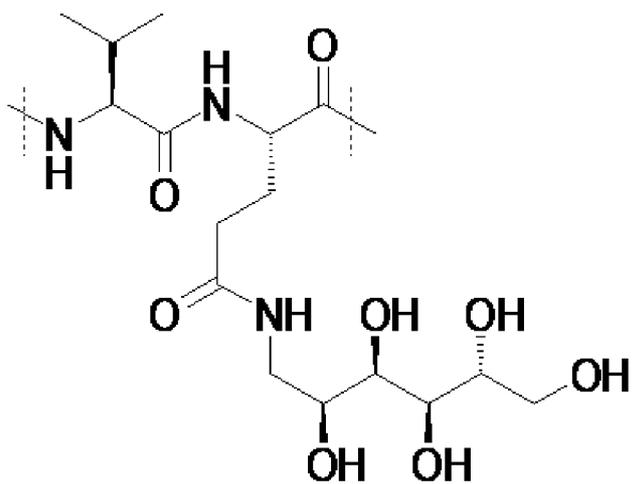


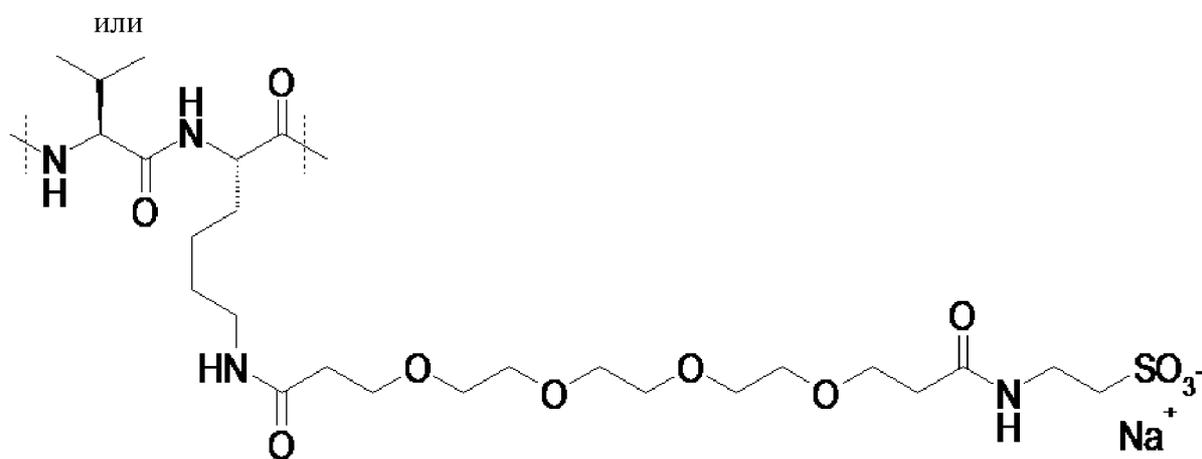
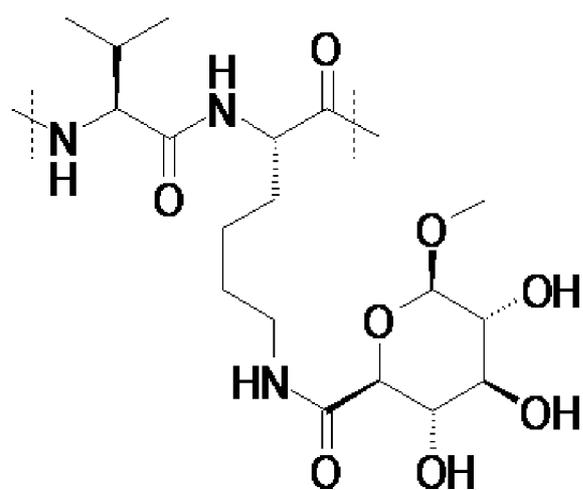
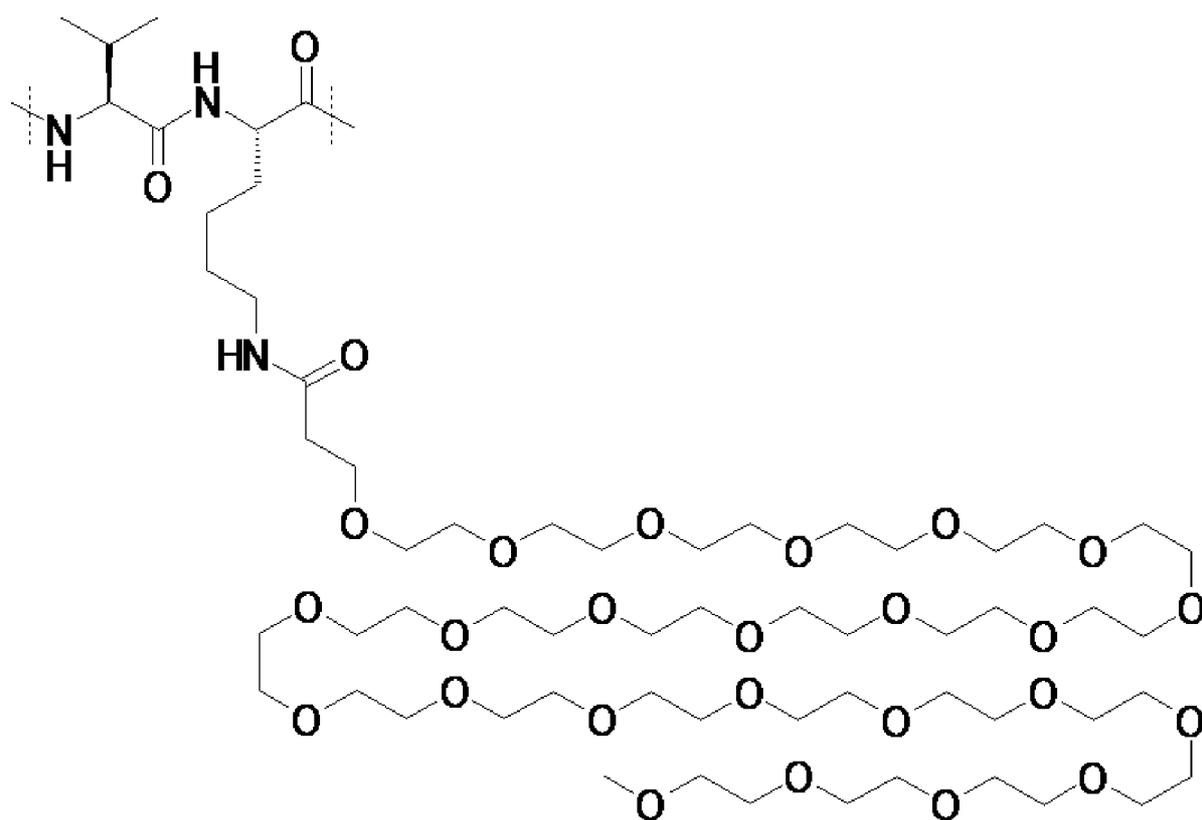
или



Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений, содержащих в **L** последовательность **(AA_s)_w**, содержащую по меньшей мере одну замещенную аминокислоту **AA_s**, при этом **(AA_s)_w** выбрана из перечня:





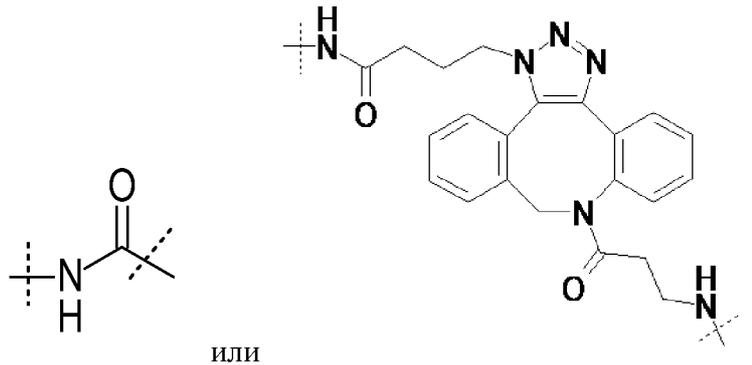


Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего

изобретения, группа соединений состоит из соединений, в которых **Ab** представляет собой антитело к Epha2, например антитело hu2H11_R35R74, представленное под SEQ ID NO: 1 (легкая цепь антитела hu2H11_R35R74) и под SEQ ID NO: 2 (тяжелая цепь антитела hu2H11_R35R74), которые соответствуют SEQ ID NO: 16 и SEQ ID NO: 18 соответственно, представленным в **WO2011039724 A1**.

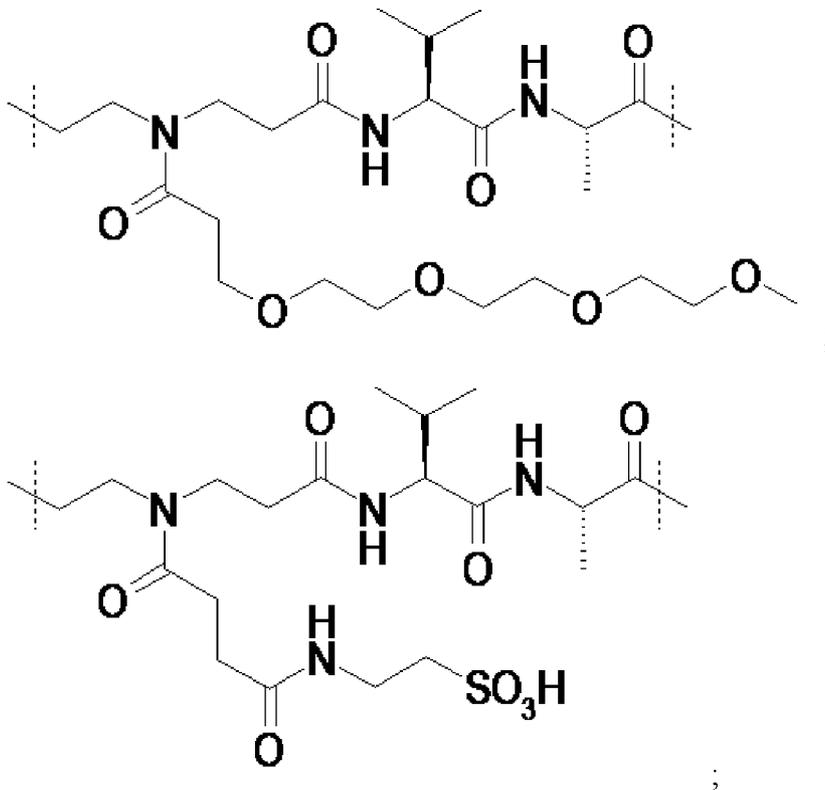
В соответствии с по меньшей мере одним вариантом осуществления настоящее изобретение относится к соединениям формулы (V), где

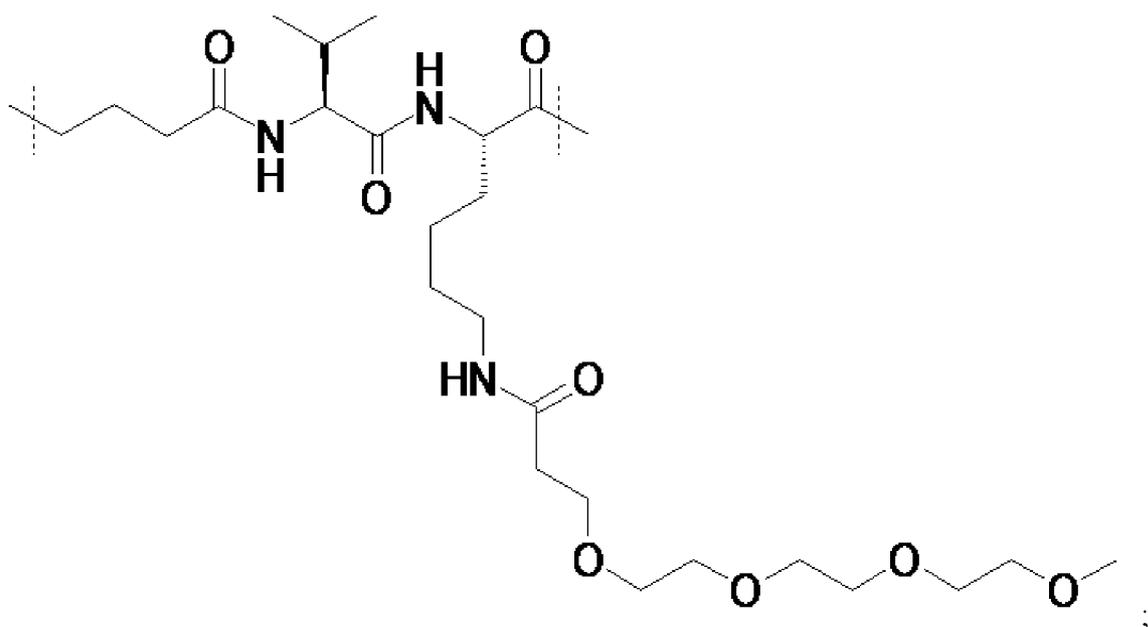
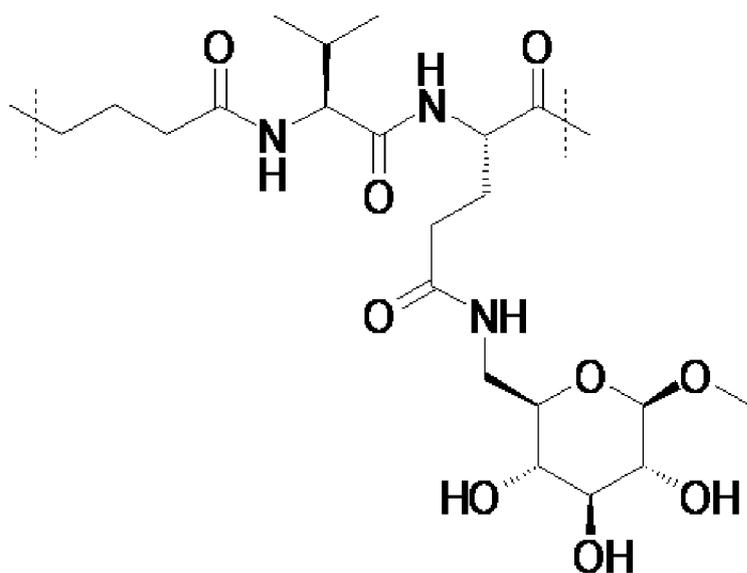
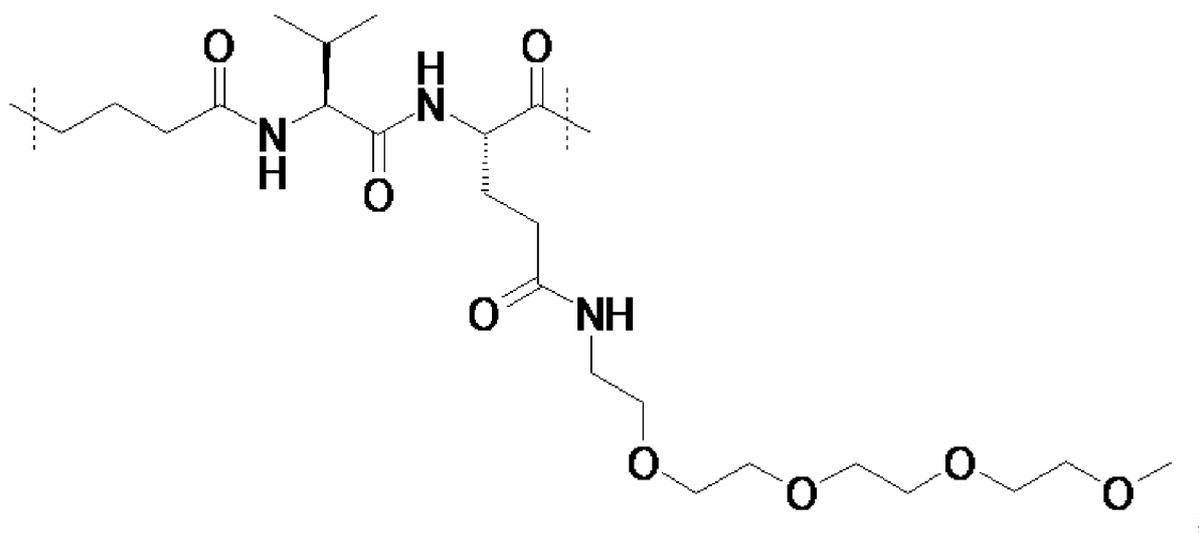
- **Ab** представляет собой антитело;
- **G** представляет собой

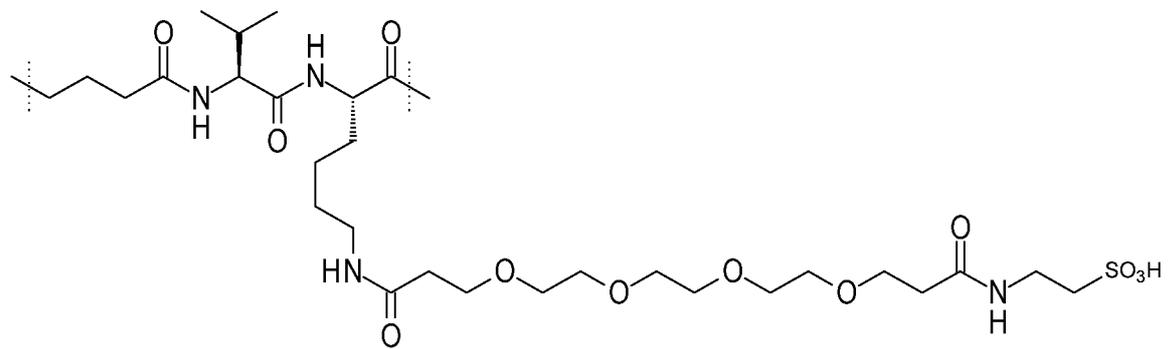
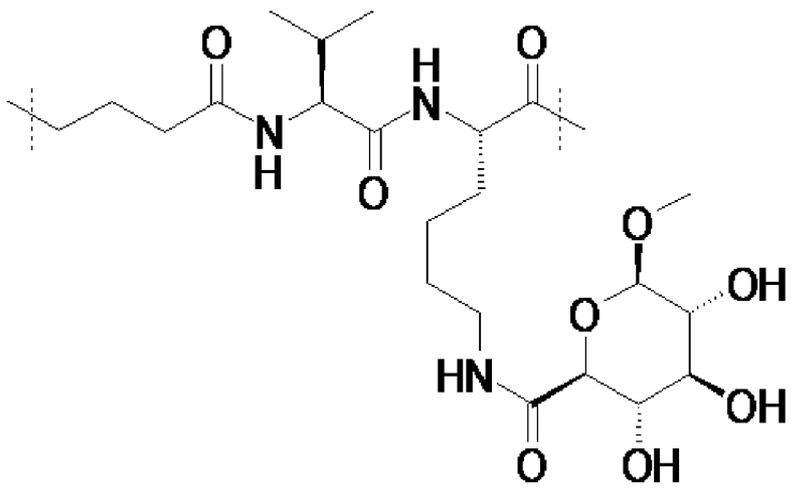
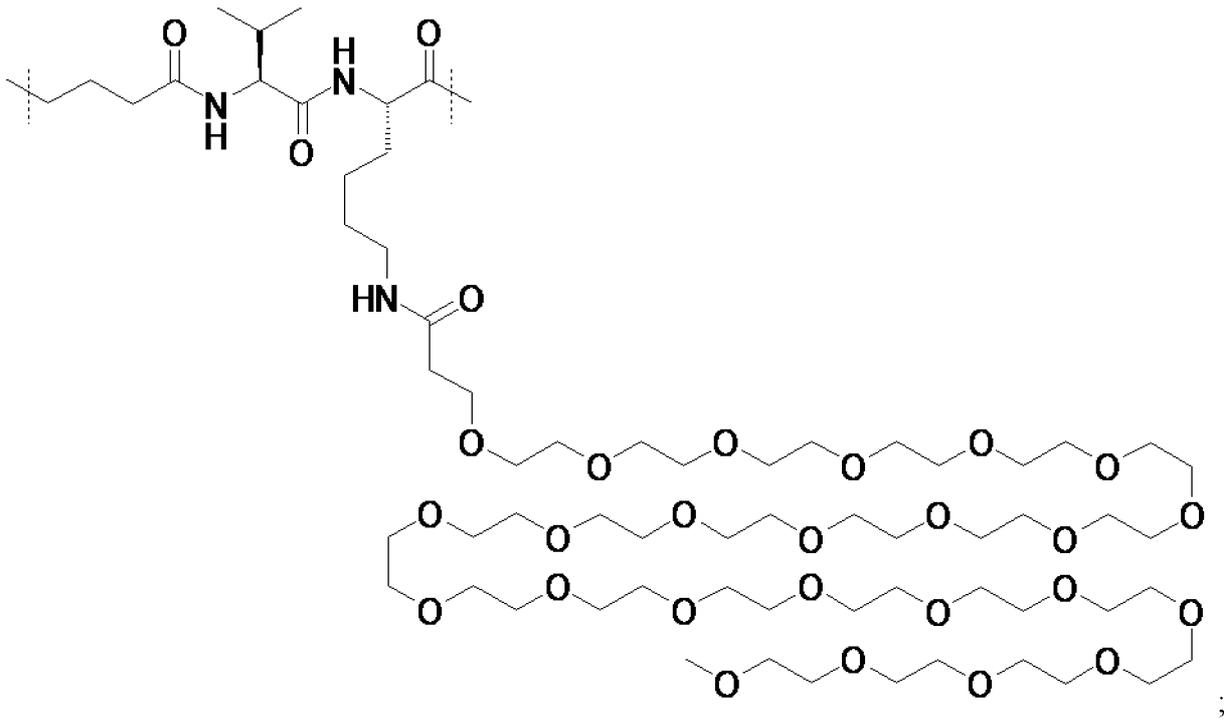


– **Y** представляет собой NR_{11} -(C_{1-6})алкильную группу, в которой **R₁₁** представляет собой атом водорода, например, **Y** представляет собой группу NH-CH_2 ;

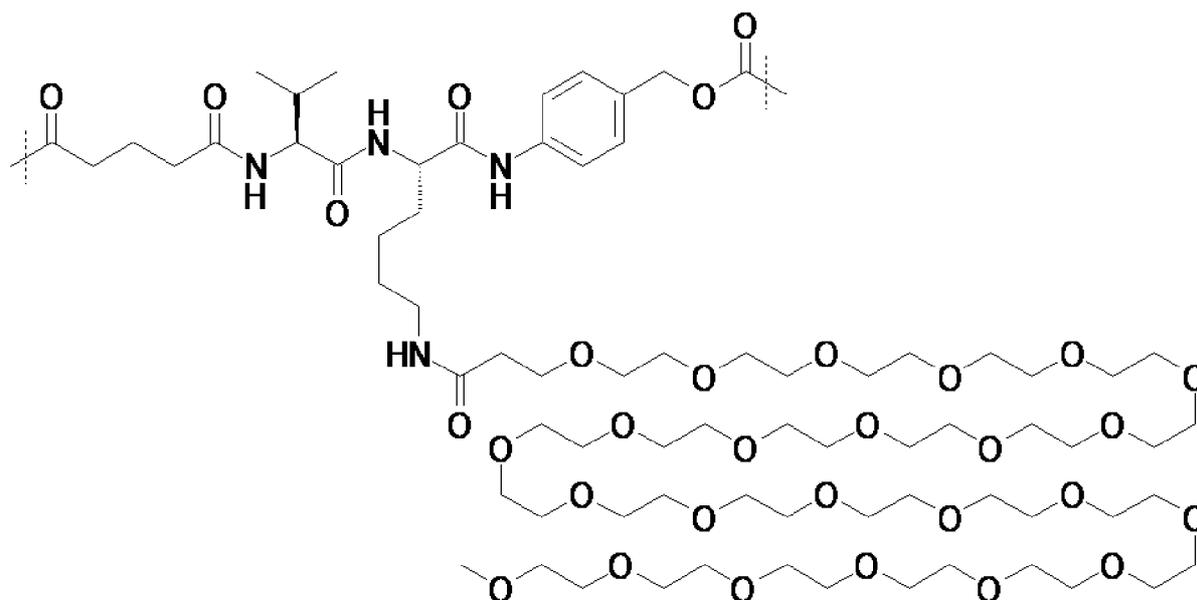
- **L** представляет собой





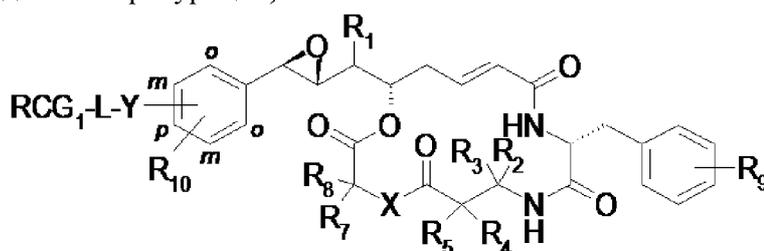


и



- **R₁** представляет собой (C₁–C₆)алкильную группу, например метильную группу;
- **R₂** и **R₃** представляют собой независимо друг от друга атом водорода или (C₁–C₆)алкильную группу, например метильную группу;
- **R₄** и **R₅** представляют собой независимо друг от друга (C₁–C₆)алкильную группу, например метильную группу;
- **R₇** и **R₈** представляют собой независимо друг от друга атом водорода или (C₁–C₆)алкильную группу, например изобутильную группу или неопентильную группу, например, один из **R₇** и **R₈** представляет собой (C₁–C₆)алкильную группу, например изобутильную группу или неопентильную группу, а другой из **R₇** и **R₈** представляет собой атом водорода;
- **X** представляет собой атом кислорода или NH;
- **R₉** представляет собой два заместителя, выбранные из (C₁–C₄)алкоксигруппы, например метоксигруппы, и атома галогена, например атома хлора, например, **R₉** представляет собой 3–Cl и 4–метокси; и
- **R₁₀** представляет собой атом водорода.

Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, группа соединений состоит из соединений со следующей структурой (бета-эпоксидная конфигурация):

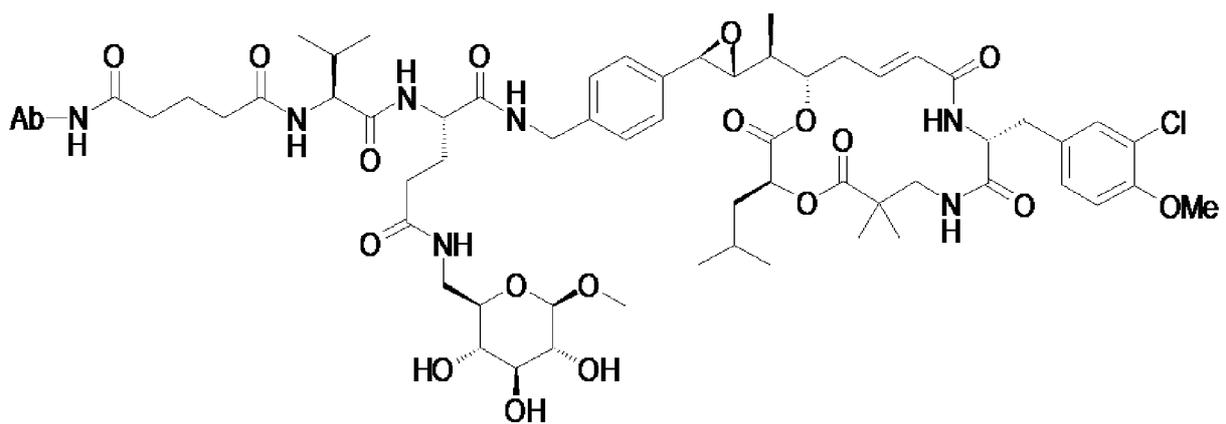
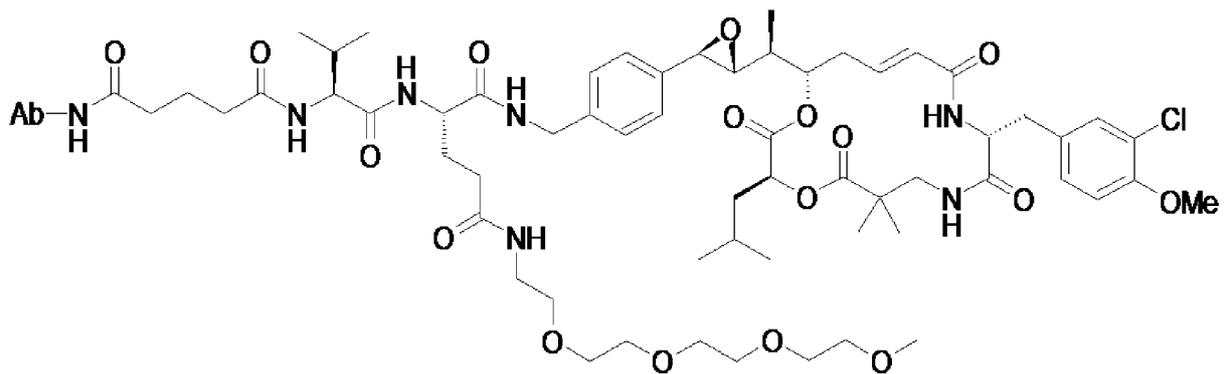
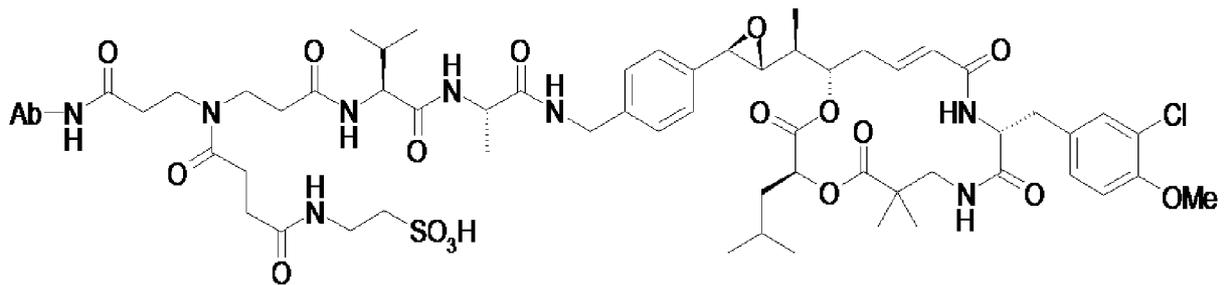
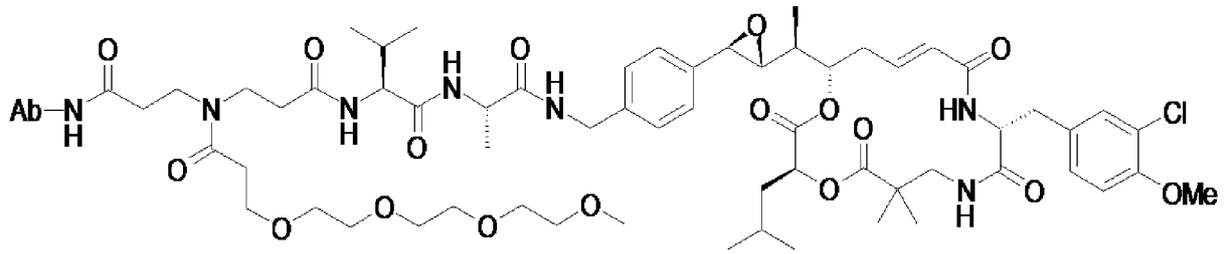


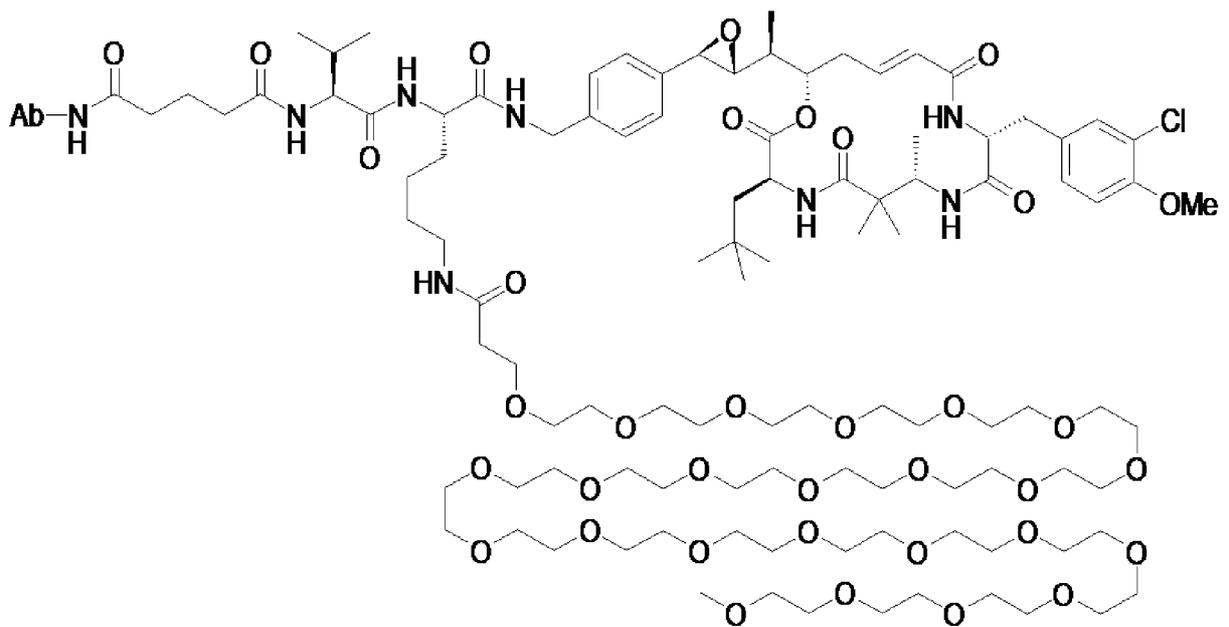
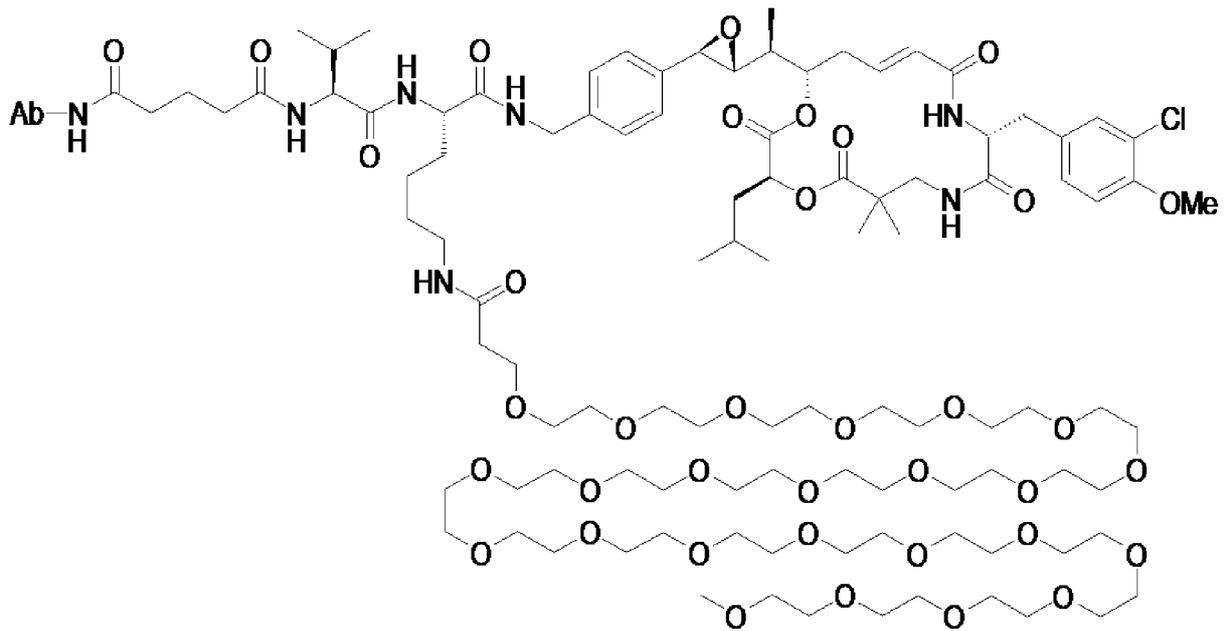
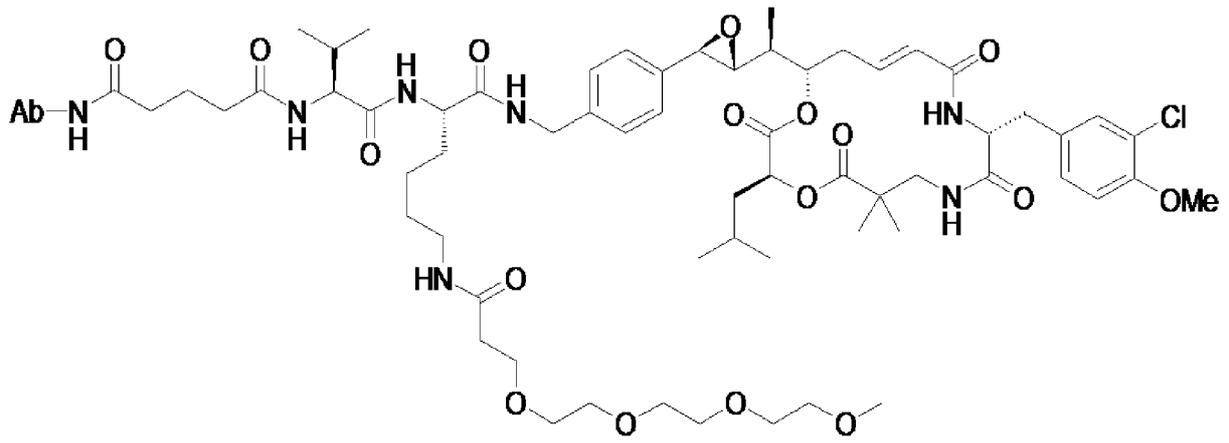
где

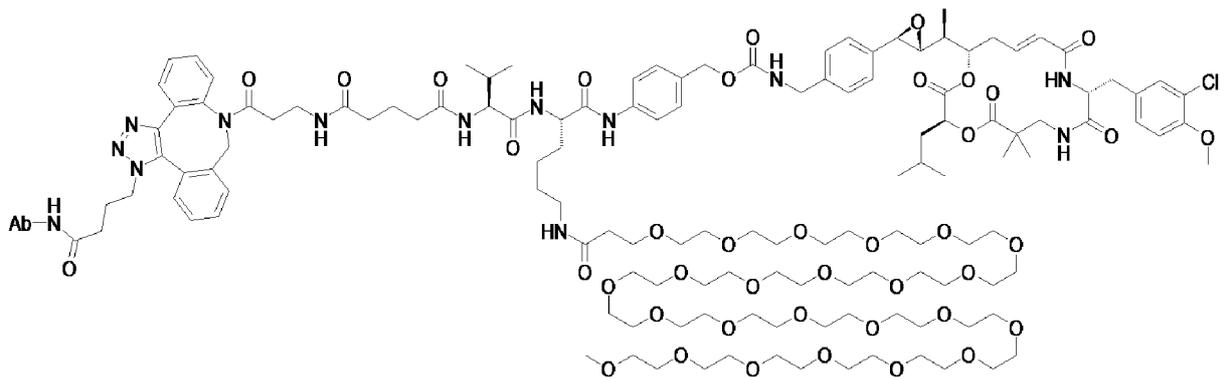
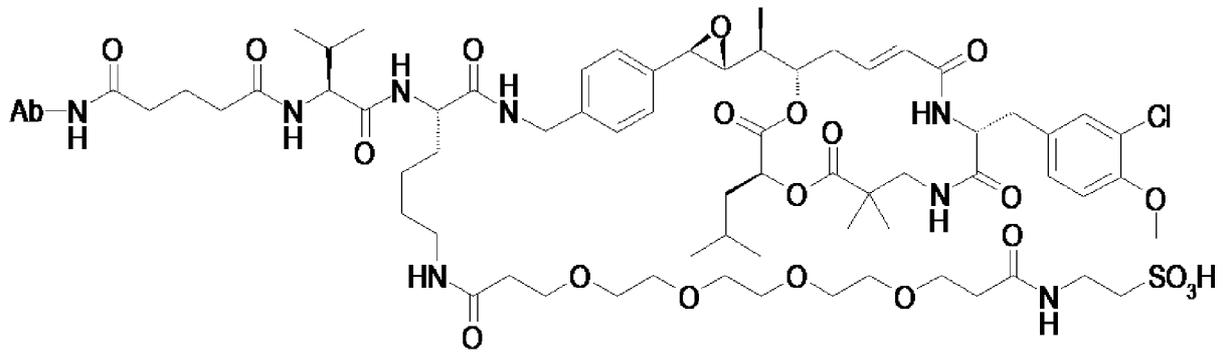
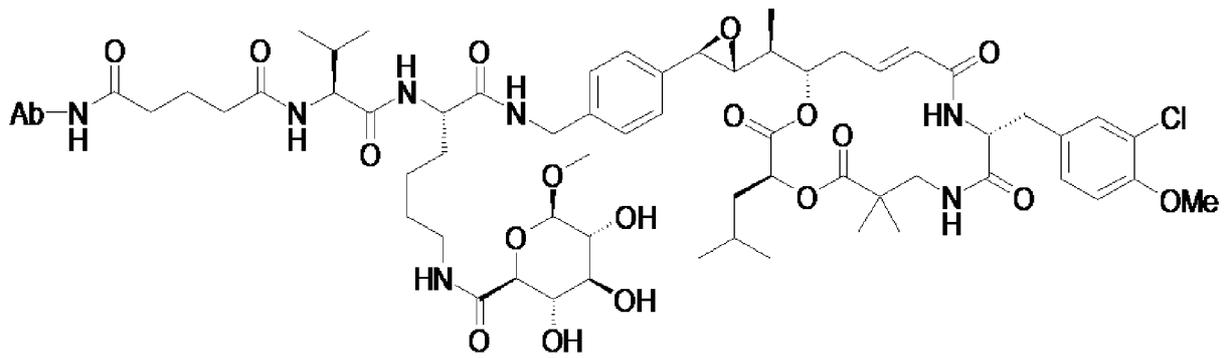
R₁, **R₂**, **R₃**, **R₄**, **R₅**, **R₆**, **R₇**, **R₈**, **R₉**, **R₁₀**, **R₁₁**, **R₁₂**, **n**, **RCG₁**, **X**, **Y** и **L** определены в формуле (IV).

Все данные подгруппы, взятые отдельно или в комбинации, являются частью настоящего изобретения.

Среди соединений формулы (V), которые являются объектом настоящего изобретения, можно отметить следующие соединения:







где **Ab** определен в формуле (V) по настоящему изобретению.

В соответствии с настоящим изобретением соединения общей формулы (I), (II), (III), (IV) и (V) можно получать с помощью следующих способов.

Получение линкеров формулы (II)

Получение спейсеров с улучшенной гидрофильностью

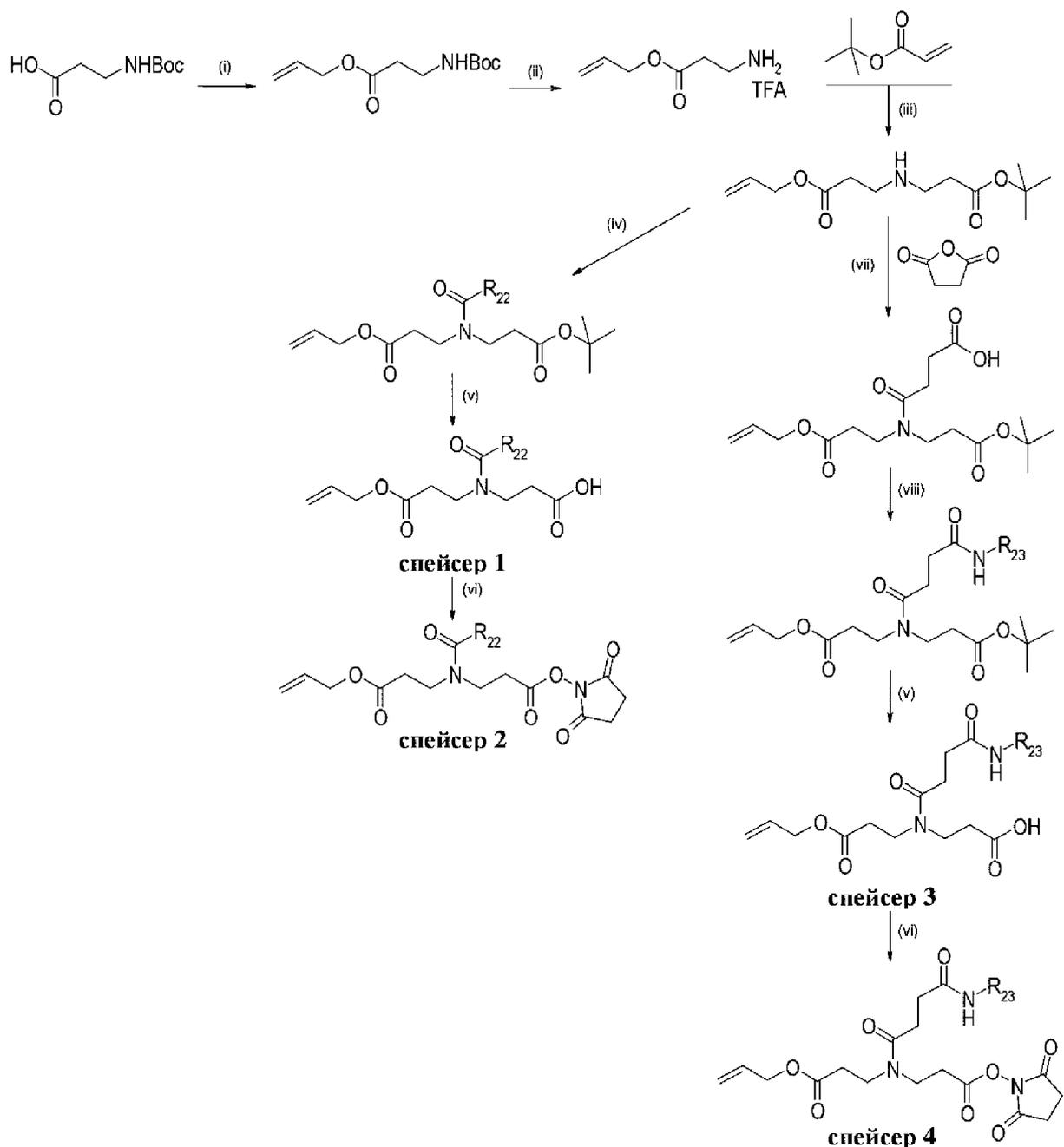


Схема 1

Стадия (i): введение защитной группы для карбоновой кислоты с применением аллилбромида и основания, такого как, например, карбонат цезия, с получением сложного аллилового эфира.

Стадия (ii): удаление защитной Boc-группы с амина с применением раствора HCl (например, раствора в диоксане) или TFA.

Стадия (iii): добавление амина к *трет*-бутилакрилату в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

Стадия (iv): сочетание амина с активированной карбоновой кислотой, например сложным NHS-эфиром или ацилхлоридом, в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

Стадия (v): удаление защитной группы со сложного *трет*-бутилового эфира с

применением раствора HCl (например, раствора в диоксане) или TFA.

Стадия (vi): активация карбоновой кислоты в виде сложного NHS-эфира посредством обработки с помощью DSC в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

Стадия (vii): сочетание с янтарным ангидридом.

Стадия (viii): активация карбоновой кислоты в виде сложного NHS-эфира посредством обработки с помощью DSC в присутствии основания, такого как, например, DIEA, и сочетание с амином.

На **схеме 1** изображен синтез, исходя из Boc-β-Ala-OH (номер CAS [3303-84-2]), однако также можно применять другие Boc-защищенные алкиламино кислоты, которые являются коммерчески доступными, для случаев, если n находится в диапазоне от 3 до 10. На ней изображен синтез с применением янтарного ангидрида, однако также можно применять глутаровый ангидрид или алкильные дикислоты, которые являются коммерчески доступными, для случаев, если n находится в диапазоне от 3 до 10.

Комбинация спейсеров с улучшенной гидрофильностью и классических дипептидов

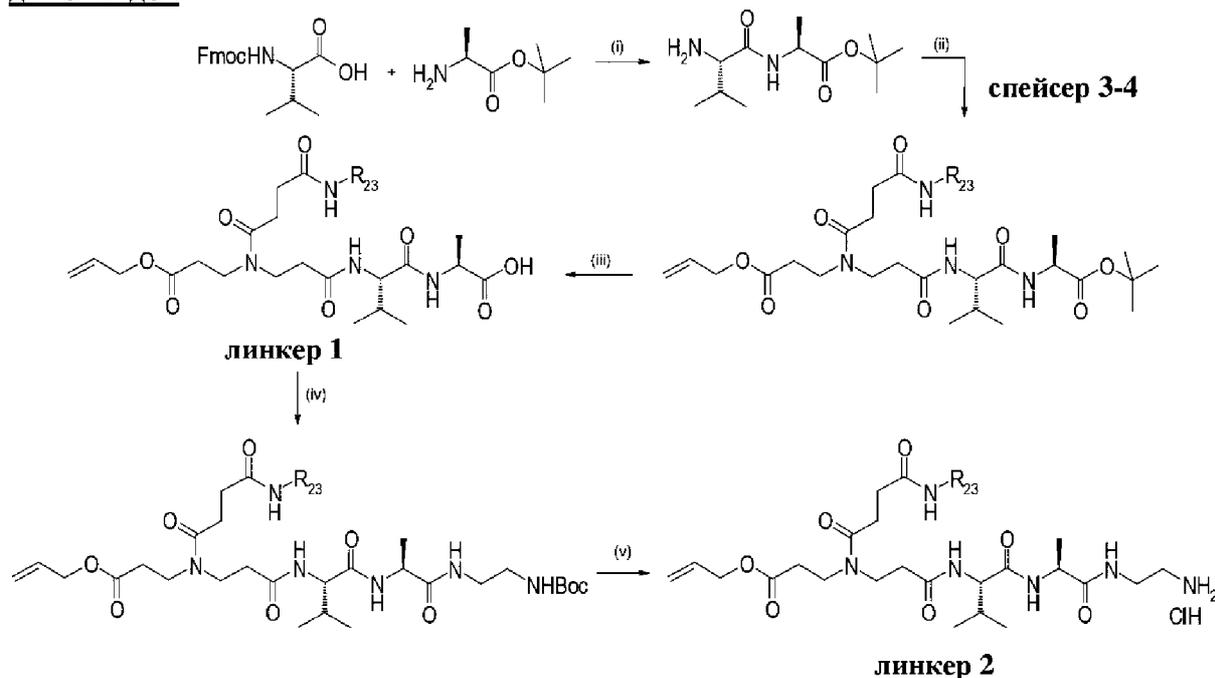


Схема 2

Стадия (i): пептидное сочетание с применением реагентов для сочетания, таких как, например, EDC и HOBT, и удаление защитной Fmoc-группы с амина в присутствии основания, такого как, например, пиперидин.

Стадия (ii): для спейсера **3**, активация карбоновой кислоты в виде сложного NHS-эфира посредством обработки с помощью DSC в присутствии основания, такого как, например, DIEA, и сочетание спейсеров **3** и **4** с дипептидом.

Стадия (iii): удаление защитной группы со сложного *tert*-бутилового эфира с применением раствора HCl (например, раствора в диоксане) или TFA.

Стадия (iv): активация карбоновой кислоты в виде сложного NHS-эфира посредством обработки с помощью DCC в присутствии основания, такого как, например, DIEA, и сочетание с амином.

Стадия (v): удаление защитной Boc-группы с амина с применением раствора HCl (например, раствора в диоксане) или TFA.

На **схеме 2** изображен синтез линкеров с применением дипептида Val-Ala, однако также можно применять другие дипептиды; на ней изображен синтез с применением спейсеров 3 или 4, однако также можно применять спейсеры 1 или 2; на ней изображен синтез с применением Boc-монозащищенного этилендиамина, однако также можно применять другие Boc-монозащищенные диамины, которые являются коммерчески доступными, для случаев, если n находится в диапазоне от 3 до 10.

Получение дипептидов с улучшенной гидрофильностью

Получение дипептидов с улучшенной гидрофильностью на основании аминокислот, содержащих группу карбоновой кислоты на их боковой цепи

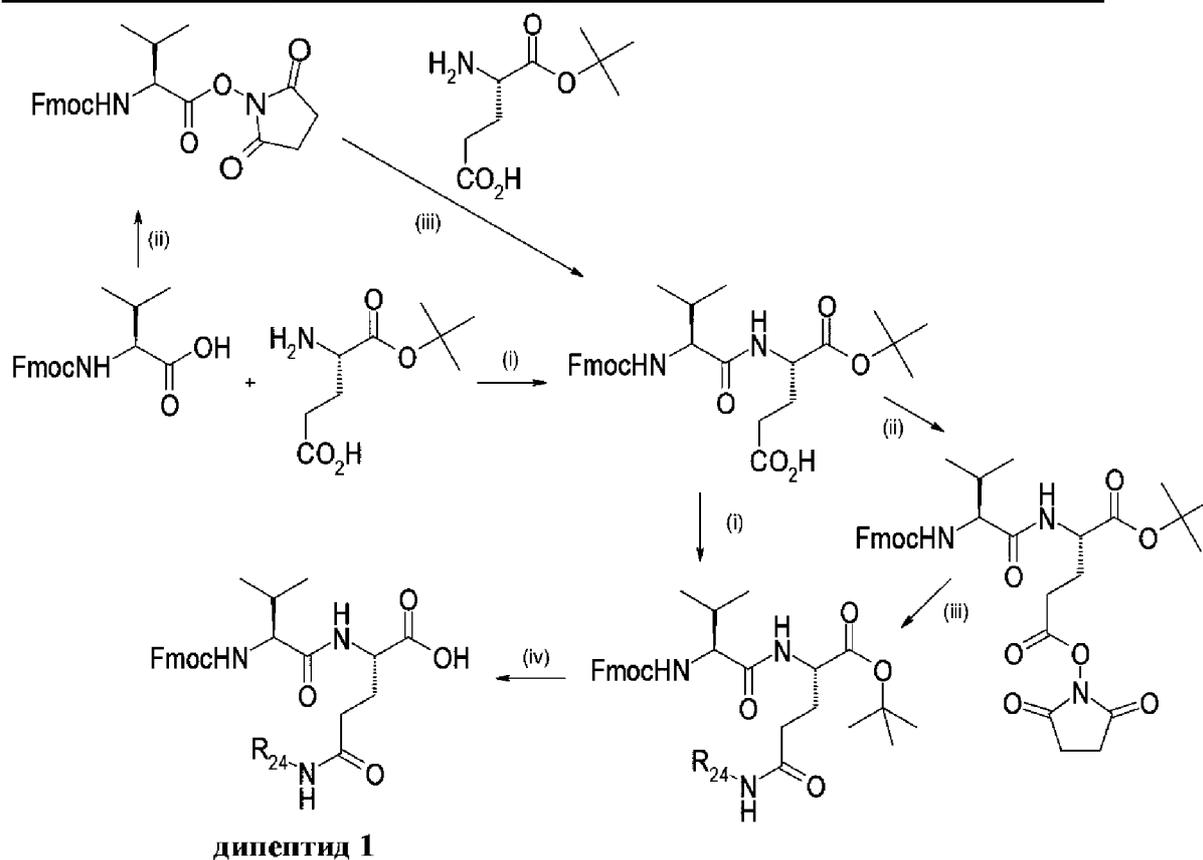


Схема 3

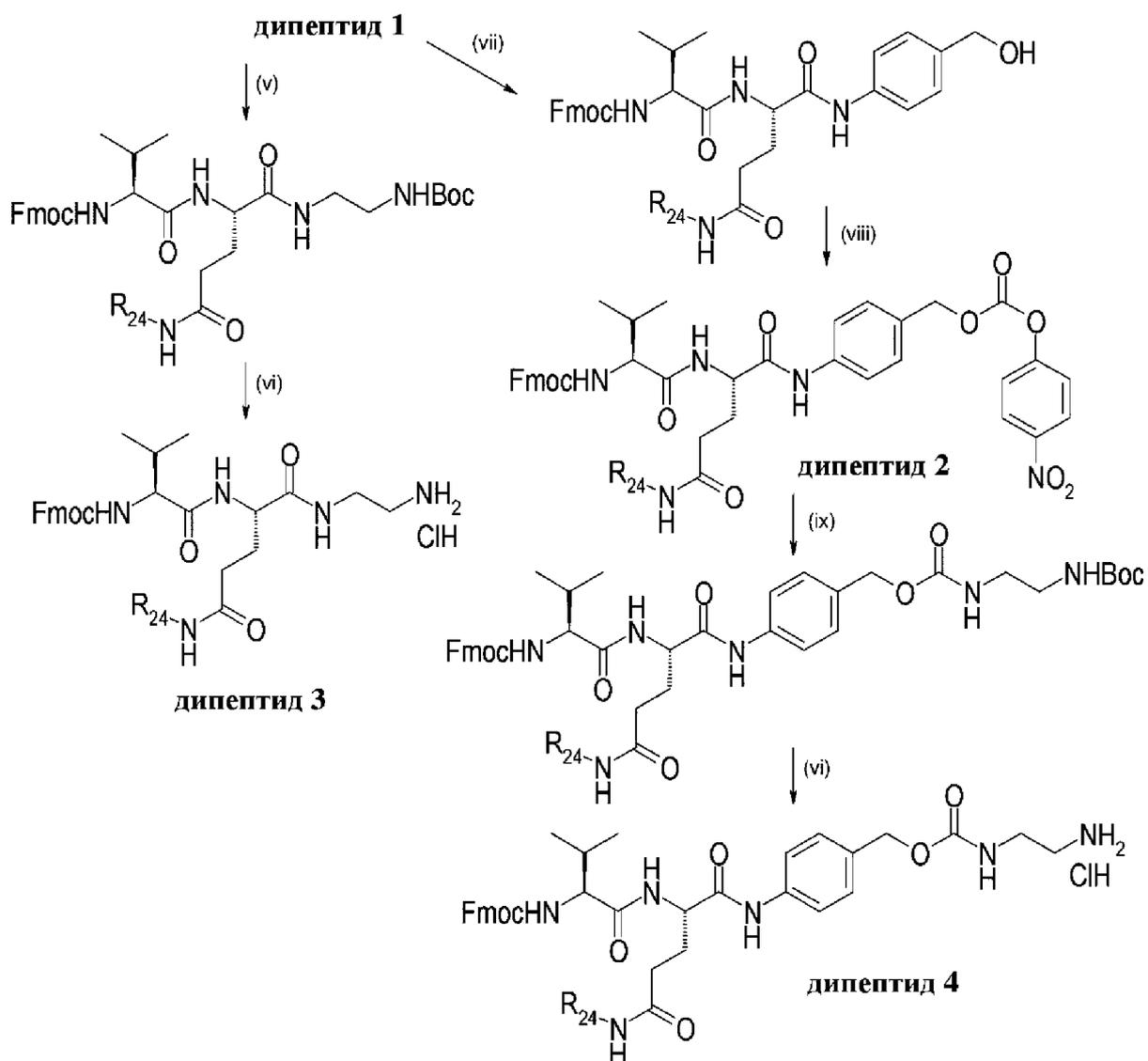


Схема 4

Стадия (i): пептидное сочетание между карбоновой кислотой и амином с применением реагентов для сочетания, таких как, например, EDC и HOBT.

Стадия (ii): активация карбоновой кислоты в виде сложного NHS-эфира посредством обработки с помощью DSC в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

Стадия (iii): пептидное сочетание между сложным NHS-эфиром и амином в присутствии основания, такого как, например, бикарбонат натрия или DIEA.

Стадия (iv): удаление защитной группы со сложного *трет*-бутилового эфира с применением раствора HCl (например, раствора в диоксане) или TFA.

Стадия (v): пептидное сочетание дипептида с Boc-монозащищенным этилендиамином с применением реагента для сочетания, такого как, например, T3P.

Стадия (vi): удаление защитной Boc-группы с амина с применением раствора HCl (например, раствора в диоксане) или TFA.

Стадия (vii): пептидное сочетание дипептида с *n*-аминобензиловым спиртом с применением реагентов для сочетания, таких как, например, EEDQ.

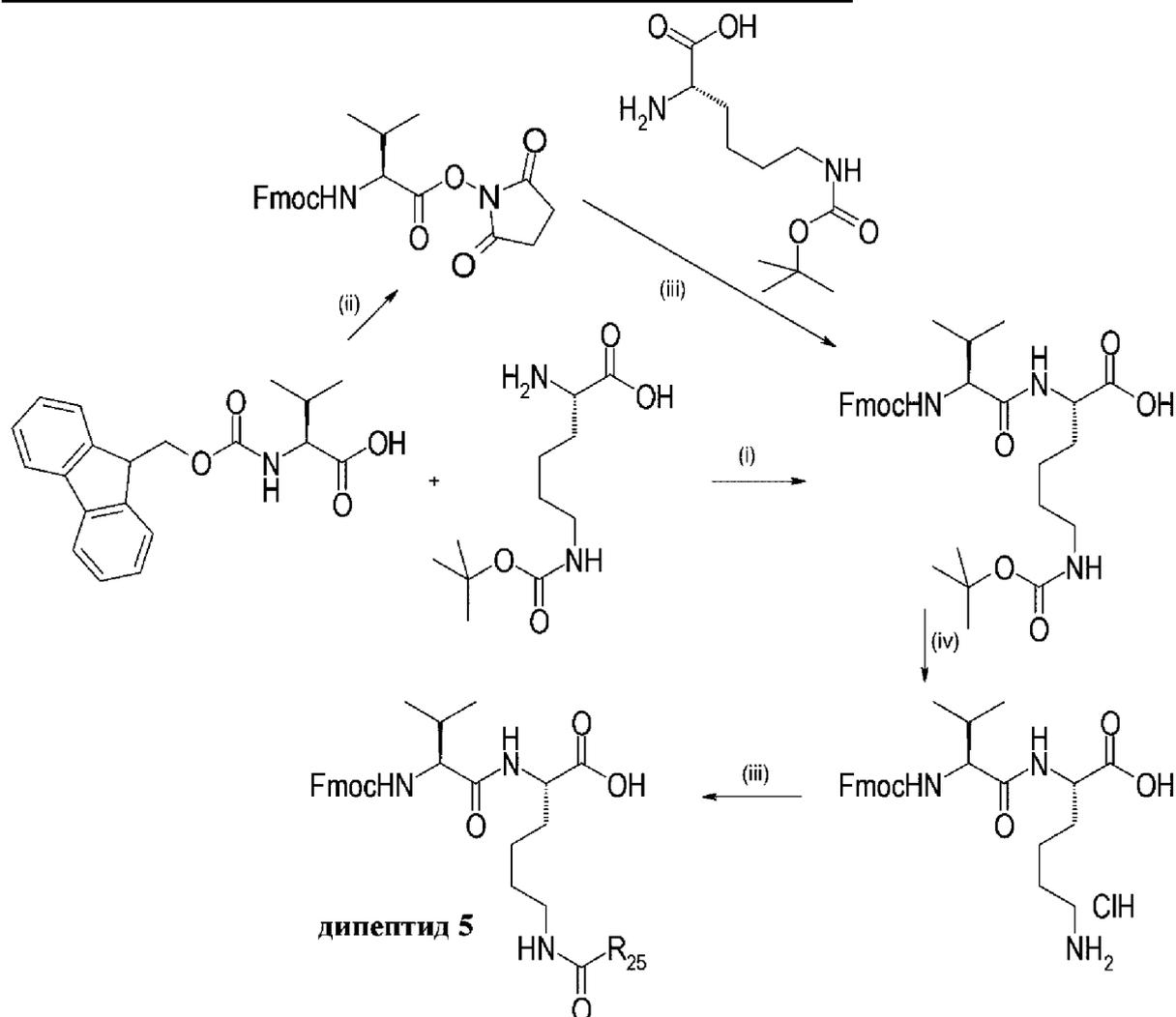
Стадия (viii): активация бензилового спирта в виде *n*-нитрофенилкарбоната посредством обработки с помощью *n*-нитрофенилхлорформиата в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

Стадия (ix): образование карбамата между активированным спиртом и амином в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

На **схеме 3** изображен синтез дипептидов, исходя из Val, однако можно применять другие аминокислоты, перечисленные выше; на ней изображен синтез с применением сложного *трет*-бутилового эфира L-Glu (номер CAS [45120-30-7]), однако также можно применять другие аминокислоты, содержащие группу карбоновой кислоты на их боковой цепи, как, например, сложный *трет*-бутиловый эфир L-Asp (номер CAS [4125-93-3]), сложный *трет*-бутиловый эфир D-Asp (номер CAS [148823-36-3]), сложный *трет*-бутиловый эфир D-Glu (номер CAS [25456-76-2]), сложный 1-*трет*-бутиловый эфир 2-аминогександиовой кислоты (номер CAS [1245806-58-9]) или сложный 1-*трет*-бутиловый эфир 2-аминогептандиовой кислоты (номер CAS [1888498-03-0]). На **схеме 4** изображен синтез дипептидов с применением *n*-аминобензилового спирта (номер CAS [623-04-1]), однако также можно применять другие соединения аминобензилового спирта, которые являются коммерчески доступными, такие как, например, 4-(1-гидроксиэтил)-анилин (рацемический (номер CAS [14572-89-5]) или энантиомерно чистый (R) (номер CAS [210754-25-9]) или (S) (номер CAS [500229-84-5])), 4-амино- α,α -диметилбензолметанол (номер CAS [23243-04-1]), 4-амино- α -метокси- α -метилбензолметанол (номер CAS [1379318-81-6]), 4-амино- α -метил- α -трифторметилбензолметанол (номер CAS [851652-56-7]), 2-аминобензолметанол (номер CAS [5344-90-1]), 2-амино- α -метилбензолметанол (рацемический (номер CAS [10517-50-7]) или энантиомерно чистый (R) (номер CAS [3205-21-8]) или (S) (номер CAS [3205-21-8])), 6-амино-3-пиридинметанол (номер CAS [113293-71-3]), 6-амино- α -метил-3-пиридинметанол (номер CAS [1335054-83-5]), 6-амино- α -этил-3-пиридинметанол (номер CAS [1355225-85-2]), 6-амино- α,α -диметил-3-пиридинметанол (номер CAS [843646-03-8]), 5-амино-3-пиридинметанол (номер CAS [873651-92-4]), 2-амино-3-пиридинметанол (номер CAS [23612-57-9]), 2-амино- α -метил-3-пиридинметанол (рацемический (номер CAS [869567-91-9]) или энантиомерно чистый (R) (номер CAS [936718-01-3]) или (S) (номер CAS [936718-00-2])), 2-амино- α -этил-3-пиридинметанол (номер CAS [914223-90-8]), 2-амино- α,α -диметил-3-пиридинметанол (номер CAS [213666-96-7]), 3-амино-4-пиридинметанол (номер CAS [152398-05-5]), 3-амино- α -метил-4-пиридинметанол (номер CAS [1242470-88-7]), 3-амино- α,α -метил-4-пиридинметанол (номер CAS [13357-81-8]), 4-амино-3-пиридинметанол (номер CAS [138116-34-4]), 4-амино- α -метил-3-пиридинметанол (номер CAS [741223-49-4]), 4-амино- α,α -метил-3-пиридинметанол (номер CAS [1339013-26-1]), 3-амино-2-пиридинметанол (номер CAS [52378-63-9]), 3-амино- α -метил-2-пиридинметанол (номер CAS [954240-54-1]), 3-амино- α,α -метил-2-пиридинметанол (номер CAS [899438-57-4]); на ней изображен синтез с применением Вос-монозащищенного этилендиамина, однако

также можно применять другие Вос-монозащищенные диамины, которые являются коммерчески доступными, для случаев, если n находится в диапазоне от 3 до 10.

□ **Получение дипептидов с улучшенной гидрофильностью на основе аминокислот, содержащих аминогруппу на их боковой цепи**



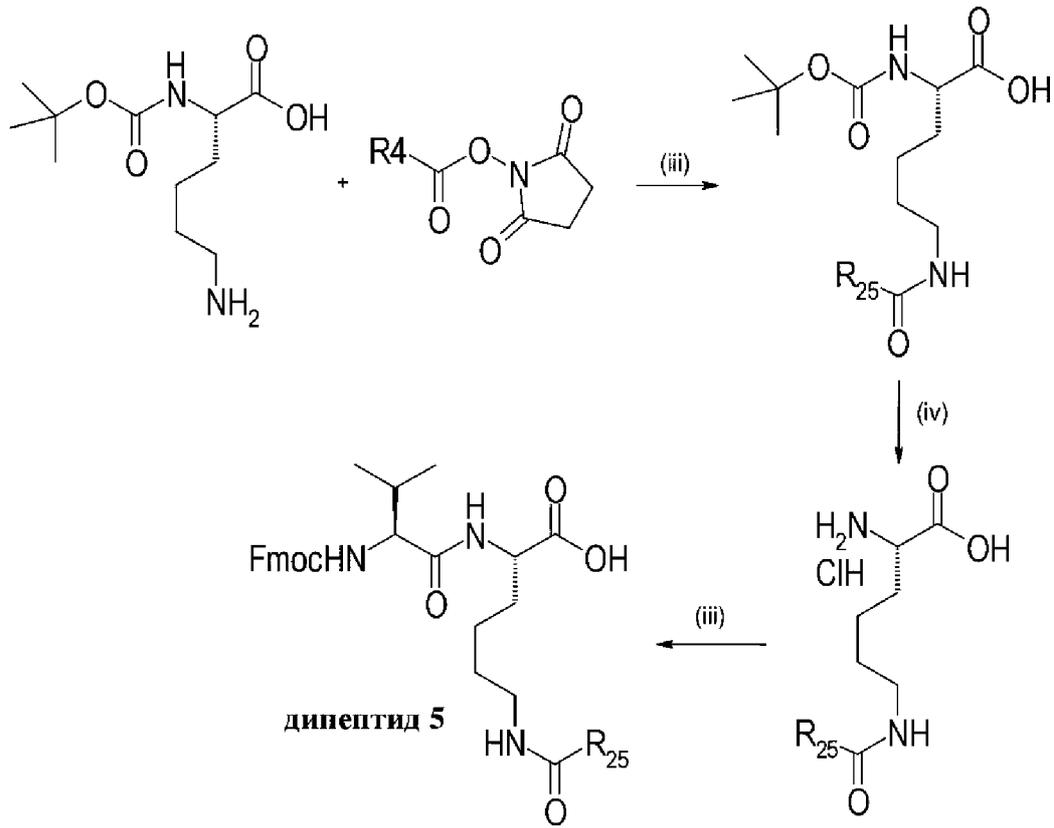


Схема 6

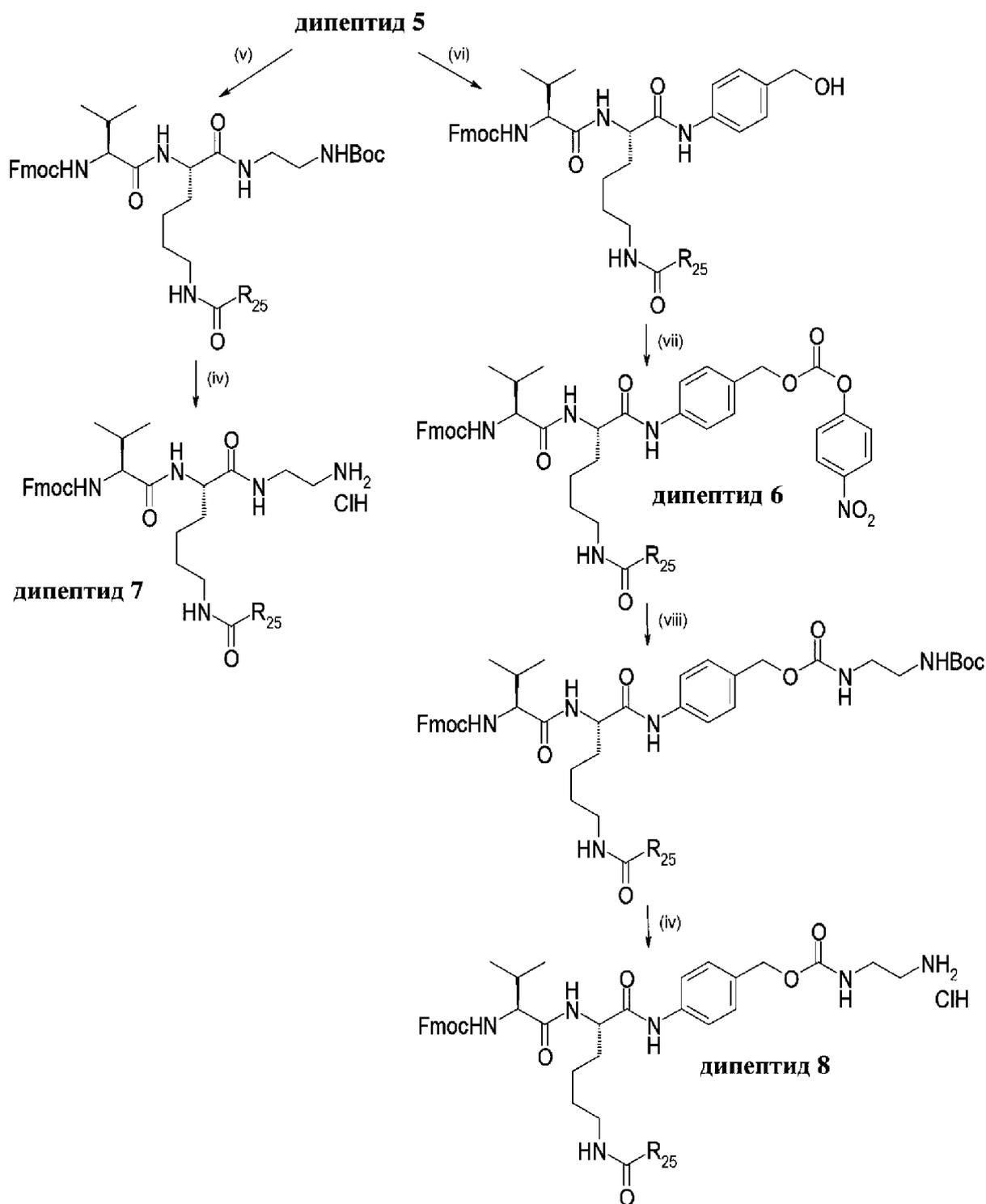


Схема 7

Стадия (i): пептидное сочетание между карбоновой кислотой и амином с применением реагентов для сочетания, таких как, например, EDC и HOBT.

Стадия (ii): активация карбоновой кислоты в виде сложного NHS-эфира посредством обработки с помощью DSC в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

Стадия (iii): пептидное сочетание между сложным NHS-эфиром и амином в присутствии основания, такого как, например, бикарбонат натрия или DIEA.

Стадия (iv): удаление защитной Boc-группы с амина с применением раствора HCl (например, раствора в диоксане) или TFA.

Стадия (v): пептидное сочетание дипептида с Boc-монозащищенным этилендиамином с применением реагента для сочетания, такого как, например, T3P.

Стадия (vi): пептидное сочетание дипептида с *n*-аминобензиловым спиртом с применением реагентов для сочетания, таких как, например, EEDQ.

Стадия (vii): активация бензилового спирта в виде *n*-нитрофенилкарбоната посредством обработки с помощью *n*-нитрофенилхлорформиата в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

Стадия (viii): образование карбамата между активированным спиртом и амином в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

На **схемах 5** и **6** изображен синтез дипептидов, исходя из Val, однако можно применять другие аминокислоты, перечисленные выше. На **схеме 5** изображен синтез с применением Boc-защищенного на боковой цепи L-Lys (номер CAS [2418-95-3]), однако также можно применять другие аминокислоты, содержащие аминогруппу на их боковой цепи, такие как, например, (S)-3-амино-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропановая кислота (номер CAS [73259-81-1]), (S)-3-амино-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)пропановая кислота (номер CAS [76387-70-7]), (S)-4-амино-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутановая кислота (номер CAS [25691-37-6]), (R)-4-амино-2-(*трет*-бутоксикарбониламино)бутановая кислота (номер CAS [80445-78-9]), Boc-защищенный на боковой цепи L-орнитин (номер CAS [21887-64-9]), Boc-защищенный на боковой цепи D-орнитин (номер CAS [159877-12-0]), Boc-защищенный на боковой цепи D-Lys (номер CAS [106719-44-2]), (2S)-2-амино-7-[[[(1,1-диметилэтокси)карбонил]амино]гептановая кислота (номер CAS [1142814-17-2]) или (2R)-2-амино-7-[[[(1,1-диметилэтокси)карбонил]амино]гептановая кислота (номер CAS [117833-90-6]). На **схеме 7** изображен синтез дипептидов с применением *n*-аминобензилового спирта (номер CAS [623-04-1]), однако также можно применять другие соединения аминобензилового спирта, которые являются коммерчески доступными, такие как, например, 4-(1-гидроксиэтил)-анилин (рацемический (номер CAS [14572-89-5]) или энантимерно чистый (R) (номер CAS [210754-25-9]) или (S) (номер CAS [500229-84-5])), 4-амино- α,α -диметилбензолметанол (номер CAS [23243-04-1]), 4-амино- α -метокси- α -метилбензолметанол (номер CAS [1379318-81-6]), 4-амино- α -метил- α -трифторметилбензолметанол (номер CAS [851652-56-7]), 2-аминобензолметанол (номер CAS [5344-90-1]), 2-амино- α -метилбензолметанол (рацемический (номер CAS [10517-50-7]) или энантимерно чистый (R) (номер CAS [3205-21-8]) или (S) (номер CAS [3205-21-8])), 6-амино-3-пиридинметанол (номер CAS [113293-71-3]), 6-амино- α -метил-3-пиридинметанол (номер CAS [1335054-83-5]), 6-амино- α -этил-3-пиридинметанол (номер CAS [1355225-85-2]), 6-амино- α,α -диметил-3-пиридинметанол (номер CAS [843646-03-8]), 5-амино-3-пиридинметанол (номер CAS [873651-92-4]), 2-амино-3-пиридинметанол (номер CAS [23612-57-9]), 2-амино- α -

метил-3-пиридинметанол (рацемический (номер CAS [869567-91-9]) или энантиомерно чистый (R) (номер CAS [936718-01-3]) или (S) (номер CAS [936718-00-2])), 2-амино- α -этил-3-пиридинметанол (номер CAS [914223-90-8]), 2-амино- α,α -диметил-3-пиридинметанол (номер CAS [213666-96-7]), 3-амино-4-пиридинметанол (номер CAS [152398-05-5]), 3-амино- α -метил-4-пиридинметанол (номер CAS [1242470-88-7]), 3-амино- α,α -метил-4-пиридинметанол (номер CAS [13357-81-8]), 4-амино-3-пиридинметанол (номер CAS [138116-34-4]), 4-амино- α -метил-3-пиридинметанол (номер CAS [741223-49-4]), 4-амино- α,α -метил-3-пиридинметанол (номер CAS [1339013-26-1]), 3-амино-2-пиридинметанол (номер CAS [52378-63-9]), 3-амино- α -метил-2-пиридинметанол (номер CAS [954240-54-1]), 3-амино- α,α -метил-2-пиридинметанол (номер CAS [899438-57-4]); на ней изображен синтез с применением Вос-монозащищенного этилендиамина, однако также можно применять другие Вос-монозащищенные диамины, которые являются коммерчески доступными, для случаев, если n находится в диапазоне от 3 до 10.

Получение соединений криптофицина

Соединения криптофицина можно получать, как описано в **WO2011/001052** для случаев, если X=O, и в **PCT/EP2016/076603** для случаев, если X=NH.

Получение новых полезных нагрузок с криптофицином формулы (IV) для случаев, если Y=NH-CH₂

Получение новых полезных нагрузок с криптофицином, содержащих спейсер с улучшенной гидрофильностью

Без РАВА-фрагмента

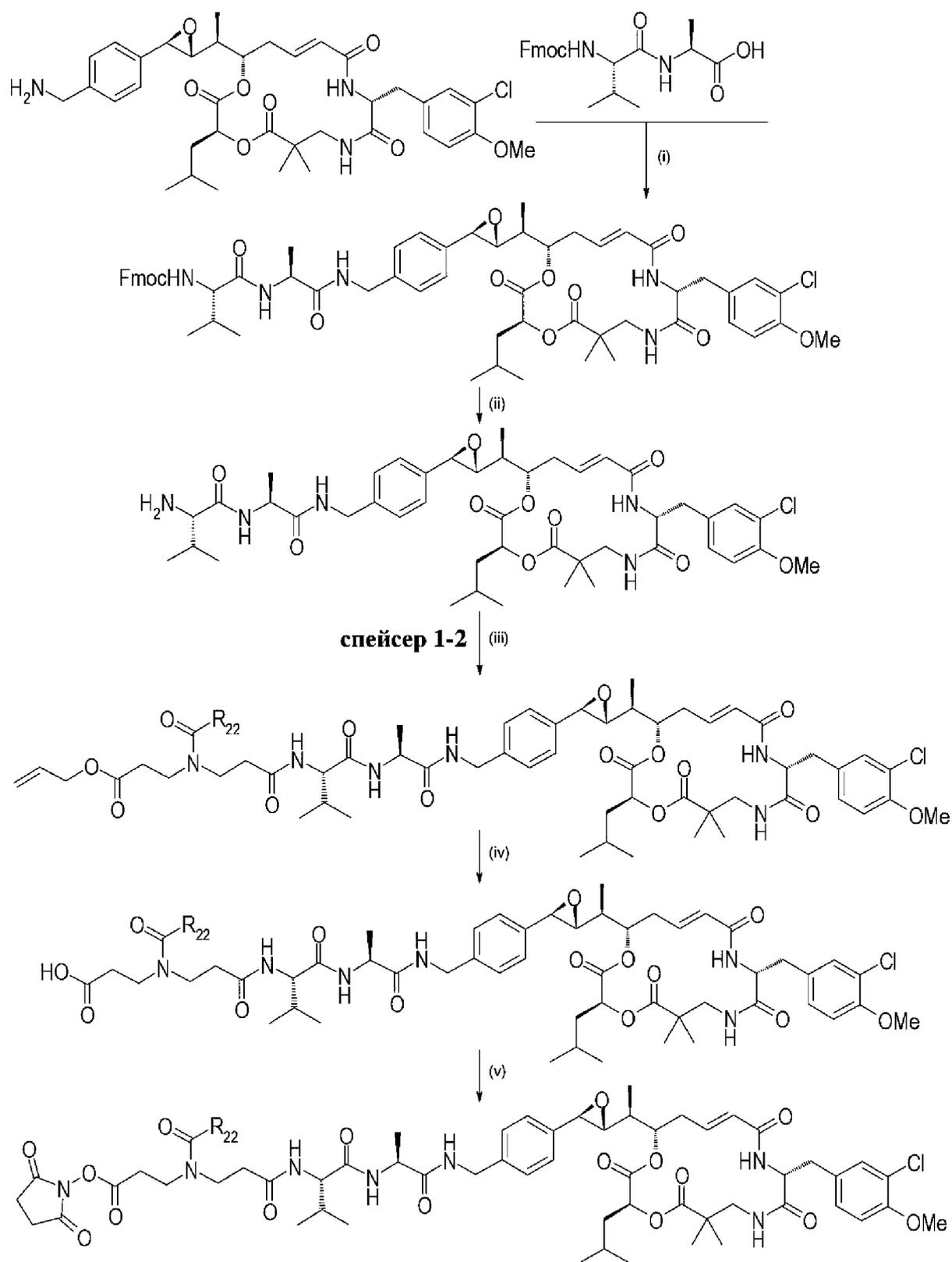


Схема 8

Стадия (i): пептидное сочетание между производным криптофицина и дипептидом с применением реагентов для сочетания, таких как, например, EDC и HOBT.

Стадия (ii): удаление защитной Fmoc-группы с амина в присутствии основания, такого как, например, пиперидин.

Стадия (iii): пептидное сочетание со спейсером 1 с применением реагентов для

сочетания, таких как, например, EDC и HOBT, или сочетание со спейсером **2** в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

Стадия (iv): удаление защитной группы со сложного аллилового эфира в присутствии катализатора, такого как, например, тетракис-(трифенилфосфин)палладий.

Стадия (v): активация карбоновой кислоты в виде сложного NHS-эфира посредством обработки с помощью DSC в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

В качестве альтернативы, новые полезные нагрузки с криптофицином, содержащие спейсер с улучшенной гидрофильностью, также можно получать, как изображено на схеме 9.

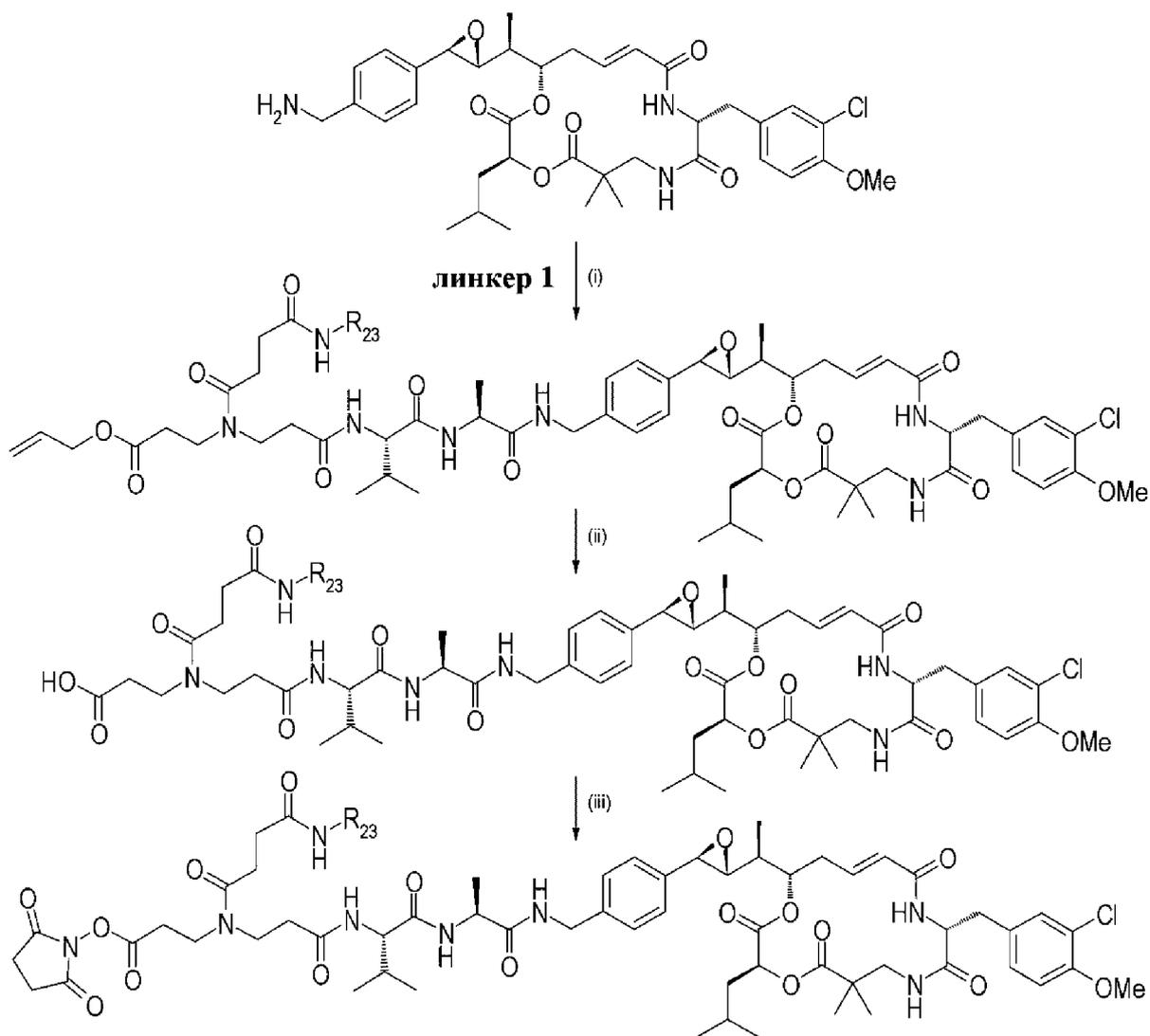


Схема 9

Стадия (i): активация карбоновой кислоты линкера **1** в виде сложного NHS-эфира посредством обработки с помощью DSC в присутствии основания, такого как, например, DIEA, и сочетание с криптофицинамином.

Стадия (ii): удаление защитной группы со сложного аллилового эфира в присутствии катализатора, такого как, например, тетракис-(трифенилфосфин)палладий.

Стадия (iii): активация карбоновой кислоты в виде сложного NHS-эфира посредством обработки с помощью DSC в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

На **схемах 8 и 9** изображен синтез полезных нагрузок с применением *n*-бензиламина C52, однако также можно применять другие соединения криптофицина; на них изображен синтез с применением дипептидов Val-Ala, однако также можно применять другие дипептиды; на них изображен синтез с применением спейсеров **1** или **2**, однако также можно применять спейсеры **3** или **4**.

□ **C PAVA-фрагментом**

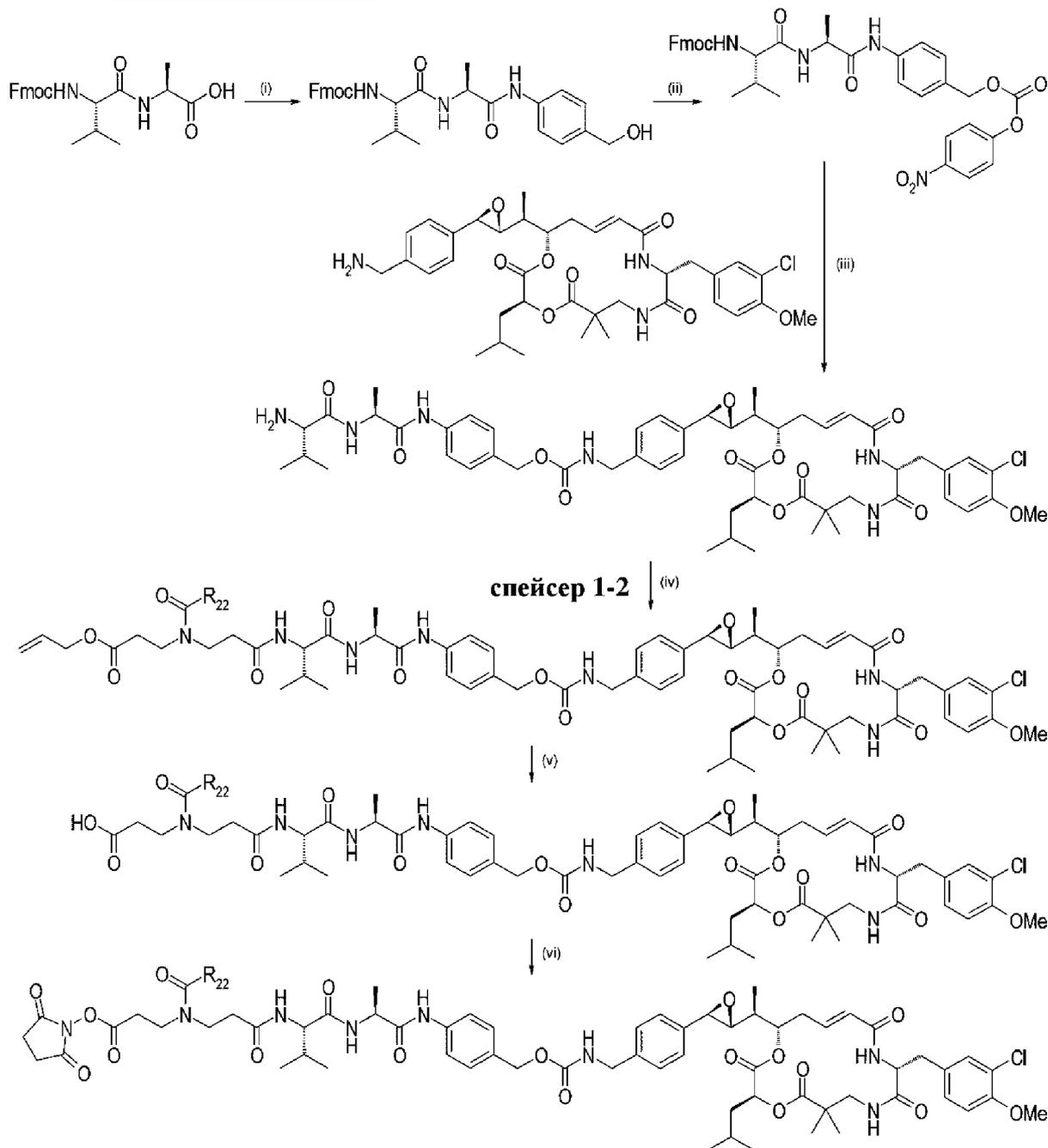


Схема 10

Стадия (i): пептидное сочетание между Fmoc-Val-Ala-OH и 4-аминобензиловым

спиртом в присутствии реагента для сочетания, такого как, например, EEDQ.

Стадия (ii): активация бензилового спирта в виде *n*-нитрофенилкарбоната посредством обработки с помощью *n*-нитрофенилхлорформиата в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

Стадия (iii): образование карбамата между активированным спиртом и криптофицинамином в присутствии основания, такого как, например, DIEA, и удаление защитной Fmoc-группы с амина в присутствии основания, такого как, например, пиперидин.

Стадия (iv): пептидное сочетание со спейсером **1** с применением реагентов для сочетания, таких как, например, EDC и HOBT, или сочетание со спейсером **2** в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

Стадия (v): удаление защитной группы со сложного аллилового эфира в присутствии катализатора, такого как, например, тетракис-(трифенилфосфин)палладий.

Стадия (vi): активация карбоновой кислоты в виде сложного NHS-эфира посредством обработки с помощью DSC в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

На **схеме 10** изображен синтез полезных нагрузок с применением дипептидов Val-Ala, однако также можно применять другие дипептиды; на ней изображен синтез с применением *n*-аминобензилового спирта (номер CAS [623-04-1]), однако также можно применять другие соединения аминобензилового спирта, которые являются коммерчески доступными, такие как, например, 4-(1-гидроксиэтил)-анилин (рацемический (номер CAS [14572-89-5]) или энантимерно чистый (R) (номер CAS [210754-25-9]) или (S) (номер CAS [500229-84-5])), 4-амино- α,α -диметилбензолметанол (номер CAS [23243-04-1]), 4-амино- α -метокси- α -метилбензолметанол (номер CAS [1379318-81-6]), 4-амино- α -метил- α -трифторметилбензолметанол (номер CAS [851652-56-7]), 2-аминобензолметанол (номер CAS [5344-90-1]), 2-амино- α -метилбензолметанол (рацемический (номер CAS [10517-50-7]) или энантимерно чистый (R) (номер CAS [3205-21-8]) или (S) (номер CAS [3205-21-8])), 6-амино-3-пиридинметанол (номер CAS [113293-71-3]), 6-амино- α -метил-3-пиридинметанол (номер CAS [1335054-83-5]), 6-амино- α -этил-3-пиридинметанол (номер CAS [1355225-85-2]), 6-амино- α,α -диметил-3-пиридинметанол (номер CAS [843646-03-8]), 5-амино-3-пиридинметанол (номер CAS [873651-92-4]), 2-амино-3-пиридинметанол (номер CAS [23612-57-9]), 2-амино- α -метил-3-пиридинметанол (рацемический (номер CAS [869567-91-9]) или энантимерно чистый (R) (номер CAS [936718-01-3]) или (S) (номер CAS [936718-00-2])), 2-амино- α -этил-3-пиридинметанол (номер CAS [914223-90-8]), 2-амино- α,α -диметил-3-пиридинметанол (номер CAS [213666-96-7]), 3-амино-4-пиридинметанол (номер CAS [152398-05-5]), 3-амино- α -метил-4-пиридинметанол (номер CAS [1242470-88-7]), 3-амино- α,α -метил-4-пиридинметанол (номер CAS [13357-81-8]), 4-амино-3-пиридинметанол (номер CAS [138116-34-4]), 4-амино- α -метил-3-пиридинметанол (номер CAS [741223-49-4]), 4-амино- α,α -метил-3-пиридинметанол (номер CAS

[1339013–26–1]), 3-амино-2-пиридинметанол (номер CAS [52378–63–9]), 3-амино- α -метил-2-пиридинметанол (номер CAS [954240–54–1]), 3-амино- α,α -метил-2-пиридинметанол (номер CAS [899438–57–4]); на ней изображен синтез с применением *n*-бензиламина C52, однако также можно применять другие соединения криптофицина; на ней изображен синтез с применением спейсеров **1** или **2**, однако также можно применять спейсеры **3** или **4**.

Получение новых полезных нагрузок с криптофицином формулы (IV), содержащих дипептиды с улучшенной гидрофильностью

Без РАВА-фрагмента

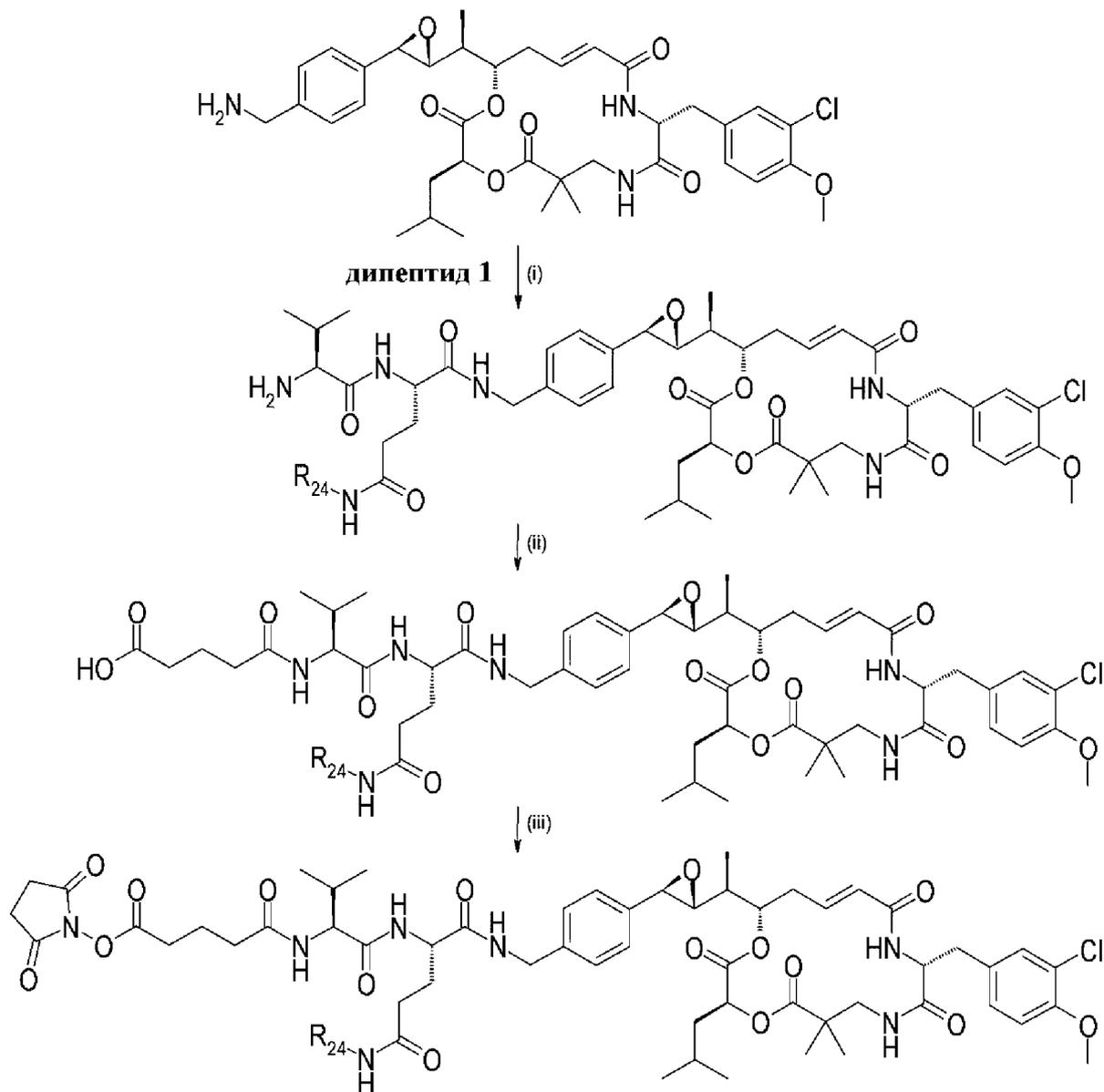


Схема 11

Стадия (i): пептидное сочетание между производным криптофицина и дипептидом с применением реагентов для сочетания, таких как, например, EDC и HOBT, и удаление защитной Fmoc-группы с амина в присутствии основания, такого как, например, пиперидин.

Стадия (ii): сочетание с глутаровым ангидридом; перед стадией (iii) может быть необходима одна дополнительная стадия удаления защитной группы с боковой цепи замещенной аминокислоты.

Стадия (iii): активация карбоновой кислоты в виде сложного NHS-эфира посредством обработки с помощью DSC в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

На **схеме 11** изображен синтез полезных нагрузок с применением *n*-бензиламина C52, однако также можно применять другие соединения криптофицина; на ней изображен синтез с применением дипептида **1**, однако также можно применять дипептид **5**; на ней изображен синтез с применением глутарового ангидрида, однако также можно применять янтарный ангидрид или алкильные дикислоты, которые являются коммерчески доступными, для случаев, если *n* находится в диапазоне от 3 до 10.

С РАВА-фрагментом

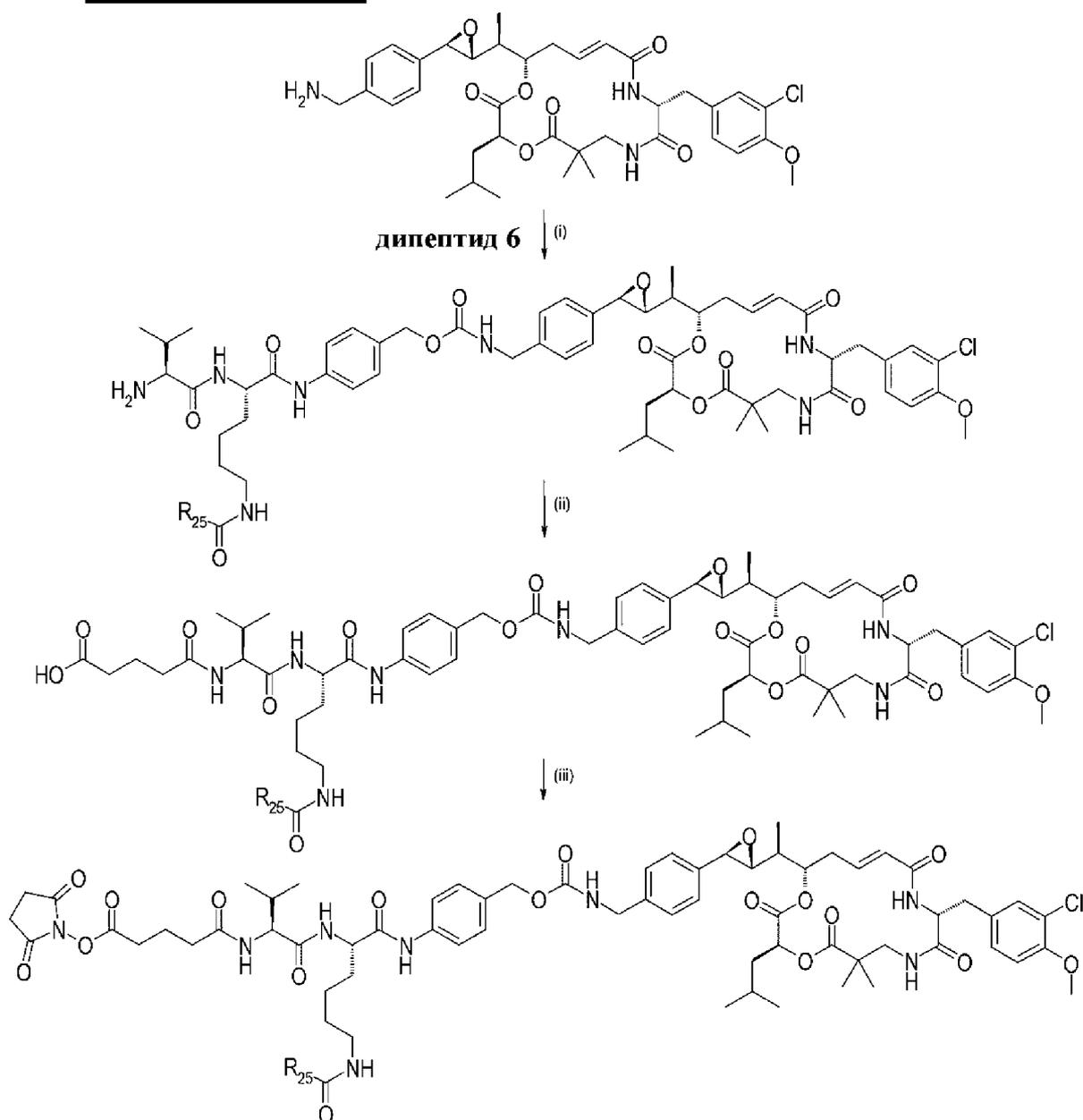


Схема 12

Стадия (i): образование карбамата между активированным спиртом и криптофицинамином в присутствии основания, такого как, например, DIEA, и удаление защитной Fmoc-группы с амина в присутствии основания, такого как, например, пиперидин.

Стадия (ii): сочетание с глутаровым ангидридом; перед стадией (iii) может быть необходима одна дополнительная стадия удаления защитной группы с боковой цепи замещенной аминокислоты.

Стадия (iii): активация карбоновой кислоты в виде сложного NHS-эфира посредством обработки с помощью DSC в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

На **схеме 12** изображен синтез полезных нагрузок с применением *n*-бензиламина C52, однако также можно применять другие соединения криптофицина; на ней изображен синтез с применением дипептида **6**, однако также можно применять дипептид **2**.

Получение новых полезных нагрузок с криптофицином формулы (IV), содержащих как спейсер, так и дипептид с улучшенной гидрофильностью

Без РАВА-фрагмента

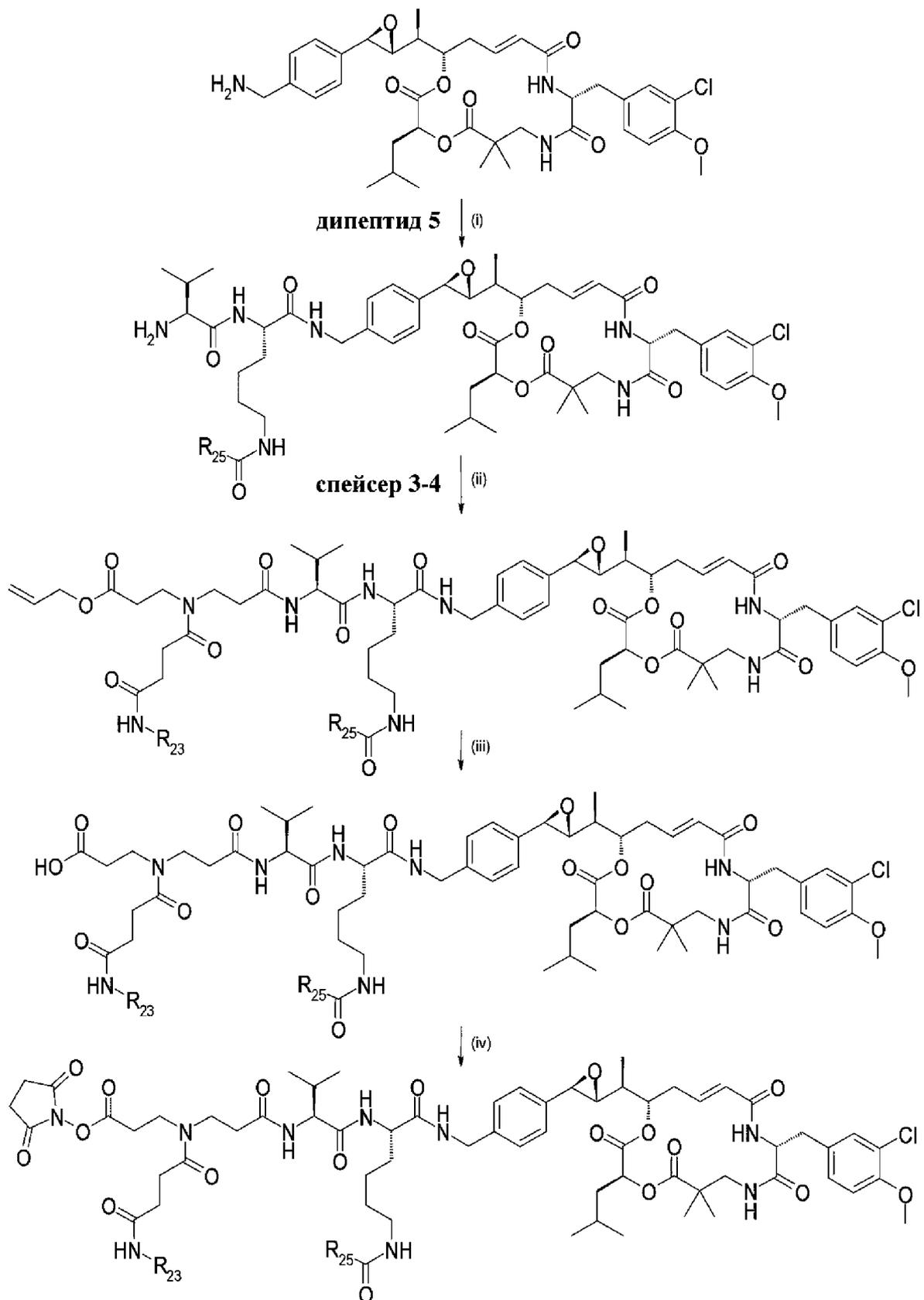


Схема 13

Стадия (i): пептидное сочетание между производным криптофицина и дипептидом с применением реагентов для сочетания, таких как, например, EDC и HOBT, и удаление защитной Fmoc-группы с амина в присутствии основания, такого как, например,

пиперидин.

Стадия (ii): пептидное сочетание со спейсером **3** с применением реагентов для сочетания, таких как, например, EDC и HOBT, или сочетание со спейсером **4** в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

Стадия (iii): удаление защитной группы со сложного аллилового эфира в присутствии катализатора, такого как, например, тетраakis-(трифенилфосфин)палладий; перед стадией (iv) может быть необходима одна дополнительная стадия удаления защитной группы с боковой цепи замещенной аминокислоты.

Стадия (iv): активация карбоновой кислоты в виде сложного NHS-эфира посредством обработки с помощью DSC в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

На **схеме 13** изображен синтез полезных нагрузок с применением *n*-бензиламина C52, однако также можно применять другие соединения криптофицина; на ней изображен синтез с применением дипептида **5**, однако также можно применять дипептид **1**; на ней изображен синтез с применением спейсеров **3** или **4**, однако также можно применять спейсеры **1** или **2**.

С РАВА-фрагментом

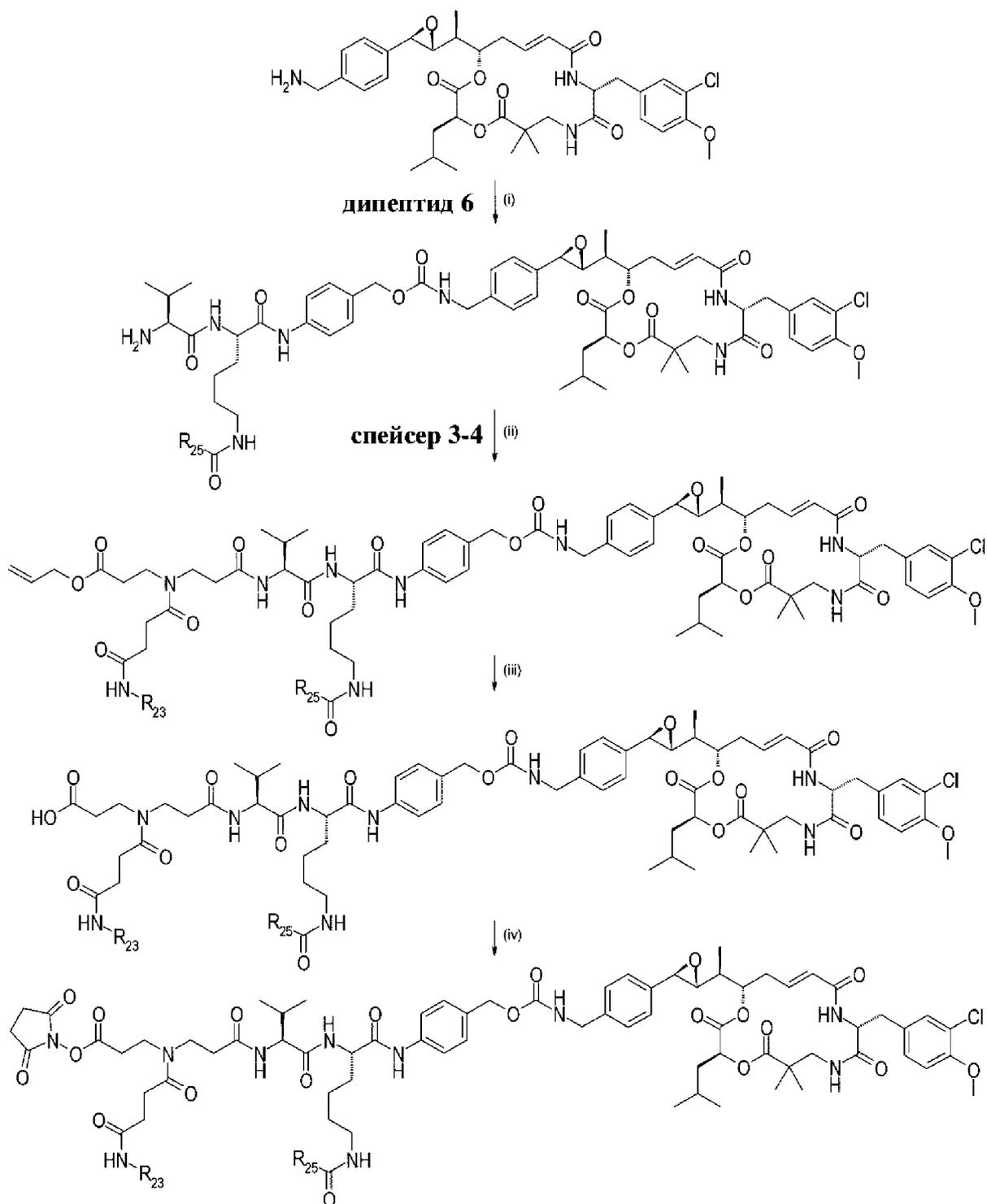


Схема 14

Стадия (i): образование карбата между активированным спиртом и криптофидинамином в присутствии основания, такого как, например, DIEA, и удаление защитной Fmoc-группы с амина в присутствии основания, такого как, например, пиперидин.

Стадия (ii): пептидное сочетание со спейсером 3 с применением реагентов для сочетания, таких как, например, EDC и HOBT, или сочетание со спейсером 4 в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

Стадия (iii): удаление защитной группы со сложного аллилового эфира в присутствии катализатора, такого как, например, тетраakis-(трифенилфосфин)палладий; перед стадией (iv) может быть необходима одна дополнительная стадия удаления защитной группы с боковой цепи замещенной аминокислоты.

Стадия (iv): активация карбоновой кислоты в виде сложного NHS-эфира посредством обработки с помощью DSC в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

На **схеме 14** изображен синтез полезных нагрузок с применением *n*-бензиламина C52, однако также можно применять другие соединения криптофицина; на ней изображен синтез с применением дипептида **6**, однако также можно применять дипептид **2**; на ней изображен синтез с применением спейсеров **3** или **4**, однако также можно применять спейсеры **1** или **2**.

Получение новых полезных нагрузок с криптофицином формулы (IV) для случаев, если Y=O-CH₂ или S-CH₂

Получение новых полезных нагрузок с криптофицином, содержащих спейсер с улучшенной гидрофильностью

Без РАВА-фрагмента

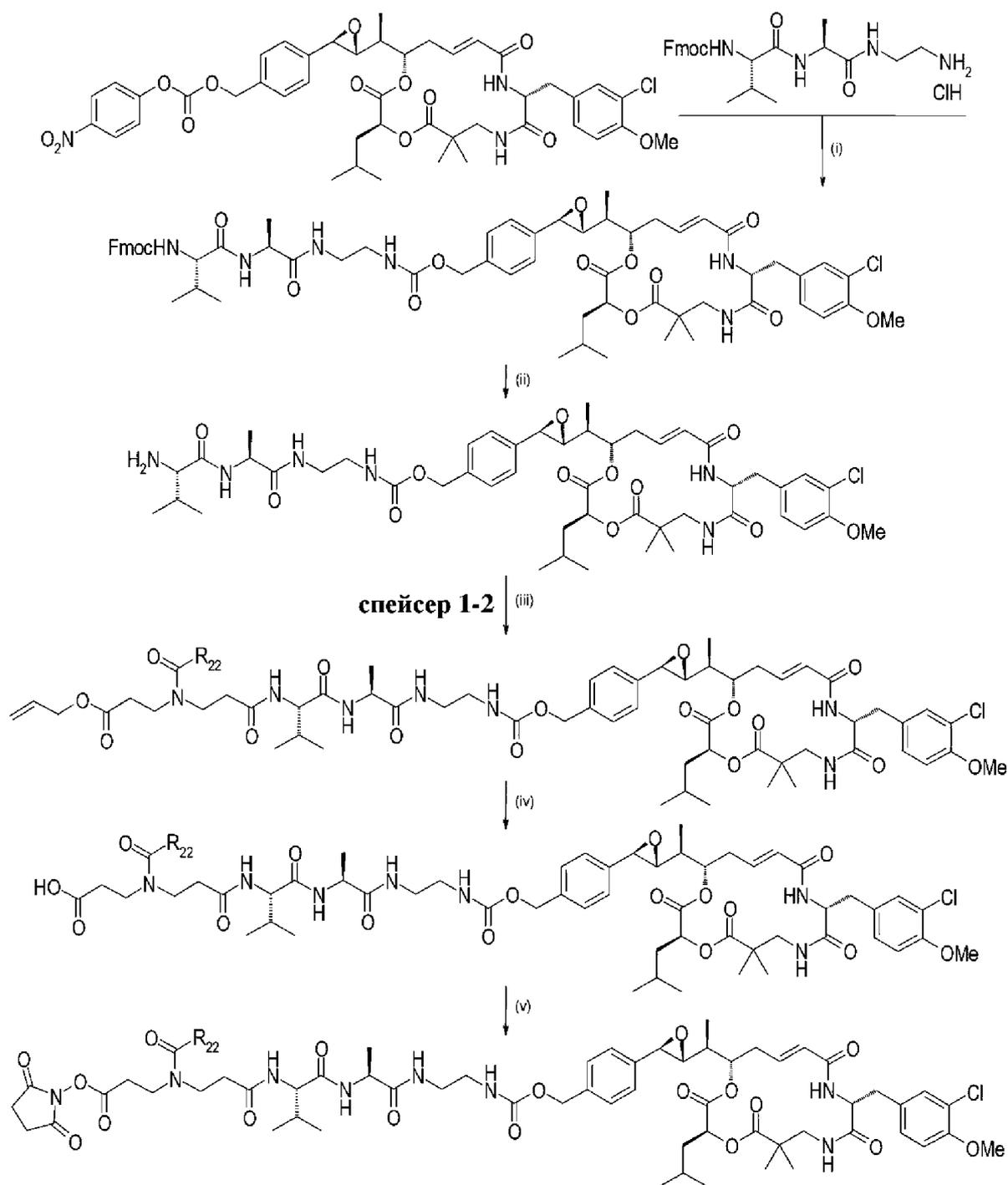


Схема 15

Стадия (i): образование карбамата между криптофицином с активированным спиртом и амином в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

Стадия (ii): удаление защитной Fmoc-группы с амина в присутствии основания, такого как, например, пиперидин.

Стадия (iii): пептидное сочетание со спейсером 1 с применением реагентов для сочетания, таких как, например, EDC и HOBT, или сочетание со спейсером 2 в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

Стадия (iv): удаление защитной группы со сложного аллилового эфира в присутствии катализатора, такого как, например, тетракис-(трифенилфосфин)палладий.

Стадия (v): активация карбоновой кислоты в виде сложного NHS-эфира посредством обработки с помощью DSC в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

На **схеме 15** изображен синтез полезных нагрузок с применением активированного *n*-бензилового спирта C52, однако также можно применять другие соединения криптофицина; на ней изображен синтез с применением дипептидов Val-Ala, однако также можно применять другие дипептиды; на ней изображен синтез с применением Вос-монозащищенного этилендиамина, однако также можно применять другие Вос-монозащищенные диамины, которые являются коммерчески доступными, для случаев, если *n* находится в диапазоне от 3 до 10; на ней изображен синтез с применением спейсеров **1** или **2**, однако также можно применять спейсеры **3** или **4**.

В качестве альтернативы, новые полезные нагрузки с криптофицином формулы (IV), содержащие спейсер с улучшенной гидрофильностью, также можно получать, как изображено на **схеме 16**.

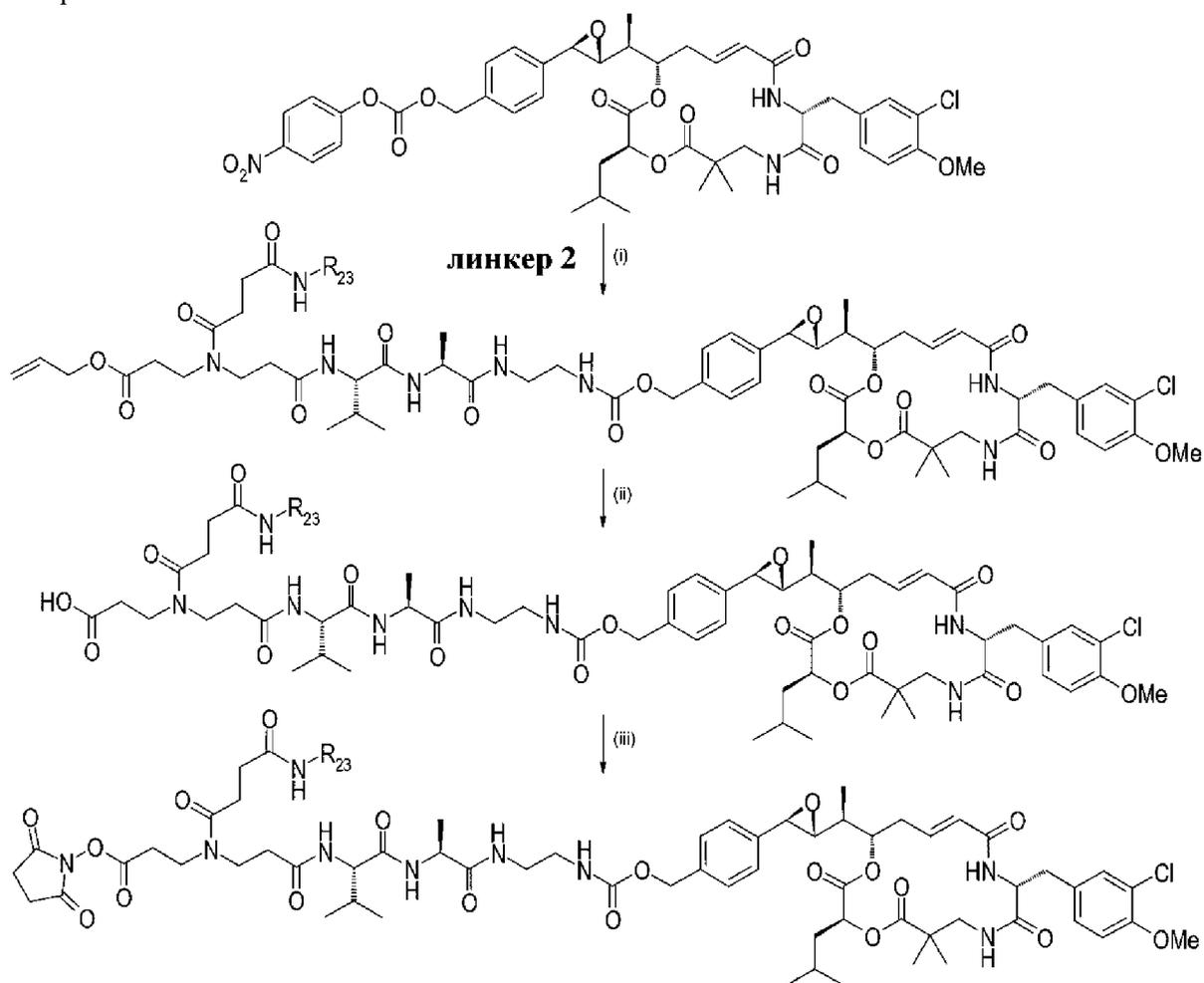


Схема 16

Стадия (i): образование карбамата между криптофицином с активированным спиртом и линкером **2** в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

Стадия (ii): удаление защитной группы со сложного аллилового эфира в присутствии катализатора, такого как, например, тетраakis-(трифенилфосфин)палладий.

Стадия (iii): активация карбоновой кислоты в виде сложного NHS-эфира посредством обработки с помощью DCC в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

На **схеме 16** изображен синтез полезных нагрузок с применением активированного *n*-бензилового спирта C52, однако также можно применять другие соединения криптофицина.

С РАВА-фрагментом

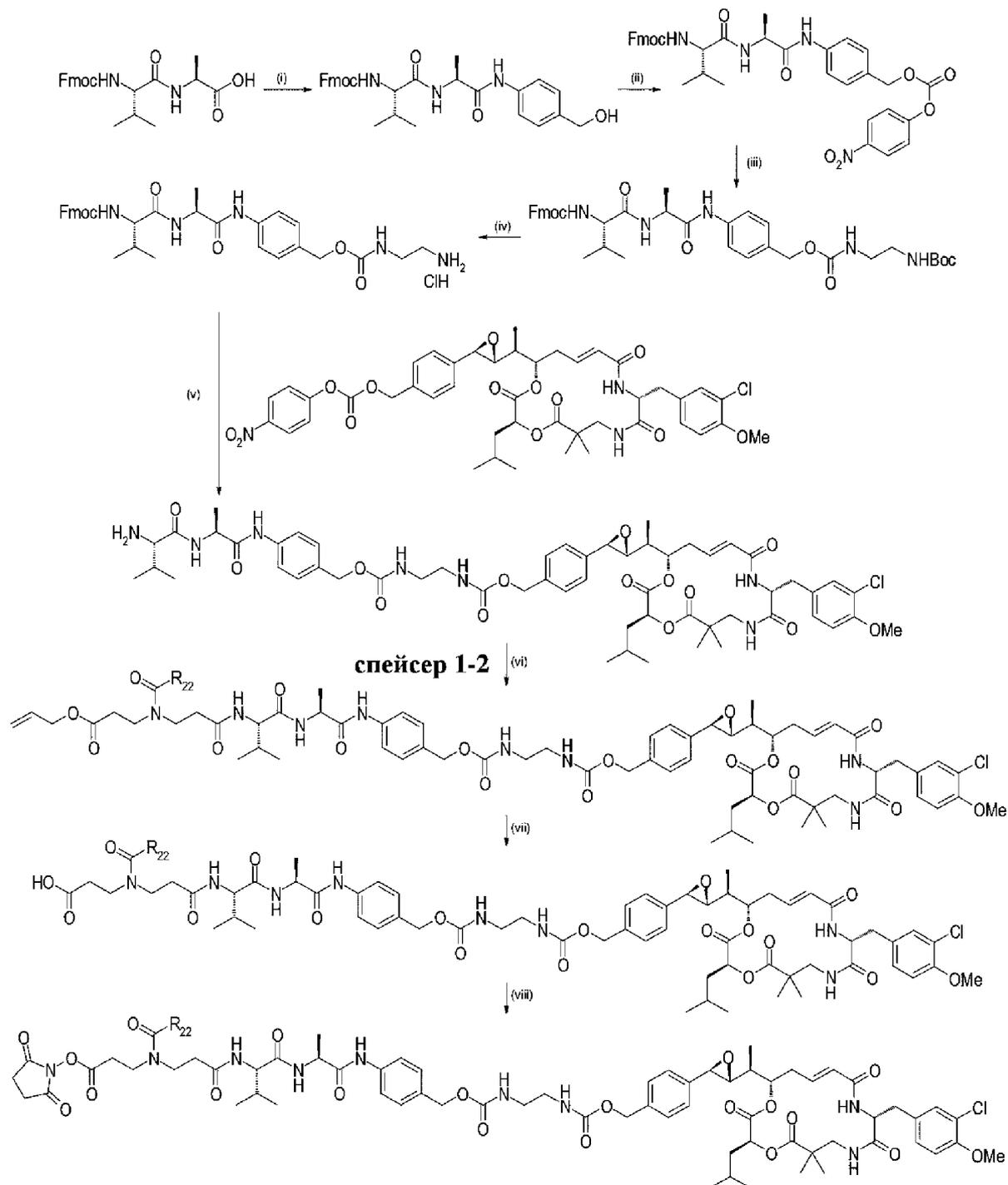


Схема 17

Стадия (i): пептидное сочетание между Fmoc-Val-Ala-OH и 4-аминобензиловым

спиртом в присутствии реагента для сочетания, такого как, например, EEDQ.

Стадия (ii): активация бензилового спирта в виде *n*-нитрофенилкарбоната посредством обработки с помощью *n*-нитрофенилхлорформиата в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

Стадия (iii): образование карбамата между активированным спиртом и Вос-монозащищенным этилендиамином в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

Стадия (iv): удаление защитной Вос-группы с амина с применением раствора HCl (например, раствора в диоксане) или TFA.

Стадия (v): образование карбамата между криптофицином с активированным спиртом и амином в присутствии основания, такого как, например, DIEA, и удаление защитной Fmoc-группы с амина в присутствии основания, такого как, например, пиперидин.

Стадия (vi): пептидное сочетание со спейсером **1** с применением реагентов для сочетания, таких как, например, EDC и HOBT, или сочетание со спейсером **2** в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

Стадия (vii): удаление защитной группы со сложного аллилового эфира в присутствии катализатора, такого как, например, тетракис-(трифенилфосфин)палладий.

Стадия (viii): активация карбоновой кислоты в виде сложного NHS-эфира посредством обработки с помощью DSC в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

На **схеме 17** изображен синтез полезных нагрузок с применением дипептидов Val-Ala, однако также можно применять другие дипептиды; на ней изображен синтез с применением *n*-аминобензилового спирта (номер CAS [623-04-1]), однако также можно применять другие соединения аминобензилового спирта, которые являются коммерчески доступными, такие как, например, 4-(1-гидроксиэтил)-анилин (рацемический (номер CAS [14572-89-5]) или энантимерно чистый (R) (номер CAS [210754-25-9]) или (S) (номер CAS [500229-84-5])), 4-амино- α,α -диметилбензолметанол (номер CAS [23243-04-1]), 4-амино- α -метокси- α -метилбензолметанол (номер CAS [1379318-81-6]), 4-амино- α -метил- α -трифторметилбензолметанол (номер CAS [851652-56-7]), 2-аминобензолметанол (номер CAS [5344-90-1]), 2-амино- α -метилбензолметанол (рацемический (номер CAS [10517-50-7]) или энантимерно чистый (R) (номер CAS [3205-21-8]) или (S) (номер CAS [3205-21-8])), 6-амино-3-пиридинметанол (номер CAS [113293-71-3]), 6-амино- α -метил-3-пиридинметанол (номер CAS [1335054-83-5]), 6-амино- α -этил-3-пиридинметанол (номер CAS [1355225-85-2]), 6-амино- α,α -диметил-3-пиридинметанол (номер CAS [843646-03-8]), 5-амино-3-пиридинметанол (номер CAS [873651-92-4]), 2-амино-3-пиридинметанол (номер CAS [23612-57-9]), 2-амино- α -метил-3-пиридинметанол (рацемический (номер CAS [869567-91-9]) или энантимерно чистый (R) (номер CAS [936718-01-3]) или (S) (номер CAS [936718-00-2])), 2-амино- α -этил-3-пиридинметанол (номер CAS [914223-90-8]), 2-амино- α,α -диметил-3-

пиридинметанол (номер CAS [213666-96-7]), 3-амино-4-пиридинметанол (номер CAS [152398-05-5]), 3-амино- α -метил-4-пиридинметанол (номер CAS [1242470-88-7]), 3-амино- α,α -метил-4-пиридинметанол (номер CAS [13357-81-8]), 4-амино-3-пиридинметанол (номер CAS [138116-34-4]), 4-амино- α -метил-3-пиридинметанол (номер CAS [741223-49-4]), 4-амино- α,α -метил-3-пиридинметанол (номер CAS [1339013-26-1]), 3-амино-2-пиридинметанол (номер CAS [52378-63-9]), 3-амино- α -метил-2-пиридинметанол (номер CAS [954240-54-1]), 3-амино- α,α -метил-2-пиридинметанол (номер CAS [899438-57-4]); на ней изображен синтез с применением Вос-монозащищенного этилендиамина, однако также можно применять другие Вос-монозащищенные диамины, которые являются коммерчески доступными, для случаев, если n находится в диапазоне от 3 до 10; на ней изображен синтез с применением активированного n -бензилового спирта C52, однако также можно применять другие соединения криптофицина; на ней изображен синтез с применением спейсеров **1** или **2**, однако также можно применять спейсеры **3** или **4**.

Получение новых полезных нагрузок с криптофицином формулы (IV), содержащих дипептиды с улучшенной гидрофильностью

Без РАВА-фрагмента

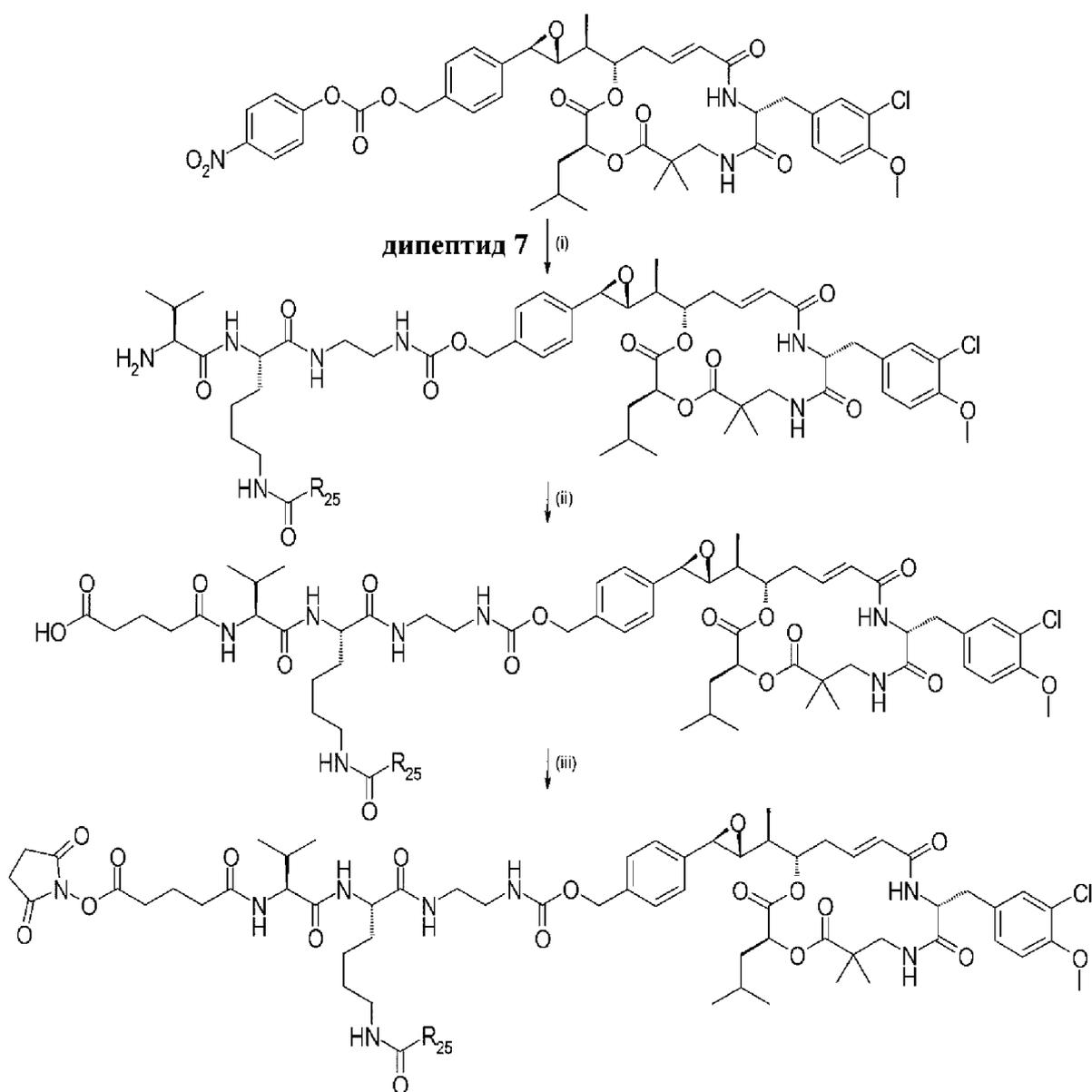


Схема 18

Стадия (i): образование карбамата между криптофицином с активированным спиртом и дипептидом в присутствии основания, такого как, например, DIEA, и удаление защитной Fmoc-группы с амина в присутствии основания, такого как, например, пиперидин.

Стадия (ii): сочетание с глутаровым ангидридом; перед стадией (iii) может быть необходима одна дополнительная стадия удаления защитной группы с боковой цепи замещенной аминокислоты.

Стадия (iii): активация карбоновой кислоты в виде сложного NHS-эфира посредством обработки с помощью DSC в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

На **схеме 18** изображен синтез полезных нагрузок с применением активированного *n*-бензилового спирта C52, однако также можно применять другие соединения криптофицина; на ней изображен синтез с применением дипептида 7, однако также можно

применять дипептид **3**; на ней изображен синтез с применением глутарового ангидрида, однако также можно применять янтарный ангидрид или алкильные дикислоты, которые являются коммерчески доступными, для случаев, если n находится в диапазоне от 3 до 10.

С РАВА–фрагментом

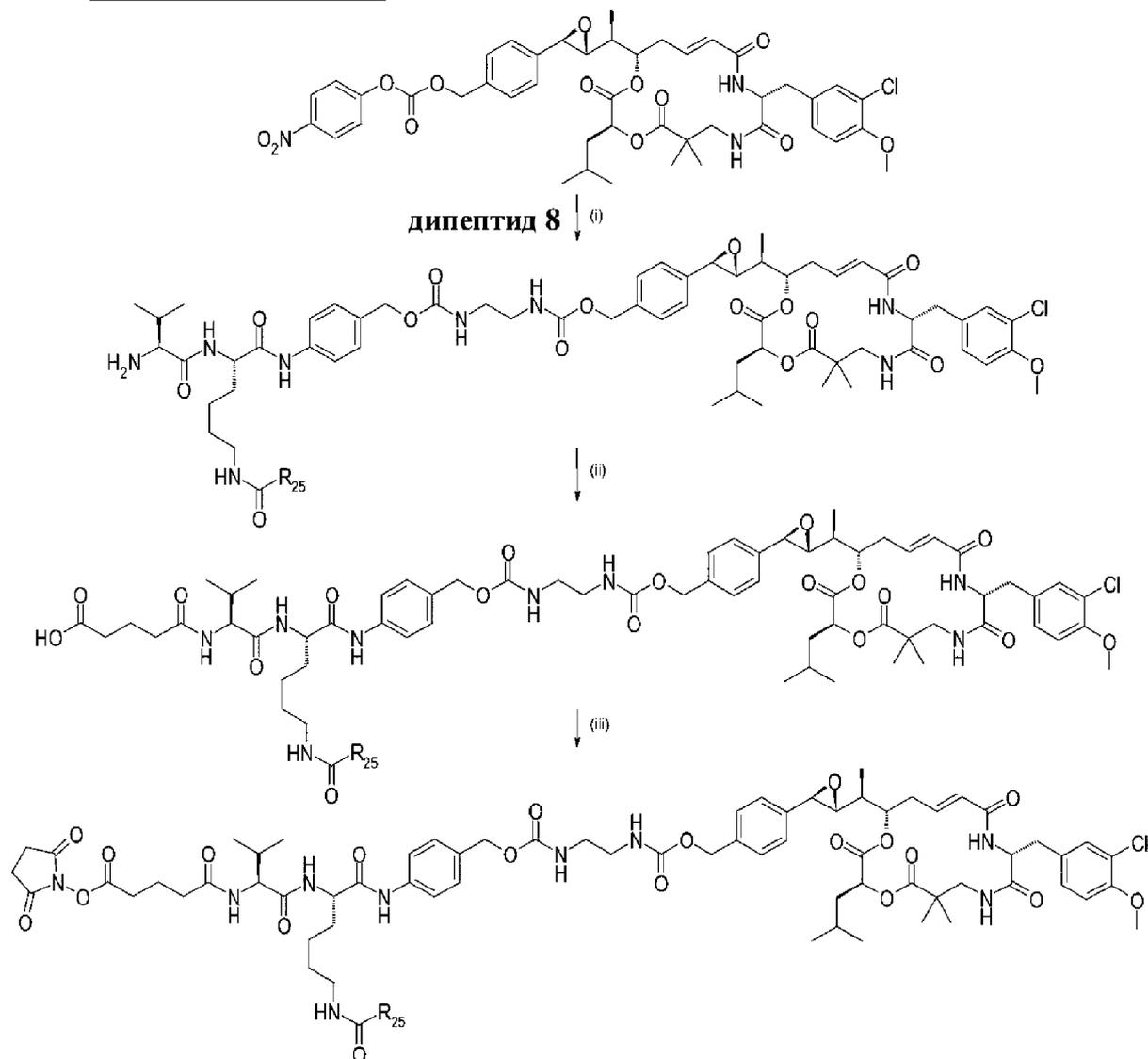


Схема 19

Стадия (i): образование карбамата между криптофицином с активированным спиртом и дипептидом в присутствии основания, такого как, например, DIEA, и удаление защитной Fmoc–группы с амина в присутствии основания, такого как, например, пиперидин.

Стадия (ii): сочетание с глутаровым ангидридом; перед стадией (iii) может быть необходима одна дополнительная стадия удаления защитной группы с боковой цепи замещенной аминокислоты.

Стадия (iii): активация карбоновой кислоты в виде сложного NHS–эфира посредством обработки с помощью DSC в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

На **схеме 19** изображен синтез полезных нагрузок с применением активированного

n-бензилового спирта C52, однако также можно применять другие соединения криптофицина; на ней изображен синтез с применением дипептида **8**, однако также можно применять дипептид **4**; на ней изображен синтез с применением глутарового ангидрида, однако также можно применять янтарный ангидрид или алкильные дикислоты, которые являются коммерчески доступными, для случаев, если *n* находится в диапазоне от 3 до 10.

Получение новых полезных нагрузок с криптофицином формулы (IV), содержащих как спейсер, так и дипептид с улучшенной гидрофильностью

Без РАВА-фрагмента

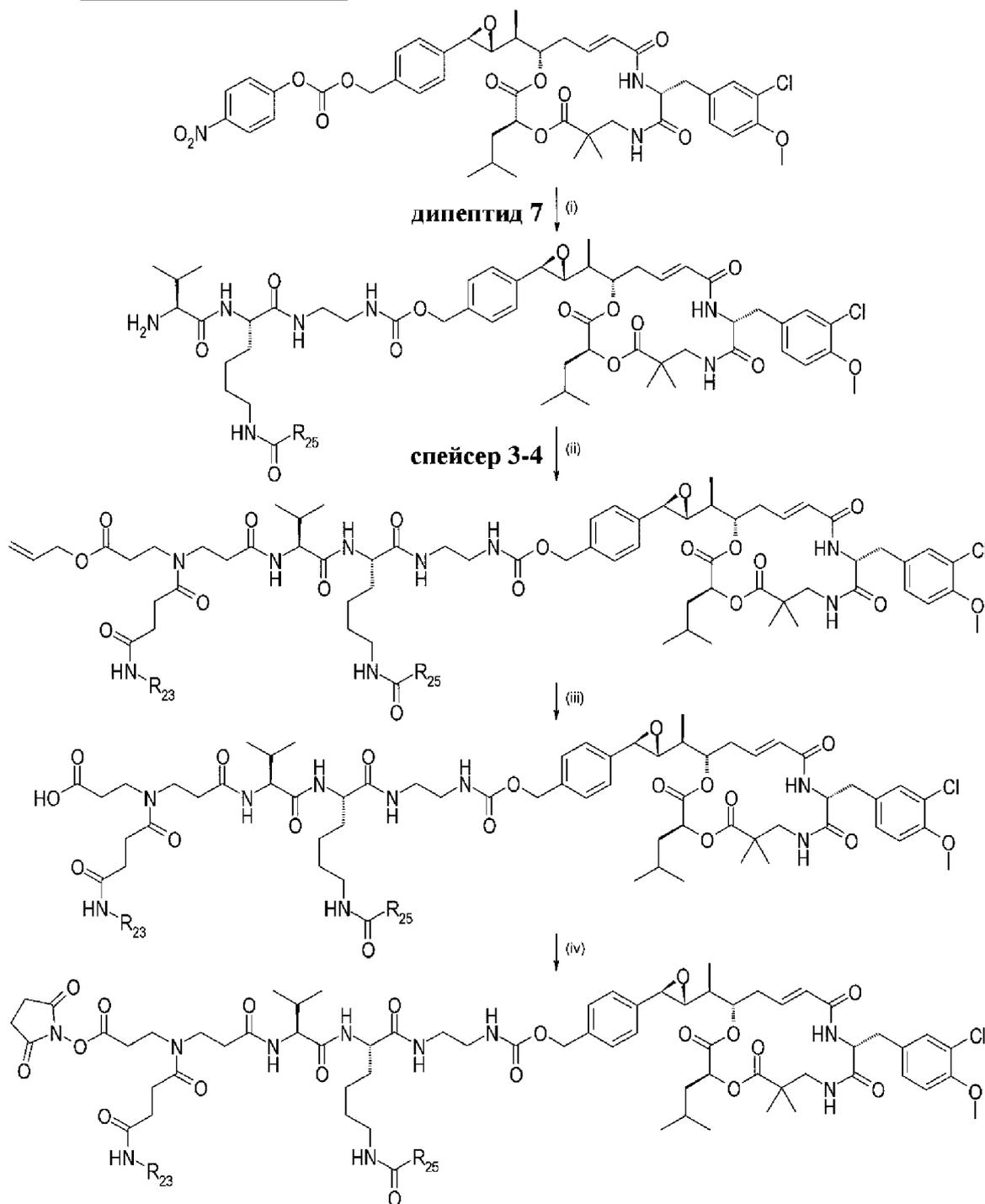


Схема 20

Стадия (i): образование карбамата между криптофицином с активированным спиртом и дипептидом в присутствии основания, такого как, например, DIEA, и удаление защитной Fmoc-группы с амина в присутствии основания, такого как, например, пиперидин.

Стадия (ii): пептидное сочетание со спейсером **3** с применением реагентов для сочетания, таких как, например, EDC и HOBT, или сочетание со спейсером **4** в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

Стадия (iii): удаление защитной группы со сложного аллилового эфира в присутствии катализатора, такого как, например, тетракис-(трифенилфосфин)палладий; перед стадией (iv) может быть необходима одна дополнительная стадия удаления защитной группы с боковой цепи замещенной аминокислоты.

Стадия (iv): активация карбоновой кислоты в виде сложного NHS-эфира посредством обработки с помощью DSC в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

На **схеме 20** изображен синтез полезных нагрузок с применением *n*-бензиламина C52, однако также можно применять другие соединения криптофицина; на ней изображен синтез с применением дипептида **7**, однако также можно применять дипептид **3**; на ней изображен синтез с применением спейсеров **3** или **4**, однако также можно применять спейсеры **1** или **2**.

С РАВА-фрагментом

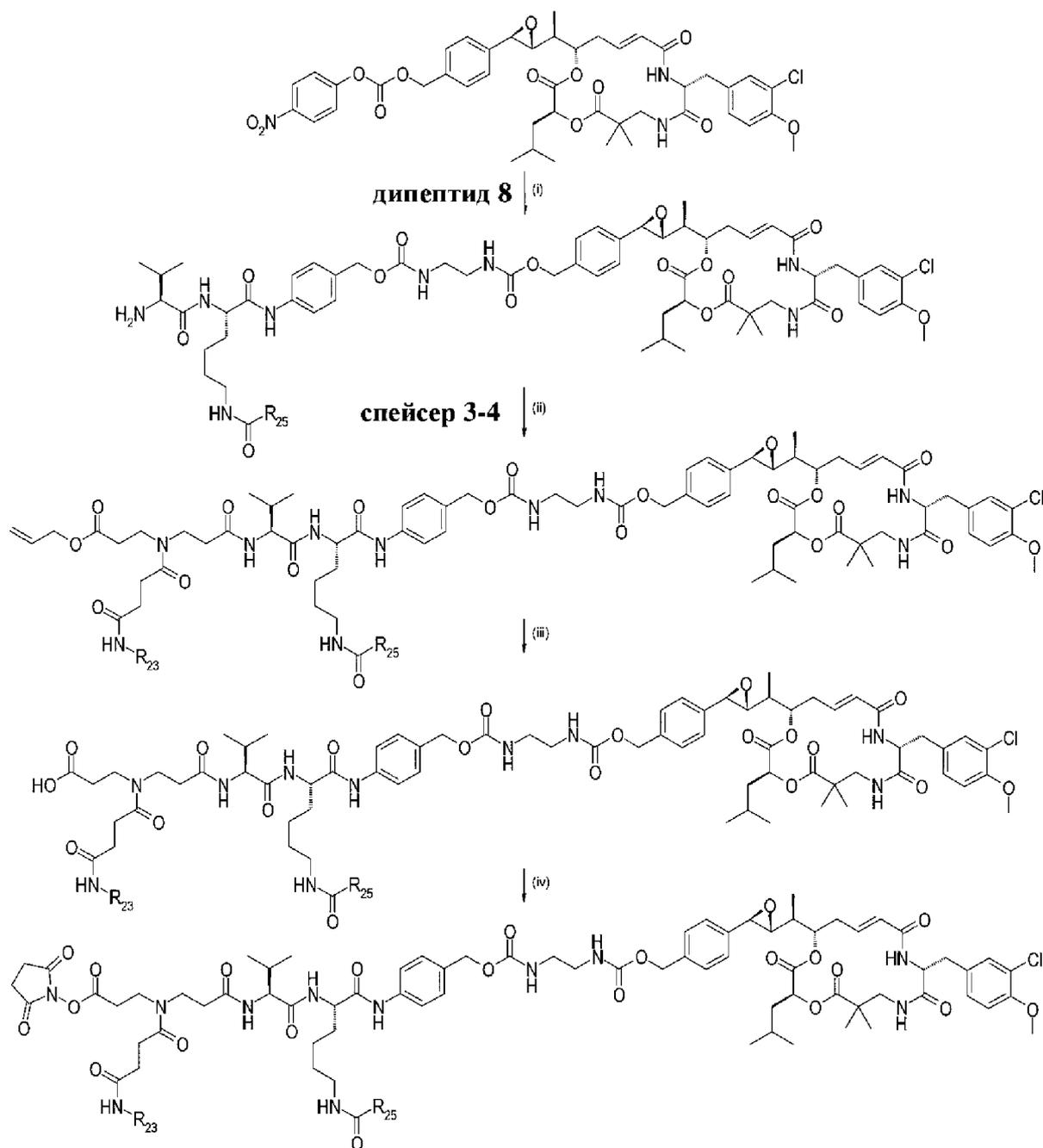


Схема 21

Стадия (i): образование карбамата между криптофицином с активированным спиртом и дипептидом в присутствии основания, такого как, например, DIEA, и удаление защитной Fmoc-группы с амина в присутствии основания, такого как, например, пиперидин.

Стадия (ii): пептидное сочетание со спейсером **3** с применением реагентов для сочетания, таких как, например, EDC и HOBT, или сочетание со спейсером **4** в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

Стадия (iii): удаление защитной группы со сложного аллилового эфира в присутствии катализатора, такого как, например, тетраakis-(трифенилфосфин)палладий; перед стадией (iv) может быть необходима одна дополнительная стадия удаления защитной группы с боковой цепи замещенной аминокислоты.

Стадия (iv): активация карбоновой кислоты в виде сложного NHS-эфира посредством обработки с помощью DSC в присутствии основания, такого как, например, DIEA.

На **схеме 21** изображен синтез полезных нагрузок с применением *n*-бензиламина C52, однако также можно применять другие соединения криптофицина; на ней изображен синтез с применением дипептида **8**, однако также можно применять дипептид **4**; на ней изображен синтез с применением спейсеров **3** или **4**, однако также можно применять спейсеры **1** или **2**.

Получение конъюгатов формулы (V)

Конъюгаты формулы (V) по настоящему изобретению можно получать посредством способа, включающего по меньшей мере стадии

(i) приведения в контакт и обеспечения проведения реакции:

– необязательно забуференного водного раствора антитела, необязательно модифицированного с помощью модифицирующего средства,

и

– раствора полезной нагрузки с криптофицином формулы (IV), как определено в настоящем изобретении,

при этом химическая группа **RCG1** в полезной нагрузке с криптофицином формулы (IV) является реакционноспособной в отношении химической группы **RCG2**, присутствующей на полипептиде, таком как антитело, особенно в отношении аминокрупп, присутствующих на антителах, при этом указанные химические группы **RCG2** были введены, если необходимо, с помощью модифицирующего средства,

так, чтобы присоединить полезную нагрузку с криптофицином формулы (IV) к антителу посредством образования ковалентной связи;

(ii) и затем необязательно отделения конъюгата формулы (V), образованного на стадии (i), от полезной нагрузки с криптофицином формулы (IV), и/или от непрореагировавшего антитела, и/или от любых агрегатов, которые могли образоваться.

В соответствии с одним вариантом, например, на стадии (ii) конъюгат формулы (V) из стадии (i) отделяют только от непрореагировавшей полезной нагрузки с криптофицином формулы (IV) и от любых образовавшихся агрегатов, а любое непрореагировавшее антитело остается в растворе.

Целью приведения в контакт является обеспечение проведения реакции между химическими группами **RCG1** и **RCG2** для обеспечения присоединения полезной нагрузки с криптофицином формулы (IV) к полипептиду, такому как антитело, посредством образования ковалентной связи; например,

если **RCG1** представляет собой $RaZa-C(=O)$, то реакция предпочтительно происходит на функциональных аминокгруппах антитела, таких как ϵ -аминокгруппы, находящиеся на боковых цепях лизиновых (Lys) остатков антитела, и α -аминокгруппы N-концевых аминокислот тяжелых и легких цепей антитела. В данном случае получают конъюгат следующей формулы: $mAb-[NH-C(=O)-L^*-Y-Crypto]_d$, при этом L^*

представляет собой фрагмент линкера **L**, содержащий в качестве RCG1 группу RaZa–C(=O), и **d** представляет собой соотношение лекарственного средства и антитела, или DAR;

если **RCG1** представляет собой атом хлора или малеимидо– или галогенацетидагруппу, антитело может содержать тиольные химические группы;

если **RCG1** представляет собой азидогруппу, антитело может содержать C≡CH–фрагмент или активированную тройную связь, например, циклооктиновую группу;

если **RCG1** представляет собой группу NH₂, реакция может происходить на амидной функциональной группе антитела с применением ферментативного катализа, такой как амидные группы, находящиеся на боковых цепях глутаминовых (Gln) остатков антитела. В данном случае получают конъюгат следующей формулы: mAb–[C(=O)–NH–L*–Crypto]_d, при этом L* представляет собой фрагмент линкера **L**, который содержит в качестве RCG1 группу NH₂, и, таким образом, **L** представляет собой группу L*NH₂, и **d** представляет собой соотношение лекарственного средства и антитела, или DAR;

если **RCG1** представляет собой группу C≡CH или активированную группу C≡C, такую как циклооктиновый фрагмент, антитело может содержать азидогруппы.

Термин "агрегаты" означает ассоциаты, которые могут образовываться между двумя или более антителами, при этом антитела возможно были модифицированы с помощью конъюгирования. Агрегаты могут образовываться под воздействием широкого разнообразия параметров, таких как высокая концентрация антитела в растворе, pH раствора, высокие усилия сдвига, количество привитых лекарственных средств и их гидрофобная природа, температура (см. ссылки, приведенные во введении *J. Membrane Sci.* **2008**, 318, 311–316), однако, влияние некоторых из них не было четко установлено. В случае белков или антител можно сослаться на *AAPS Journal*, "Protein Aggregation and Bioprocessing" **2006**, 8(3), E572–E579. Содержание агрегата может быть определено с помощью известных методик, таких как SEC (см. в данном отношении *Analytical Biochemistry* **1993**, 212 (2), 469–480).

Водный раствор антитела можно буферизовать с помощью буферов, например, фосфата калия, или HEPES, или смеси буферов, такой как буфер А, описанный ниже. Буфер зависит от природы антитела. Полезная нагрузка с криптофицином формулы (IV) растворяется в полярном органическом растворителе, таком как DMSO или DMA.

Реакция происходит при температуре, которая находится, как правило, в диапазоне от 20°C до 40°C. Значение времени реакции может находиться в диапазоне от 1 до 24 часов. Реакцию между антителом и полезной нагрузкой с криптофицином формулы (IV) можно контролировать посредством SEC при помощи рефрактометрического и/или ультрафиолетового детектора и/или HRMS для определения степени ее протекания. Если степень замещения является недостаточной, можно обеспечить более продолжительное проведение реакции и/или можно добавить соединение криптофицина. Для получения дополнительной информации в отношении конкретных условий можно сослаться на раздел "Примеры". Конкретные варианты осуществления описаны в **примерах 3, 6, 16, 19**,

23, 26, 29, 32, 35 и 41.

Специалист в данной области техники имеет в своем распоряжении различные хроматографические методики для разделения на стадии (ii): конъюгат может быть очищен, например, посредством пространственно-эксклюзионной хроматографии (SEC), посредством адсорбционной хроматографии (например, ионообменной, ИЕС), посредством хроматографии гидрофобного взаимодействия (HIC), посредством аффинной хроматографии, посредством хроматографии на смешанных носителях, таких как керамический гидроксипатит, или посредством HPLC. Также можно применять очистку посредством диализа или диафильтрации.

После стадии (i) или (ii) раствор конъюгата можно подвергать стадии (iii) ультрафильтрации и/или диафильтрации. Таким образом, после этих стадий получают конъюгат в водном растворе.

Антитело

Антитело может представлять собой моноклональное антитело, выбранное из группы, состоящей из мышинового, химерного, гуманизированного и человеческого антитела.

В одном варианте осуществления антитело представляет собой моноспецифическое антитело, т. е. антитело специфически связывается только с одной мишенью. В качестве альтернативы, оно может представлять собой полиспецифическое антитело.

В одном варианте осуществления антитело представляет собой антитело IgG, например, антитело IgG₁, IgG₂, IgG₃ или IgG₄.

Антитело в соответствии с настоящим изобретением специфически связывается с мишенью, тем самым направляя биологически активное соединение в виде цитотоксического соединения по отношению к указанной мишени. Используемые в данном документе выражения "специфически связывает", или "специфически связывается с", или "связывается с" или т. п. означают, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент образуют комплекс с антигеном, который является относительно устойчивым в физиологических условиях. Специфическое связывание может быть охарактеризовано с помощью равновесной константы диссоциации (K_D), составляющей по меньшей мере приблизительно 1×10^{-8} М или меньше (например, меньшее значение K_D означает более сильное связывание). Способы определения наличия специфического связывания двух молекул хорошо известны в данной области техники и включают, например, равновесный диализ, поверхностный плазмонный резонанс и т. п. Как описано в данном документе, антитела характеризовали, например, по их специфическому связыванию с мишенью и/или целевым антигеном с помощью поверхностного плазмонного резонанса, например BIACORE™.

Мишень, как правило, соответствует белку, который экспрессируется на поверхности клеток, например, белку, который экспрессируется на поверхности опухолевых клеток.

В одном варианте осуществления мишень представляет собой рецептор EphA2. Рецептор EphA2 представляет собой рецептор эфрина и его также называют "Eph-рецептор A2" или "рецепторная тирозиновая протеинкиназа эпителиальных клеток". Антитело, которое специфически связывается с рецептором EphA2, например, может соответствовать одному из антител, описанных в **WO2008/010101** или **WO2011/039724**.

Антитело необязательно может быть модифицировано с помощью модифицирующего средства таким образом, чтобы способствовать присоединению полезной нагрузки с криптофицином, как описано ранее. В частности, антитело может быть моноклональным, поликлональным или полиспецифическим. Оно также может представлять собой фрагмент антитела. Оно также может представлять собой мышинное, человеческое, гуманизованное или химерное антитело. Антитело, применяемое в примерах по настоящему изобретению, представляет собой hu2H11_R3574, антитело-антагонист к рецептору EphA2. Последовательность hu2H11_R3574 представлена под SEQ ID NO: 1 (легкая цепь антитела hu2H11_R35R74) и под SEQ ID NO:2 (тяжелая цепь антитела hu2H11_R35R74), которые соответствуют SEQ ID NO: 16 и SEQ ID NO:18 соответственно, представленным в **WO2011039724 A1**.

Конъюгат

Конъюгат, как правило, содержит от приблизительно 1 до 10 соединений криптофицина, ковалентно присоединенных к антителу (это представляет собой степень прививания, или "соотношение лекарственного средства и антитела", или "DAR"). Данное число изменяется в зависимости от природы антитела и соединения криптофицина, а также рабочих условий, применяемых в процессе конъюгации (например, число эквивалентов соединения криптофицина относительно антитела, времени реакции, природы растворителя и любого соразтворителя). Приведение антитела и соединения криптофицина в контакт обеспечивает получение смеси, содержащей несколько конъюгатов, которые характерно отличаются друг от друга различными значениями DAR; необязательно непрореагировавшее антитело; необязательно агрегаты. Значение DAR, которое определяется в конечном растворе, таким образом, соответствует среднему значению DAR. Значение DAR можно рассчитать на основе деконволюции спектра SEC-HRMS конъюгата. Значение DAR (HRMS), например, превышает 0,5, например, находится в диапазоне от 1 до 10, таком диапазоне как от 2 до 7.

Конъюгат можно применять в качестве противоракового средства. Благодаря наличию антитела получают конъюгат, который является высоко селективным в отношении опухолевых клеток, а не в отношении здоровых клеток. Это дает возможность направлять соединение криптофицина в среду, подобную им или непосредственно к ним. Можно осуществлять лечение видов солидного рака или гемобластоза. Конъюгат может применяться сам по себе или в комбинации с по меньшей мере одним другим противораковым средством.

Конъюгат составляют в форме забуференного водного раствора при концентрации, как правило, находящейся в диапазоне от 1 до 10 мг/мл. Данный раствор можно вводить в

виде перфузии сам по себе или можно повторно разводить с образованием раствора для перфузии.

Примеры

В следующих примерах описывается получение некоторых соединений в соответствии с настоящим изобретением. Такие примеры не являются ограничивающими и лишь иллюстрируют настоящее изобретение.

Используемые аналитические способы

Жидкостная хроматография высокого давления – масс-спектрометрия (LCMS)

Способ А

Спектры получали на системе Waters UPLC–SQD в положительном и/или отрицательном режиме электрораспыления (ES+/-). Хроматографические условия были следующими:

колонка: ACQUITY VEN C18–1,7 мкм – 2,1×50 мм; растворители: А: H₂O (0,1% муравьиная кислота), В: CH₃CN (0,1% муравьиная кислота); температура колонки: 50°C; скорость потока: 0,8 мл/мин.; градиент (2,5 мин.): от 5 до 100% В за 1,8 мин.; 2,4 мин.: 100% В; 2,45 мин.: от 100 до 5% В за 0,05 мин.

Способ В

Спектры получали на системе Waters UPLC–SQD в положительном и/или отрицательном режиме электрораспыления (ES+/-). Хроматографические условия были следующими:

колонка: ACQUITY VEN C18–1,7 мкм – 2,1×50 мм; растворители: А: H₂O (0,1% муравьиная кислота), В: CH₃CN (0,1% муравьиная кислота); температура колонки: 50°C; скорость потока: 0,6 мл/мин.; градиент (2 мин.): от 5 до 50% В за 1 мин.; от 50 до 100% В за 0,3 мин.; 100% В в течение 0,15 мин.; от 100 до 5% В за 0,3 мин. и 5% В в течение 0,25 мин.

Способ С

Спектры получали на системе Waters UPLC–SQD в положительном и/или отрицательном режиме электрораспыления (ES+/-). Хроматографические условия были следующими:

колонка: ACQUITY VEN C18–1,7 мкм – 2,1×50 мм; растворители: А: H₂O (0,1% муравьиная кислота), В: CH₃CN (0,1% муравьиная кислота); температура колонки: 50°C; скорость потока: 0,8 мл/мин.; градиент (5 мин.): от 5 до 100% В за 4,2 мин.; 4,6 мин.: 100% В; 4,8 мин.: 5% В.

Способ D

Спектры получали на системе Waters XeVo – Qtof в положительном режиме электрораспыления (ES+). Хроматографические условия были следующими:

колонка: ACQUITY VEN C18–1,7 мкм – 2,1×100 мм; растворители: А: H₂O (0,1% муравьиная кислота), В: CH₃CN (0,1% муравьиная кислота); температура колонки: 45°C; скорость потока: 0,6 мл/мин.; градиент (5,3 мин.): 5% В от 0 до 0,3 мин., 4 мин.: 100% В; 4,6 мин.: 100% В; 5,3 мин.: 5% В.

Способ Е

Спектры получали на системе Waters UPLC–SQD в положительном и/или отрицательном режиме электрораспыления (ES+/-). Хроматографические условия были следующими:

колонка: ACQUITY BEH C18–1,7 мкм – 2,1×50 мм; растворители: А: H₂O (0,1% муравьиная кислота), В: CH₃CN (0,1% муравьиная кислота); температура колонки: 45°C; скорость потока: 0,8 мл/мин.; градиент (10 мин.): от 5 до 100% В за 8,6 мин.; 9,6 мин.: 100% В; 9,8 мин.: 5% В.

¹Н ядерный магнитный резонанс (ЯМР)

¹Н ЯМР–спектры получали на спектрометре Bruker Avance, либо на модели DRX–300, DRX–400 или DRX–500. Химические сдвиги (δ) приведены в ppm.

Эксклюзионная хроматография – масс–спектрометрия высокого разрешения (SEC–HRMS)

Хроматографический анализ проводили на приборе Agilent HP1100 и колонке Waters BEH SEC 200 1,7 мкм (2,1×150 мм) при 30°C со скоростью потока 0,5 мл/мин. и изократическим элюированием (А) 25 мМ формиата аммония+1% муравьиная кислота/(В) CH₃CN+0,1% муравьиная кислота 70/30 в течение 15 минут. Масс–спектрометрию проводили на приборе Waters QTOF–II с ионизацией электрораспылением в положительном режиме (ES+). Для масс–спектров проводили деконволюцию, используя программное обеспечение Waters MaxEnt1.

Аналитическая эксклюзионная хроматография (SEC)

Анализ проводили на системе Waters Alliance HPLC или на системе Hitachi Lachrom HPLC, оснащенной детектором с фотодиодной матрицей и колонкой Tosoh Bioscience TSKgel G3000 SWXL 5 мкм (7,8 × 300 мм) со скоростью потока 0,5 мл/мин. и изократическим элюированием в течение 30 минут буфером с pH 7, содержащим 0,2 М KCl, 0,052 М KH₂PO₄, 0,107 М K₂HPO₄ и 20% от объема изопропанола.

Буферы

Буфер А (pH 6,5): NaCl (50 мМ), калий–фосфатный буфер (50 мМ), EDTA (2 мМ)

Буфер В (pH 6,5): NaCl (140 мМ), фосфат калия и натрия (9,6 мМ)

DPBS (pH 7,2): KCl (2,7 мМ), NaCl (137 мМ), KH₂PO₄ (1,47 мМ), Na₂HPO₄ (8,10 мМ)

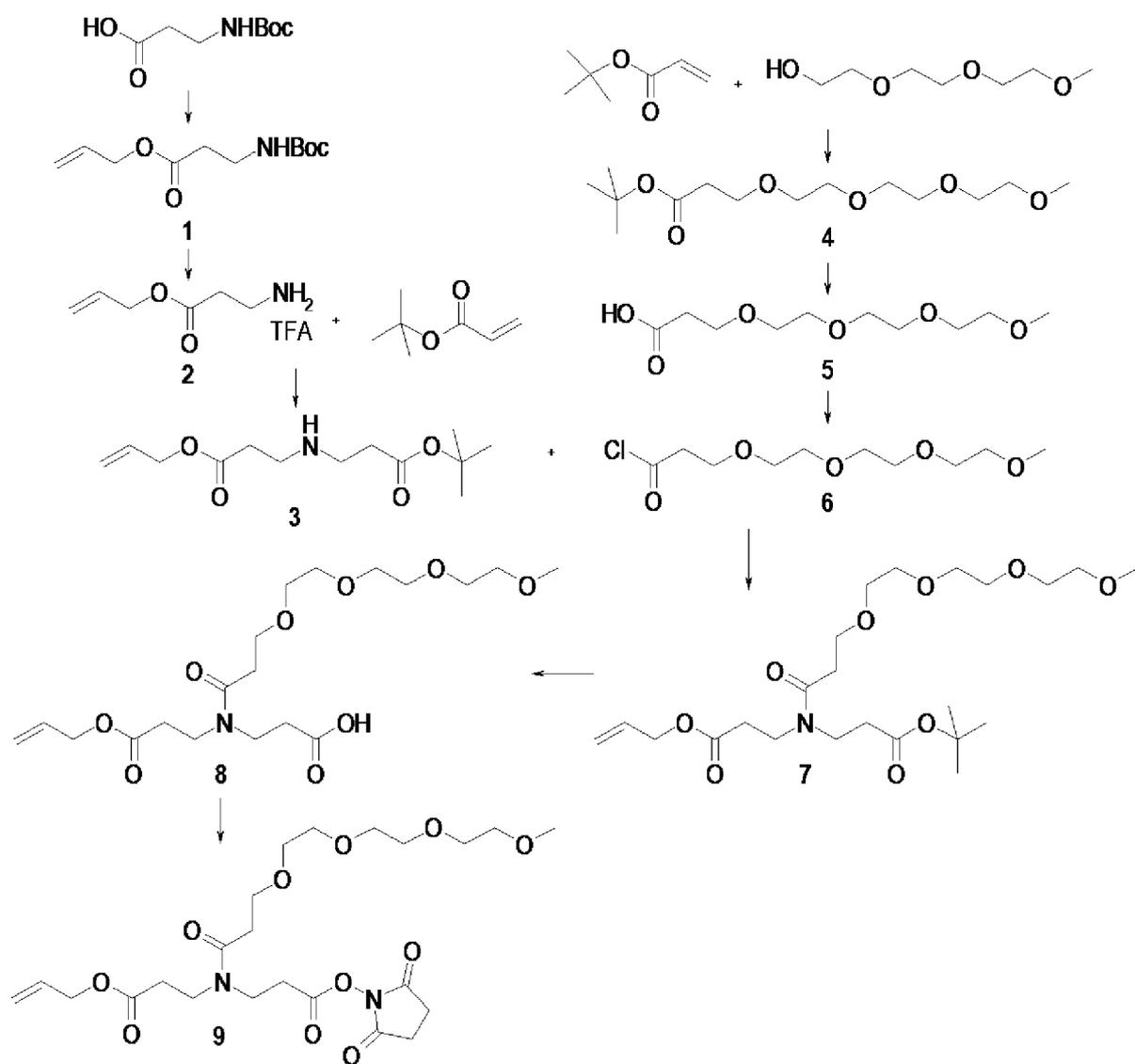
PBS (pH 7,4): KH₂PO₄ (1,06 мМ), NaCl (155,17 мМ), Na₂HPO₄–7H₂O (2,97 мМ)

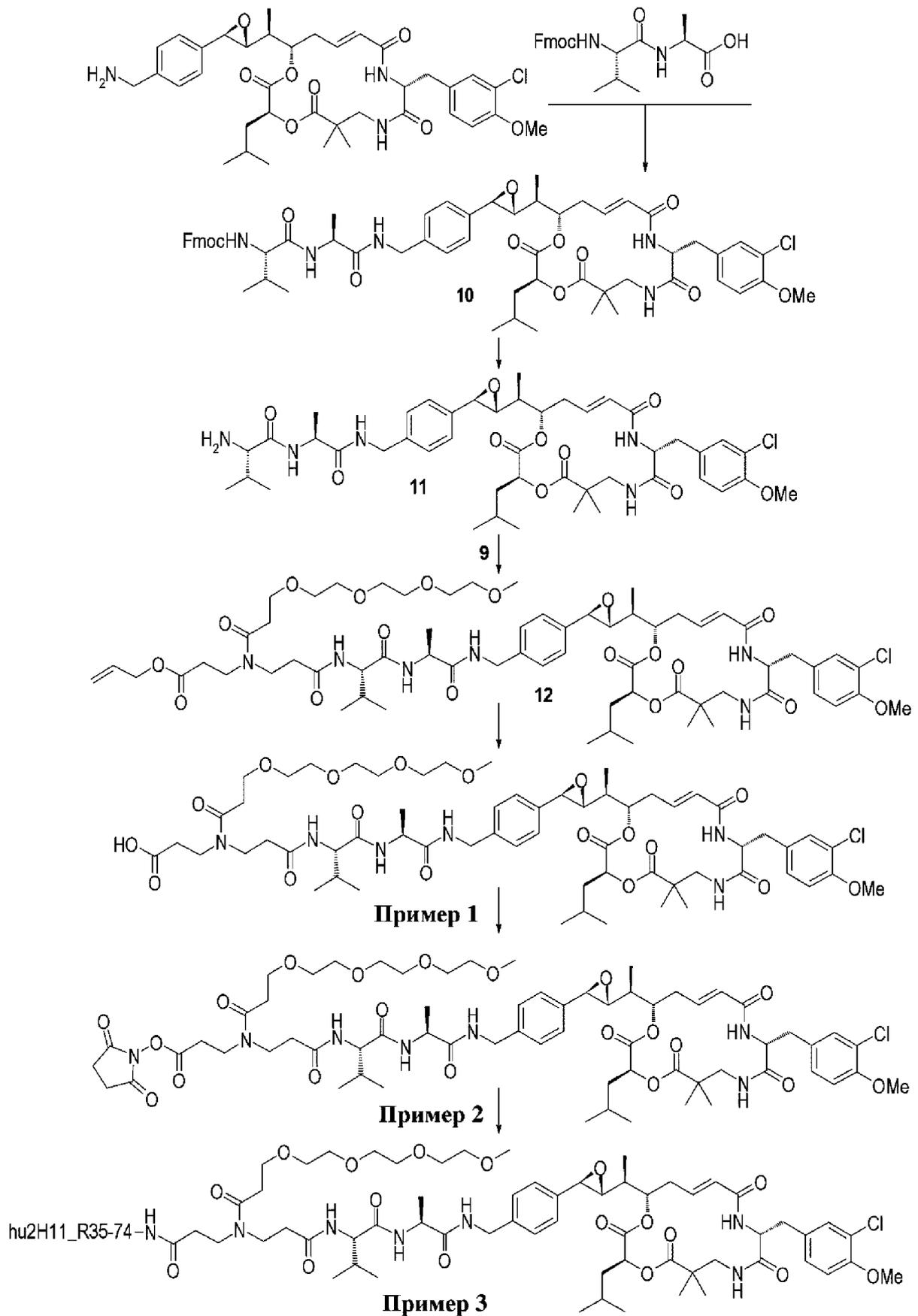
Общий способ, используемый для получения конъюгата антитело–лекарственное средство (ADC)

Раствор антитела в водном буфере, состоящем из смеси буфера А и 1 н. HEPES в соотношении 96:4, обрабатывали избытком (5–10 эквивалентов) раствора с приблизительно 10 мМ полезной нагрузки криптофицина в DMA так, чтобы конечная концентрация антитела составляла 3 мг/мл, а процентная доля DMA в водном буфере составляла 20%. После перемешивания в течение 1–4 часов смесь анализировали с помощью SEC–HRMS для определения DAR в популяции мономерных антител. Если

DAR оказывалось недостаточным ($< 3,5-4$), смесь обрабатывали дополнительным избытком (1–5 эквивалентов) раствора криптофицина в DMA в течение 2–4 дополнительных часов при к. т. при перемешивании. Смесь очищали с помощью гель-фильтрации с применением матрицы Superdex 200 pg (обессоливающая колонка HiLoad 16/60 или 26/60, GEHealthcare), предварительно уравновешенной в водном буфере с pH 6,5 (буфер В или DPBS), содержащем 10–20% NMP, или матрицы Sephadex™ G25 (обессоливающая колонка Hiprep 26/10, GEHealthcare), предварительно уравновешенной в водном буфере с pH 6,5 (буфер В или DPBS), содержащем 5–10% NMP. Фракции, содержащие мономерное конъюгированное антитело, объединяли и концентрировали на Amicon Ultra-15 (мембрана Ultracel 10k или 50k, Millipore) до концентрации от 2 до 5 мг/мл. Затем проводили замену буфера или разбавление в подходящем буфере для составления конъюгата в конечном буфере. В случае замены буфера это осуществляли путем гель-фильтрации с применением матрицы Sephadex™ G25 (обессоливающие колонки NAP-5, NAP-10, NAP-25/PD-10 или Hiprep 26/10, GEHealthcare), предварительно уравновешенной конечным водным буфером, состав и pH которого соответствуют каждому конъюгату. Наконец, конъюгат фильтровали через фильтровальный блок Steriflip® (PVDF-мембрана Durapore® 0,22 мкм, Millipore). Конечный конъюгат анализировали с помощью УФ-спектрометрии или SEC-HPLC, чтобы измерить концентрацию конъюгата, с помощью SEC-HPLC, чтобы определить мономерную чистоту, и с помощью SEC-HRMS, чтобы определить DAR на основе деконволюции масс-спектра конъюгата.

Синтез примеров 1–3: PEG4-Val-Ala-C52-бензиламин, NHS-сложный эфир PEG4-Val-Ala-C52-бензиламина и соответствующий ADC





Соединение 1: аллил-3-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)пропаноат

К раствору Вос-β-Ala-OH (номер CAS [3303-84-2], 2 г, 10,04 ммоль) в DMF (50 мл) добавляли карбонат цезия (6,88 г, 21,09 ммоль) и аллилбромид (965,52 мкл, 11,05

ммоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи. В это же время реакционную среду концентрировали *in vacuo*, затем разбавляли толуолом и концентрировали *in vacuo* несколько раз. Неочищенный продукт разбавляли водой (100 мл) и экстрагировали с помощью EtOAc (3×300 мл). Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали, концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 90 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 1,5 г **соединения 1** (65%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 1,37 (s, 9 H); 2,45 (t, J=6,9 Гц, 2 H); 3,17 (q, J=6,9 Гц, 2 H); 4,54 (m, 2 H); 5,20 (qd, J=1,5 и 10,6 Гц, 1 H); 5,29 (qd, J=1,9 и 17,3 Гц, 1 H); 5,91 (m, 1 H); 6,85 (широкий t, J=6,9 Гц, 1 H).

Соединение 2: аллил-3-аминопропаноат-2,2,2-трифторацетат

К раствору **соединения 1** (1,5 г, 6,54 ммоль) в DCM (30 мл) добавляли TFA (5,09 мл, 65,42 ммоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи. В это же время реакционную среду концентрировали *in vacuo*, затем разбавляли толуолом и концентрировали *in vacuo* дважды с получением 1,6 г **соединения 2** (колич.).

Соединение 3: аллил-3-((3-(*трет*-бутокси)-3-оксопропил)амино)пропаноат

К раствору **соединения 3** (1,6 г, 6,58 ммоль) в DMSO (15 мл) добавляли DIEA (2,30 мл, 13,16 ммоль) и *трет*-бутилакрилат (973,49 мкл, 6,58 ммоль). Реакционную среду нагревали 1 ч. при 60°C с применением микроволн. В это же время реакционную среду разбавляли с помощью H₂O (10 мл) и экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали, концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 80 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 678 мг **соединения 3** (40%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 1,39 (s, 9 H); 1,73 (широкий m, 1 H); 2,29 (t, J=6,9 Гц, 2 H); 2,44 (t, J=6,9 Гц, 2 H); 2,68 (t, J=6,9 Гц, 2 H); 2,73 (t, J=6,9 Гц, 2 H); 4,53 (m, 2 H); 5,20 (qd, J=1,5 и 10,6 Гц, 1 H); 5,30 (qd, J=1,9 и 17,3 Гц, 1 H); 5,91 (m, 1 H).

Соединение 4: *трет*-бутил-2,5,8,11-тетраоксатетрадекан-14-оат

В атмосфере аргона смесь монометилового эфира триэтиленгликоля (номер CAS [112-35-6], 3 г, 17,36 ммоль) и натрия (3,99 мг, 173,57 мкмоль) в THF (9 мл) перемешивали в течение 2 ч. при 50°C, затем в течение ночи при к. т. В это же время добавляли *трет*-бутилакрилат (3,08 мл, 20,83 ммоль), перемешивали в течение 2 ч. при 40°C, затем в течение ночи при к. т. После этого реакционную среду концентрировали *in vacuo*, затем разбавляли с помощью H₂O и экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали, концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 90 г силикагеля (градиентное элюирование гептан/EtOAc) с получением 3,3 г **соединения 4** (65%).

Соединение 5: 2,5,8,11-тетраоксатетрадекан-14-овая кислота

К раствору **соединения 4** (2,5 г, 8,55 ммоль) в DCM (30 мл) добавляли TFA (6,65 мл, 85,51 ммоль). Реакционную среду перемешивали в течение ночи при к. т. В это же

время реакционную среду концентрировали *in vacuo*, затем разбавляли толуолом и концентрировали *in vacuo* три раза с получением 3 г **соединения 5** (колич.).

Соединение 6: 2,5,8,11–тетраоксатетрадекан–14–оилхлорид

К **соединению 5** (800 мг, 3,39 ммоль) добавляли тионилхлорид (3,68 мл, 50,79 ммоль). Реакционную среду нагревали 3 ч. при 60°C. После охлаждения реакционную среду концентрировали *in vacuo*, разбавляли с помощью DCM и концентрировали *in vacuo* дважды с получением 870 мг **соединения 6** (колич.).

Соединение 7: аллил–15–(3–(*трет*–бутоксид)–3–оксопропил)–14–оксо–2,5,8,11–тетраокса–15–азаоктадекан–18–оат

При 0°C в атмосфере аргона к раствору **соединения 3** (678 мг, 2,63 ммоль) и DIEA (533,21 мкл, 3,16 ммоль) в DCM (10 мл) добавляли раствор **соединения 6** (738,21 мг, 2,90 ммоль) в DCM (3 мл). Через 2 ч. реакционную среду промывали с помощью H₂O (10 мл), затем соевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали, концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш–хроматографии на 40 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 410 мг **соединения 7** (33%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO–*d*₆): смесь конформеров 50/50; 1,39 (s, 4,5 H); 1,40 (s, 4,5 H); 2,39 (t, J=7,2 Гц, 1 H); 2,47 до 2,60 (частично скрытый m, 4 H); 2,66 (t, J=7,2 Гц, 1 H); 3,23 (s, 1,5 H); 3,24 (s, 1,5 H); 3,38 до 3,65 (m, 18 H); 4,54 (m, 2 H); 5,19 до 5,34 (m, 2 H); 5,85 до 5,97 (m, 1 H).

Соединение 8: 15–(3–(аллилокси)–3–оксопропил)–14–оксо–2,5,8,11–тетраокса–15–азаоктадекан–18–овая кислота

Раствор **соединения 7** (150 мг, 315,41 мкмоль) в DCM (3 мл) и TFA (236,66 мкл, 3,15 ммоль) перемешивали при к. т. в течение ночи. В это же время реакционную среду концентрировали *in vacuo*, разбавляли толуолом и концентрировали *in vacuo* три раза с получением 130 мг **соединения 8** (98%).

Соединение 9: аллил–15–(3–((2,5–диоксопирролидин–1–ил)окси)–3–оксопропил)–14–оксо–2,5,8,11–тетраокса–15–азаоктадекан–18–оат

К раствору **соединения 8** (130 мг, 309,92 мкмоль) в THF (5 мл) добавляли DIEA (104,53 мкл, 619,83 мкмоль) и DSC (97,21 мг, 371,90 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи. В это же время реакционную среду концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш–хроматографии на 4 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/*i*PrOH) с получением 107 мг **соединения 9** (67%).

Соединение 10: (9H–флуорен–9–ил)метил–((2S)–1–(((2S)–1–((4–((2R,3S)–3–(1–((3S,10R,16S, E)–10–(3–хлор–4–метоксибензил)–3–изобутил–6,6–диметил–2,5,9,12–тетраоксо–1,4–диокса–8,11–диазациклогексадец–13–ен–16–ил)этил)оксиран–2–ил)бензил)амино)–1–оксопропан–2–ил)амино)–3–метил–1–оксобутан–2–ил)карбамат

К раствору (3S,10R,16S, E)–16–((S)–1–((2R,3R)–3–(4–(аминометил)фенил)–оксиран–2–ил)этил)–10–(3–хлор–4–метоксибензил)–3–изобутил–6,6–диметил–1,4–диокса–8,11–диазациклогексадец–13–ен–2,5,9,12–тетраона (синтез которого описан в **WO2011001052**, соединение 77, 150 мг, 214,82 мкмоль) в DCM добавляли HOBt (31,93 мг,

236,31 мкмоль), EDC (41,83 мкл, 236,31 мкмоль) и Fmoc-Val-Ala-OH (номер CAS [150114-97-9], 79,36 мг, 193,34 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 3 ч. при к. т. Затем добавляли H₂O (20 мл) и смесь экстрагировали с помощью DCM (2×15 мл). Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали, концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 5 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 200 мг **соединения 10** (85%).

Соединение 11: (2S)-2-амино-N-((2S)-1-((4-((2R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-диазациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)амино)-1-оксопропан-2-ил)-3-метилбутанамид

Смесь **соединения 10** (200 мг, 183,37 мкмоль) в DCM (10 мл) и пиперидине (183,39 мкл, 1,83 ммоль) перемешивали в течение 2 ч. при к. т. Реакционную среду концентрировали *in vacuo*, солубилизировали в DCM перед добавлением Et₂O. Осадок фильтровали, промывали с помощью Et₂O и высушивали с получением 180 мг неочищенного вещества, которое очищали посредством флеш-хроматографии на 10 г модифицированного аминопропилс силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 136 мг **соединения 11** (85%).

Соединение 12: аллил-15-(3-(((2S)-1-(((2S)-1-((4-((2R,3S)-3-(1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-диазациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)амино)-3-оксопропил)-14-оксо-2,5,8,11-тетраокса-15-азаоктадекан-18-оат

К раствору **соединения 11** (60 мг, 69,09 мкмоль) в THF (5 мл) добавляли **соединение 9** (42,82 мг, 82,91 мкмоль) и DIEA (17,48 мкл, 103,63 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 3 ч. при к. т. В это же время ее концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 10 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 60 мг **соединения 12** (68%).

¹H ЯМР (МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): смесь конформеров 60/40; 0,78 (d, J=7,0 Гц, 6 H); 0,80 до 0,87 (m, 6 H); 1,00 (s, 3 H); 1,04 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,12 (s, 3 H); 1,24 (разделенный d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,30 (m, 1 H); 1,51 до 1,63 (m, 2 H); 1,75 до 1,83 (m, 1 H); 1,95 (m, 1 H); 2,26 (m, 1 H); 2,30 до 2,73 (m, 8 H); 2,95 до 3,05 (m, 3 H); 3,23 (s, 3 H); 3,31 (скрытый m, 1 H); 3,40 до 3,64 (m, 18 H); 3,81 (s, 3 H); 3,87 (d, J=2,1 Гц, 1 H); 4,12 до 4,33 (m, 5 H); 4,53 (m, 1,2 H); 4,55 (m, 0,8 H); 4,91 (m, 1 H); 5,11 (m, 1 H); 5,21 (m, 1 H); 5,28 (qd, J=1,9 и 17,3 Гц, 0,6 H); 5,31 (qd, J=1,9 и 17,3 Гц, 0,4 H); 5,78 (разделенный d, J=15,7 Гц, 1 H); 5,85 до 5,95 (m, 1 H); 6,47 (ddd, J=4,2, 11,5 и 15,7 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,7 Гц, 1 H); 7,17 (dd, J=2,3 и 8,7 Гц, 1 H); 7,19 до 7,26 (m, 5 H); 7,28 (d, J=2,3 Гц, 1 H); 7,94 (d, J=9,2 Гц, 0,4 H); 8,04 (m, 1 H); 8,10 (d, J=7,6 Гц, 0,6 H); 8,32 (m, 1 H); 8,35 (d, J=8,2 Гц, 1 H).

Пример 1: 15-(3-(((S)-1-(((S)-1-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-

8,11-диазациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)амино)-3-оксопропил)-14-оксо-2,5,8,11-тетраокса-15-азаоктадекан-18-оая кислота

В атмосфере аргона к раствору **соединения 12** (60 мг, 47,25 мкмоль) в DCM (5 мл) добавляли тетракис(трифенилфосфин)палладий(0) (2,76 мг, 2,36 мкмоль) и 1,3-диметилбарбитуровую кислоту (22,58 мг, 141,74 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 1 ч. при к. т. и концентрировали *in vacuo*. Неочищенный продукт очищали с помощью флеш-хроматографии на 4 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 31 мг **соединения из примера 1** (53%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): 0,79 (d, J=7,0 Гц, 6 H); 0,80 до 0,88 (m, 6 H); 1,00 (s, 3 H); 1,04 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,12 (s, 3 H); 1,23 (m, 3 H); 1,31 (m, 1 H); 1,51 до 1,62 (m, 2 H); 1,80 (m, 1 H); 1,95 (m, 1 H); 2,27 (m, 1 H); 2,35 до 2,60 (частично скрытый m, 6 H); 2,62 до 2,73 (m, 2 H); 2,93 до 3,06 (m, 3 H); 3,23 (s, 3 H); 3,28 до 3,35 (скрытый m, 1 H); 3,36 до 3,65 (m, 18 H); 3,81 (s, 3 H); 3,87 (d, J=2,0 Гц, 1 H); 4,11 до 4,34 (m, 5 H); 4,91 (m, 1 H); 5,10 (m, 1 H); 5,79 (d, J=15,5 Гц, 1 H); 6,48 (ddd, J=3,8, 11,3 и 15,5 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,7 Гц, 1 H); 7,17 (dd, J=2,0 и 8,7 Гц, 1 H); 7,24 (m, 5 H); 7,29 (d, J=2,0 Гц, 1 H); 7,95 до 8,18 (m, 2 H); 8,30 до 8,46 (m, 2 H); 12,27 (широкий m, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=615 [M+2H]²⁺; масса/заряд=1227 [M-H]⁻; масса/заряд=1229 [M+H]⁺; Rt=1,26 мин.

Пример 2: 2,5-диоксопирролидин-1-ил-15-(3-(((S)-1-(((S)-1-((4-((2R,3R)-3-(((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-диазациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)амино)-3-оксопропил)-14-оксо-2,5,8,11-тетраокса-15-азаоктадекан-18-оат

К раствору **соединения из примера 1** (30 мг, 24,39 мкмоль) в THF (5 мл) добавляли DSC (7,65 мг, 29,27 мкмоль) и DIEA (9,88 мкл, 58,54 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи, затем концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 5 г модифицированного диолом силикагеля (градиентное элюирование DCM/iPrOH) с получением 17 мг **соединения из примера 2** (53%).

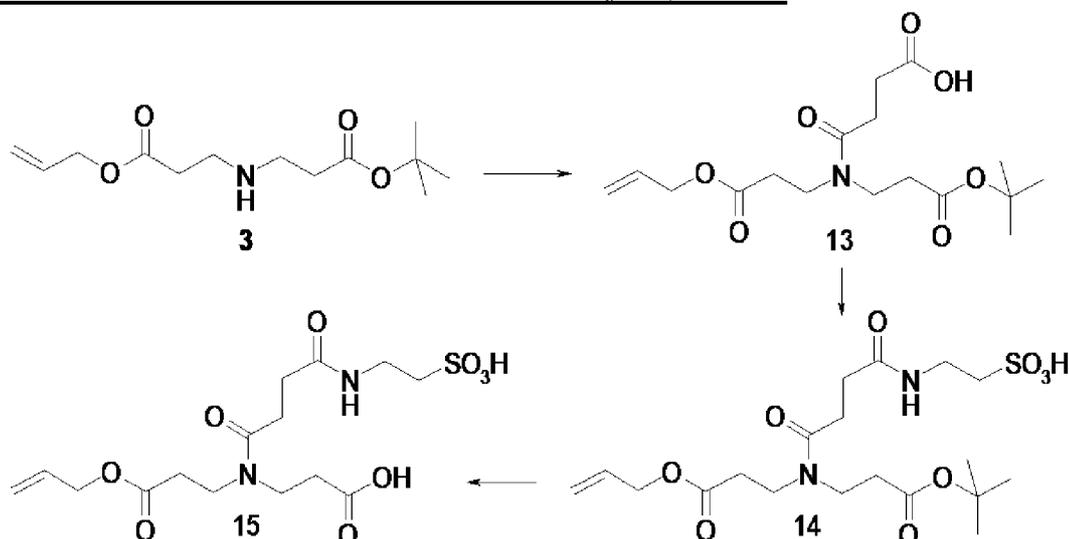
¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): смесь конформеров 70/30; 0,79 (d, J=7,0 Гц, 6 H); 0,80 до 0,87 (m, 6 H); 1,00 (s, 3 H); 1,04 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,12 (s, 3 H); 1,21 до 1,34 (m, 4 H); 1,51 до 1,62 (m, 2 H); 1,80 (m, 1 H); 1,93 (m, 1 H); 2,27 (m, 1 H); 2,35 до 2,72 (частично скрытый m, 6 H); 2,81 (широкий s, 4 H); 2,88 до 3,06 (m, 5 H); 3,23 (s, 3 H); 3,28 до 3,37 (скрытый m, 1 H); 3,40 до 3,79 (m, 18 H); 3,81 (s, 3 H); 3,88 (s, 1 H); 4,13 до 4,33 (m, 5 H); 4,90 (m, 1 H); 5,10 (m, 1 H); 5,79 (d, J=15,5 Гц, 1 H); 6,46 (ddd, J=3,8, 11,5 и 15,5 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,7 Гц, 1 H); 7,17 (широкий s, 1 H); 7,24 (m, 5 H); 7,29 (широкий s, 1 H); 7,94 (d, J=8,8 Гц, 0,3 H); 8,06 (m, 1 H); 8,12 (d, J=8,1 Гц, 0,7 H); 8,32 (m, 1 H); 8,36 (d, J=8,1 Гц, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=663,5 [M+2H]²⁺; масса/заряд=1324 [M-H]⁻; масса/заряд=1326 [M+H]⁺; масса/заряд=1374 [M-H+HCO₂H]⁻; Rt=1,3 мин.

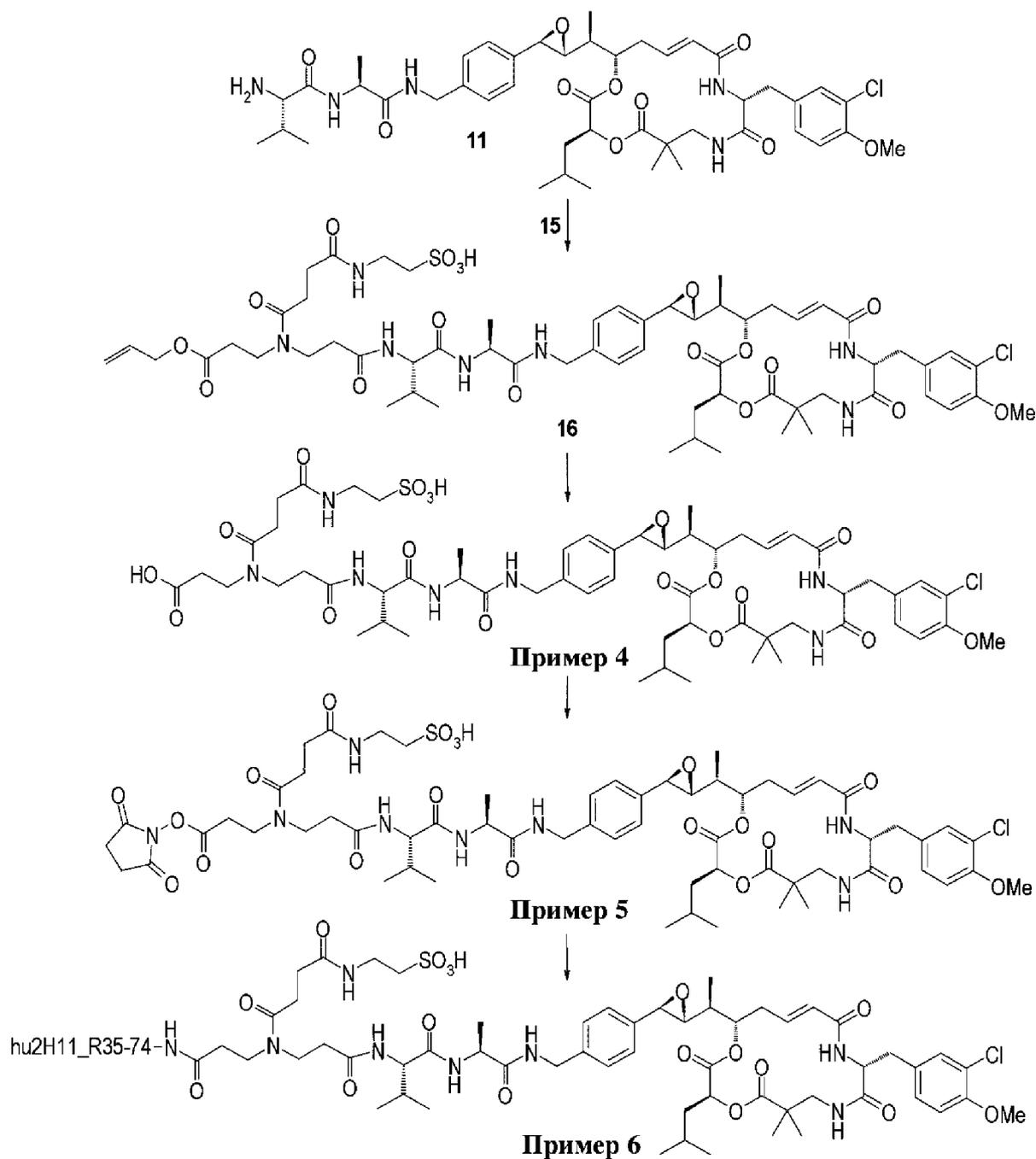
Пример 3: hu2H11_R35-74-Ex2

Общий способ, описанный ранее, использовали для получения соединения из **примера 3**. 15 мг hu2H11_R35-74 вводили в реакцию с 55,2 мкл 9,1 мМ раствора соединения из **примера 2** в DMA (10 экв.) в течение 3 ч. 30 мин. После очистки на Superdex 200 pg в буфере В с pH 6,5+10% NMP, концентрирования на Amicon Ultra-15, замены буфера на Nap-10 в буфере В с pH 6,5+5% NMP и фильтрации на PVDF-фильтре с размером пор 0,22 мкм получали 3,36 мг соединения из **примера 3** в виде бесцветного прозрачного раствора при концентрации 2,24 мг/мл с DAR 3,4 (HRMS), мономерной чистотой 99,8% и общим выходом 22%.

SEC-HRMS: масса/заряд=149354 (неконъюгированное mAb); масса/заряд=150563 (D1); масса/заряд=151774 (D2); масса/заряд=152966 (D3); масса/заряд=154169 (D4); масса/заряд=155410 (D5); масса/заряд=156623 (D6); масса/заряд=157835 (D7); масса/заряд=159051 (D8).

Синтез примеров 4-6: сульфо-Val-Ala-C52-бензиламин, NHS-сложный эфир сульфо-Val-Ala-C52-бензиламина и соответствующий ADC





Соединение 13: 4-((3-(аллилокси)-3-оксопропил)(3-(*трет*-бутокси)-3-оксопропил)амино)-4-оксобутановая кислота

Раствор **соединения 3** (958 мг, 3,72 ммоль) в DCM (5 мл) и янтарный ангидрид (752,65 мг, 7,45 ммоль) перемешивали в течение 3 ч. при к. т. Реакционную среду концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 24 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 1,3 г **соединения 13** (98%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): смесь конформеров 50/50; 1,39 (s, 4,5 H); 1,40 (s, 4,5 H); 2,33 до 2,43 (m, 3 H); 2,45 до 2,55 (частично скрытый m, 4 H); 2,69 (t, J=7,5 Гц, 1 H); 3,40 (t, J=7,5 Гц, 1 H); 3,45 (t, J=7,5 Гц, 1 H); 3,53 (t, J=7,5 Гц, 1 H); 3,59 (t, J=7,5 Гц, 1 H); 4,53 (m, 1 H); 4,59 (m, 1 H); 5,19 до 5,35 (m, 2 H); 5,91 (m, 1 H); 12,06 (широкий m, 1 H).

Соединение 14: 2-(4-((3-(аллилокси)-3-оксопропил)(3-(*трет*-бутокси)-3-оксопропил)амино)-4-оксобутанамидо)этансульфоновая кислота

Смесь **соединения 13** (1,3 г, 3,64 ммоль) в THF (12 мл) и DSC (1,14 г, 4,36 ммоль) и DIEA (1,84 мл, 10,91 ммоль) перемешивали в течение 5 ч. при к. т. По истечении этого времени добавляли раствор таурина (718,75 мг, 5,46 ммоль) в воде (9 мл) и среду перемешивали при к. т. в течение ночи. В это же время добавляли DSC (1,14 г, 4,36 ммоль) и DIEA (1,84 мл, 10,91 ммоль) и среду перемешивали при к. т. в течение ночи. В это же время добавляли таурин (2,4 г, 18,2 ммоль) в воде (5 мл) и реакционную среду перемешивали в течение 1 ч. при к. т., затем концентрировали и очищали с помощью флеш-хроматографии на 70 г C18-привитого силикагеля (градиентное элюирование CH₃CN/H₂O) с получением 1,28 г **соединения 14** (76%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): смесь конформеров 50/50; 1,39 (s, 4,5 H); 1,40 (s, 4,5 H); 2,26 (t, J=7,2 Гц, 2 H); 2,38 (t, J=7,5 Гц, 1 H); 2,47 до 2,55 (частично скрытый m, 6 H); 2,69 (t, J=7,5 Гц, 1 H); 3,28 (m, 2 H); 3,40 (t, J=7,5 Гц, 1 H); 3,44 (t, J=7,5 Гц, 1 H); 3,52 (t, J=7,5 Гц, 1 H); 3,58 (t, J=7,5 Гц, 1 H); 4,53 (m, 1 H); 4,58 (m, 1 H); 5,19 до 5,35 (m, 2 H); 5,91 (m, 1 H); 7,70 (широкий t, J=6,5 Гц, 1 H).

Соединение 15: 3-(N-(3-(аллилокси)-3-оксопропил)-4-оксо-4-((2-сульфоэтил)-амино)бутанамидо)пропановая кислота

Раствор **соединения 14** (300 мг, 645,81 мкмоль) в DCM (5 мл) и TFA (484,57 мкл, 6,46 ммоль) перемешивали при к. т. в течение ночи. В это же время добавляли TFA (250 мкл). Реакционную среду перемешивали несколько часов и концентрировали *in vacuo*, затем разбавляли толуолом и концентрировали *in vacuo* дважды с получением 260 мг **соединения 15** (99%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): смесь конформеров 50/50; 2,27 (t, J=7,2 Гц, 2 H); 2,40 (t, J=7,6 Гц, 1 H); 2,48 до 2,56 (частично скрытый m, 6 H); 2,68 (t, J=7,6 Гц, 1 H); 3,28 (m, 2 H); 3,40 (t, J=7,6 Гц, 1 H); 3,46 (t, J=7,6 Гц, 1 H); 3,50 (t, J=7,6 Гц, 1 H); 3,59 (t, J=7,6 Гц, 1 H); 4,54 (m, 1 H); 4,57 (m, 1 H); 5,18 до 5,35 (m, 2 H); 5,91 (m, 1 H); 7,65 (широкий t, J=6,5 Гц, 1 H). LCMS (D): ES масса/заряд=409 [M+H]⁺; Rt=1,49 мин.

Соединение 16: (4S,7S)-12-(3-(аллилокси)-3-оксопропил)-1-(4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дiazациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)фенил)-7-изопропил-4-метил-3,6,9,13,16-пентаоксо-2,5,8,12,17-пентаазанонадекан-19-сульфоновая кислота

В атмосфере аргона к раствору **соединения 15** (28,22 мг, 69,09 мкмоль) в DMF (3 мл) добавляли DIEA (23,30 мкл, 138,18 мкмоль), HOBT (9,72 мг, 69,09 мкмоль), EDC (12,49 мкл, 69,09 мкмоль) и раствор **соединения 11** (60 мг, 69,09 мкмоль) в DMF (2 мл). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи. Для завершения реакции добавляли **соединение 15** (28,22 мг, 69,09 мкмоль), DIEA (23,30 мкл, 138,18 мкмоль), HOBT (9,72 мг, 69,09 мкмоль), EDC (12,49 мкл, 69,09 мкмоль) и реакционную среду перемешивали при к. т. в течение 1 дня. В это же время реакционную среду

концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 70 г C18-привитого силикагеля (градиентное элюирование CH₃CN/H₂O) с получением 24 мг **соединения 16** (24%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): смесь конформеров 60/40; 0,79 (d, J=7,0 Гц, 6 H); 0,80 до 0,87 (m, 6 H); 1,00 (s, 3 H); 1,04 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,11 (s, 3 H); 1,23 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,30 (m, 1 H); 1,52 до 1,63 (m, 2 H); 1,80 (m, 1 H); 1,95 (m, 1 H); 2,27 (m, 3 H); 2,34 до 2,58 (частично скрытый m, 6 H); 2,63 до 2,73 (m, 2 H); 2,93 до 3,03 (m, 3 H); 3,25 до 3,59 (частично скрытый m, 9 H); 3,81 (s, 3 H); 3,88 (d, J=1,4 Гц, 1 H); 4,10 до 4,33 (m, 5 H); 4,53 (m, 1,2 H); 4,56 (m, 0,8 H); 4,91 (m, 1 H); 5,10 (m, 1 H); 5,20 (m, 1 H); 5,29 (qd, J=1,8 и 17,3 Гц, 0,6 H); 5,31 (qd, J=1,8 и 17,3 Гц, 0,4 H); 5,79 (dd, J=1,8 и 15,4 Гц, 1 H); 5,90 (m, 1 H); 6,47 (ddd, J=3,8, 11,8 и 15,4 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,7 Гц, 1 H); 7,18 (dd, J=2,4 и 8,7 Гц, 1 H); 7,24 (m, 5 H); 7,29 (d, J=2,4 Гц, 1 H); 7,69 (t, J=5,8 Гц, 1 H); 7,97 (d, J=8,8 Гц, 0,4 H); 8,04 (d, J=7,7 Гц, 0,4 H); 8,07 (d, J=8,8 Гц, 0,6 H); 8,11 (d, J=7,7 Гц, 0,6 H); 8,31 (t, J=6,3 Гц, 1 H); 8,38 (d, J=8,3 Гц, 1 H); 11,83 (широкий m, 1 H). LCMS (D): ES масса/заряд=1256 [M-H]⁻; Rt=2,58 мин.

Пример 4: (4S,7S)-1-(4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дiazациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)фенил)-7-изопропил-4-метил-3,6,9-триоксо-12-(4-оксо-4-((2-сульфоэтил)амино)бутаноил)-2,5,8,12-тетраазапентадекан-15-овая кислота

В атмосфере аргона к раствору **соединения 16** (24 мг, 19,06 мкмоль) в CH₃CN (2 мл) добавляли DMF (0,5 мл), 1,3-диметилбарбитуровую кислоту (9,11 мг, 57,19 мкмоль) и тетраакис(трифенилфосфин)палладий(0) (1,11 мг, 0,953 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 1 ч. при к. т., затем концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 10 г C18-привитого силикагеля (градиентное элюирование CH₃CN/H₂O) с получением 16 мг **соединения из примера 4** (70%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): смесь конформеров 60/40; 0,79 (d, J=7,0 Гц, 6 H); 0,80 до 0,86 (m, 6 H); 0,99 (s, 3 H); 1,04 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,12 (s, 3 H); 1,24 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,31 (m, 1 H); 1,52 до 1,62 (m, 2 H); 1,80 (m, 1 H); 1,95 (m, 1 H); 2,21 до 2,31 (m, 3 H); 2,34 до 2,59 (частично скрытый m, 8 H); 2,62 до 2,75 (m, 2 H); 2,94 до 3,05 (m, 3 H); 3,25 до 3,58 (частично скрытый m, 7 H); 3,81 (s, 3 H); 3,88 (d, J=1,9 Гц, 1 H); 4,09 до 4,33 (m, 5 H); 4,90 (m, 1 H); 5,10 (m, 1 H); 5,79 (d, J=15,5 Гц, 1 H); 6,47 (ddd, J=4,0, 11,4 и 15,5 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,7 Гц, 1 H); 7,17 (dd, J=2,2 и 8,7 Гц, 1 H); 7,21 до 7,26 (m, 5 H); 7,29 (d, J=2,2 Гц, 1 H); 7,69 (m, 1 H); 7,97 (d, J=9,0 Гц, 0,4 H); 8,04 (d, J=7,7 Гц, 0,4 H); 8,08 (d, J=9,0 Гц, 0,6 H); 8,12 (d, J=7,7 Гц, 0,6 H); 8,31 (t, J=6,5 Гц, 1 H); 8,38 (d, J=8,2 Гц, 1 H); 12,2 (широкий m, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=609,5 [M+2H]²⁺; масса/заряд=1216 [M-H]⁻; масса/заряд=1218 [M+H]⁺; Rt=1,72 мин.

Пример 5: (4S,7S)-1-(4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дiazациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)фенил)-12-(3-((2,5-

диоксопирролидин–1–ил)окси)–3–оксопропил)–7–изопропил–4–метил–3,6,9,13,16–пентаоксо–2,5,8,12,17–пентаазанодекан–19–сульфоная кислота

В атмосфере аргона смесь соединения из **примера 4** (16 мг, 13,13 мкмоль) в DMF (1 мл), DSC (4,12 мг, 15,75 мкмоль) и DIEA (2,66 мкл, 15,75 мкмоль) перемешивали при к. т. в течение ночи. В это же время реакционную среду концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш–хроматографии на 5 г C18–привитого силикагеля (градиентное элюирование CH₃CN/H₂O) с получением 12,5 мг соединения из **примера 5** (73%).

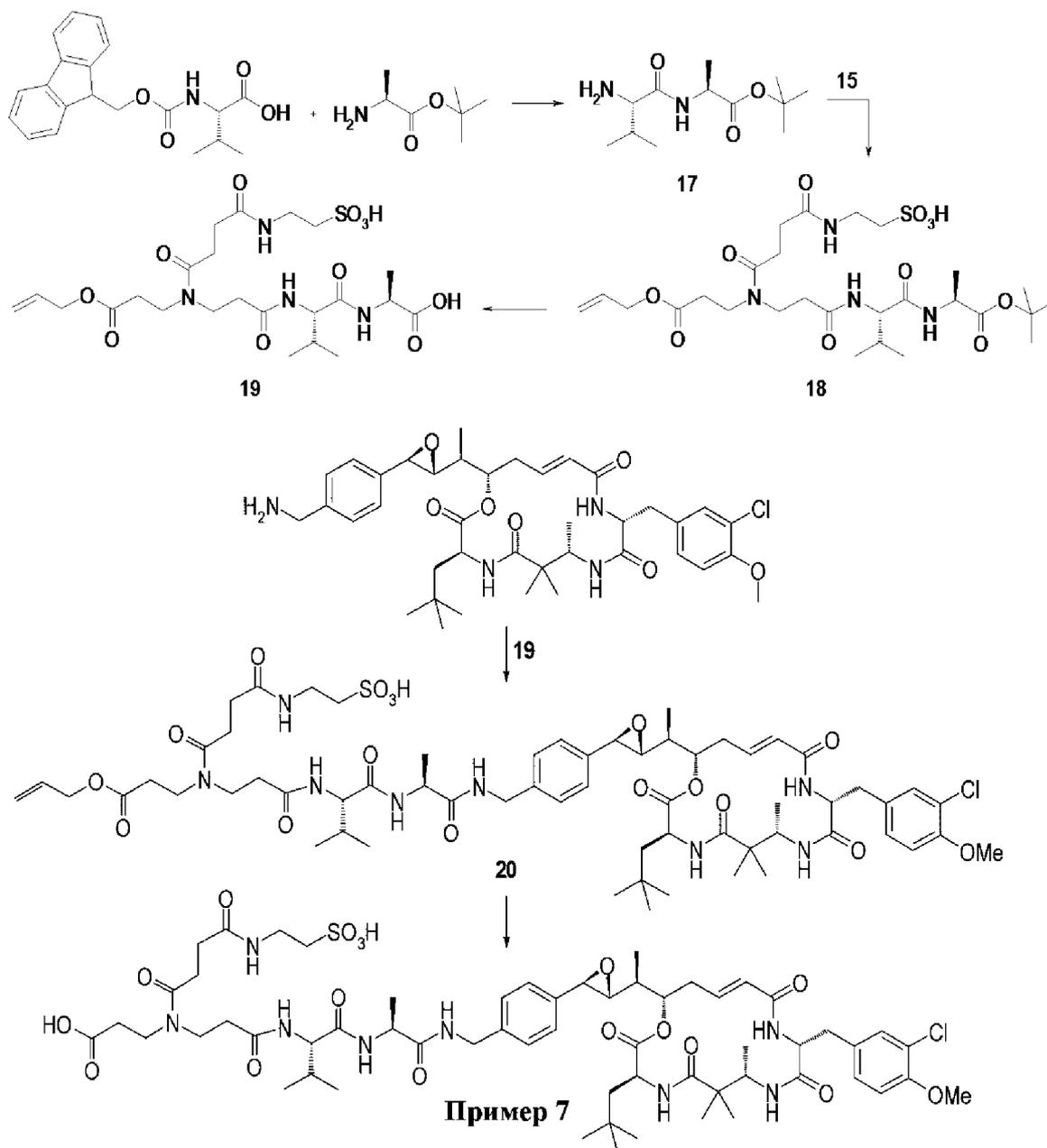
¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO–*d*6): смесь конформеров 60/40; 0,79 (d, J=7,0 Гц, 6 H); 0,80 до 0,86 (m, 6 H); 0,99 (s, 3 H); 1,04 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,11 (s, 3 H); 1,23 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,31 (m, 1 H); 1,51 до 1,62 (m, 2 H); 1,80 (m, 1 H); 1,93 (m, 1 H); 2,21 до 2,31 (m, 3 H); 2,35 до 2,59 (частично скрытый m, 6 H); 2,62 до 2,74 (m, 2 H); 2,81 (широкий s, 4 H); 2,85 до 3,05 (m, 4 H); 3,20 до 3,68 (частично скрытый m, 8 H); 3,81 (s, 3 H); 3,88 (d, J=1,9 Гц, 1 H); 4,10 до 4,33 (m, 5 H); 4,90 (m, 1 H); 5,10 (m, 1 H); 5,79 (d, J=15,5 Гц, 1 H); 6,46 (ddd, J=4,0, 11,4 и 15,5 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,7 Гц, 1 H); 7,18 (dd, J=2,2 и 8,7 Гц, 1 H); 7,21 до 7,26 (m, 5 H); 7,29 (d, J=2,2 Гц, 1 H); 7,69 (m, 1 H); 7,97 (d, J=9,0 Гц, 0,4 H); 8,05 (d, J=7,7 Гц, 0,4 H); 8,08 (d, J=9,0 Гц, 0,6 H); 8,12 (d, J=7,7 Гц, 0,6 H); 8,31 (t, J=6,5 Гц, 1 H); 8,38 (d, J=8,2 Гц, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=658 [M+2H]²⁺; масса/заряд=1313 [M–H][–]; масса/заряд=1315 [M+H]⁺; Rt=1,82 мин.

Пример 6: hu2H11_R35–74–Ex5

Общий способ, описанный ранее, использовали для получения соединения из **примера 6**. 15 мг hu2H11_R35–74 вводили в реакцию с 42 мкл 10 mM раствора соединения из **примера 5** в DMA (4 экв.) в течение 1 ч. 20 мин., затем последовательно добавляли 42 мкл 10 mM раствора соединения из **примера 5** в DMA (4 экв.) в течение 1 ч. 20 мин., 53 мкл 10 mM раствора соединения из **примера 5** в DMA (5 экв.) в течение 1 ч. 30 мин. и наконец 42 мкл 10 mM раствора соединения из **примера 5** в DMA (4 экв.) в течение 1 ч. После очистки на Superdex 200 pg в буфере В с pH 6,5+20% NMP, концентрирования на Amicon Ultra–15, замены буфера на PD–10 в буфере В с pH 6,5+5% NMP и фильтрации на PVDF–фильтре с размером пор 0,22 мкм получали 3,33 мг соединения из **примера 6** в виде бесцветного прозрачного раствора при концентрации 1,33 мг/мл с DAR 4,05 (HRMS), мономерной чистотой 99% и общим выходом 22%.

SEC–HRMS: масса/заряд=150568 (D1); масса/заряд=151768 (D2); масса/заряд=152971 (D3); масса/заряд=154172 (D4); масса/заряд=155375 (D5); масса/заряд=156574 (D6); масса/заряд=157944 (D7); масса/заряд=158984 (D8).

Синтез примера 7: сульфо–Val–Ala–азакриптобензиламин



Соединение 17: *tert*-бутил-L-валил-L-аланинат

К раствору Fmoc-Val-OH (номер CAS [68858-20-8], 3 г, 8,66 ммоль) в DCM (60 мл) в атмосфере Ar добавляли EDC (2,02 г, 12,99 ммоль), HOBT (1,46 г, 10,40 ммоль) и гидрохлорид сложного *tert*-бутилового эфира L-аланина (номер CAS [13404-22-3], 1,61 г, 8,66 ммоль). Реакционную среду перемешивали в течение 1 дня при к. т., гасили с помощью H₂O (30 мл) и экстрагировали с помощью DCM (3×30 мл). Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали, концентрировали *in vacuo* с получением 5 г Fmoc-защищенного дипептида в виде белого твердого вещества (колич.). К раствору данного промежуточного соединения (5 г, 8,66 ммоль) в DCM (50 мл) добавляли пиперидин (8,64 мл, 86,63 ммоль). Реакционную среду перемешивали в течение 1 ч. при к. т. и концентрировали *in vacuo*. Неочищенный продукт разбавляли с помощью Et₂O и фильтровали с получением 1,77 г твердого вещества, которое дополнительно очищали посредством двух последовательных операций флеш-

хроматографии на 120 г и 50 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 500 мг **соединения 17** в виде белого твердого вещества (24%).

^1H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): 0,79 (d, J=6,9 Гц, 3 H); 0,89 (d, J=6,9 Гц, 3 H); 1,24 (d, J=7,3 Гц, 3 H); 1,40 (s, 9 H); 1,62 (широкий s, 2 H); 1,86 (m, 1 H); 2,95 (d, J=5,2 Гц, 1 H); 4,15 (m, 1 H); 8,09 (широкий d, J=7,3 Гц, 1 H).

Соединение 18: (5S,8S)-13-(3-(аллилокси)-3-оксопропил)-8-изопропил-2,2,5-триметил-4,7,10,14,17-пентаоксо-3-окса-6,9,13,18-тетраазаикозан-20-сульфоновая кислота

К раствору **соединения 15** (250 мг, 612,1 мкмоль) в DMF (6 мл) в атмосфере Ar добавляли DIEA (309,7 мкл, 1,84 ммоль) и DSC (163,34 мг, 612,1 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 1 ч. при к. т., затем добавляли раствор **соединения 17** (149,56 мг, 612,1 мкл) в DMF (1 мл). Реакционную среду перемешивали в течение 2 ч. при к. т. и очищали с помощью хроматографии с обращенной фазой на колонке C18 5 мкм, 30×100 мм (градиентное элюирование MeCN+0,07% TFA/H₂O+0,07% TFA) с получением 215 мг **соединения 18** в виде белой пены (55%).

^1H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): смесь конформеров 60/40; 0,84 (d, J=6,9 Гц, 3 H); 0,87 (d, J=6,9 Гц, 3 H); 1,12 (d, J=7,3 Гц, 3 H); 1,39 (s, 9 H); 1,92 (m, 1 H); 2,20 до 2,70 (частично скрытый m, 10 H); 3,28 (m, 2 H); 3,34 до 3,60 (m, 4 H); 4,10 (m, 1 H); 4,20 (m, 1 H); 4,53 (td, J=1,6 и 5,5 Гц, 1,2 H); 4,57 (td, J=1,6 и 5,5 Гц, 0,8 H); 5,20 (m, 1 H); 5,30 (m, 1 H); 5,90 (m, 1 H); 7,69 (широкий t, J=6,4 Гц, 1 H); 7,91 (d, J=9,6 Гц, 0,4 H); 8,04 (d, J=9,6 Гц, 0,6 H); 8,23 (d, J=7,2 Гц, 0,4 H); 8,30 (d, J=7,2 Гц, 0,6 H).

Соединение 19: (3-(N-(3-(аллилокси)-3-оксопропил)-4-оксо-4-((2-сульфоэтил)амино)-бутанамидо)-пропаноил)-L-валил-L-аланин

К раствору **соединения 18** (215 мг, 338,72 мкмоль) в DCM (5 мл) добавляли TFA (508,3 мкл, 6,77 ммоль). Реакционную среду перемешивали в течение 1 дня при к. т., концентрировали *in vacuo* и выпаривали совместно с толуолом (3 x) с получением 200 мг **соединения 19** в виде белой пены (колич.).

Соединение 20: (4S,7S)-12-(3-(аллилокси)-3-оксопропил)-1-(4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,7S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-6,6,7-триметил-3-неопентил-2,5,9,12-тетраоксо-1-окса-4,8,11-триазациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)фенил)-7-изопропил-4-метил-3,6,9,13,16-пентаоксо-2,5,8,12,17-пентаазанонадекан-19-сульфоновая кислота

К раствору **соединения 19** (200 мг, 345,6 мкмоль) в DMF (9 мл) добавляли DSC (108 мг, 413,2 мкмоль) и DIEA (200 мкл, 1,185 ммоль). Реакционную среду перемешивали в течение 6 ч. при к. т., затем добавляли DSC (108 мг, 413,2 мкмоль) и DIEA (200 мкл, 1,185 ммоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи, затем добавляли DSC (50 мг, 191,3 мкмоль) и DIEA (100 мкл, 592,5 мкмоль) и проводили перемешивание в течение 1 ч. при к. т. К 3 мл раствора активированного сложного эфира добавляли (3S,7S,10R,16S, E)-16-((S)-1-((2R,3R)-3-(4-(аминометил)фенил)оксиран-2-ил)этил)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-6,6,7-триметил-3-неопентил-1-окса-4,8,11-

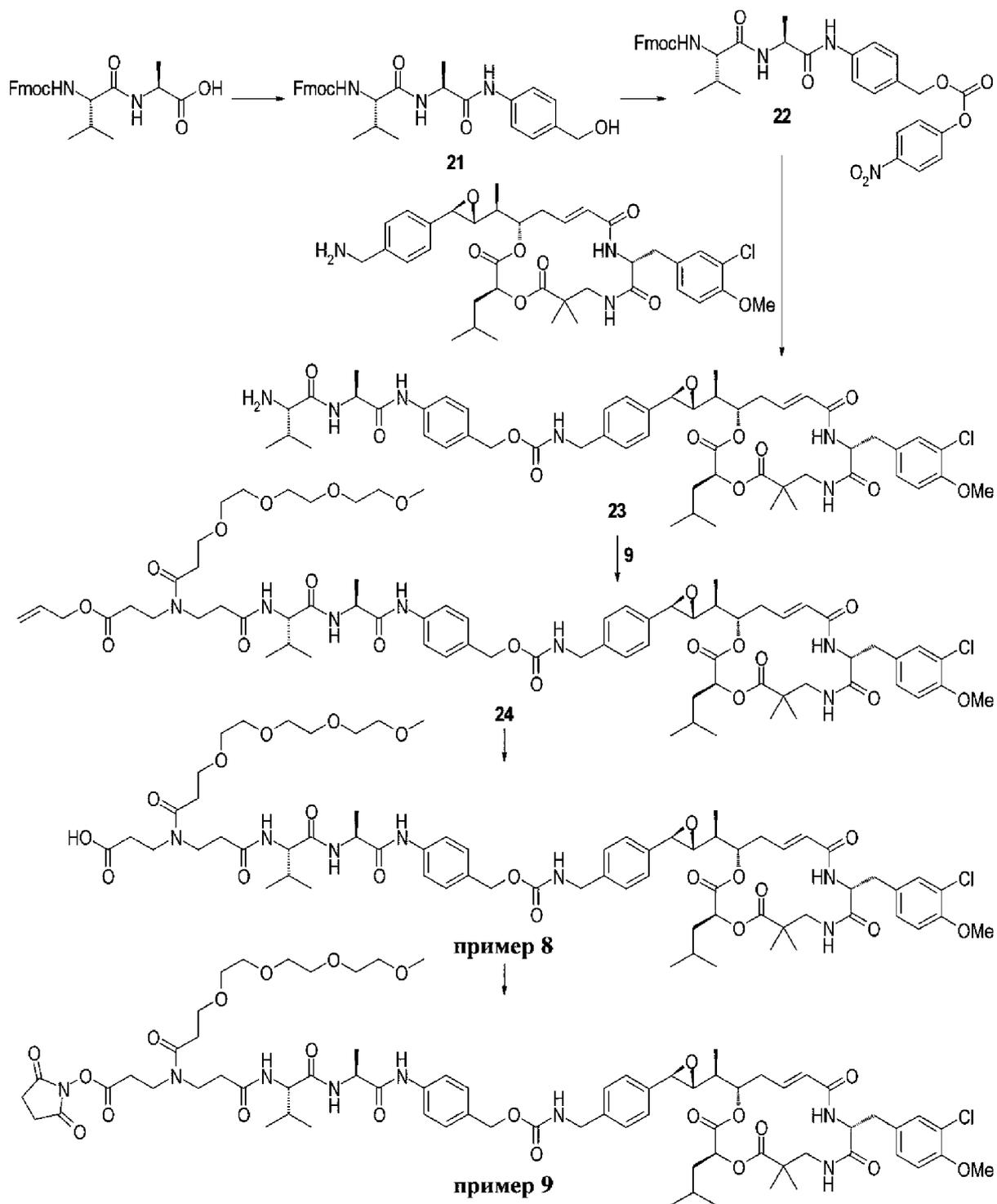
триазациклогексадец-13-ен-2,5,9,12-тетраон (который может быть синтезирован как описано в **РСТ/EP2016/076603** исходя из метил-(3S)-3-амино-2,2-диметилбутаноата, [MFCD09256689], 70 мг, 96,51 мкмоль), EDC (17 мкл, 77,8 мкмоль) и HOBT (19 мг, 124 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 1 ч. при к. т., концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 10 г C18-модифицированного силикагеля (градиентное элюирование MeCN/H₂O) с получением 30 мг **соединения 20** в виде белого лака (24%).

¹H ЯМР (600 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,79 до 0,90 (m, 15 H); 0,98 (m, 3 H); 1,00 (s, 3 H); 1,03 (d, J=7,3 Гц, 3 H); 1,19 (s, 3 H); 1,24 (разделенный d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,34 (d, J=14,1 Гц, 1 H); 1,81 (m, 1 H); 1,91 (m, 1 H); 1,98 (dd, J=9,3 и 14,1 Гц, 1 H); 2,25 (m, 3 H); 2,38 (m, 1 H); 2,50 (частично скрытый m, 5 H); 2,60 (m, 1 H); 2,68 (m, 1 H); 2,91 (m, 1 H); 2,96 (m, 2 H); 3,25 до 3,58 (частично скрытый m, 9 H); 3,80 (s, 3 H); 3,91 (m, 1 H); 4,00 до 4,35 (m, 6 H); 4,53 (m, 2 H); 5,03 (m, 1 H); 5,20 (m, 1 H); 5,30 (m, 1 H); 5,89 (d, J=16,1 Гц, 1 H); 5,91 (m, 1 H); 6,44 (ddd, J=5,0, 10,5 и 16,1 Гц, 1 H); 7,03 (d, J=8,7 Гц, 1 H); 7,19 до 7,28 (m, 5 H); 7,31 (s, 1 H); 7,69 (m, 1 H); 7,86 (d, J=8,2 Гц, 1 H); 7,91 (m, 1 H); 7,95 до 8,17 (m, 2 H); 8,32 (m, 1 H); 8,39 (m, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=1283 [M-H]⁻; масса/заряд=1285 [M+H]⁺; масса/заряд=1307 [M+Na]⁺; Rt=1,93 мин.

Пример 7: (4S,7S)-1-(4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,7S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-6,6,7-триметил-3-неопентил-2,5,9,12-тетраоксо-1-окса-4,8,11-триазациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)-оксиран-2-ил)фенил)-7-изопропил-4-метил-3,6,9-триоксо-12-(4-оксо-4-((2-сульфоэтил)амино)бутаноил)-2,5,8,12-тетраазапентадекан-15-овая кислота

К раствору **соединения 20** (30 мг, 23,33 мкмоль) в DCM (2 мл) и DMF (0,3 мл) в атмосфере Ar добавляли тетраакис(трифенилфосфин)палладий(0) (1,38 мг, 1,17 мкмоль) и 1,3-диметилбарбитуровую кислоту (11,15 мг, 69,99 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 1 ч. при к. т. и очищали с помощью хроматографии с обращенной фазой на 1 г C18-модифицированного силикагеля (градиентное элюирование MeCN/H₂O) с получением 15 мг белого порошка, который дополнительно очищали на силикагеле (градиентное элюирование DCM/MeOH/H₂O) с получением 7 мг **соединения 7** в виде белого лака (24%).

Синтез примеров 8 и 9: PEG4-Val-Ala-PAVA-C52-бензиламин и NHS-сложный эфир PEG4-Val-Ala-PAVA-C52-бензиламина



Соединение 21: (9H-флуорен-9-ил)метил-((S)-1-(((S)-1-((4-(гидрокси)метил)фенил)-амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)карбамат

К раствору Fmoc-Val-Ala-OH (номер CAS [150114-97-9], 1 г, 2,44 ммоль) в DCM (30 мл) и MeOH (15 мл) добавляли 4-аминобензиловый спирт (612 мг, 4,87 ммоль) и EEDQ (1,22 г, 4,87 ммоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение 24 ч., затем добавляли дополнительное количество 4-аминобензинового спирта (612 мг, 4,87 ммоль) и EEDQ (1,22 г, 4,87 ммоль) и проводили перемешивание в течение 2 ч. Реакционную среду затем концентрировали *in vacuo*; добавляли Et₂O к неочищенному

продукту, смесь перемешивали и фильтровали с получением коричневого твердого вещества, которое разбавляли в Et₂O и смесь перемешивали при к. т. в течение ночи. Затем смесь фильтровали и осадок высушивали с получением 1,3 г **соединения 21** в виде коричневого твердого вещества (колич.).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,86 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 0,89 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,30 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 2,00 (m, 1 H); 3,91 (m, 1 H); 4,19 до 4,34 (m, 4 H); 4,43 (d, J=5,7 Гц, 2 H); 5,08 (t, J=5,7 Гц, 1 H); 7,23 (d, J=7,9 Гц, 2 H); 7,31 (t, J=7,9 Гц, 2 H); 7,40 (m, 3 H); 7,53 (d, J=9,1 Гц, 2 H); 7,73 (t, J=8,6 Гц, 2 H); 7,89 (d, J=7,9 Гц, 2 H); 8,16 (d, J=7,3 Гц, 1 H); 9,91 (s, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=292; масса/заряд=393; масса/заряд=516 [M+H]⁺; Rt=1,21 мин.

Соединение 22: (9H-флуорен-9-ил)метил-((S)-3-метил-1-(((S)-1-((4-(((4-нитрофенокси)карбонил)-окси)метил)фенил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-1-оксобутан-2-ил)карбамат

К раствору **соединения 21** (1,3 г, 2,52 ммоль) в DMF (10 мл) в атмосфере Ar добавляли DIEA (2,55 мл, 15,13 ммоль), раствор охлаждали при 0°C перед добавлением 4-нитрофенилхлорформиата (1,57 г, 7,56 ммоль). Реакционную среду перемешивали в течение 2 ч. при к. т. Добавляли 20 мл H₂O и среду экстрагировали дважды с помощью EtOAc (10 мл). Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали, концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 120 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 600 мг **соединения 22** в виде твердого вещества (35%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,86 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 0,89 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,31 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,99 (m, 1 H); 3,91 (m, 1 H); 4,18 до 4,35 (m, 3 H); 4,43 (m, 1 H); 5,24 (s, 2 H); 7,31 (t, J=7,9 Гц, 2 H); 7,35 до 7,44 (m, 5 H); 7,56 (d, J=9,1 Гц, 2 H); 7,63 (d, J=8,6 Гц, 2 H); 7,74 (m, 2 H); 7,88 (d, J=7,9 Гц, 2 H); 8,19 (d, J=7,3 Гц, 1 H); 8,31 (d, J=9,1 Гц, 2 H); 10,07 (s, 1 H).

Соединение 23: 4-((S)-2-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил-4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дизаациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензилкарбамат

К раствору (3S,10R,16S, E)-16-((S)-1-((2R,3R)-3-(4-(аминометил)фенил)оксиран-2-ил)этил)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-1,4-диокса-8,11-дизаациклогексадец-13-ен-2,5,9,12-тетраона (синтез которого описан в **WO2011001052**, соединение 77, 100 мг, 143,2 мкмоль) в THF (5 мл) в атмосфере аргона добавляли **соединение 22** (117 мг, 171,9 мкмоль) и DIEA (60,4 мкл, 358 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в атмосфере Ar в течение ночи. Затем добавляли пиперидин (142,9 мкл, 1,43 ммоль) и реакционную среду перемешивали в течение 1 ч. при к. т. После концентрирования *in vacuo* неочищенную среду очищали посредством флеш-хроматографии на 5 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 100 мг **соединения 23** в виде белого твердого вещества (73%).

Соединение 24: аллил-15-(3-(((S)-1-(((S)-1-((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дiazациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)карбамоил)окси)-метил)фенил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)амино)-3-оксопропил)-14-оксо-2,5,8,11-тетраокса-15-азаоктадекан-18-оат

К раствору **соединения 23** (100 мг, 98,3 мкмоль) в THF (5 мл) в атмосфере Ar добавляли **соединение 9** (50,8 мг, 98,3 мкмоль) и DIEA (24,9 мкл, 147,4 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 1 ч. при к. т., концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 5 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 128 мг **соединения 24** в виде белого твердого вещества (91%).

^1H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): смесь конформеров 60:40; 0,78 (d, J=6,8 Гц, 6 H); 0,82 (d, J=7,0 Гц, 1,8 H); 0,84 (d, J=7,0 Гц, 1,2 H); 0,86 (d, J=7,0 Гц, 1,8 H); 0,88 (d, J=7,0 Гц, 1,2 H); 1,00 (s, 3 H); 1,04 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,11 (s, 3 H); 1,30 (m, 4 H); 1,57 (m, 2 H); 1,80 (m, 1 H); 1,95 (m, 1 H); 2,26 (m, 1 H); 2,40 (m, 2 H); 2,52 до 2,72 (m, 6 H); 2,95 до 3,04 (m, 3 H); 3,22 (s, 3 H); 3,30 (m, 1 H); 3,38 до 3,63 (m, 18 H); 3,80 (s, 3 H); 3,87 (d, J=2,3 Гц, 1 H); 4,15 до 4,28 (m, 4 H); 4,40 (m, 1 H); 4,51 до 4,57 (m, 2 H); 4,90 (dd, J=3,8 и 9,8 Гц, 1 H); 4,98 (s, 2 H); 5,10 (m, 1 H); 5,20 (m, 1 H); 5,30 (m, 1 H); 5,80 (d, J=16,0 Гц, 1 H); 5,91 (m, 1 H); 6,47 (ddd, J=4,7, 10,5 и 16,0 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,16 (dd, J=2,5 и 8,6 Гц, 1 H); 7,29 до 7,32 (m, 8 H); 7,58 (m, 2 H); 7,76 (t, J=6,5 Гц, 1 H); 7,92 (d, J=9,0 Гц, 0,4 H); 8,04 (d, J=9,0 Гц, 0,6 H); 8,15 (d, J=7,0 Гц, 0,4 H); 8,21 (d, J=7,0 Гц, 0,6 H); 8,32 (d, J=8,0 Гц, 1 H); 9,88 (s, 0,4 H); 9,93 (s, 0,6 H). LCMS (A): ES масса/заряд=677; масса/заряд=1418 $[\text{M}+\text{H}]^+$; масса/заряд=1462 $[\text{M}-\text{H}+\text{HCO}_2\text{H}]^-$; Rt=1,21 мин.

Пример 8: 15-(3-(((S)-1-(((S)-1-((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дiazациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)карбамоил)окси)метил)-фенил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)амино)-3-оксопропил)-14-оксо-2,5,8,11-тетраокса-15-азаоктадекан-18-овая кислота

К раствору **соединения 24** (58 мг, 40,9 мкмоль) в DCM (20 мл) в атмосфере Ar добавляли 1,3-диметилпиримидин-2,4,6(1H, 3H, 5H)-трион (19,5 мг, 122,6 мкмоль) и тетраakis-(трифенилфосфин)палладий(0) (2,4 мг, 2,0 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 3 ч. при к. т., концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 5 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 53 мг соединения из **примера 8** в виде белого твердого вещества (94%).

^1H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): смесь конформеров; 0,78 (d, J=6,8 Гц, 6 H); 0,86 (m, 6 H); 0,99 (s, 3 H); 1,04 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,11 (s, 3 H); 1,30 (m, 1 H); 1,38 (m, 3 H); 1,57 (m, 2 H); 1,79 (m, 1 H); 2,04 (m, 1 H); 2,10 до 2,59 (частично скрытый m, 7 H); 2,69 (m, 2 H); 2,93 до 3,03 (m, 3 H); 3,22 (s, 3 H); 3,30 (скрытый m, 1 H); 3,40 до 3,64 (m, 18 H); 3,80 (s, 3 H); 3,87 (d, J=2,3 Гц, 1 H); 4,05 до 4,27 (m, 4 H); 4,36 (m, 1 H); 4,90 (dd, J=3,8 и 9,8 Гц,

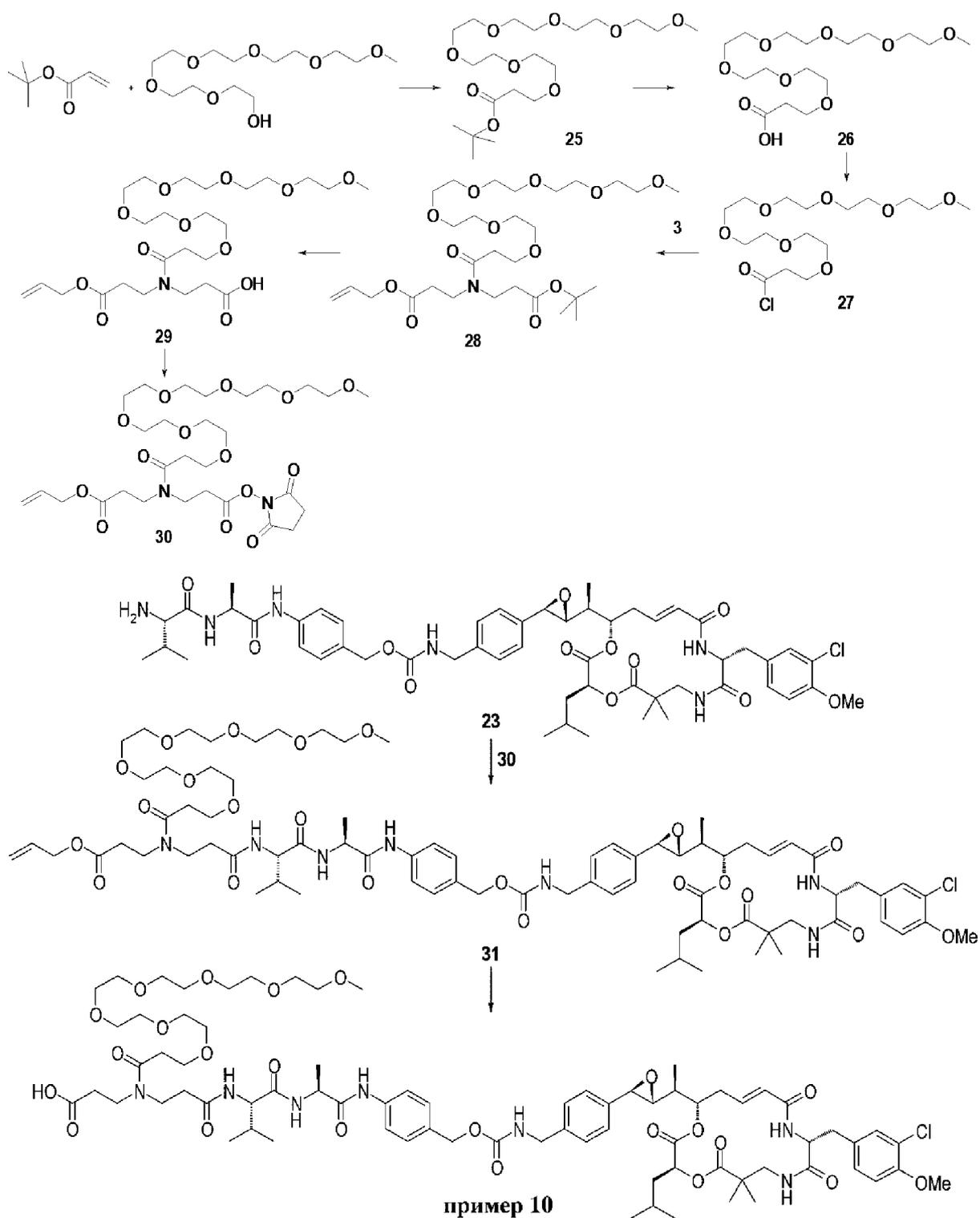
1 H); 4,97 (s, 2 H); 5,10 (m, 1 H); 5,80 (d, J=16,0 Гц, 1 H); 5,90 (ddd, J=4,7, 10,5 и 16,0 Гц, 1 H); 6,46 (ddd, J=4,7, 10,5 и 16,0 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,16 (dd, J=2,5 и 8,6 Гц, 1 H); 7,20 до 7,32 (m, 8 H); 7,68 (m, 2 H); 7,82 (m, 1 H); 8,40 до 8,65 (m, 2 H); 9,21 (m, 1 H); 10,20 (s, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=637; масса/заряд=1376 [M-H]⁻; масса/заряд=1378 [M+H]⁺; Rt=1,3 мин.

Пример 9: 2,5-диоксопирролидин-1-ил-15-(3-(((S)-1-(((S)-1-((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-диазациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)карбамоил)окси)метил)-фенил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)амино)-3-оксопропил)-14-оксо-2,5,8,11-тетраокса-15-азаоктадекан-18-оат

К раствору соединения из **примера 8** (49 мг, 35,5 мкмоль) в DMF (2 мл) в атмосфере Ar добавляли DSC (13,9 мг, 53,3 мкмоль) и DIEA (9,0 мкл, 53,3 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи. Добавляли дополнительное количество DSC (13,9 мг, 53,3 мкмоль) и DIEA (9,0 мкл, 53,3 мкмоль) и проводили перемешивание в течение 8 ч. Реакционную среду концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 10 г диол-модифицированного силикагеля (градиентное элюирование DCM/iPrOH) с получением 20 мг соединения из **примера 9** в виде белого твердого вещества (38%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): 70:30 смесь конформеров; 0,78 (d, J=6,8 Гц, 6 H); 0,82 (d, J=7,0 Гц, 2,1 H); 0,84 (d, J=7,0 Гц, 0,9 H); 0,86 (d, J=7,0 Гц, 2,1 H); 0,88 (d, J=7,0 Гц, 0,9 H); 1,00 (s, 3 H); 1,05 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,11 (s, 3 H); 1,27 (m, 1 H); 1,30 (m, 3 H); 1,57 (m, 2 H); 1,80 (m, 1 H); 1,95 (m, 1 H); 2,25 (m, 1 H); 2,40 (m, 1 H); 2,52 до 2,75 (m, 7 H); 2,80 (s, 4 H); 2,87 до 3,08 (m, 3 H); 3,22 (s, 3 H); 3,32 (скрытый m, 1 H); 3,40 до 3,68 (m, 18 H); 3,80 (s, 3 H); 3,88 (d, J=2,3 Гц, 1 H); 4,16 до 4,28 (m, 4 H); 4,38 (m, 1 H); 4,90 (dd, J=3,8 и 9,8 Гц, 1 H); 4,97 (s, 2 H); 5,10 (m, 1 H); 5,79 (d, J=16,0 Гц, 1 H); 6,46 (ddd, J=4,7, 10,5 и 16,0 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,16 (dd, J=2,5 и 8,6 Гц, 1 H); 7,20 до 7,31 (m, 8 H); 7,58 (m, 2 H); 7,78 (t, J=6,0 Гц, 1 H); 7,94 (d, J=9,0 Гц, 0,3 H); 8,08 (d, J=9,0 Гц, 0,7 H); 8,19 (d, J=7,0 Гц, 0,3 H); 8,25 (d, J=7,0 Гц, 0,7 H); 8,35 (d, J=8,0 Гц, 1 H); 9,90 (s, 0,3 H); 9,95 (s, 0,7 H). LCMS (A): ES масса/заряд=698; масса/заряд=1475 [M+H]⁺; Rt=1,35 мин.

Синтез примера 10: PEG7-Val-Ala-PAVA-C52-бензиламин



Соединение 25: *трет*-бутил-2,5,8,11,14,17,20-гептаоксатрикозан-23-оат

К раствору монометилового эфира гексаэтиленгликоля (926,0 мкл, 3,24 ммоль) в THF (3 мл) в атмосфере Ag добавляли Na (0,7 мг, 32,4 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 1 ч. при к. т. до завершения растворения Na, затем добавляли *трет*-бутилакрилат (570 мкл, 3,89 ммоль) и проводили перемешивание при к. т. в течение ночи. Реакционную среду затем концентрировали *in vacuo*, разбавляли с помощью H₂O и экстрагировали с помощью EtOAc (3 x). Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo* с

получением 1,04 г **соединения 25** в виде бесцветного масла (76%).

^1H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 1,40 (s, 9 H); 2,40 (t, J=6,4 Гц, 2 H); 3,23 (s, 3 H); 3,43 (m, 2 H); 3,47 до 3,54 (m, 22 H); 3,59 (t, J=6,4 Гц, 2 H).

Соединение 26: 2,5,8,11,14,17,20–гептаоксатрикозан–23–овая кислота

К раствору **соединения 25** (1,04 г, 2,45 ммоль) в DCM (15 мл) добавляли TFA (1,84 мл, 24,5 ммоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи, концентрировали *in vacuo*, разбавляли с помощью DCM и выпаривали совместно с толуолом (3 x) с получением 1 г **соединения 26** в виде бесцветного масла (колич.).

Соединение 27: 2,5,8,11,14,17,20–гептаоксатрикозан–23–оилхлорид

К **соединению 26** (400 мг, 1,09 ммоль) добавляли MsCl (1,27 мл, 16,3 ммоль); реакционную среду нагревали 3 ч. при 60°C, концентрировали *in vacuo*, разбавляли с помощью DCM и концентрировали *in vacuo* (3 x) с получением 420 мг **соединения 27** в виде бесцветного масла (колич.).

Соединение 28: аллил–24–(3–(*трет*–бутокси)–3–оксопропил)–23–оксо–2,5,8,11,14,17,20–гептаокса–24–азагептакозан–27–оат

К раствору **соединения 3** (200 мг, 777,2 мкмоль) в DCM (5 мл) добавляли DIEA (262 мкл, 1,55 ммоль). Реакционную среду охлаждали при 0°C и раствор **соединения 27** (360,8 мг, 932,7 мкмоль) в DCM (2 мл) добавляли по каплям при 0°C. Реакционную среду перемешивали в течение 1 ч. при к. т. и концентрировали *in vacuo*. Неочищенный продукт очищали с помощью двух последовательных операций флеш–хроматографии на 12 г и 10 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 72 мг **соединения 28** (15%).

^1H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): смесь конформеров 50:50; 1,39 (s, 4,5 H); 1,40 (s, 4,5 H); 2,22 до 2,75 (частично скрытый m, 6 H); 3,23 (s, 3 H); 3,38 до 3,63 (m, 30 H); 4,55 (m, 2 H); 5,19 до 5,36 (m, 2 H); 5,90 (m, 1 H).

Соединение 29: 24–(3–(аллилокси)–3–оксопропил)–23–оксо–2,5,8,11,14,17,20–гептаокса–24–азагептакозан–27–овая кислота

К раствору **соединения 28** (72 мг, 118,5 мкмоль) в DCM (3 мл) добавляли TFA (100 мкл, 1,33 ммоль); реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи, затем добавляли дополнительное количество TFA (100 мкл, 1,33 ммоль) и проводили перемешивание в течение 1 дня. Реакционную среду концентрировали *in vacuo*, разбавляли с помощью DCM и выпаривали совместно с толуолом (3 x) с получением 66 мг **соединения 29** (колич.).

Соединение 30: аллил–24–(3–((2,5–диоксопирролидин–1–ил)окси)–3–оксопропил)–23–оксо–2,5,8,11,14,17,20–гептаокса–24–азагептакозан–27–оат

К раствору **соединения 29** (66 мг, 119,7 мкмоль) в THF (2 мл) в атмосфере Ar добавляли DIEA (20,2 мкл, 119,9 мкмоль) и DSC (34,4 мг, 131,6 мкмоль); реакционную среду перемешивали в течение 4 дней при к. т., концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш–хроматографии на 900 мг диол–модифицированного силикагеля (градиентное элюирование DCM/*i*PrOH) с получением 35 мг **соединения 30** (45%).

Соединение 31: аллил-24-(3-(((S)-1-(((S)-1-((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дизаациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)карбамоил)окси)-метил)фенил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)амино)-3-оксопропил)-23-оксо-2,5,8,11,14,17,20-гептаокса-24-азагептакозан-27-оат

К раствору **соединения 23** (45 мг, 44,2 мкмоль) в THF (5 мл) добавляли **соединение 30** (28,7 мг, 44,2 мкмоль) и DIEA (11,2 мкл, 66,3 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи, разбавляли с помощью H₂O (10 мл) и экстрагировали с помощью EtOAc (3×10 мл). Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали, концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 5 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 35 мг **соединения 31** в виде белого твердого вещества (51%).

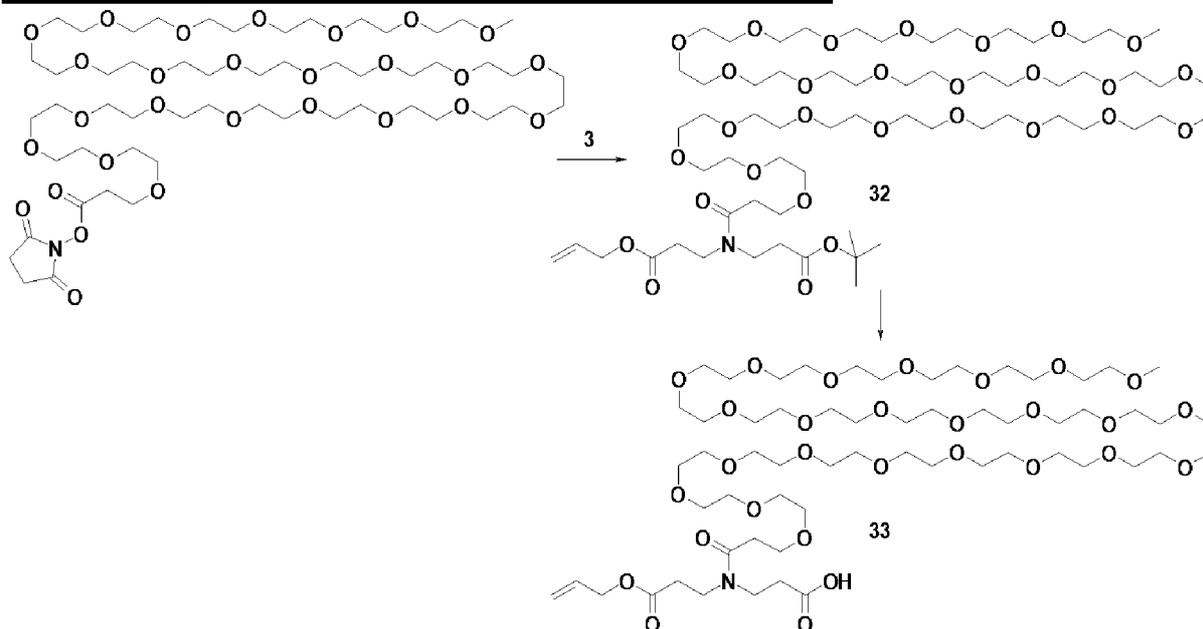
¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): смесь конформеров 60:40; 0,80 (разделенный d, J=6,8 Гц, 6 H); 0,82 (d, J=7,0 Гц, 1,8 H); 0,84 (d, J=7,0 Гц, 1,2 H); 0,86 (d, J=7,0 Гц, 1,8 H); 0,88 (d, J=7,0 Гц, 1,2 H); 1,00 (s, 3 H); 1,04 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,11 (s, 3 H); 1,28 (m, 1 H); 1,30 (m, 3 H); 1,56 (m, 2 H); 1,79 (m, 1 H); 1,95 (m, 1 H); 2,27 (m, 1 H); 2,35 до 2,60 (частично скрытый m, 6 H); 2,62 до 2,73 (m, 2 H); 2,93 до 3,05 (m, 3 H); 3,23 (s, 3 H); 3,33 (скрытый m, 1 H); 3,38 до 3,64 (m, 30 H); 3,80 (s, 3 H); 3,87 (d, J=2,3 Гц, 1 H); 4,15 до 4,27 (m, 4 H); 4,38 (m, 1 H); 4,52 до 4,58 (m, 2 H); 4,90 (dd, J=3,8 и 9,8 Гц, 1 H); 4,97 (s, 2 H); 5,10 (m, 1 H); 5,50 (m, 1 H); 5,30 (m, 1 H); 5,80 (d, J=16,0 Гц, 1 H); 5,90 (m, 1 H); 6,47 (ddd, J=4,7, 10,5 и 16,0 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,15 (dd, J=2,5 и 8,6 Гц, 1 H); 7,20 до 7,32 (m, 8 H); 7,59 (m, 2 H); 7,78 (t, J=6,5 Гц, 1 H); 7,95 (d, J=9,0 Гц, 0,4 H); 8,07 (d, J=9,0 Гц, 0,6 H); 8,18 (d, J=7,0 Гц, 0,4 H); 8,27 (d, J=7,0 Гц, 0,6 H); 8,36 (d, J=8,0 Гц, 1 H); 9,90 (s, 0,4 H); 9,95 (s, 0,6 H). LCMS (A): ES масса/заряд=698; масса/заряд=1552 [M+H]⁺; масса/заряд=1595 [M-H+HCO₂H]⁻; Rt=1,39 мин.

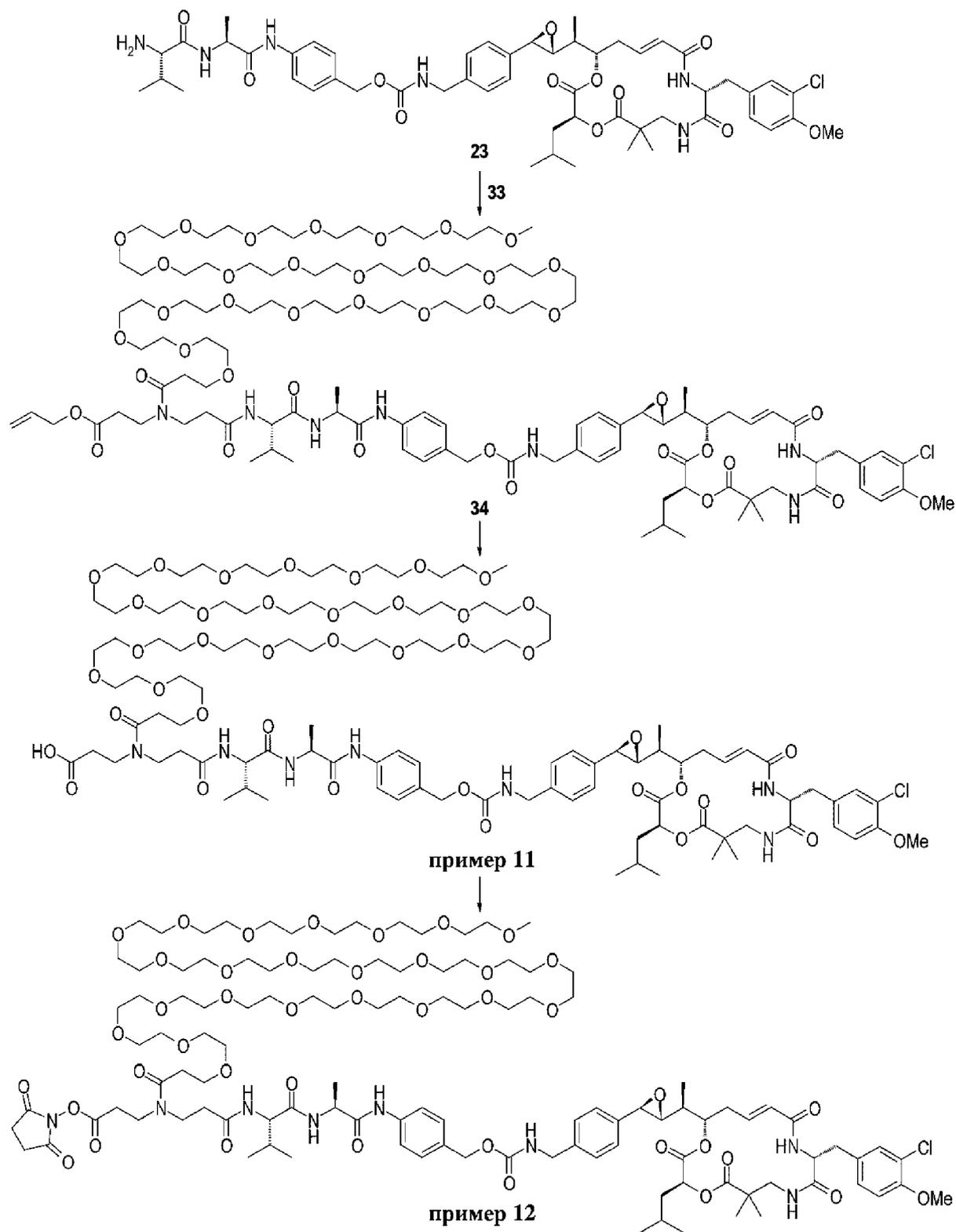
Пример 10: 24-(3-(((S)-1-(((S)-1-((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дизаациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)карбамоил)окси)метил)-фенил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)амино)-3-оксопропил)-23-оксо-2,5,8,11,14,17,20-гептаокса-24-азагептакозан-27-овая кислота

К раствору **соединения 31** (30 мг, 19,3 мкмоль) в DCM (5 мл) в атмосфере Ar добавляли диметилбарбитуровую кислоту (9,24 мг, 58,0 мкмоль) и тетраакс(трифенилфосфин)палладий(0) (1,13 мг, 0,97 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 3 ч. при к. т., затем концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью двух последовательных операций флеш-хроматографии на 5 г и 0,9 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 14 мг соединения из **примера 10** в виде белого твердого вещества (50%).

^1H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 50:50 смесь конформеров; 0,78 (разделенный d, $J=6,8$ Гц, 6 H); 0,81 до 0,89 (m, 6 H); 1,00 (s, 3 H); 1,04 (d, $J=7,0$ Гц, 3 H); 1,12 (s, 3 H); 1,28 (m, 1 H); 1,30 (d, $J=7,0$ Гц, 1,5 H); 1,32 (d, $J=7,0$ Гц, 1,5 H); 1,51 до 1,62 (m, 2 H); 1,79 (m, 1 H); 1,96 (m, 1 H); 2,26 (m, 1 H); 2,33 до 2,60 (частично скрытый m, 6 H); 2,61 до 2,73 (m, 2 H); 2,93 до 3,03 (m, 3 H); 3,22 (s, 3 H); 3,30 (скрытый m, 1 H); 3,38 до 3,62 (m, 30 H); 3,80 (s, 3 H); 3,87 (d, $J=2,3$ Гц, 1 H); 4,12 до 4,29 (m, 4 H); 4,39 (m, 1 H); 4,90 (dd, $J=3,8$ и $9,8$ Гц, 1 H); 4,96 (s, 2 H); 5,10 (m, 1 H); 5,78 (d, $J=16,0$ Гц, 1 H); 6,46 (ddd, $J=4,7$, $10,5$ и $16,0$ Гц, 1 H); 7,05 (d, $J=8,6$ Гц, 1 H); 7,16 (dd, $J=2,5$ и $8,6$ Гц, 1 H); 7,20 до 7,32 (m, 8 H); 7,59 (m, 2 H); 7,79 (m, 1 H); 8,04 (m, 0,5 H); 8,10 (d, $J=9,0$ Гц, 0,5 H); 8,25 до 8,41 (m, 2 H); 9,95 (s, 0,5 H); 9,98 (s, 0,5 H); 12,20 (m, 1 H). LCMS (D): ES масса/заряд=769; масса/заряд=1511 [M+H]⁺; Rt=3,16 мин.

Синтез примеров 11 и 12: PEG24-Val-Ala-PAVA-C52-бензиламин и NHS-сложный эфир PEG24-Val-Ala-PAVA-C52-бензиламина





Соединение 32: аллил-75-(3-(трет-бутокси)-3-оксopропил)-74-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-тетракозаокса-75-азаоктагептаконтан-78-оат

К раствору **соединения 3** (45 мг, 174,9 мкмоль) в THF (5 мл) в атмосфере Ar добавляли MEO-DPEG(24)-NHS (212,4 мг, 174,9 мкмоль) и DIEA (44,2 мкл, 262,3 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи, затем концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 20 г силикагеля

(градиентное элюирование DMC/MeOH) с получением 125 мг смеси **соединения 32** (60%) и MEO-DPEG(24)-NHS (40%). Данную смесь разбавляли в THF (3 мл), добавляли 15 мг **соединения 3** и 20 мкл DIEA; реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи, затем концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 12 г силикагеля с получением 105 мг **соединения 32** (44%).

^1H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 1,40 (s, 9 H); 2,25 до 2,78 (m, 6 H); 3,22 (s, 3 H); 3,32 до 3,70 (m, 98 H); 4,52 (m, 2 H); 5,20 (m, 1 H); 5,30 (m, 1 H); 5,90 (m, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=679 [M+2H]²⁺; масса/заряд=1356 [M+H]⁺; масса/заряд=1400 [M-H+HCO₂H]⁻; Rt=1,15 мин.

Соединение 33: 75-(3-(аллилокси)-3-оксопропил)-74-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-тетракозаокса-75-азаоктагептаконтан-78-овая кислота

К раствору **соединения 32** (105 мг, 77,4 мкмоль) в DCM (2 мл) добавляли TFA (116,2 мкл, 1,55 ммоль); реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи, затем добавляли 150 мкл TFA и проводили реакцию еще один день. Реакционную среду затем концентрировали *in vacuo*, разбавляли с помощью DCM, выпаривали совместно с толуолом (3 x) с получением 110 мг неочищенного продукта, который очищали с помощью RP-HPLC на колонке C18 SunFire 5 мкм (Waters, 30×100 мм, градиентное элюирование MeCN+0,07% TFA/H₂O+0,07% TFA) с получением 60 мг **соединения 33** (60%).

^1H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): смесь конформеров 50:50; 2,37 до 2,60 (частично скрытый m, 6 H); 3,23 (s, 3 H); 3,32 до 3,44 (частично скрытый m, 38 H); 3,47 до 3,52 (m, 58 H); 3,60 (m, 2 H); 4,54 (m, 2 H); 5,22 (dm, J=10,5 Гц, 1 H); 5,30 (dm, J=17,3 Гц, 1 H); 5,84 до 5,98 (m, 1 H); 12,32 (широкий m, 1 H).

Соединение 34: аллил-75-(3-(((S)-1-(((S)-1-(((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-(((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дiazациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)карбамоил)окси)-метил)фенил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)амино)-3-оксопропил)-74-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-тетракозаокса-75-азаоктагептаконтан-78-оат

К раствору **соединения 33** (30 мг, 23,1 мкмоль) в THF (5 мл) в атмосфере Ar добавляли, DIEA (11,7 мкл, 69,2 мкмоль) и DSC (6,03 мг, 23,1 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 3 ч. при к. т., затем добавляли **соединение 23** (23,5 мг, 23,1 мкмоль) и проводили перемешивание в течение 1 ч. Реакционную среду концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 5 г силикагеля с получением 23 мг **соединения 34** (40%).

^1H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): смесь конформеров 60:40: 0,80 (разделенный d, J=6,8 Гц, 6 H); 0,82 (d, J=7,0 Гц, 1,8 H); 0,84 (d, J=7,0 Гц, 1,2 H); 0,86 (d, J=7,0 Гц, 1,8 H); 0,88 (d, J=7,0 Гц, 1,2 H); 1,00 (s, 3 H); 1,04 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,11 (s, 3 H);

1,28 (m, 1 H); 1,30 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,51 до 1,62 (m, 2 H); 1,80 (m, 1 H); 1,96 (m, 1 H); 2,26 (m, 1 H); 2,38 (m, 1 H); 2,45 до 2,61 (частично скрытый m, 5 H); 2,61 до 2,72 (m, 2 H); 2,93 до 3,05 (m, 3 H); 3,23 (s, 3 H); 3,32 (скрытый m, 1 H); 3,40 до 3,77 (m, 98 H); 3,80 (s, 3 H); 3,88 (d, J=2,3 Гц, 1 H); 4,14 до 4,27 (m, 4 H); 4,39 (m, 1 H); 4,51 до 4,60 (m, 2 H); 4,90 (dd, J=3,8 и 9,8 Гц, 1 H); 4,97 (s, 2 H); 5,10 (m, 1 H); 5,18 до 5,33 (m, 2 H); 5,78 (d, J=16,0 Гц, 1 H); 5,90 (m, 1 H); 6,45 (m, 1 H); 7,05 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,16 (dd, J=2,5 и 8,6 Гц, 1 H); 7,20 до 7,32 (m, 8 H); 7,59 (m, 2 H); 7,77 (t, J=6,5 Гц, 1 H); 7,95 (d, J=9,0 Гц, 0,4 H); 8,07 (d, J=9,0 Гц, 0,6 H); 8,19 (d, J=7,0 Гц, 0,4 H); 8,25 (d, J=7,0 Гц, 0,6 H); 8,36 (d, J=8,0 Гц, 1 H); 9,90 (s, 0,4 H); 9,96 (s, 0,6 H).

Пример 11: 75-(3-(((S)-1-(((S)-1-((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дiazациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)карбамоил)окси)метил)-фенил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)амино)-3-оксопропил)-74-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-тетракозаокса-75-азаоктагептаконтан-78-овая кислота

К раствору **соединения 34** (37 мг, 161 мкмоль) в DCM в атмосфере Ar добавляли 1,3-диметилбарбитуровую кислоту (5,13 мг, 32,2 мкмоль) и тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0) (0,94 мг, 0,80 мкмоль); реакционную среду перемешивали при к. т. в течение 2 ч., затем концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 5 г диол-модифицированного силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 16 мг соединения из **примера 11** (44%).

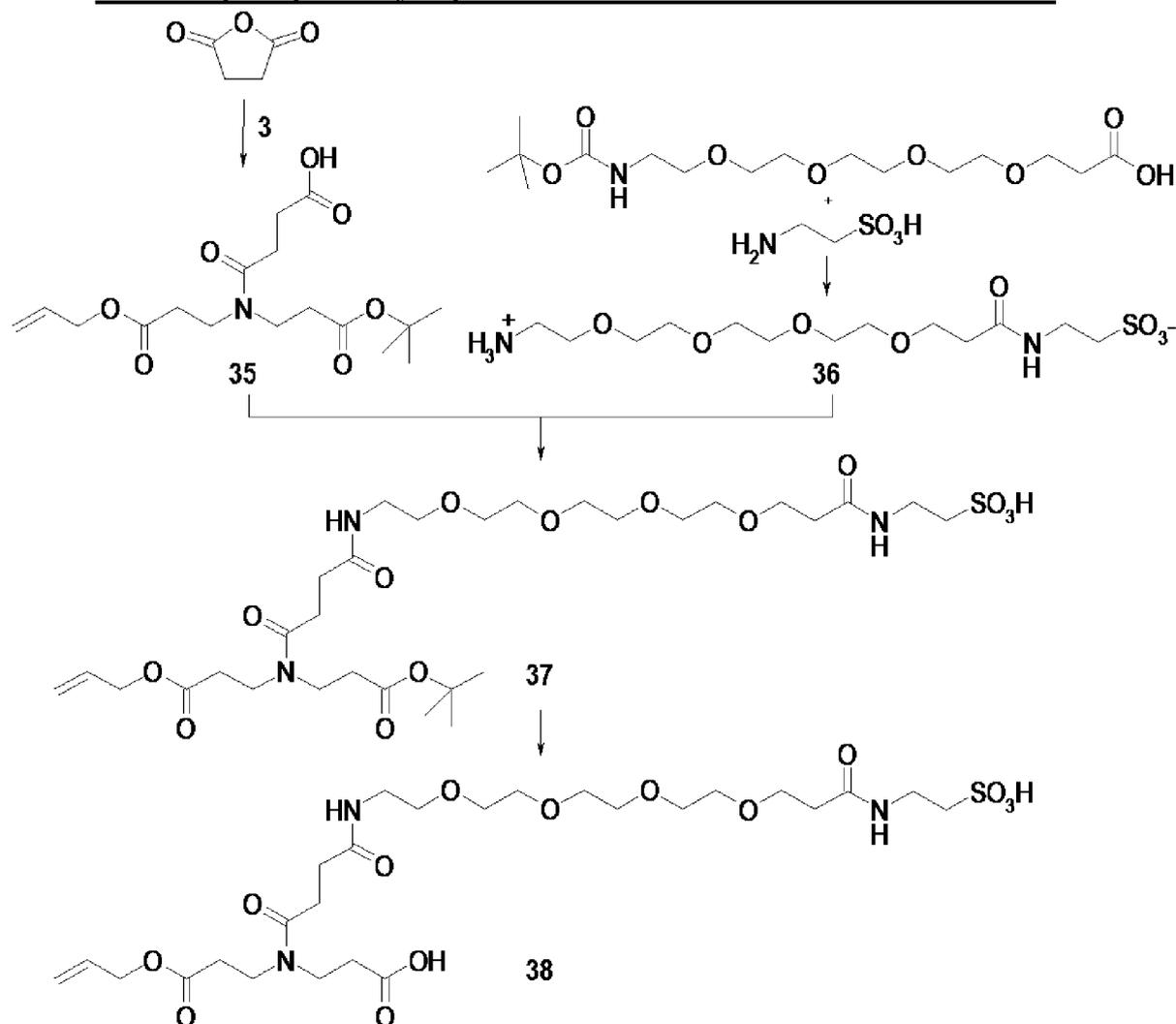
¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): 0,77 (d, J=7,0 Гц, 6 H); 0,80 до 0,90 (m, 6 H); 0,99 (s, 3 H); 1,04 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,11 (s, 3 H); 1,28 (m, 1 H); 1,30 (d, J=7,0 Гц, 1,5 H); 1,32 (d, J=7,0 Гц, 1,5 H); 1,52 до 1,61 (m, 2 H); 1,79 (m, 1 H); 1,98 (m, 1 H); 2,22 до 2,58 (частично скрытый m, 7 H); 2,68 (m, 2 H); 2,92 до 3,04 (m, 3 H); 3,21 (s, 3 H); 3,30 (частично скрытый m, 1 H); 3,37 до 3,67 (m, 98 H); 3,81 (s, 3 H); 3,88 (s, 1 H); 4,08 до 4,28 (m, 4 H); 4,39 (m, 1 H); 4,90 (m, 1 H); 4,98 (s, 2 H); 5,10 (m, 1 H); 5,80 (d, J=16,0 Гц, 1 H); 6,48 (ddd, J=4,7, 10,5 и 16,0 Гц, 1 H); 7,04 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,16 (широкий d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,20 до 7,32 (m, 8 H); 7,57 до 7,67 (m, 2 H); 7,80 (m, 1 H); 8,20 (m, 1 H); 8,35 до 8,70 (m, 2 H); 10,08 (m, 1 H); 12,30 (широкий m, 1 H). LCMS (D): ES масса/заряд=698; масса/заряд=2259 [M+H]⁺; Rt=3,14 мин.

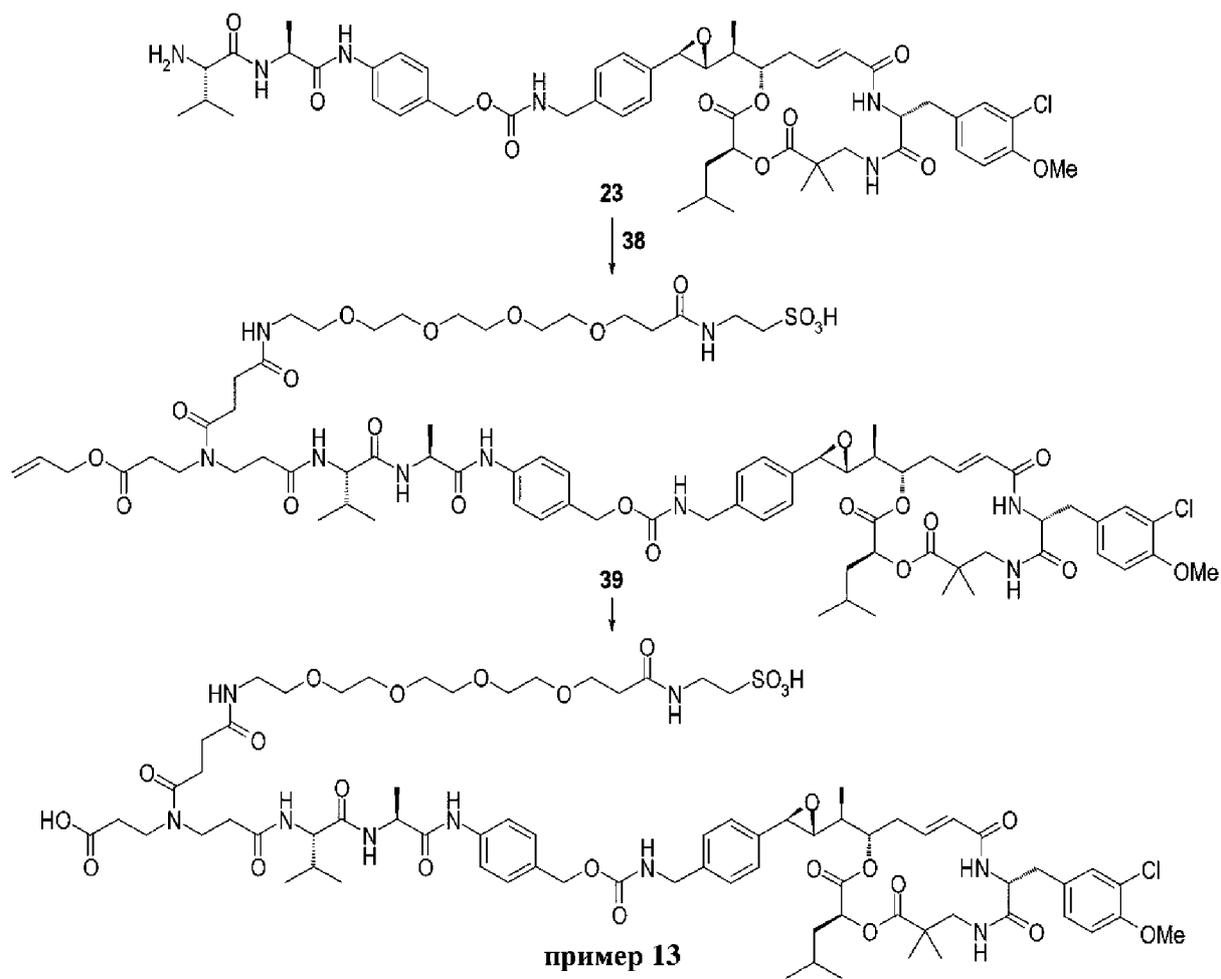
Пример 12: 2,5-диоксопирролидин-1-ил-75-(3-(((S)-1-(((S)-1-((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дiazациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)-карбамоил)окси)метил)фенил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)амино)-3-оксопропил)-74-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-тетракозаокса-75-азаоктагептаконтан-78-оат

К раствору соединения из **примера 11** (16 мг, 7,1 мкмоль) в DCM добавляли DIEA (1,2 мкл, 7,1 мкмоль) и DSC (1,8 мг, 7,1 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 3 ч. при к. т., затем концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 1,3 г диол-модифицированного силикагеля (градиентное элюирование DCM/*i*PrOH) с получением 5 мг смеси соединения из **примера 12** (30%) и соединения из **примера 11** (70%).

LCMS (D): ES масса/заряд=698; масса/заряд=2356 [M+H]⁺; t_R =3,2 мин.

Синтез примера 13: сульфо-PEG4-Val-Ala-PAVA-C52-бензиламин





Соединение 35: 4-((3-(аллилокси)-3-оксопропил)(3-(*трет*-бутокси)-3-оксопропил)амино)-4-оксобутановая кислота

К раствору **соединения 3** (100 мг, 388,6 мкмоль) в DCM (5 мл) добавляли янтарный ангидрид (78,6 мг, 777,2 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи, затем концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 4 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 102 мг **соединения 35** в виде бесцветного масла (73%).

Соединение 36: 1-аммоний-15-оксо-3,6,9,12-тетраокса-16-азаоктадекан-18-сульфонат

К раствору 15-(Вос-амино)-4,7,10,13-тетраоксапентадекановой кислоты (500 мг, 1,3 ммоль) в THF (5 мл) в атмосфере Ar добавляли DIEA (438,4 мкл, 2,6 ммоль) и DSC (381,6 мг, 1,43 ммоль). Реакционную среду перемешивали в течение 6 ч. при к. т., затем добавляли 50 мг DSC и перемешивание проводили при к. т. в течение ночи. В это время таурин (821,6 мг, 6,5 ммоль) и H₂O (1 мл) добавляли к реакционной среде. Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи, концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью препаративной LCMS на колонке C18 SunFire 5 мкм (Waters, 30×100 мм, градиентное элюирование MeCN+0,07% TFA/H₂O+0,07% TFA) с получением 341 мг **соединения 36** (70%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 2,28 (t, J=6,5 Гц, 2 H); 2,60 (m, 2 H); 2,99

(m, 2 H); 3,32 (m, 2 H); 3,45 до 3,65 (m, 16 H) ; 7,77 (широкий m, 4 H).ИК–спектр в случае таблетки с КВг; основные полосы поглощения в обратных сантиметрах: 3000; 1780; 1648; 1556; 1200–1170; 1200; 1100; 1040.

Соединение 37: 24–(3–(*трет*-бутоксид)–3–оксопропил)–4,20,23,27–тетраоксо–7,10,13,16,28–пентаокса–3,19,24–триазагептаконт–30–ен–1–сульфонат

К раствору **соединения 35** (100 мг, 279,8 мкмоль) в THF добавляли DIEA (141,6 мкл, 839,4 мкмоль) и DSC (73,1 мг, 279,8 мкмоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч. при к. т., затем добавляли раствор **соединения 36** (104,2 мг, 279,8 мкмоль) в DMF и DIEA (141,6 мкл, 839,4 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 2 ч. при к. т., концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью препаративной LCMS на колонке C18 SunFire 5 мкм (Waters, 30×100 мм, градиентное элюирование MeCN+0,07% TFA/H₂O+0,07% TFA) с получением 118 мг **соединения 37** (60%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO–*d*6): 50:50 смесь конформеров; 1,39 (s, 4,5 H); 1,40 (s, 4,5 H); 2,27 (t, J=6,5 Гц, 2 H); 2,31 (t, J=7,0 Гц, 2 H); 2,38 (t, J=7,0 Гц, 1 H); 2,45 до 2,56 (скрытый m, 6 H); 2,68 (m, 1 H); 3,18 (q, J=6,0 Гц, 2 H); 3,29 (m, 2 H); 3,36 до 3,60 (m, 20 H); 4,51 до 4,59 (m, 2 H); 5,17 до 5,25 (m, 2 H); 5,85 до 5,95 (m, 1 H); 7,75 (t, J=6,0 Гц, 1 H); 7,88 (t, J=6,0 Гц, 1 H).

Соединение 38: 24–(2–карбоксиэтил)–4,20,23,27–тетраоксо–7,10,13,16,28–пентаокса–3,19,24–триазагептаконт–30–ен–1–сульфонат

К раствору **соединения 37** (118 мг, 166,0 мкмоль) в DCM (5 мл) добавляли TFA (249 мкл, 3,32 ммоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи, концентрировали *in vacuo*, разбавляли с помощью DCM и выпаривали совместно с толуолом (3 x) с получением 100 мг **соединения 38** в виде бесцветного масла (92%).

Соединение 39: (2S,5S)–10–(3–(аллилокси)–3–оксопропил)–1–((4–(((4–((2R,3R)–3–((S)–1–((3S,10R, 16S, E)–10–(3–хлор–4–метоксибензил)–3–изобутил–6,6–диметил–2,5,9,12–тетраоксо–1,4–диокса–8,11–диазациклогексадец–13–ен–16–ил)этил)оксиран–2–ил)бензил)карбамоил)окси)метил)фенил)амино)–5–изопропил–2–метил–1,4,7,11,14,30–гексаоксо–18,21,24,27–тетраокса–3,6,10,15,31–пентаазатриаконтан–33–сульфоновая кислота

К раствору **соединения 38** (100 мг, 152,7 мкмоль) в THF (3 мл) и DMF (1 мл) добавляли DIEA (77 мкл, 458,2 мкмоль) и DSC (39,9 мг, 152,7 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 2 ч. при к. т. перед добавлением раствора **соединения 23** (124 мг, 121,9 мкмоль) в THF (1 мл) и DMF (0,5 мл) и DIEA (100 мкл). Реакционную среду перемешивали в течение 2 ч. при к. т., концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш–хроматографии с обращенной фазой на 75 г C18–модифицированного силикагеля (градиентное элюирование H₂O/MeCN) с получением 60 мг **соединения 39** в виде белого твердого вещества (24%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO–*d*6): смесь конформеров 60:40; 0,78 (d, J=6,8 Гц, 6 H); 0,82 (d, J=7,0 Гц, 1,8 H); 0,84 (d, J=7,0 Гц, 1,2 H); 0,86 (d, J=7,0 Гц, 1,8 H); 0,88 (d, J=7,0 Гц, 1,2 H); 0,99 (s, 3 H); 1,04 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,11 (s, 3 H); 1,28 (m, 1 H); 1,30 (d,

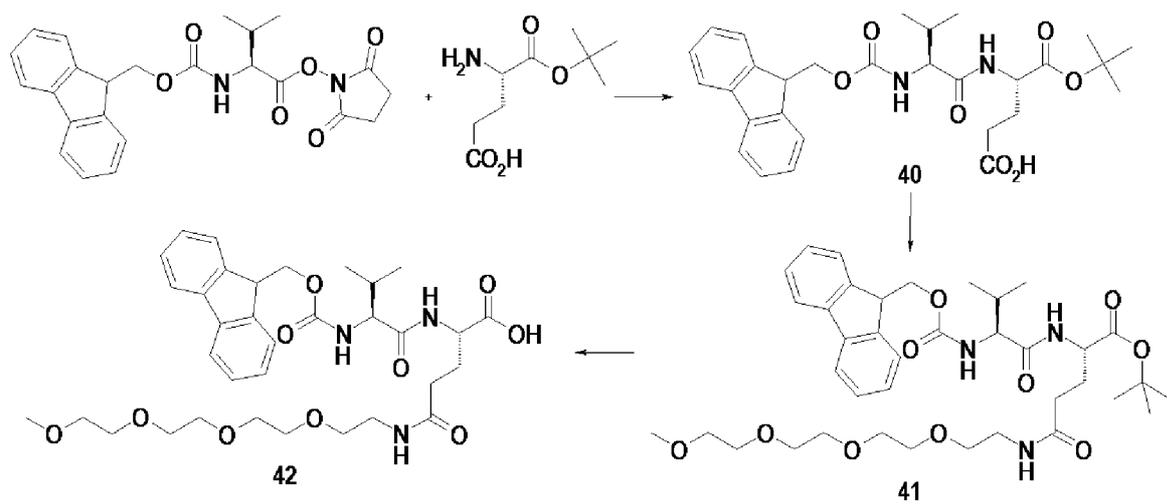
J=7,0 Гц, 3 Н); 1,50 до 1,62 (m, 2 Н); 1,80 (m, 1 Н); 1,96 (m, 1 Н); 2,20 до 2,55 (частично скрытый m, 11 Н); 2,61 до 2,75 (m, 2 Н); 2,94 до 3,05 (m, 3 Н); 3,10 до 3,65 (частично скрытый, 27 Н); 3,80 (s, 3 Н); 3,87 (d, J=2,3 Гц, 1 Н); 4,13 до 4,28 (m, 4 Н); 4,38 (m, 1 Н); 4,53 (m, 1,2 Н); 4,56 (m, 0,8 Н); 4,90 (dd, J=3,8 и 9,8 Гц, 1 Н); 4,97 (s, 2 Н); 5,10 (m, 1 Н); 5,18 до 5,33 (m, 2 Н); 5,80 (d, J=16,0 Гц, 1 Н); 5,90 (m, 1 Н); 6,47 (ddd, J=4,7, 10,5 и 16,0 Гц, 1 Н); 7,05 (d, J=8,6 Гц, 1 Н); 7,16 (dd, J=2,5 и 8,6 Гц, 1 Н); 7,20 до 7,32 (m, 8 Н); 7,59 (m, 2 Н); 7,72 (t, J=6,5 Гц, 1 Н); 7,79 (t, J=6,0 Гц, 1 Н); 7,89 (t, J=6,5 Гц, 1 Н); 7,95 (d, J=9,0 Гц, 0,4 Н); 8,08 (d, J=9,0 Гц, 0,6 Н); 8,19 (d, J=7,0 Гц, 0,4 Н); 8,25 (d, J=7,0 Гц, 0,6 Н); 8,36 (d, J=8,0 Гц, 1 Н); 9,90 (s, 0,4 Н); 9,95 (s, 0,6 Н). LCMS (D): ES масса/заряд=913; масса/заряд=1654 [M+H]⁺; Rt=3,87 мин.

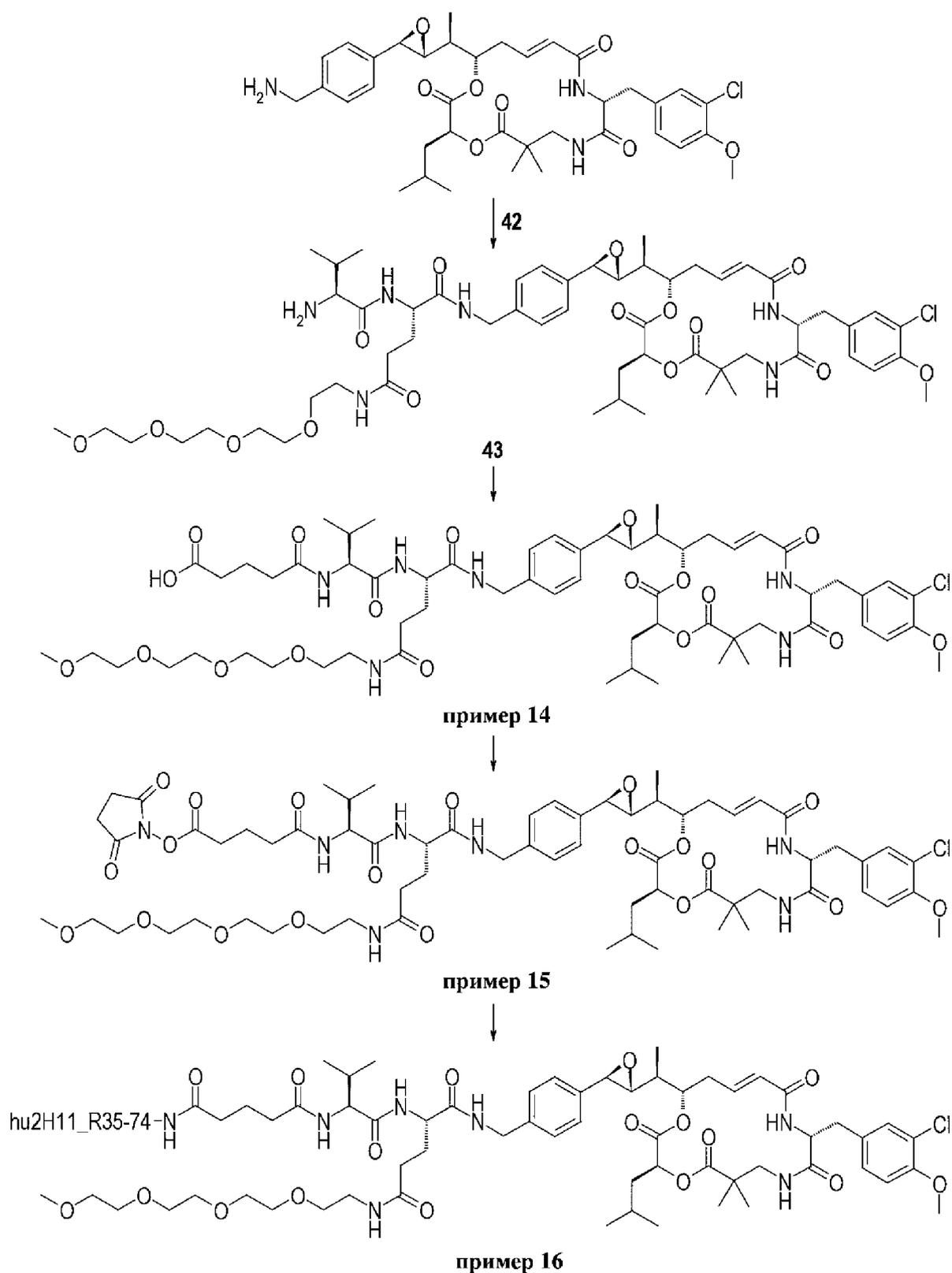
Пример 13: 24-(3-(((S)-1-(((S)-1-((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дiazациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)карбамоил)окси)метил)-фенил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)амино)-3-оксопропил)-4,20,23-триоксо-1-сульфо-7,10,13,16-тетраокса-3,19,24-триазагептакозан-27-овая кислота

К раствору **соединения 39** (60 мг, 36,3 мкмоль) в DMF (5 мл) добавляли 1,3-диметилбарбитуровую кислоту (17,3 мг, 108,8 мкмоль) и тетраakis-(трифенилфосфин)палладий(0) (2,1 мг, 1,8 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи, концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью двух операций флеш-хроматографии на 30 г и 20 г C18-модифицированного силикагеля с получением двух партий 6 мг соединения из **примера 13** в виде белого твердого вещества (общий выход 20%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-d₆): смесь конформеров 60:40; 0,78 (d, J=6,8 Гц, 6 Н); 0,81 до 0,89 (m, 6 Н); 1,00 (s, 3 Н); 1,04 (d, J=7,0 Гц, 3 Н); 1,11 (s, 3 Н); 1,28 (m, 1 Н); 1,30 (d, J=7,0 Гц, 3 Н); 1,58 (m, 2 Н); 1,80 (m, 1 Н); 1,96 (m, 1 Н); 2,21 до 2,58 (частично скрытый m, 11 Н); 2,69 (m, 2 Н); 2,93 до 3,68 (частично скрытый m, 28 Н); 3,80 (s, 3 Н); 3,88 (d, J=2,3 Гц, 1 Н); 4,11 до 4,28 (m, 4 Н); 4,38 (m, 1 Н); 4,90 (dd, J=3,8 и 9,8 Гц, 1 Н); 4,98 (s, 2 Н); 5,10 (m, 1 Н); 5,79 (d, J=16,0 Гц, 1 Н); 6,47 (ddd, J=4,7, 10,5 и 16,0 Гц, 1 Н); 7,05 (d, J=8,6 Гц, 1 Н); 7,17 (dd, J=2,5 и 8,6 Гц, 1 Н); 7,20 до 7,32 (m, 8 Н); 7,59 (m, 2 Н); 7,72 (t, J=6,5 Гц, 1 Н); 7,79 (t, J=6,0 Гц, 1 Н); 7,89 (t, J=6,5 Гц, 1 Н); 7,97 (d, J=9,0 Гц, 0,4 Н); 8,08 (d, J=9,0 Гц, 0,6 Н); 8,19 (d, J=7,0 Гц, 0,4 Н); 8,25 (d, J=7,0 Гц, 0,6 Н); 8,36 (d, J=8,0 Гц, 1 Н); 9,90 (s, 0,4 Н); 9,94 (s, 0,6 Н); 12,15 (широкий m, 1 Н). LCMS (A): ES масса/заряд=807,5 [M+2H]²⁺; масса/заряд=1612 [M-H]⁻; масса/заряд=1614 [M+H]⁺; Rt=1,72 мин.

Синтез примеров 14-16: глутарил-Val-PEG4Gln-C52-бензиламин, NHS-сложный эфир глутарил-Val-PEG4Gln-C52-бензиламина и соответствующий ADC





Соединение 40: (S)-4-(((S)-2-((((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-5-(трет-бутокси)-5-оксопентановая кислота

К раствору H-Glu-OtBu (номер CAS [45120-30-7], 959 мг, 4,7 ммоль) и NaHCO₃ (400 мг, 4,77 ммоль) в H₂O (80 мл) при перемешивании с помощью магнитной мешалки добавляли по каплям раствор (S)-2,5-диоксопирролидин-1-ил-2-((((9H-флуорен-9-

ил)метокси)–карбонил)амино)–3–метилбутаноата (2 г, 4,6 ммоль) в THF (80 мл). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи. Среду концентрировали *in vacuo*, затем добавляли насыщенный водный NaHCO₃ (1 л) с последующей экстракцией с помощью Et₂O (2×250 мл), органические фазы исключали. Водную фазу подкисляли с помощью QS 1 н. водного раствора HCl до достижения pH 2 и экстрагировали с помощью DCM (3×250 мл), объединенные органические фазы высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением 2,05 г **соединения 40** (85%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,87 (d, J=6,9 Гц, 3 H); 0,90 (d, J=6,9 Гц, 3 H); 1,38 (s, 9 H); 1,73 до 2,02 (m, 3 H); 2,24 до 2,30 (m, 2 H); 3,90 (dd, J=7,3 и 9,0 Гц, 1 H); 4,14 (m, 1 H); 4,19 до 4,32 (m, 3 H); 7,27 до 7,45 (m, 5 H); 7,75 (t, J=7,6 Гц, 2 H); 7,89 (d, J=7,6 Гц, 2 H); 8,22 (широкий d, J=7,0 Гц, 1 H); 12,05 (широкий s, 1 H).

Соединение 41: (S)-*трет*-бутил-18-((S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-15-оксо-2,5,8,11-тетраокса-14-азанонадекан-19-оат

К раствору **соединения 40** (200 мг, 381 мкмоль) в DCM (6 мл) при перемешивании с помощью магнитной мешалки добавляли PEG4-NH₂ (номер CAS [85030-56-4], 115 мг, 554,9 мкмоль), HOBt (82 мг, 606,8 мкмоль) и EDC (100 мкл, 565 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи. Неочищенную среду очищали дважды с помощью флеш-хроматографии на силикагеле (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 190 мг **соединения 41** (70%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,87 (d, J=6,8 Гц, 3 H); 0,90 (d, J=6,8 Гц, 3 H); 1,38 (s, 9 H); 1,72 до 1,93 (m, 2 H); 1,99 (m, 1 H); 2,14 (t, J=7,8 Гц, 2 H); 3,18 (m, 2 H); 3,23 (s, 3 H); 3,37 (t, J=6,0 Гц, 2 H); 3,41 (m, 2 H); 3,46 до 3,53 (m, 10 H); 3,92 (dd, J=7,1 и 8,8 Гц, 1 H); 4,09 (m, 1 H); 4,17 до 4,34 (m, 3 H); 7,32 (m, 3 H); 7,41 (t, J=7,6 Гц, 2 H); 7,70 до 7,81 (m, 3 H); 7,88 (d, J=7,6 Гц, 2 H); 8,18 (d, J=7,3 Гц, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=714 [M+H]⁺; масса/заряд=758 [M-H+HCO₂H]⁻; Rt=1,41 мин.

Соединение 42: (S)-18-((S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-15-оксо-2,5,8,11-тетраокса-14-азанонадекан-19-овая кислота

К **соединению 41** (190 мг, 266 мкмоль) при перемешивании с помощью магнитной мешалки добавляли 4 М раствор HCl в 1,4-диоксане (5 мл). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение 4 ч. В это же время реакционную среду концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 15 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH/NH₄OH) с получением 70 мг **соединения 42** (40%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,84 (d, J=6,6 Гц, 3 H); 0,86 (d, J=6,6 Гц, 3 H); 1,70 до 1,90 (m, 2 H); 2,01 до 2,15 (m, 3 H); 3,15 (m, 2 H); 3,23 (s, 3 H); 3,36 (t, J=6,4 Гц, 2 H); 3,42 (m, 2 H); 3,45 до 3,53 (m, 10 H); 3,80 (широкий m, 1 H); 3,83 (dd, J=6,8 и 8,7 Гц, 1 H); 4,19 до 4,34 (m, 3 H); 7,33 (m, 2 H); 7,41 (t, J=7,6 Гц, 2 H); 7,59 (широкий m, 2 H); 7,73 (d, J=7,6 Гц, 1 H); 7,76 (d, J=7,6 Гц, 1 H); 7,89 (d, J=7,6 Гц, 2 H); 8,00 (широкий m, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=656 [M-H]⁻; масса/заряд=658 [M+H]⁺; RT= 1,19 мин.

Соединение 43: (S)-2-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)-N1-(4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дизаациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)-N5-(2,5,8,11-тетраоксатридекан-13-ил)пентандиамид

К раствору (E)-(3S,10R,16S)-16-[(S)-1-[(2R,3R)-3-(4-аминометилфенил)-оксиранил]-этил]-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-1,4-диокса-8,11-дизаациклогексадец-13-ен-2,5,9,12-тетраона (синтез которого описан в **WO2011001052**, соединение 77, 58 мг, 83 мкмоль) в DMF (5 мл) при перемешивании с помощью магнитной мешалки добавляли **соединение 42** (70 мг, 106 мкмоль), НОВt (20 мг, 148 мкмоль) и EDC (23 мкл, 130 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение 24 ч. В это же время пиперидин (80 мкл, 810 мкмоль) добавляли к среде и перемешивание поддерживали в течение 1 ч. Затем реакционную среду концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 20 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 60 мг **соединения 43** (65%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): 0,77 (d, J=6,9 Гц, 3 H); 0,79 (d, J=6,3 Гц, 6 H); 0,87 (d, J=6,9 Гц, 3 H); 1,00 (s, 3 H); 1,04 (d, J=6,4 Гц, 3 H); 1,12 (s, 3 H); 1,31 (m, 1 H); 1,52 до 1,63 (m, 2 H); 1,72 до 1,98 (m, 4 H); 2,05 до 2,15 (m, 2 H); 2,26 (m, 1 H); 2,62 до 2,73 (m, 2 H); 2,94 до 3,04 (m, 4 H); 3,18 (q, J=5,9 Гц, 2 H); 3,23 (s, 3 H); 3,33 (частично скрытый m, 1 H); 3,39 (t, J=5,9 Гц, 2 H); 3,42 (m, 2 H); 3,47 до 3,52 (m, 10 H); 3,81 (s, 3 H); 3,87 (d, J=1,4 Гц, 1 H); 4,21 до 4,36 (m, 4 H); 4,91 (dd, J=3,6 и 9,6 Гц, 1 H); 5,10 (dd, J=5,5 и 11,8 Гц, 1 H); 5,79 (d, J=15,3 Гц, 1 H); 6,46 (ddd, J=3,8, 11,6 и 15,3 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,5 Гц, 1 H); 7,17 (dd, J=1,9 и 8,5 Гц, 1 H); 7,21 до 7,25 (m, 5 H); 7,28 (d, J=1,9 Гц, 1 H); 7,89 (t, J=5,5 Гц, 1 H); 8,07 (широкий m, 1 H); 8,37 (d, J=8,0 Гц, 1 H); 8,45 (t, J=5,9 Гц, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=558 [M+2H]²⁺; масса/заряд=1115 [M+H]⁺; масса/заряд=1159 [M-H+HCO₂H]⁻; Rt=0,96 мин.

Пример 14: (18S,21S)-18-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дизаациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)карбамоил)-21-изопропил-15,20,23-триоксо-2,5,8,11-тетраокса-14,19,22-триазагептакозан-27-овая кислота

К раствору **соединения 43** (55 мг, 49,3 мкмоль) в DMF (3 мл) добавляли глутаровый ангидрид (9 мг, 79 мкмоль), реакционную среду перемешивали при к. т. в течение 2 ч. В это же время среду концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 10 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 38 мг соединения из **примера 14** (62%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): 0,81 (разделенный d, J=6,6 Гц, 6 H); 0,85 (d, J=6,3 Гц, 3 H); 0,87 (d, J=6,3 Гц, 3 H); 0,98 (s, 3 H); 1,03 (d, J=6,6 Гц, 3 H); 1,11 (s, 3 H); 1,35 (m, 1 H); 1,52 до 2,34 (m, 15 H); 2,71 (m, 2 H); 2,89 до 3,02 (m, 3 H); 3,09 до 3,21 (m, 2 H); 3,23 (s, 3 H); 3,30 до 3,40 (частично скрытый m, 3 H); 3,42 (m, 2 H); 3,46 до 3,51 (m, 10 H); 3,81 (s, 3 H); 3,87 (s, 1 H); 4,03 до 4,24 (m, 4 H); 4,37 (m, 1 H); 4,96 (m, 1 H); 5,11 (m, 1 H);

5,81 (d, J=15,3 Гц, 1 H); 6,46 (ddd, J=3,3, 11,4 и 15,3 Гц, 1 H); 7,04 (d, J=8,5 Гц, 1 H); 7,19 (dd, J=1,9 и 8,5 Гц, 1 H); 7,22 (d, J=8,3 Гц, 2 H); 7,27 (d, J=8,3 Гц, 2 H); 7,30 (d, J=1,9 Гц, 1 H); 7,32 (m, 1 H); 7,85 до 8,99 (широкий m, 5 H); 12,12 (широкий m, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=615 [M+2H]²⁺; масса/заряд=1227 [M-H]⁻; масса/заряд=1229 [M+H]⁺; Rt=1,26 мин.

Пример 15: (18S,21S)-2,5-диоксопирролидин-1-ил-18-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-диазациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)карбамоил)-21-изопропил-15,20,23-триоксо-2,5,8,11-тетраокса-14,19,22-триазагептакозан-27-оат

К раствору соединения из **примера 14** (32 мг, 26 мкмоль) в DMF (3 мл) при перемешивании с помощью магнитной мешалки добавляли DSC (8 мг, 31,2 мкмоль) и DIEA (8,6 мкл, 52 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи. Затем добавляли 4 мг DSC и перемешивание при к. т. поддерживали в течение 1 ч. В это же время реакционную среду разбавляли с помощью MeTHF (10 мл), промывали с помощью H₂O (5 мл). Водную фазу экстрагировали с помощью MeTHF (3×5 мл). Объединенные органические фазы высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Среду очищали с помощью флеш-хроматографии на 4 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/iPrOH) с получением 28 мг соединения из **примера 15** (81%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): 0,78 (d, J=6,6 Гц, 6 H); 0,83 (d, J=6,9 Гц, 3 H); 0,85 (d, J=6,9 Гц, 3 H); 1,00 (s, 3 H); 1,04 (d, J=6,4 Гц, 3 H); 1,12 (s, 3 H); 1,30 (m, 1 H); 1,52 до 1,64 (m, 2 H); 1,75 до 1,93 (m, 5 H); 1,98 (m, 1 H); 2,12 (m, 2 H); 2,22 до 2,34 (m, 3 H); 2,62 до 2,72 (m, 4 H); 2,81 (s, 4 H); 2,93 до 3,04 (m, 3 H); 3,18 (q, J=6,0 Гц, 2 H); 3,23 (s, 3 H); 3,33 (частично скрытый m, 1 H); 3,39 (t, J=6,0 Гц, 2 H); 3,42 (m, 2 H); 3,47 до 3,52 (m, 10 H); 3,81 (s, 3 H); 3,87 (d, J=1,6 Гц, 1 H); 4,15 (dd, J=6,6 и 8,2 Гц, 1 H); 4,19 до 4,32 (m, 4 H); 4,91 (dd, J=3,6 и 9,6 Гц, 1 H); 5,10 (m, 1 H); 5,79 (d, J=15,3 Гц, 1 H); 6,47 (ddd, J=3,7, 11,3 и 15,3 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,5 Гц, 1 H); 7,17 (dd, J=2,2 и 8,5 Гц, 1 H); 7,21 до 7,26 (m, 5 H); 7,28 (d, J=2,2 Гц, 1 H); 7,85 (t, J=6,0 Гц, 1 H); 7,92 (d, J=8,2 Гц, 1 H); 8,08 (d, J=7,7 Гц, 1 H); 8,32 (t, J=6,0 Гц, 1 H); 8,37 (d, J=8,0 Гц, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=1326 [M+H]⁺; масса/заряд=1348 [M+Na]⁺; масса/заряд=1370 [M-H+HCO₂H]⁻; Rt=1,31 мин.

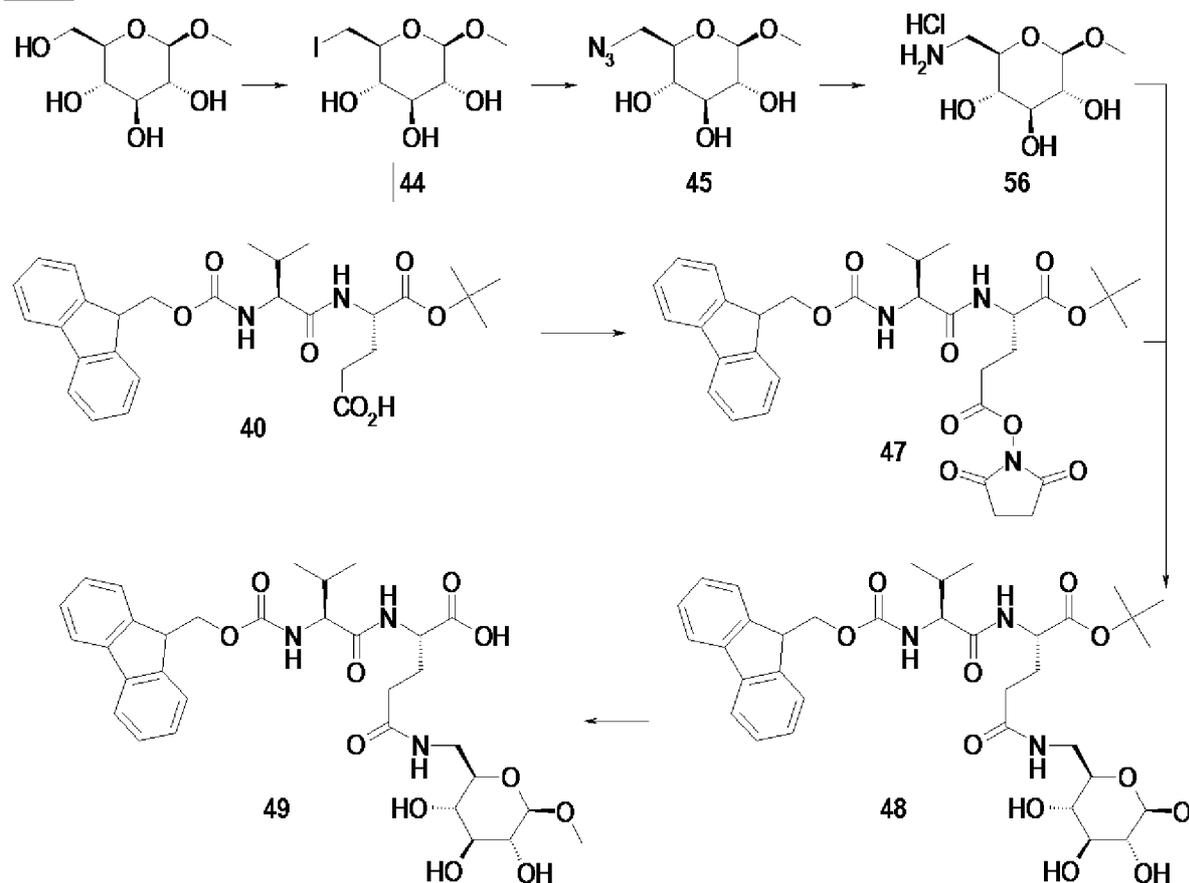
Пример 16: hu2H11_R35-74-Ex15

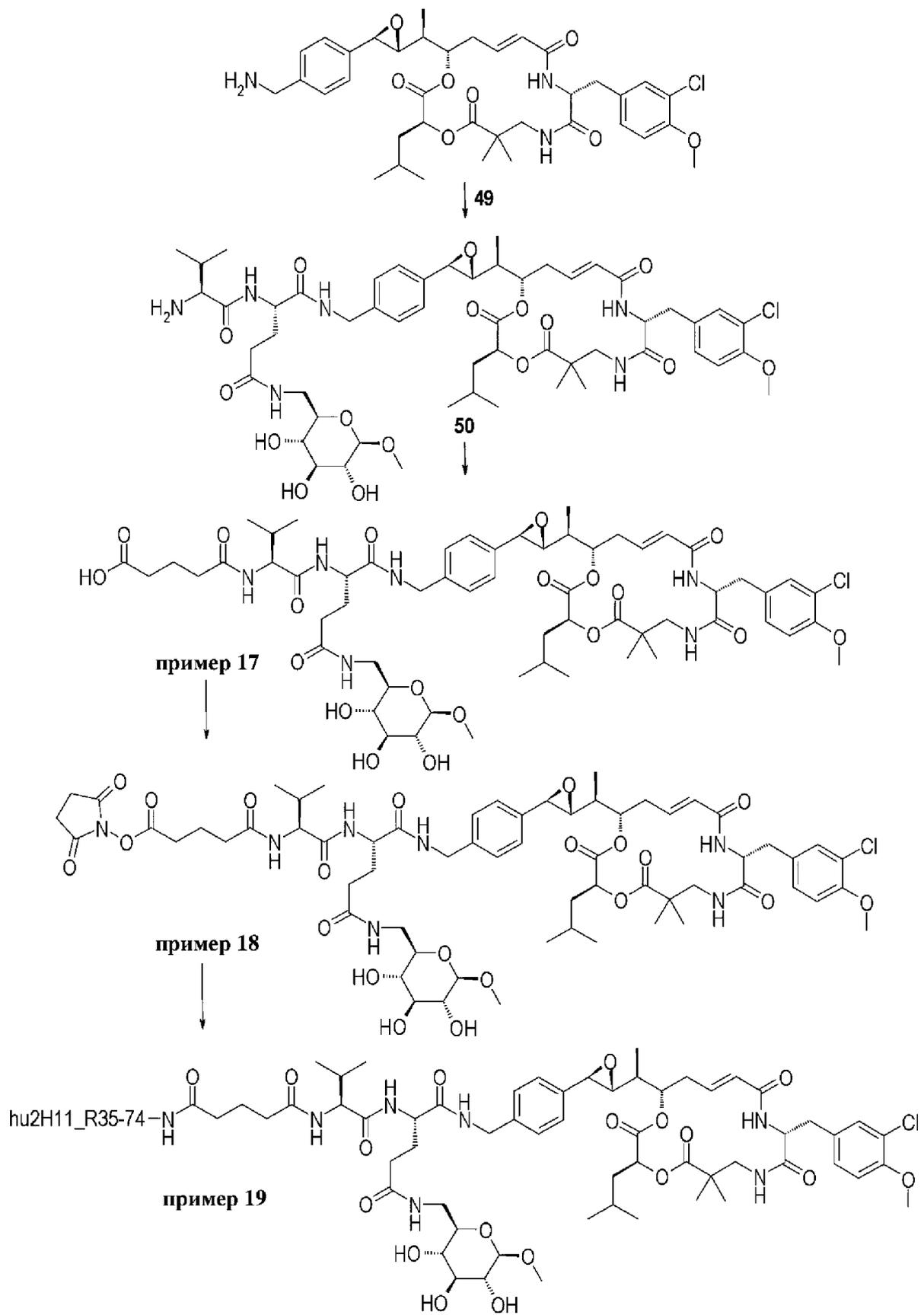
Общий способ, описанный ранее, использовали для получения соединения из **примера 16**. 28,8 мг hu2H11_R35-74 вводили в реакцию с 115,2 мкл 10,05 mM раствора соединения из **примера 15** в DMA (6 экв.) в течение 2 ч. 30 мин. После очистки на Superdex 200 pg в буфере В с pH 6,5+10% NMP, концентрирования на Amicon Ultra-15, разбавления в буфере В с pH 6,5 до конечной концентрации NMP при 5% и фильтрации на PVDF-фильтре с размером пор 0,22 мкм получали 16,12 мг ADC, который содержал 2,2% остаточного соединения из **примера 14**. Данную партию концентрировали на Amicon Ultra-15 и очищали на Sephadex G25 с получением 13,16 мг соединения из **примера 16** в

виде бесцветного прозрачного раствора при концентрации 1,4 мг/мл с DAR 2,8 (HRMS), мономерной чистотой 99,7% и общим выходом 43%.

SEC–HRMS: масса/заряд=149398 (неконъюгированное mAb); масса/заряд=150610 (D1); масса/заряд=151822 (D2); масса/заряд=153035 (D3); масса/заряд=154248 (D4); масса/заряд=155458 (D5); масса/заряд=156672 (D6); масса/заряд=1578881 (D7).

Синтез примеров 17–19: глутарил–Val–глюкоза–Gln–C52–бензиламин, NHS–сложный эфир глутарил–Val–глюкоза–Gln–C52–бензиламина и соответствующий ADC





Соединение 44: (2S,3S,4S,5R,6R)-2-(йодметил)-6-метокситетрагидро-2H-пиранин-3,4,5-триол

К раствору полугидрата метил-β-D-глюкопиранозид (номер CAS [7000-27-3], 1

г, 4,67 ммоль), имидазола (642 мг, 9,34 ммоль) и трифенилфосфина (2,47 г, 9,33 ммоль) в THF (50 мг), который перемешивали при нагревании с обратным холодильником, добавляли по каплям раствор йода (2,37 г, 9,33 ммоль) в THF (10 мл). Нагревание с обратным холодильником поддерживали в течение 3 ч. После охлаждения при 0°C реакцию среду фильтровали, фильтрат концентрировали *in vacuo*. Смесь очищали с помощью флеш-хроматографии на 150 г силикагеля (градиент DCM/MeOH) с получением 1 г **соединения 44** (63%).

Соединение 45: (2R,3S,4S,5R,6R)-2-(азидометил)-6-метокситетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триол

К раствору **соединения 44** (1 г, 3,29 ммоль) в DMF (10 мг) при перемешивании с помощью магнитной мешалки добавляли NaN₃ (322 мг, 4,93 ммоль). Реакционную среду нагревали при 50°C в течение 16 ч. В это же время после охлаждения при к. т. среду концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 80 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 550 мг **соединения 45** (76%).

Соединение 46: (2R,3S,4S,5R,6R)-2-(аминометил)-6-метокситетрагидро-2H-пиран-3,4,5-триолгидрохлорид

Раствор **соединения 45** (550 мг, 2,51 ммоль) и трифенилфосфина (1,33 г, 5,02 ммоль) в 1,4-диоксане (12 мл) и MeOH (3 мл) перемешивали при к. т. в течение 30 мин. В это же время к реакционной среде добавляли воду (1,5 мл) и перемешивание при к. т. поддерживали в течение ночи. Неочищенную среду концентрировали *in vacuo*, затем разбавляли с помощью DCM (10 мл) и 1 н. водного раствора HCl (5 мл), водную фазу экстрагировали с помощью DCM (2×10 мл). Водную фазу концентрировали *in vacuo*, затем разбавляли с помощью MeOH и концентрировали *in vacuo* с получением 560 мг **соединения 46** (97%).

Соединение 47: (S)-1-трет-бутил-5-(2,5-диоксопирролидин-1-ил)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пентандиоат

К раствору **соединения 40** (2 г, 3,81 ммоль) в THF (100 мл) последовательно добавляли при перемешивании с помощью магнитной мешалки DIEA (1,29 мл, 7,62 ммоль), DSC (1,95 г, 7,62 ммоль) и DMF (20 мл). Реакционную среду перемешивали при к. т. в атмосфере Ar в течение ночи. После концентрирования *in vacuo* смесь очищали посредством флеш-хроматографии на 150 г силикагеля (элюирование DCM/EtOAc) с получением 1,67 г **соединения 47** (71%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,89 (d, J=6,8 Гц, 3 H); 0,91 (d, J=6,8 Гц, 3 H); 1,39 (s, 9 H); 1,84 до 2,10 (m, 3 H); 2,65 до 2,77 (m, 2 H); 2,80 (s, 4 H); 3,88 (dd, J=7,2 и 8,7 Гц, 1 H); 4,18 до 4,31 (m, 4 H); 7,32 (m, 2 H); 7,41 (m, 3 H); 7,73 (d, J=7,6 Гц, 1 H); 7,75 (d, J=7,6 Гц, 1 H); 7,88 (d, J=7,6 Гц, 2 H); 8,31 (широкий d, J=7,1 Гц, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=566; масса/заряд=622 [M+H]⁺; масса/заряд=666 [M-H+HCO₂H]⁻; Rt=1,49 мин.

Соединение 48: (S)-трет-бутил-2-(((S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-5-оксо-5-(((2R,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-тригидрокси-6-метокситетрагидро-2H-пиран-2-ил)метил)амино)пентаноат

К раствору **соединения 47** (500 мг, 804 мкмоль) в DMF (10 мл) при перемешивании с помощью магнитной мешалки добавляли **соединение 46** (185 мг, 805 мкмоль) и DIEA (165 мкл, 978 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение 4 ч. В это же время 37 мг **соединения 46** и 35 мкл DIEA добавляли к реакционной среде, перемешивание поддерживали в течение 1 ч. Затем среду концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 50 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 480 мг **соединения 48** (85%).

^1H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,87 (d, J=6,7 Гц, 3 H); 0,89 (d, J=6,7 Гц, 3 H); 1,38 (s, 9 H); 1,70 до 2,04 (m, 3 H); 2,19 (t, J=7,9 Гц, 2 H); 2,86 до 2,98 (m, 2 H); 3,01 до 3,16 (m, 3 H); 3,35 (s, 3 H); 3,52 (m, 1 H); 3,92 (dd, J=7,2 и 8,4 Гц, 1 H); 3,99 (d, J=7,6 Гц, 1 H); 4,09 (m, 1 H); 4,16 до 4,36 (m, 3 H); 4,95 (широкий d, J=4,6 Гц, 1 H); 4,99 (d, J=5,1 Гц, 1 H); 5,03 (d, J=4,9 Гц, 1 H); 7,27 до 7,37 (m, 3 H); 7,41 (t, J=7,6 Гц, 2 H); 7,75 (разделенный d, J=7,0 Гц, 2 H); 7,85 (широкий m, 1 H); 7,89 (d, J=7,6 Гц, 2 H); 8,23 (широкий d, J=7,1 Гц, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=700 [M+H]⁺; масса/заряд=744 [M-H+HCO₂H]⁻; Rt=1,22 мин.

Соединение 49: (S)-2-((S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-5-оксо-5-(((2R,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-тригидрокси-6-метокситетрагидро-2H-пиран-2-ил)метил)аминопентановая кислота

К **соединению 48** (480 мг, 686 мкмоль) при перемешивании с помощью магнитной мешалки добавляли 4 М раствор HCl в 1,4-диоксане (30 мл). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение 4 ч. В это же время среду концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 30 г силикагеля (элюирование DCM/MeOH/H₂O) с получением 260 мг **соединения 49** (59%).

^1H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,83 (d, J=6,6 Гц, 3 H); 0,85 (d, J=6,6 Гц, 3 H); 1,69 до 1,90 (m, 2 H); 2,01 до 2,15 (m, 3 H); 2,86 до 2,97 (m, 2 H); 2,99 до 3,16 (m, 3 H); 3,35 (s, 3 H); 3,51 (m, 1 H); 3,82 (m, 2 H); 3,99 (d, J=7,8 Гц, 1 H); 4,20 до 4,33 (m, 3 H); 4,95 (широкий d, J=3,7 Гц, 1 H); 5,03 (d, J=4,9 Гц, 1 H); 5,06 (широкий d, J=4,6 Гц, 1 H); 7,33 (m, 2 H); 7,40 (t, J=7,6 Гц, 2 H); 7,52 (широкий d, J=6,4 Гц, 1 H); 7,61 (широкий d, J=9,3 Гц, 1 H); 7,73 (d, J=7,6 Гц, 1 H); 7,76 (d, J=7,6 Гц, 1 H); 7,89 (d, J=7,6 Гц, 2 H); 8,10 (широкий m, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=642 [M-H]⁻; масса/заряд=644 [M+H]⁺; Rt=1,01 мин.

Соединение 50: (S)-2-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)-N1-(4-((2R,3R)-3-((S)-1-(((3S,10R,16S), E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дiazациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)-N5-(((2R,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-тригидрокси-6-метокситетрагидро-2H-пиран-2-ил)метил)пентандиаמיד

К раствору (E)-(3S,10R,16S)-16-{(S)-1-[(2R,3R)-3-(4-аминометилфенил)-оксиранил]-этил}-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-1,4-диокса-8,11-дiazациклогексадец-13-ен-2,5,9,12-тетраона (синтез которого описан в **WO2011001052**, **соединение 77**, 110 мг, 157 мкмоль) в DMF (6 мл) при перемешивании с помощью магнитной мешалки добавляли **соединение 49** (122 мг, 189 мкмоль), HOBT (34

мг, 252 мкмоль) и EDC (43 мкл, 236 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи. Затем 25 мг **соединения 49** и 25 мкл EDC добавляли к среде, перемешивание поддерживали в течение 1 ч. В это же время пиперидин (160 мкл, 1,58 ммоль) добавляли к среде. Через 2 ч. среду концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 20 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 78 мг **соединения 50** (45%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,76 (d, J=6,9 Гц, 3 H); 0,79 (d, J=6,3 Гц, 6 H); 0,87 (d, J=6,9 Гц, 3 H); 1,00 (s, 3 H); 1,04 (d, J=6,6 Гц, 3 H); 1,12 (s, 3 H); 1,30 (m, 1 H); 1,50 до 1,98 (m, 8 H); 2,12 (m, 2 H); 2,26 (m, 1 H); 2,68 (m, 2 H); 2,86 до 3,14 (m, 9 H); 3,32 (частично скрытый m, 1 H); 3,38 (s, 3 H); 3,52 (m, 1 H); 3,81 (s, 3 H); 3,87 (s, 1 H); 4,01 (d, J=7,4 Гц, 1 H); 4,20 до 4,36 (m, 4 H); 4,90 (m, 1 H); 4,98 (широкий d, J=3,6 Гц, 1 H); 5,02 (d, J=4,9 Гц, 1 H); 5,06 (d, J=4,7 Гц, 1 H); 5,10 (m, 1 H); 5,79 (d, J=15,6 Гц, 1 H); 6,47 (m, 1 H); 7,05 (d, J=8,5 Гц, 1 H); 7,17 (широкий d, J=8,5 Гц, 1 H); 7,21 до 7,26 (m, 5 H); 7,29 (широкий s, 1 H); 7,90 (m, 1 H); 8,08 (широкий m, 1 H); 8,37 (d, J=8,0 Гц, 1 H); 8,48 (m, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=551 [M+2H]²⁺; масса/заряд=1099 [M-H]⁻; масса/заряд=1101 [M+H]⁺; масса/заряд=1145 [M-H+HCO₂H]⁻; Rt=0,9 мин.

Пример 17: 5-(((S)-1-(((S)-1-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-диазациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)амино)-1,5-диоксо-5-(((2R,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-тригидрокси-6-метокситетрагидро-2H-пиран-2-ил)метил)амино)пентан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)амино)-5-оксопентановая кислота

К раствору **соединения 50** (77 мг, 69,9 мкмоль) в DMF (4 мл) при перемешивании с помощью магнитной мешалки добавляли глутаровый ангидрид (14 мг, 125,8 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение 2 ч. Затем реакционную среду концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 10 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 54 мг **соединения из примера 17** (64%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,80 (d, J=6,0 Гц, 6 H); 0,86 (d, J=6,6 Гц, 3 H); 0,88 (d, J=6,6 Гц, 3 H); 0,99 (s, 3 H); 1,03 (d, J=6,6 Гц, 3 H); 1,12 (s, 3 H); 1,34 (m, 1 H); 1,53 до 1,85 (m, 6 H); 1,90 до 2,33 (m, 9 H); 2,65 до 2,76 (m, 2 H); 2,87 до 3,14 (m, 8 H); 3,32 (частично скрытый m, 1 H); 3,35 (s, 3 H); 3,53 (m, 1 H); 3,81 (s, 3 H); 3,87 (d, J=1,9 Гц, 1 H); 4,00 (d, J=7,9 Гц, 1 H); 4,03 до 4,26 (m, 4 H); 4,33 (m, 1 H); 4,93 (m, 1 H); 5,02 (широкий m, 3 H); 5,10 (m, 1 H); 5,80 (d, J=15,3 Гц, 1 H); 6,46 (ddd, J=3,5, 11,0 и 15,3 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,5 Гц, 1 H); 7,18 (dd, J=2,2 и 8,5 Гц, 1 H); 7,22 (d, J=8,2 Гц, 2 H); 7,26 (d, J=8,2 Гц, 2 H); 7,30 (m, 2 H); 7,98 до 8,65 (широкий m, 5 H). LCMS (A): ES масса/заряд=608 [M+2H]²⁺; масса/заряд=1213 [M-H]⁻; масса/заряд=1215 [M+H]⁺; Rt=1,15 мин.

Пример 18: 2,5-диоксопирролидин-1-ил-5-(((S)-1-(((S)-1-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-диазациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-

ил)бензил)амино)–1,5–диоксо–5–(((2R,3S,4S,5R,6R)–3,4,5–тригидрокси–6–метокситетрагидро–2H–пиран–2–ил)метил)амино)пентан–2–ил)амино)–3–метил–1–оксобутан–2–ил)амино)–5–оксопентаноат

Пример 17 (45 мг, 37 мкмоль) разбавляли в толуоле и концентрировали *in vacuo*. Затем к раствору соединения из **примера 17** в THF (5 мл), DCM (2 мл) и DMF (1 мл) при перемешивании с помощью магнитной мешалки добавляли DSC (11,4 мг, 44,4 мкмоль) и DIEA (19 мкл, 112,6 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в атмосфере Ar в течение 3 ч. Затем к среде добавляли DMF и DSC до завершения реакции. Через 3 ч. среду разбавляли водой (5 мл) и экстрагировали с помощью MeTHF (3×10 мл). Объединенные органические фазы высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Смесь очищали с помощью флеш–хроматографии на 4 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/iPrOH) с получением 21 мг соединения из **примера 18** (43%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO–d₆): 0,78 (d, J=6,0 Гц, 6 H); 0,83 (d, J=6,9 Гц, 3 H); 0,85 (d, J=6,9 Гц, 3 H); 1,00 (s, 3 H); 1,04 (d, J=6,3 Гц, 3 H); 1,12 (s, 3 H); 1,30 (m, 1 H); 1,52 до 1,63 (m, 2 H); 1,75 до 2,02 (m, 6 H); 2,09 до 2,34 (m, 5 H); 2,68 (m, 4 H); 2,81 (s, 4 H); 2,88 до 3,18 (m, 7 H); 3,32 (частично скрытый m, 1 H); 3,38 (s, 3 H); 3,51 (m, 1 H); 3,81 (s, 3 H); 3,88 (s, 1 H); 4,01 (d, J=7,7 Гц, 1 H); 4,16 (dd, J=7,1 и 7,7 Гц, 1 H); 4,19 до 4,35 (m, 5 H); 4,90 (m, 1 H); 4,97 (d, J=4,1 Гц, 1 H); 5,01 (d, J=4,9 Гц, 1 H); 5,06 (d, J=4,9 Гц, 1 H); 5,10 (m, 1 H); 5,79 (d, J=15,3 Гц, 1 H); 6,47 (m, 1 H); 7,05 (d, J=8,5 Гц, 1 H); 7,17 (широкий d, J=8,5 Гц, 1 H); 7,20 до 7,26 (m, 5 H); 7,28 (широкий s, 1 H); 7,86 (широкий t, J=5,6 Гц, 1 H); 7,91 (d, J=7,9 Гц, 1 H); 8,08 (d, J=7,4 Гц, 1 H); 8,33 (t, J=5,8 Гц, 1 H); 8,38 (d, J=8,2 Гц, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=1310 [M–H][–]; масса/заряд=1356 [M–H+HCO₂H][–]; масса/заряд=1312 [M+H]⁺; масса/заряд=656,5 [M+2H]²⁺; Rt=1,2 мин.

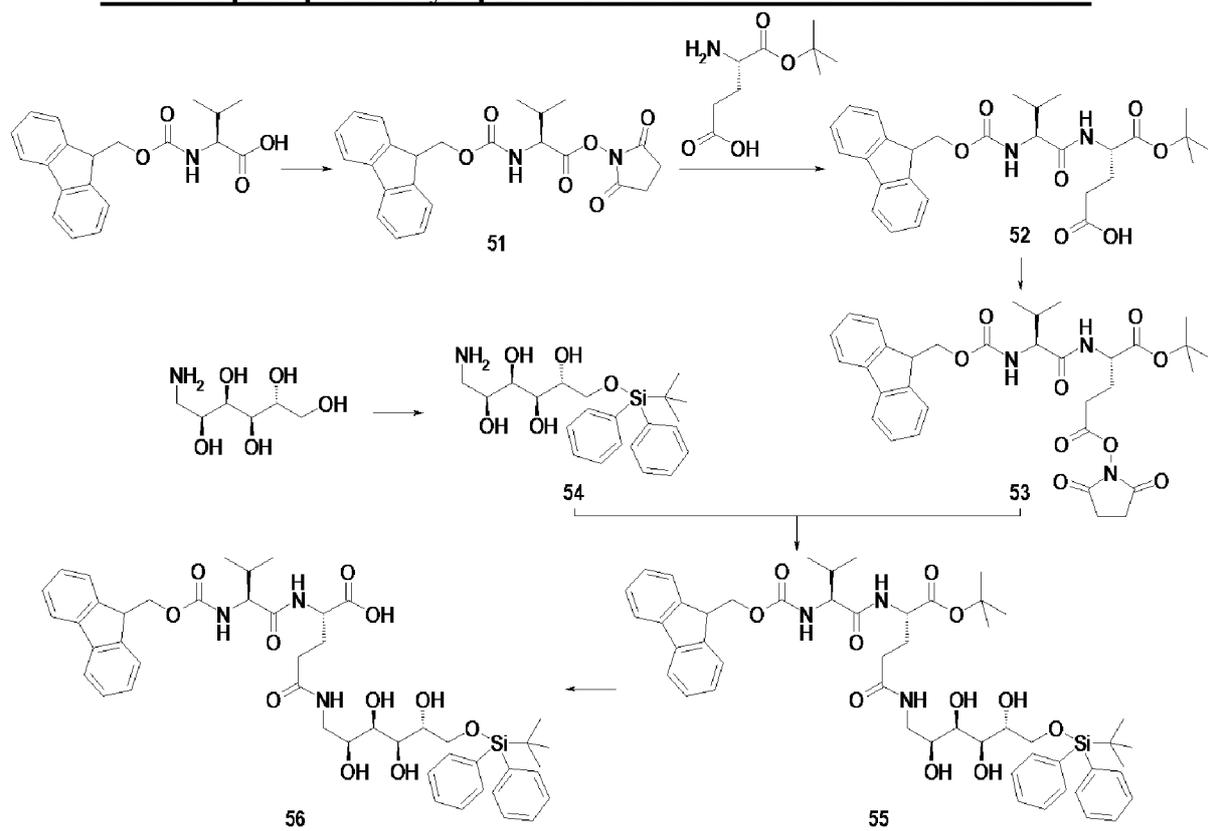
Пример 19: hu2H11_R35–74–Ex18

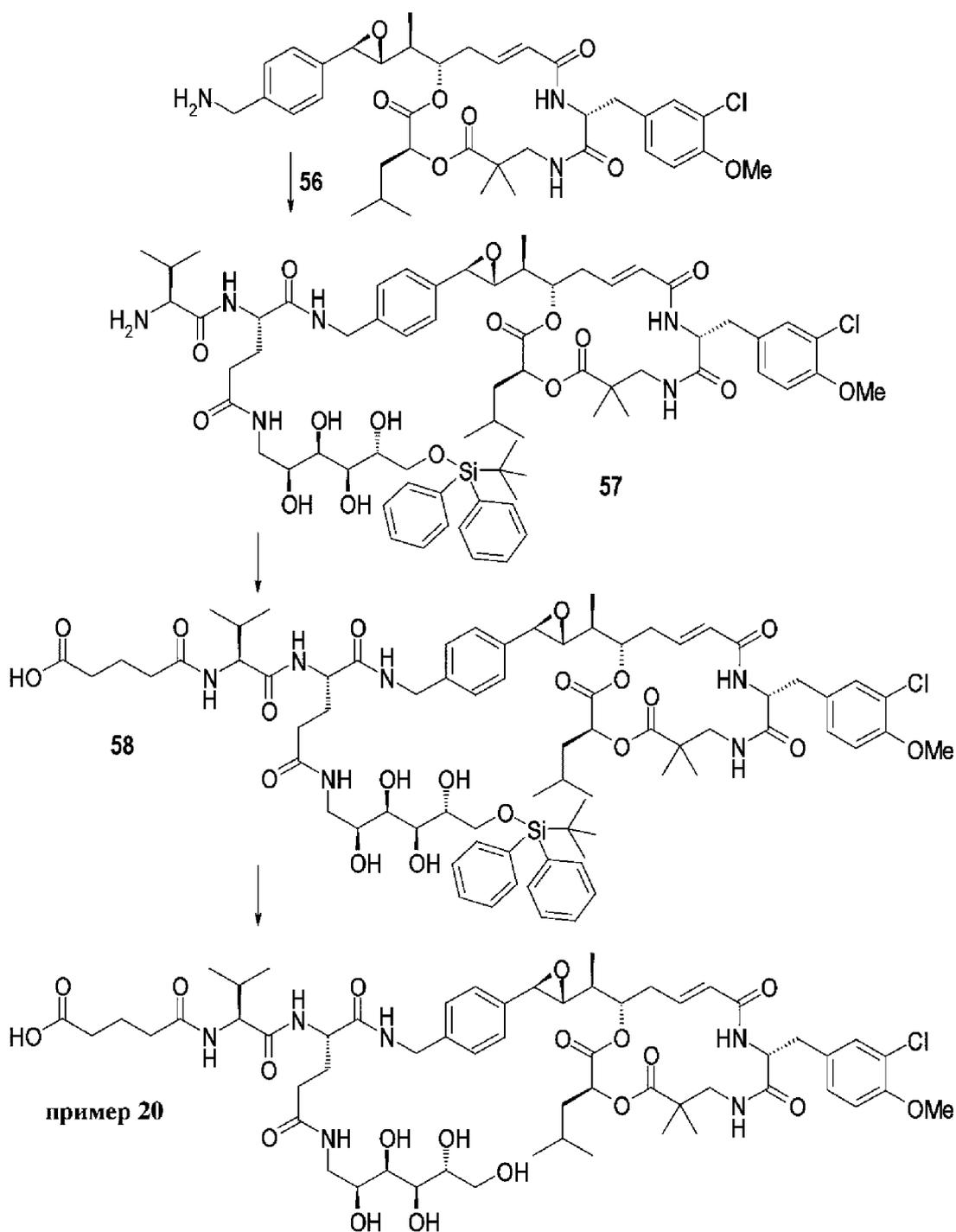
Общий способ, описанный ранее, использовали для получения соединения из **примера 19**. 29,02 мг hu2H11_R35–74 вводили в реакцию с 116,6 мкл 10 mM раствора соединения из **примера 18** в DMA (6 экв.) в течение 2 ч. 30 мин. После очистки на Superdex 200 pg в буфере В с pH 6,5+10% NMP, концентрирования на Amicon Ultra–15, разбавления в буфере В с pH 6,5 до конечной концентрации NMP при 5% и фильтрации на PVDF–фильтре с размером пор 0,22 мкм получали 23,1 мг соединения из **примера 19** в виде бесцветного прозрачного раствора при концентрации 2,2 мг/мл с DAR 2,8 (HRMS), мономерной чистотой 99,9% и общим выходом 78%. Уровень лекарственного средства, не связанного с белками плазмы крови, превышал пороговое значение 1%: ADC концентрировали на Amicon Ultra–15, очищали на Sephadex G25 в буфере В с pH 6,5+5% NMP и фильтровали на PVDF–фильтре с размером пор 0,22 мкм с получением 17,25 мг соединения из **примера 19** в виде бесцветного прозрачного раствора при концентрации 1,50 мг/мл с DAR 2,55 (HRMS), мономерной чистотой 99,7% и общим выходом 59%.

SEC–HRMS: масса/заряд=149405 (неконъюгированное mAb); масса/заряд=150602 (D1); масса/заряд=151800 (D2); масса/заряд=152997 (D3); масса/заряд=154196 (D4);

масса/заряд=155393 (D5); масса/заряд=156589 (D6); масса/заряд=157791 (D7).

Синтез примера 20: глутарил-Val-глюкамин-Gln-C52-бензиламин





Соединение 51: (S)-2,5-диоксопирролидин-1-ил-2-((((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-метилбутаноат

К раствору Fmoc-Val-OH (номер CAS [68858-20-8], 5 г, 14,44 ммоль) в THF (40 мл) добавляли NHS (1,71 г, 14,44 ммоль) и DCC (2,98 г, 14,44 ммоль). Реакционную среду перемешивали в течение 5 ч. при к. т., затем добавляли 0,2 эквивалента NHS и DCC и перемешивание проводили в течение 4 ч. при к. т. Среду фильтровали, твердое вещество промывали дважды с помощью THF (2×25 мл) и фильтрат концентрировали *in vacuo* с получением 6,5 г **соединения 51** в виде белой меренги (колич.).

^1H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 1,03 (d, J=6,9 Гц, 6 H); 2,20 (m, 1 H); 2,81 (s, 4 H); 4,18 до 4,39 (m, 4 H); 7,32 (m, 2 H); 7,42 (m, 2 H); 7,74 (m, 2 H); 7,90 (d, J=7,6 Гц, 2 H);

8,12 (d, J=8,5 Гц, 1 H).

Соединение 52: (S)-4-(((S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-5-(*трет*-бутокси)-5-оксопентановая кислота

К раствору H-Glu-OtBu (номер CAS [45120-30-7], 3,14 г, 15,16 ммоль) и бикарбоната натрия (1,40 г, 16,46 ммоль) в H₂O (60 мл) добавляли раствор **соединения 51** (6,3 г, 14,43 ммоль) в THF (240 мл). Реакционную среду перемешивали в течение 16 ч. при к. т. и концентрировали *in vacuo*. Неочищенный продукт разбавляли в H₂O (700 мл) с образованием геля, который перемешивали в течение 15 мин., затем экстрагировали дважды с помощью Et₂O (200 мл). Водную суспензию подкисляли до pH 3 с помощью 5 н. HCl и экстрагировали с помощью DCM (4×200 мл). Объединенные органические фазы высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением 7,98 г **соединения 52** в виде белой меренги (колич.).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): 0,87 (d, J=6,9 Гц, 3 H); 0,90 (d, J=6,9 Гц, 3 H); 1,38 (s, 9 H); 1,77 (m, 1 H); 1,91 (m, 1 H); 1,98 (m, 1 H); 2,28 (m, 2 H); 3,90 (dd, J=7,1 и 9,1 Гц, 1 H); 4,10 до 4,37 (m, 4 H); 7,32 (m, 2 H); 7,38 (d, J=9,1 Гц, 1 H); 7,41 (m, 2 H); 7,73 (m, 2 H); 7,89 (d, J=7,6 Гц, 2 H); 8,20 (d, J=7,5 Гц, 1 H); 12,21 (широкий m, 1 H).

Соединение 53: (S)-1-*трет*-бутил-5-(2,5-диоксопирролидин-1-ил)-2-(((S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пентандиоат

К раствору **соединения 52** (500 мг, 953,1 мкмоль) в THF (30 мл) добавляли DIEA (320 мкл, 1,9 ммоль), DSC (498,3 мг, 1,91 ммоль) и DMF (6 мл). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи, затем к среде добавляли 30 мг DSC и перемешивание проводили в течение 24 ч. Реакционную среду концентрировали *in vacuo*, дважды выпаривали совместно с толуолом и очищали с помощью флеш-хроматографии на 50 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/iPrOH) с получением 506 мг **соединения 53** в виде белого масла (85%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): 0,89 (d, J=6,9 Гц, 3 H); 0,91 (d, J=6,9 Гц, 3 H); 1,39 (s, 9 H); 1,75 до 2,11 (m, 3 H); 2,73 (m, 2 H); 2,80 (s, 4 H); 3,89 (dd, J=7,3 и 9,1 Гц, 1 H); 4,20 до 4,38 (m, 4 H); 7,32 (m, 2 H); 7,42 (m, 3 H); 7,75 (m, 2 H); 7,80 (m, 2 H); 8,31 (d, J=7,5 Гц, 1 H).

Соединение 54: (2S,3R,4R,5R)-1-амино-6-((*трет*-бутилдифенилсилил)окси)гексан-2,3,4,5-тетраол

Суспензию D-глюкамина (номер CAS [488-43-7], 200 мг, 1,10 ммоль) в DMF (2 мл) охлаждали при 0°C, затем добавляли имидазол (82,0 мг, 1,19 ммоль) и *трет*-бутилхлордифенилсилан (334,4 мг, 1,19 ммоль). Реакционную среду перемешивали в течение 1 ч. при 0°C, гасили с помощью H₂O (20 мл) и проводили перемешивание в течение 10 мин. Среду экстрагировали с помощью EtOAc (3×50 мл), объединенные органические фазы высушивали над MgSO₄, фильтровали, концентрировали *in vacuo*, дважды выпаривали совместно с толуолом и очищали с помощью флеш-хроматографии с обращенной фазой на 31 г C18-модифицированного силикагеля (градиентное элюирование H₂O/MeCN) с получением 218 мг **соединения 54** в виде белой пены (47%).

^1H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): 1,00 (s, 9 H); 2,62 (dd, $J=6,3$ и $12,7$ Гц, 1 H); 2,74 (dd, $J=4,5$ и $12,7$ Гц, 1 H); 3,40 (частично скрытый m, 1 H); 3,49 (m, 1 H); 3,55 до 3,72 (m, 3 H); 3,88 (m, 1 H); 4,48 (широкий m, 4 H); 7,42 (m, 6 H); 7,69 (m, 4 H).

Соединение 55: (S)-*трет*-бутил-2-((S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-5-(((2S,3R,4R,5R)-6-((*трет*-бутилдифенилсилил)окси)-2,3,4,5-тетрагидроксигексил)амино)-5-оксопентаноат

К раствору **соединения 53** (300 мг, 482,6 мкмоль) в DMF (2 мл) добавляли раствор **соединения 54** (214,6 мг, 511,5 мкмоль) в DMF (3 мл). Реакционную среду перемешивали в течение 1 ч. при к. т., концентрировали *in vacuo*, выпаривали совместно с толуолом (3 х) и очищали с помощью флеш-хроматографии на 25 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH/H₂O) с получением 270 мг **соединения 55** в виде белой пены (60%).

^1H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): 0,87 (d, $J=6,9$ Гц, 3 H); 0,90 (d, $J=6,9$ Гц, 3 H); 0,99 (s, 9 H); 1,38 (s, 9 H); 1,80 (m, 1 H); 1,90 (m, 1 H); 1,98 (m, 1 H); 2,17 (t, $J=7,7$ Гц, 2H); 3,03 (m, 1 H); 3,26 (m, 1 H); 3,49 (m, 1 H); 3,52 до 3,60 (m, 4 H); 3,83 (m, 1 H); 3,92 (dd, $J=7,3$ и $9,2$ Гц, 1 H); 4,08 (m, 1 H); 4,18 до 4,31 (m, 4 H); 4,33 (d, $J=6,4$ Гц, 1 H); 4,63 (d, $J=5,8$ Гц, 1 H); 4,78 (d, $J=4,7$ Гц, 1 H); 7,31 (m, 2 H); 7,36 (d, $J=9,2$ Гц, 1 H); 7,41 (m, 8 H); 7,67 (m, 4 H); 7,69 до 7,76 (m, 3 H); 7,89 (m, 2 H); 8,23 (d, $J=7,5$ Гц, 1 H).

Соединение 56: (S)-2-((S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-5-(((2S,3R,4R,5R)-6-((*трет*-бутилдифенилсилил)окси)-2,3,4,5-тетрагидроксигексил)амино)-5-оксопентановая кислота

Соединение 55 разбавляли в DCM с образованием геля, который охлаждали при 0°C, затем медленно добавляли смесь DCM/TFA 1:1 при 0°C. Реакционную среду перемешивали в течение 30 мин. при 0°C, затем в течение 5 ч. при к. т., концентрировали *in vacuo* и выпаривали совместно с толуолом (3 х) с получением белого твердого вещества, которое размалывали в iPr₂O, фильтровали, промывали дважды с помощью Et₂O (5 мл), высушивали и, наконец, очищали с помощью флеш-хроматографии на 15 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH/H₂O) с получением 149 мг **соединения 56** в виде белого твердого вещества (59%).

^1H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): 0,84 (d, $J=6,8$ Гц, 3 H); 0,86 (d, $J=6,8$ Гц, 3 H); 0,99 (s, 9 H); 1,82 (m, 1 H); 1,90 (m, 1 H); 2,03 до 2,14 (m, 3 H); 3,00 (m, 1 H); 3,25 (m, 1 H); 3,48 (m, 1 H); 3,65 (m, 4 H); 3,82 до 3,92 (m, 3 H); 4,20 до 4,37 (m, 3 H); 4,40 (d, $J=6,0$ Гц, 1 H); 4,45 (d, $J=6,0$ Гц, 1 H); 4,80 (m, 1 H); 5,12 (m, 1 H); 7,32 (m, 2 H); 7,41 (m, 8 H); 7,55 (m, 2 H); 7,65 до 7,82 (m, 7 H); 7,89 (d, $J=8,0$ Гц, 2 H). LCMS (A): масса/заряд=868 [M-H]⁻; масса/заряд=870 [M+H]⁺; Rt=1,55 мин.

Соединение 57: (S)-2-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)-N5-(((2S,3R,4R,5R)-6-((*трет*-бутилдифенилсилил)окси)-2,3,4,5-тетрагидроксигексил)-N1-(4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дiazациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)-пентандиаמיד

К раствору **соединения 56** (67,3 мг, 77,3 мкмоль) и (3S,10R,16S, E)-16-((S)-1-((2R,3R)-3-(4-(аминометил)фенил)оксиран-2-ил)этил)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-1,4-диокса-8,11-дизаациклогексадец-13-ен-2,5,9,12-тетраона (синтез которого описан в **WO2011001052**, соединение 77, 45 мг, 64,5 мкмоль) в DMF и DCM (10 мл) добавляли HOBt (11,5 мг, 85,1 мкмоль) и EDC (11,4 мг, 70,9 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 3 ч. при к. т., затем гасили с помощью H₂O (15 мл) и перемешивание проводили в течение 10 мин. Водную фазу экстрагировали с помощью DCM (3×20 мл), объединенные органические фазы высушивали над MgSO₄, фильтровали, концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 5 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 64 мг Fmoc-защищенного промежуточного соединения дипептид-криптофицин в виде белого твердого вещества (64%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,76 (d, J=6,8 Гц, 6 H); 0,82 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 0,86 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 0,99 (s, 12 H); 1,04 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 1,10 (s, 3 H); 1,30 (m, 1 H); 1,55 (m, 2 H); 1,80 (m, 2 H); 1,90 (m, 1 H); 2,00 (m, 1 H); 2,14 (m, 2 H); 2,26 (m, 1 H); 2,68 (m, 2 H); 2,92 до 3,08 (m, 4 H); 3,22 до 3,38 (частично скрытый m, 2 H); 3,49 (m, 1 H); 3,58 до 3,69 (m, 4 H); 3,81 (s, 3 H); 3,82 (m, 1 H); 3,87 (d, J=2,0 Гц, 1 H); 3,91 (m, 1 H); 4,18 до 4,38 (m, 9 H); 4,68 (m, 1 H); 4,82 (m, 1 H); 4,90 (dd, J=3,8 и 9,8 Гц, 1 H); 5,10 (m, 1 H); 5,79 (широкий d, J=16,0 Гц, 1 H); 6,47 (ddd, J=4,7, 10,5 и 16,0 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,0 Гц, ¹H); 7,17 (dd, J=2,5 и 8,0 Гц, 1 H); 7,20 до 7,27 (m, 5 H); 7,29 (d, J=2,3 Гц, 1 H); 7,31 (t, J=7,8 Гц, 2 H); 7,34 до 7,48 (m, 7 H); 7,65 до 7,79 (m, 9 H); 7,90 (d, J=7,8 Гц, 2 H); 8,10 (d, J=8,3 Гц, 1 H); 8,38 (d, J=8,0 Гц, 1 H); 8,41 (t, J=6,5 Гц, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=775 [M+2H]²⁺; масса/заряд=1549 [M+H]⁺; масса/заряд=1549 [M+H]₂H⁺; Rt=1,78 мин.

К раствору данного промежуточного соединения (62 мг, 40,0 мкмоль) в DCM (8 мл) добавляли пиперидин (59,8 мкл, 600,0 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 4 ч. при к. т., концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 5 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH/H₂O) с получением 49 мг **соединения 57** в виде белого лака (92%).

Соединение 58: (6R,7R,8R,9S,15S,18S)-15-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дизаациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)карбамоил)-6,7,8,9-тетрагидрокси-18-изопропил-2,2-диметил-12,17,20-триоксо-3,3-дифенил-4-окса-11,16,19-триаза-3-силатетракозан-24-овая кислота

К раствору **соединения 57** (23 мг, 17,3 мкмоль) в DCM (3 мл) добавляли раствор глутарового ангидрида (2,22 мг, 19,1 мкмоль) в DCM (2 мл). Реакционную среду перемешивали в течение 3 ч. при к. т., частично концентрировали *in vacuo* (до 2 мл) и очищали с помощью флеш-хроматографии на 5 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH/H₂O) с получением 17 мг **соединения 58** в виде белого лака (68%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,80 (разделенный d, J=6,8 Гц, 6 H); 0,6 (разделенный d, J=7,0 Гц, 6 H); 0,99 (s, 12 H); 1,04 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 1,11 (s, 3 H); 1,32 (m, 1

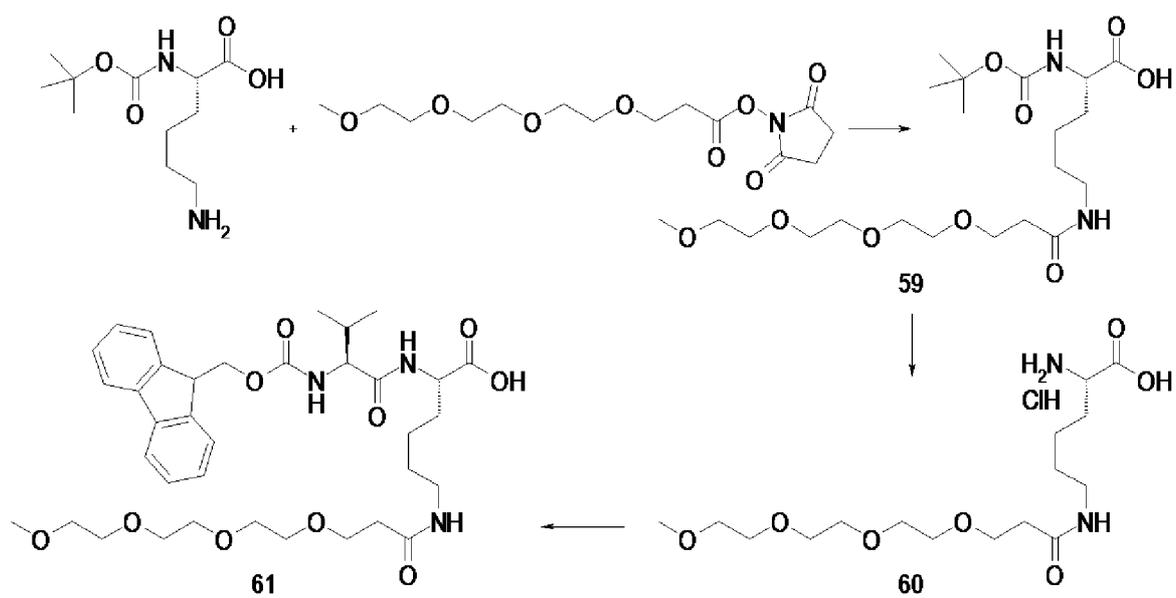
H); 1,52 до 1,60 (m, 2 H); 1,72 до 2,00 (m, 7 H); 2,08 (m, 1 H); 2,13 (m, 1 H); 2,20 до 2,37 (m, 3 H); 2,69 (m, 2 H); 2,92 до 3,07 (m, 4 H); 3,20 (m, 1 H); 3,30 (скрытый m, 1 H); 3,45 (m, 1 H); 3,55 до 3,70 (m, 4 H); 3,80 (s, 3 H); 3,83 (m, 1 H); 3,87 (d, J=2,3 Гц, 1 H); 4,07 до 5,00 (m, 11 H); 5,10 (m, 1 H); 5,80 (dd, J=2,0 и 15,8 Гц, 1 H); 6,47 (m, 1 H); 7,04 (d, J=8,6 Гц, ¹H); 7,18 (dd, J=2,4 и 8,6 Гц, 1 H); 7,20 до 7,28 (m, 5 H); 7,29 (d, J=2,3 Гц, 1 H); 7,41 (m, 6 H); 7,68 (m, 4 H); 8,05 (d, J=7,9 Гц, 1 H); 8,23 (t, J=6,5 Гц, 1 H); 8,30 до 8,60 (m, 3 H). LCMS (A): ES масса/заряд=721 [M+2H]²⁺; масса/заряд=1439 [M-H]⁻; масса/заряд=1441 [M+H]⁺; Rt=1,52 мин.

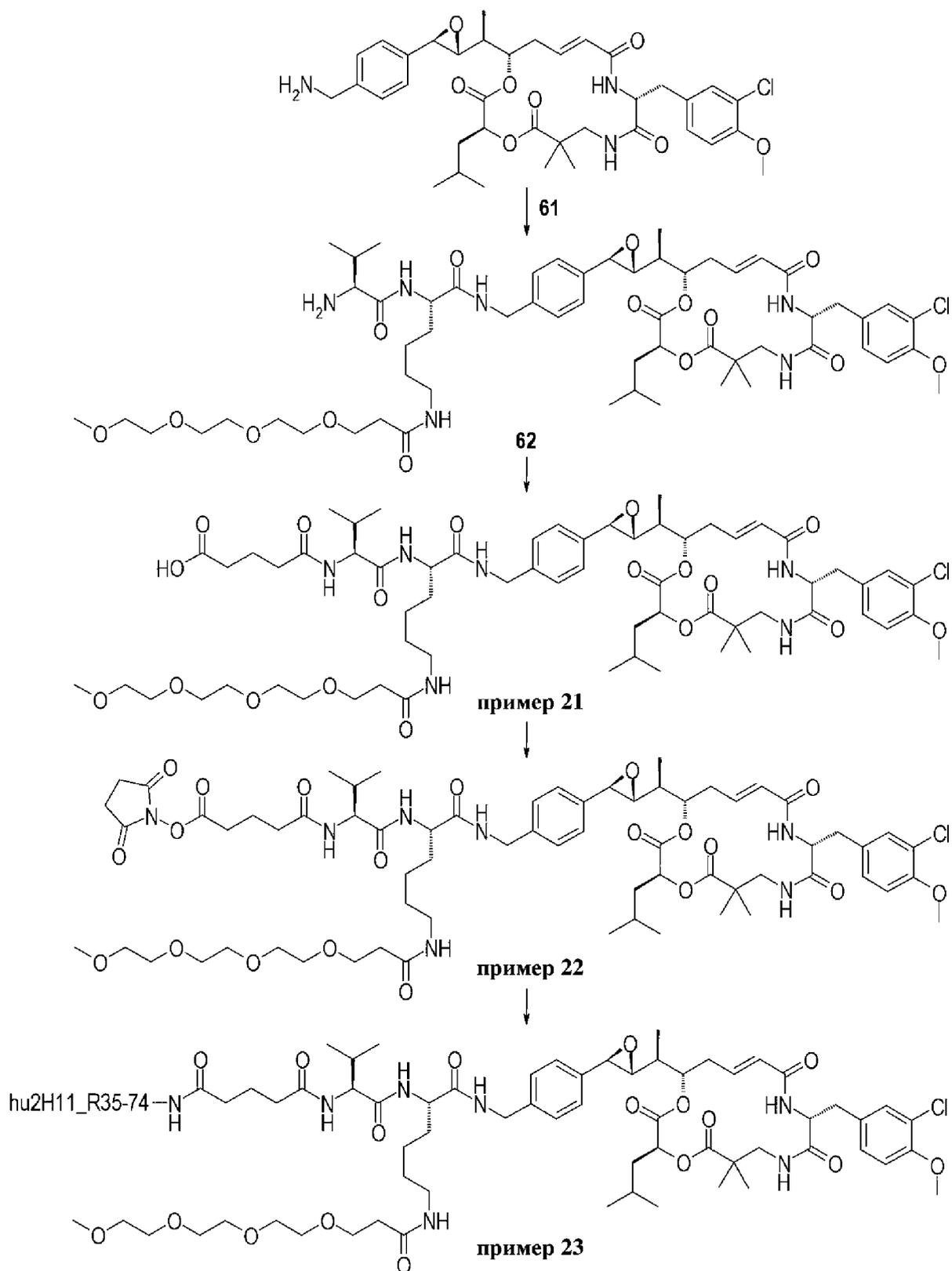
Пример 20: 5-(((S)-1-(((S)-1-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диоксо-8,11-дизаациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)амино)-1,5-диоксо-5-(((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)-амино)пентан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)амино)-5-оксопентановая кислота

Раствор **соединения 57** (46 мг, 31,9 мкмоль) в THF (3 мл) охлаждали при 0°C, затем добавляли по каплям при 0°C 1 М раствор TBAF в THF (35,1 мкл, 35,1 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 2 ч. при 0°C, гасили с помощью H₂O (100 мкл), перемешивали в течение 10 мин. и экстрагировали с помощью DCM (5 мл). Органическую фазу высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo*: LCMS-анализ указывал на наличие остаточного исходного материала. Неочищенный продукт растворяли в DCM (3 мл), раствор охлаждали при 0°C, затем добавляли по каплям 1 М раствор TBAF в THF (35,1 мкл, 35,1 мкмоль) при 0°C. Реакционную среду перемешивали в течение 3 ч. при 0°C, гасили с помощью H₂O (100 мкл), перемешивали в течение 10 мин. и экстрагировали с помощью DCM (20 мл). Органическую фазу высушивали над MgSO₄, фильтровали, концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 5 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH/H₂O до MeOH), затем с помощью флеш-хроматографии с обращенной фазой на 3 г C18-модифицированного силикагеля (градиентное элюирование H₂O/MeCN) с получением 17 мг соединения из **примера 20** в виде белого лака (44%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): 0,80 (разделенный d, J=6,8 Гц, 6 H); 0,6 (разделенный d, J=7,0 Гц, 6 H); 0,99 (s, 12 H); 1,04 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 1,11 (s, 3 H); 1,32 (m, 1 H); 1,52 до 1,60 (m, 2 H); 1,72 до 2,00 (m, 7 H); 2,08 (m, 1 H); 2,13 (m, 1 H); 2,20 до 2,37 (m, 3 H); 2,69 (m, 2 H); 2,92 до 3,07 (m, 4 H); 3,20 (m, 1 H); 3,30 (скрытый m, 1 H); 3,45 (m, 1 H); 3,55 до 3,70 (m, 4 H); 3,80 (s, 3 H); 3,83 (m, 1 H); 3,87 (d, J=2,3 Гц, 1 H); 4,07 до 5,00 (m, 11 H); 5,10 (m, 1 H); 5,80 (dd, J=2,0 и 15,8 Гц, 1 H); 6,47 (m, 1 H); 7,04 (d, J=8,6 Гц, ¹H); 7,18 (dd, J=2,4 и 8,6 Гц, 1 H); 7,20 до 7,28 (m, 5 H); 7,29 (d, J=2,3 Гц, 1 H); 7,41 (m, 6 H); 7,68 (m, 4 H); 8,05 (d, J=7,9 Гц, 1 H); 8,23 (t, J=6,5 Гц, 1 H); 8,30 до 8,60 (m, 3 H). LCMS (A): ES масса/заряд=602 [M+2H]²⁺; масса/заряд=1201 [M-H]⁻; масса/заряд=1203 [M+H]⁺; Rt=1,1 мин.

Синтез примеров 21-23: глутарил-Val-PEG4Lys-C52-бензиламин, NHS-сложный эфир глутарил-Val-PEG4Lys-C52-бензиламина и соответствующий ADC





Соединение 59: (S)-20-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)-14-оксо-2,5,8,11-тетраокса-15-азагеникозан-21-овая кислота

К раствору (S)-6-амино-2-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)гексановой кислоты (номер CAS [13734-28-6], 73,9 мг, 300 мкмоль) в THF (300 мкл) при перемешивании с помощью магнитной мешалки добавляли 2,5-диоксопирролидин-1-ил-2,5,8,11-

тетраоксатетрадекан-14-оат (номер CAS [622405-78-1], 100 мг, 300 мкмоль), DIEA (53,3 мкл, 300 мкмоль) и H₂O (100 мкл). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи, затем концентрировали *in vacuo*. Неочищенную среду очищали с помощью флеш-хроматографии на 5 г C18-привитого силикагеля (градиентное элюирование H₂O/CH₃CN) с получением 81 мг **соединения 59** (58%). LCMS (B): ES масса/заряд=463 [M-H]⁻; масса/заряд=465 [M+H]⁺; t_R=0,86 мин.

Соединение 60: гидроклорид (S)-20-амино-14-оксо-2,5,8,11-тетраокса-15-азагеникозан-21-овой кислоты

К **соединению 59** (150,6 мг, 324,2 мкмоль) при перемешивании с помощью магнитной мешалки добавляли 4 М раствор HCl в 1,4-диоксане (1 мл). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи, затем концентрировали *in vacuo*. Добавляли EtOAc и смесь концентрировали *in vacuo* с получением 156 мг **соединения 60** (колич.).

LCMS (B): ES масса/заряд=508 [M-H]⁻; масса/заряд=510 [M+H]⁺; t_R=1,23 мин.

Соединение 61: (S)-20-((S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-14-оксо-2,5,8,11-тетраокса-15-азагеникозан-21-овая кислота

К раствору **соединения 60** (130 мг, 275 мкмоль) в воде (0,5 мл) при перемешивании с помощью магнитной мешалки добавляли NaHCO₃ (55,6 мг, 661 мкмоль), затем добавляли (S)-2,5-диоксопирролидин-1-ил-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-метилбутаноат (номер CAS [130878-68-1], 144,4 мг, 330,8 мкмоль) в THF (1,5 мл). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи. Затем к реакционной среде добавляли NaHCO₃ (30 мг), THF (500 мкл), H₂O (200 мкл) и (S)-2,5-диоксопирролидин-1-ил-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-метилбутаноат (28 мг). Через 3 ч. среду концентрировали *in vacuo*, затем разбавляли с помощью H₂O (20 мл) и ~2-3 мл водного насыщенного Na₂CO₃. Водную фазу экстрагировали дважды с помощью EtOAc (20 мл). Объединенные органические фазы промывали солевым раствором (20 мл), высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Смесь очищали с помощью флеш-хроматографии на 15 г силикагеля (элюирование EtOAc/MeOH/H₂O 85:1:0,5 об./об.). После концентрирования неочищенный продукт разбавляли толуолом и концентрировали *in vacuo* с получением 75,6 мг **соединения 61** (40%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): 0,85 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 0,87 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 1,21 до 1,40 (m, 4 H); 1,50 до 1,73 (m, 2 H); 2,01 (m, 1 H); 2,27 (t, J=6,6 Гц, 2 H); 2,98 (m, 2 H); 3,23 (s, 3 H); 3,41 (m, 2 H); 3,43 до 3,52 (m, 10 H); 3,57 (t, J=6,6 Гц, 2 H); 3,88 (m, 1 H); 4,01 (m, 1 H); 4,19 до 4,34 (m, 3 H); 7,31 (m, 2 H); 7,38 до 7,46 (m, 3 H); 7,70 до 7,91 (m, 6 H); 12,51 (m, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=684 [M-H]⁻; масса/заряд=686 [M+H]⁺; Rt=1,2 мин.

Соединение 62: N-((S)-5-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)-6-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-

((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дiazациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-

ил)бензил)амино)–6–оксогексил)–2,5,8,11–тетраоксатетрадекан–14–амид

К соединению **61** (70 мг, 102,1 мкмоль) при перемешивании с помощью магнитной мешалки и в атмосфере Ar добавляли раствор (E)–(3S,10R,16S)–16–{(S)–1–[(2R,3R)–3–(4–аминометилфенил)–оксиранил]–этил}–10–(3–хлор–4–метоксибензил)–3–изобутил–6,6–диметил–1,4–диокса–8,11–диазациклогексадец–13–ен–2,5,9,12–тетраона (синтез которого описан в **WO2011001052**, соединение **77**, 76,2 мг, 109,1 мкмоль) в THF (3 мл) с последующим добавлением HOBt (17,7 мг, 131 мкмоль) и EDC (23 мкл, 131 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи. Затем добавляли к среде пиперидин (32,8 мкл, 327,4 мкмоль) и перемешивание поддерживали в течение 4 ч. 30 мин. В это же время среду концентрировали *in vacuo*, разбавляли с помощью DMA и очищали с помощью флеш–хроматографии на 15 г C18–привитого силикагеля (градиентное элюирование H₂O/CH₃CN) с получением 66 мг **соединения 62** (53%).

LCMS (B): ES масса/заряд=572; масса/заряд=1187 [M–H+HCO₂H][–]; t_R=1,18 мин.

Пример 21: (20S,23S)–20–((4–((2R,3R)–3–((S)–1–((3S,10R,16S, E)–10–(3–хлор–4–метоксибензил)–3–изобутил–6,6–диметил–2,5,9,12–тетраоксо–1,4–диокса–8,11–диазациклогексадец–13–ен–16–ил)этил)оксиран–2–ил)бензил)карбамоил)–23–изопропил–14,22,25–триоксо–2,5,8,11–тетраокса–15,21,24–триазанокозан–29–овая кислота

К раствору **соединения 62** (66 мг, 57,7 мкмоль) в DMF (4 мл) при перемешивании с помощью магнитной мешалки добавляли глутаровый ангидрид (11,85 мг, 103,8 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение 2 ч. В это же время среду концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш–хроматографии на 10 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 48,6 мг соединения из **примера 21** (80%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO–d₆): 0,81 (m, 6 H); 0,85 (d, J=7,5 Гц, 3 H); 0,87 (d, J=7,5 Гц, 3 H); 0,98 (s, 3 H); 1,04 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 1,10 (s, 3 H); 1,16 до 1,44 (m, 5 H); 1,55 до 1,79 (m, 7 H); 1,90 до 2,10 (m, 3 H); 2,14 до 2,29 (m, 3 H); 2,31 (t, J=6,7 Гц, 2 H); 2,66 до 2,78 (m, 2 H); 2,85 до 2,99 (m, 4 H); 3,05 (m, 1 H); 3,23 (s, 3 H); 3,32 (частично скрытый m, 1 H); 3,42 (m, 2 H); 3,44 до 3,51 (m, 10 H); 3,57 (m, 2 H); 3,81 (s, 3 H); 3,88 (d, J=1,6 Гц, 1 H); 4,04 до 4,25 (m, 4 H); 4,35 (m, 1 H); 4,94 (m, 1 H); 5,10 (m, 1 H); 5,80 (d, J=15,0 Гц, 1 H); 6,45 (ddd, J=4,0, 11,2 и 15,0 Гц, 1 H); 7,04 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,19 (dd, J=1,7 и 8,6 Гц, 1 H); 7,22 (d, J=8,4 Гц, 2 H); 7,28 (d, J=8,4 Гц, 2 H); 7,30 (d, J=1,7 Гц, 1 H); 7,32 (широкий m, 1 H); 7,75 до 9,42 (широкий m, 5 H); 12,06 (широкий m, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=629 [M+2H]²⁺; масса/заряд=1255 [M–H][–]; масса/заряд=1257 [M+H]⁺; Rt=1,26 мин.

Пример 22: (20S,23S)–2,5–диоксопирролидин–1–ил–20–((4–((2R,3R)–3–((S)–1–((3S,10R,16S, E)–10–(3–хлор–4–метоксибензил)–3–изобутил–6,6–диметил–2,5,9,12–тетраоксо–1,4–диокса–8,11–диазациклогексадец–13–ен–16–ил)этил)оксиран–2–ил)бензил)карбамоил)–23–изопропил–14,22,25–триоксо–2,5,8,11–тетраокса–15,21,24–триазанокозан–29–оат

Толуол (10 мл) добавляли к соединению из **примера 21** (46 мг, 36,6 мкмоль) и концентрировали *in vacuo* с последующим разбавлением с помощью THF (5 мл), DCM (2

мл) и DMF (200 мкл). Затем добавляли DSC (11,5 мг, 43,9 мкмоль) с последующим добавлением DIEA (18,5 мкл, 109,7 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение 4 ч. В это же время добавляли MeTHF (7 мл) и H₂O (3 мл), водную фазу экстрагировали дважды с помощью MeTHF (5 мл). Объединенные органические фазы промывали с помощью H₂O (3 мл), высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Неочищенную среду очищали с помощью флеш-хроматографии на 4 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/iPrOH) с получением 33,3 мг соединения из **примера 22** (67%).

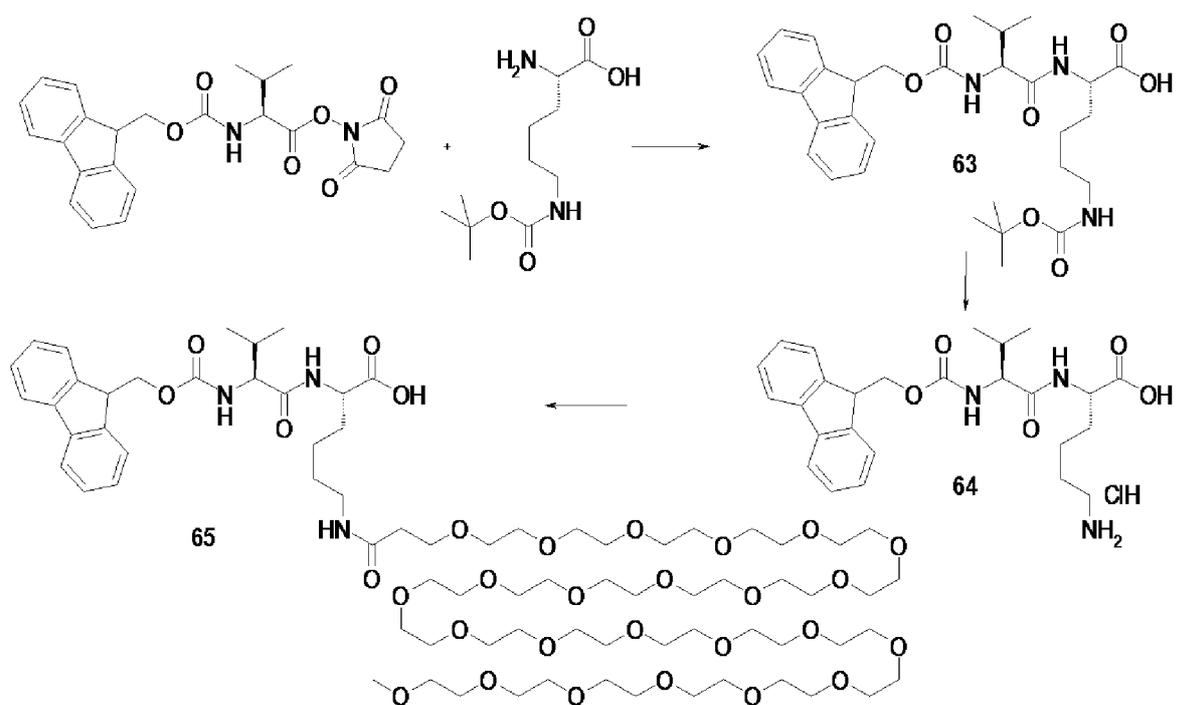
¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,78 (d, J=6,6 Гц, 6 H); 0,83 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 0,84 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 1,00 (s, 3 H); 1,04 (d, J=6,9 Гц, 3 H); 1,12 (s, 3 H); 1,20 до 1,43 (m, 5 H); 1,50 до 1,69 (m, 4 H); 1,76 до 1,87 (m, 3 H); 1,98 (m, 1 H); 2,21 до 2,35 (m, 5 H); 2,62 до 2,73 (m, 4 H); 2,81 (s, 4 H); 2,94 до 3,04 (m, 5 H); 3,23 (s, 3 H); 3,32 (частично скрытый m, 1 H); 3,42 (m, 2 H); 3,44 до 3,51 (m, 10 H); 3,58 (t, J=6,4 Гц, 2 H); 3,81 (s, 3 H); 3,87 (d, J=1,1 Гц, 1 H); 4,17 (dd, J=7,3 и 7,8 Гц, 1 H); 4,21 до 4,31 (m, 4 H); 4,90 (m, 1 H); 5,10 (m, 1 H); 5,79 (d, J=15,1 Гц, 1 H); 6,47 (ddd, J=3,5, 11,5 и 15,1 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,5 Гц, 1 H); 7,17 (dd, J=1,6 и 8,5 Гц, 1 H); 7,20 до 7,25 (m, 5 H); 7,28 (d, J=1,6 Гц, 1 H); 7,79 (t, J=5,7 Гц, 1 H); 7,91 (d, J=8,5 Гц, 1 H); 7,95 (d, J=8,3 Гц, 1 H); 8,37 (m, 2 H). LCMS (C): ES масса/заряд=677,5 [M+2H]²⁺; масса/заряд=1354 [M+H]⁺; масса/заряд=1399 [M-H+HCO₂H]⁻; Rt=4,41 мин.

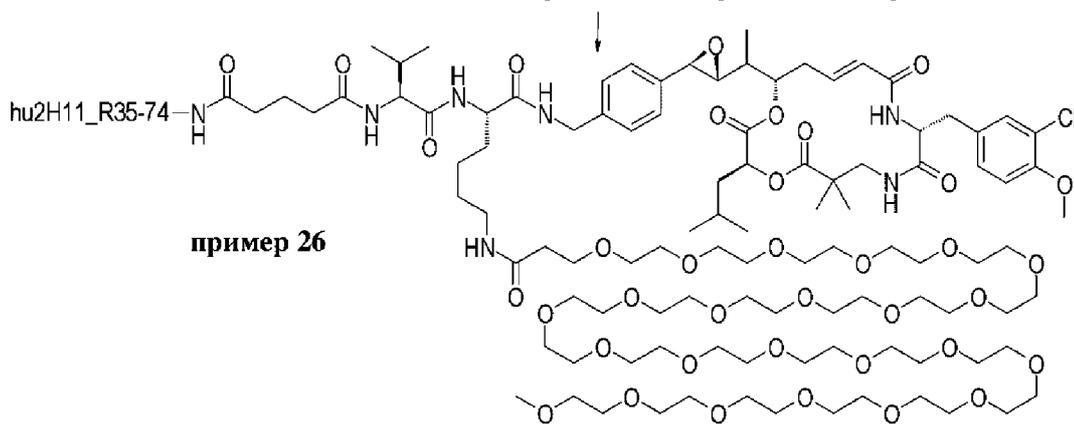
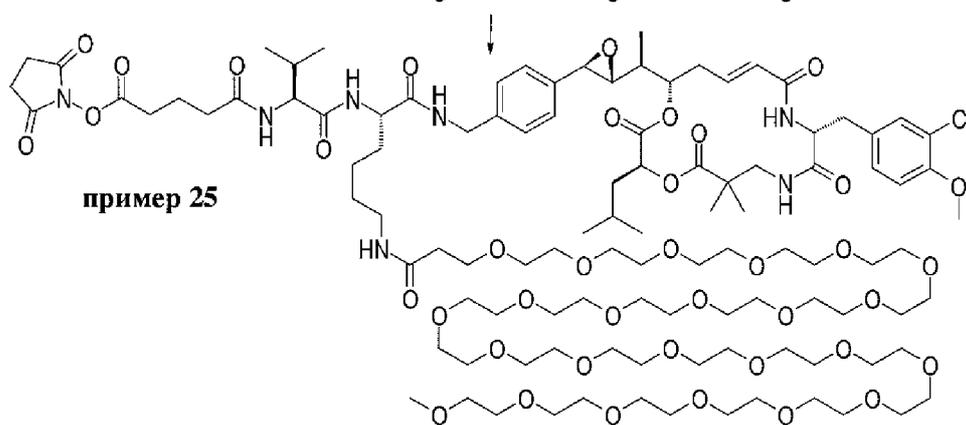
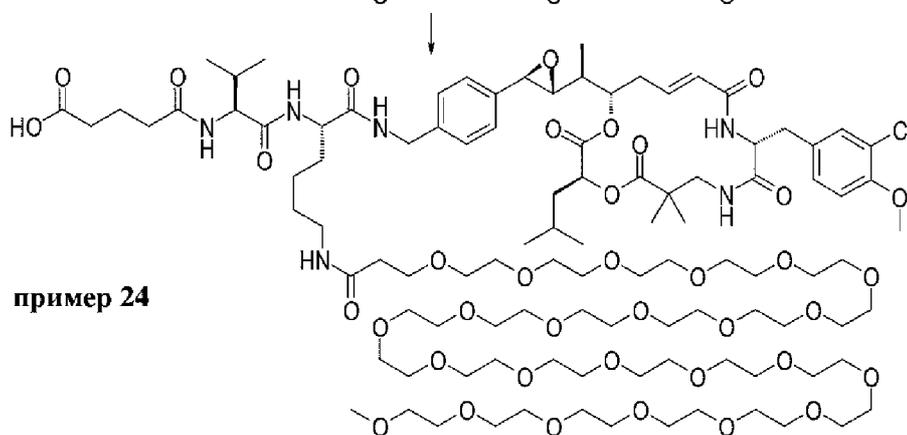
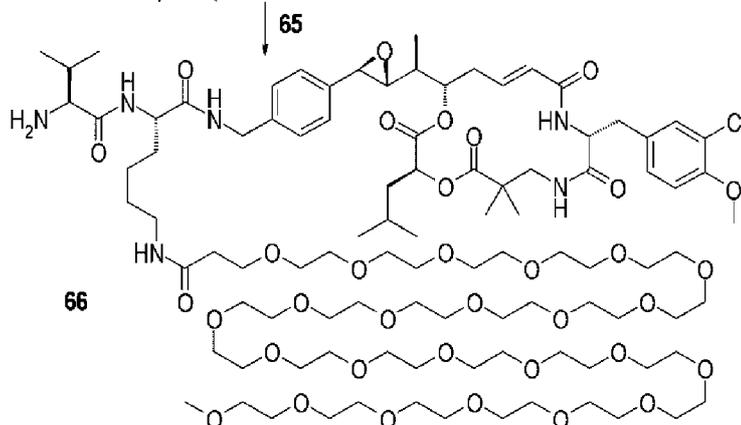
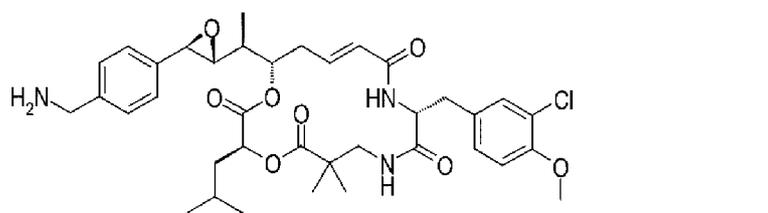
Пример 23: hu2H11_R35-74-Ex22

Общий способ, описанный ранее, использовали для получения соединения из **примера 23**. 44,64 мг hu2H11_R35-74 вводили в реакцию с 209,2 мкл 10 mM раствора соединения из **примера 22** в DMA (7 экв.) в течение 3 ч. 30 мин. После очистки на Sephadex G25 в буфере В с pH 6,5+5% NMP и концентрирования на Amicon Ultra-15, получали 36,6 мг соединения из **примера 23** в виде бесцветного прозрачного раствора при концентрации 1,83 мг/мл с DAR 3,6 (HRMS), мономерной чистотой 98,8% и общим выходом 82%. Уровень лекарственного средства, не связанного с белками плазмы крови, превышал пороговое значение 1%: ADC концентрировали на Amicon Ultra-15, очищали на Sephadex G25 в буфере В с pH 6,5+5% NMP и фильтровали на PVDF-фильтре с размером пор 0,22 мкм с получением 32,6 мг соединения из **примера 23** в виде бесцветного прозрачного раствора при концентрации 1,63 мг/мл с DAR 3,3 (HRMS), мономерной чистотой 98,3% и общим выходом 73%.

SEC-HRMS: масса/заряд=149411 (неконъюгированное mAb); масса/заряд=150649 (D1); масса/заряд=151889 (D2); масса/заряд=153129 (D3); масса/заряд=154369 (D4); масса/заряд=155608 (D5); масса/заряд=156850 (D6); масса/заряд=158091 (D7); масса/заряд=159331 (D8); масса/заряд=160583 (D9).

Синтез примеров 24-26: глутарил-Val-PEG24Lys-C52-бензиламин, NHS-сложный эфир глутарил-Val-PEG24Lys-C52-бензиламина и соответствующий ADC





Соединение 63: (S)-2-((S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-6-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)гексановая кислота

К раствору H-Lys(Вос)-ОН (номер CAS [2418-95-3], 310 мг, 1,26 ммоль) и NaHCO₃ (105 мг, 1,25 ммоль) в воде (5 мл) и THF (5 мл) при перемешивании с помощью магнитной мешалки добавляли по каплям раствор (S)-2,5-диоксопирролидин-1-ил-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-метилбутаноата (номер CAS [68858-20-8], 310 мг, 1,15 ммоль) в THF (15 мл). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение 3 ч. В это же время реакционную среду концентрировали *in vacuo*, затем разбавляли водой (200 мл), подкисляли с помощью QS 5 н. водного раствора HCl и экстрагировали с помощью DCM (2×200 мл). Объединенные органические фазы высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo* с получением 510 мг **соединения 63** (53%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): 0,85 (d, J=6,8 Гц, 3 H); 0,87 (d, J=6,8 Гц, 3 H); 1,20 до 1,39 (m, 4 H); 1,34 (s, 9 H); 1,48 до 1,73 (m, 2 H); 1,99 (m, 1 H); 2,86 (m, 2 H); 3,89 (dd, J=7,7 и 8,4 Гц, 1 H); 4,08 (m, 1 H); 4,17 до 4,32 (m, 3 H); 6,72 (широкий m, 1 H); 7,32 (m, 2 H); 7,38 до 7,46 (m, 3 H); 7,74 (m, 2 H); 7,89 (d, J=7,6 Гц, 2 H); 8,00 (широкий m, 1 H); 12,54 (широкий s, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=344; масса/заряд=468; масса/заряд=566 [M-H]⁻; масса/заряд=568 [M+H]⁺; Rt=1,41 мин.

Соединение 64: гидрохлорид (S)-2-((S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-6-аминогексановой кислоты

К **соединению 63** (340 мг, 599 мкмоль) добавляли раствор 4 М HCl в 1,4-диоксане, реакционную среду перемешивали при к. т. в течение 1 ч. В это же время реакционную среду концентрировали *in vacuo* с последующим добавлением Et₂O и фильтрацией. Полученное белое твердое вещество очищали с помощью флеш-хроматографии на 15 г силикагеля (элюирование DCM/MeOH/NH₄OH 12:3:0,5 об./об./об.) с получением 190 мг **соединения 64** (63%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): 0,83 (d, J=6,6 Гц, 3 H); 0,85 (d, J=6,6 Гц, 3 H); 1,21 до 1,70 (m, 6 H); 2,04 (m, 1 H); 2,71 (t, J=7,1 Гц, 2 H); 3,84 (dd, J=6,7 и 8,7 Гц, 1 H); 3,91 (m, 1 H); 4,18 до 4,35 (m, 3 H); 7,22 (широкий m, 3 H); 7,33 (m, 2 H); 7,42 (t, J=7,6 Гц, 2 H); 7,54 (d, J=9,0 Гц, 1 H); 7,69 (широкий m, 1 H); 7,74 (m, 2 H); 7,89 (d, J=7,6 Гц, 2 H). LCMS (A): ES масса/заряд=244 ; масса/заряд=466 [M-H]⁻; масса/заряд=468 [M+H]⁺; Rt=0,81 мин.

Соединение 65: (S)-80-((S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-74-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-тетракозаокса-75-азагеноктаконтан-81-овая кислота

К раствору **соединения 64** (130 мг, 258,0 мкмоль) в THF (20 мл) добавляли раствор бикарбоната натрия (50 мг, 589,2 мкмоль) в H₂O (8 мл) и MEO-DPEG(24)-NHS (номер CAS [756525-94-7], 400 мг, 329,4 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 20 ч. при к. т., частично концентрировали *in vacuo*, затем разбавляли с помощью H₂O (10

мл), подкисляли до pH 3 с помощью ионообменной смолы Amberlite IR-120 (H) (номер CAS [78922-04-0]), фильтровали, концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью трех последовательных операций флеш-хроматографии на 40 г, 25 г и 12 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH/H₂O) с получением 214 мг **соединения 65** в виде белого лака (53%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,86 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 0,89 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,22 до 1,40 (m, 4 H); 1,58 (m, 1 H); 1,67 (m, 1 H); 1,99 (m, 1 H); 2,28 (t, J=6,6 Гц, 2 H); 2,99 (m, 2 H); 3,23 (s, 3 H); 3,40 до 3,70 (m, 92 H); 3,56 (t, J=6,6 Гц, 2 H); 3,90 (m, 1 H); 4,08 (широкий m, 1 H); 4,19 до 4,31 (m, 3 H); 7,31 (широкий t, J=7,8 Гц, 2 H); 7,41 (широкий t, J=7,8 Гц, 3 H); 7,73 (t, J=7,8 Гц, 2 H); 7,76 (m, 1 H); 7,89 (d, J=7,8 Гц, 2 H); 8,00 (m, 1 H); 12,53 (m, 1 H). LCMS (D): ES масса/заряд=794 [M+H+Na]²⁺; масса/заряд=1567 [M+H]⁺; Rt=2,9 мин.

Соединение 66: N-((S)-5-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)-6-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R, 16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дизаациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)-амино)-6-оксогексил)-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-тетракозаоксатетрагептаконтан-74-амид

К раствору (E)-(3S,10R,16S)-16-{(S)-1-[(2R,3R)-3-(4-аминометилфенил)-оксиранил]-этил}-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-1,4-диокса-8,11-дизаациклогексадец-13-ен-2,5,9,12-тетраона (синтез которого описан в **WO2011001052**, соединение 77, 71 мг, 101,7 мкмоль) в DMF (5 мл) добавляли раствор **соединения 65** (214 мг, 136,6 мкмоль) в DMF (5 мл), HOBt (22 мг, 156,3 мкмоль) и EDC (27 мкл, 152,5 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 3 ч. при к. т. перед добавлением пиперидина (91 мкл, 915,3 мкмоль). Перемешивание проводили в течение 1 ч. 30 мин. при к. т., затем реакционную среду концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью двух последовательных операций флеш-хроматографии на 25 г и 12 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 58 мг **соединения 66** в виде бесцветного лака (28%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,76 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 0,78 (d, J=6,8 Гц, 6 H); 0,88 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 0,99 (s, 3 H); 1,04 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 1,12 (s, 3 H); 1,25 до 1,41 (m, 5 H); 1,51 до 1,70 (m, 4 H); 1,80 (m, 1 H); 1,93 (m, 1 H); 2,25 (m, 1 H); 2,28 (t, J=6,7 Гц, 2 H); 2,55 (широкий m, 2 H); 2,68 (m, 2 H); 2,99 (m, 5 H); 3,23 (s, 3 H); 3,32 (скрытый m, 1 H); 3,40 до 3,55 (m, 92 H); 3,58 (t, J=6,7 Гц, 2 H); 3,80 (s, 3 H); 3,88 (d, J=2,3 Гц, 1 H); 4,20 до 4,35 (m, 4 H); 4,91 (dd, J=3,8 и 9,8 Гц, 1 H); 5,10 (m, 1 H); 5,80 (dd, J=2,0 и 15,8 Гц, 1 H); 6,46 (ddd, J=4,7, 10,5 и 15,8 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,17 (dd, J=2,4 и 8,6 Гц, 1 H); 7,22 (m, 5 H); 7,29 (d, J=2,4 Гц, 1 H); 7,79 (t, J=6,7 Гц, 1 H); 8,00 (d, J=8,8 Гц, 1 H); 8,36 (d, J=8,0 Гц, 1 H); 8,47 (t, J=6,2 Гц, 1 H). LCMS (D): ES масса/заряд=1013 [M+2H]²⁺; масса/заряд=2025 [M+H]⁺; Rt=2,64/2,62 мин (смесь изомеров 85/15).

Пример 24: (80S,83S)-80-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-

метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-
 диазациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)карбамоил)-83-изопропил-
 74,82,85-триоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-
 тетракозаокса-75,81,84-триазанооктаконтан-89-овая кислота

К раствору **соединения 66** (58 мг, 28,7 мкмоль) в DCM (7 мл) добавляли глутаровый ангидрид (5,85 мг, 48,7 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 2 ч. при к. т., концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 4 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH/H₂O) с получением 35 мг соединения из **примера 24** в виде белого лака (57%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,78 (d, J=6,8 Гц, 6 H); 0,82 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 0,84 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,00 (s, 3 H); 1,04 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 1,11 (s, 3 H); 1,18 до 1,41 (m, 5 H); 1,50 до 1,75 (m, 6 H); 1,80 (m, 1 H); 1,98 (m, 1 H); 2,15 до 2,27 (m, 5 H); 2,30 (t, J=6,7 Гц, 2 H); 2,69 (m, 2 H); 2,98 (m, 5 H); 3,23 (s, 3 H); 3,32 (скрытый m, 1 H); 3,40 до 3,65 (m, 94 H); 3,80 (s, 3 H); 3,87 (d, J=2,3 Гц, 1 H); 4,14 (m, 1 H); 4,20 до 4,33 (m, 4 H); 4,90 (dd, J=3,8 и 9,8 Гц, 1 H); 5,10 (m, 1 H); 5,79 (d, J=15,8 Гц, 1 H); 6,47 (ddd, J=4,7, 10,5 и 15,8 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,16 (dd, J=2,4 и 8,6 Гц, 1 H); 7,24 (m, 5 H); 7,29 (d, J=2,4 Гц, 1 H); 7,80 (t, J=6,0 Гц, 1 H); 7,86 (d, J=8,8 Гц, 1 H); 7,92 (d, J=8,0 Гц, 1 H); 8,37 (m, 2 H); 12,10 (широкий m, 1 H). LCMS (D): ES масса/заряд=1069,5 [M+2H]²⁺; масса/заряд=2138 [M+H]⁺; Rt=2,96/2,93 мин (смесь изомеров 85/15).

Пример 25: (80S,83S)-2,5-диоксопирролидин-1-ил-80-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-
 ((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-
 тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дiazациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-
 ил)бензил)карбамоил)-83-изопропил-74,82,85-триоксо-
 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-тетракозаокса-
 75,81,84-триазанооктаконтан-89-оат

К раствору соединения из **примера 24** (35 мг, 16,4 мкмоль) в THF (3 мл) добавляли DSC (4,28 мг, 16,4 мкмоль) и DIEA (2,7 мкл, 16,4 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 20 ч. при к. т., концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 4 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/iPrOH) с получением 12,0 мг соединения из **примера 25** в виде белого лака (33%).

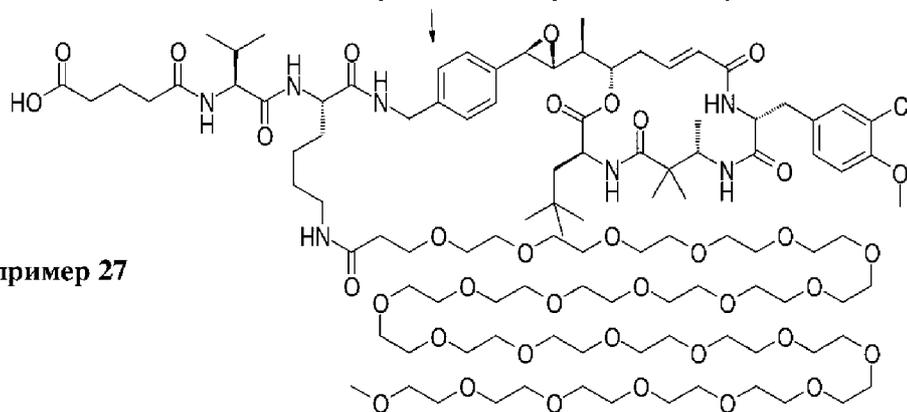
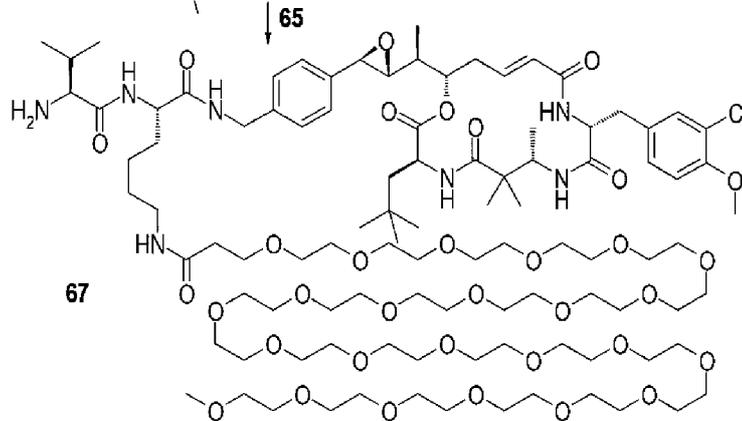
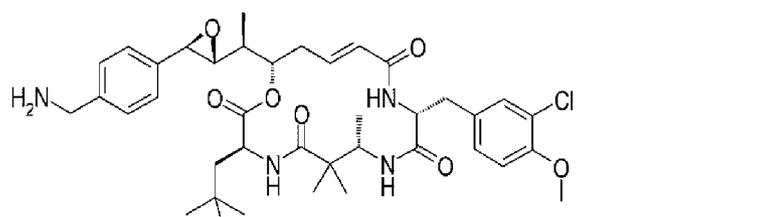
¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,78 (d, J=6,8 Гц, 6 H); 0,82 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 0,84 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,00 (s, 3 H); 1,04 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 1,12 (s, 3 H); 1,15 до 1,40 (m, 5 H); 1,50 до 1,71 (m, 4 H); 1,75 до 1,86 (m, 3 H); 1,97 (m, 1 H); 2,18 до 2,32 (m, 5 H); 2,67 (m, 4 H); 2,80 (s, 4 H); 2,98 (m, 5 H); 3,22 (s, 3 H); 3,32 (скрытый m, 1 H); 3,40 до 3,77 (m, 94 H); 3,80 (s, 3 H); 3,88 (d, J=2,3 Гц, 1 H); 4,16 (m, 1 H); 4,20 до 4,32 (m, 4 H); 4,90 (dd, J=3,8 и 9,8 Гц, 1 H); 5,10 (m, 1 H); 5,78 (dd, J=2,0 и 15,8 Гц, 1 H); 6,47 (ddd, J=4,7, 10,5 и 15,8 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,16 (dd, J=2,4 и 8,6 Гц, 1 H); 7,24 (m, 5 H); 7,29 (d, J=2,4 Гц, 1 H); 7,79 (t, J=6,0 Гц, 1 H); 7,90 (d, J=8,8 Гц, 1 H); 7,94 (d, J=8,0 Гц, 1 H); 8,36 (m, 2 H). LCMS (D): ES масса/заряд=746; масса/заряд=2235 [M+H]⁺; Rt=3,08/3,06 мин (смесь изомеров 89/11).

Пример 26: hu2H11_R35–74–Ex25

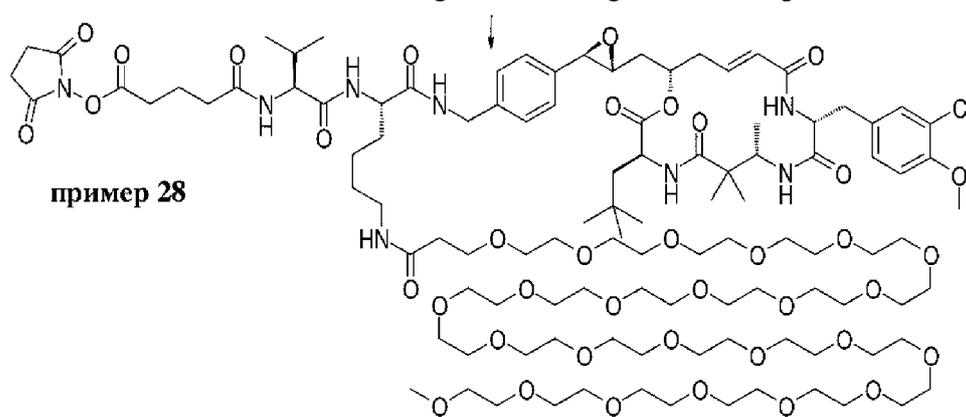
Общий способ, описанный ранее, использовали для получения соединения из **примера 26**. 55,8 мг hu2H11_R35–74 вводили в реакцию с 261,6 мкл 10 мМ раствора соединения из **примера 25** в DMA (7 экв.) в течение 3 ч. 15 мин., затем добавляли 131 мкл 10 мМ раствора соединения из **примера 25** в DMA (3,5 экв.) в течение 5 ч. 30 мин. После хранения в течение ночи при 4°C, очистки на Superdex 200 pg в буфере В с pH 6,5+20% NMP, концентрирования на Amicon Ultra–15, замены буфера на Sephadex G25 в буфере В с pH 6,5+5% NMP, концентрирования на Amicon Ultra–15 и фильтрации на PVDF–филт্রে с размером пор 0,22 мкм получали 33,35 мг соединения из **примера 26** в виде бесцветного прозрачного раствора при концентрации 2,9 мг/мл с DAR 3,9 (HRMS), мономерной чистотой 100% и общим выходом 60%.

SEC–HRMS: масса/заряд=151487 (D1); масса/заряд=153615 (D2); масса/заряд=155740 (D3); масса/заряд=157863 (D4); масса/заряд=159981 (D5); масса/заряд=162112 (D6); масса/заряд=164240 (D7); масса/заряд=166356 (D8).

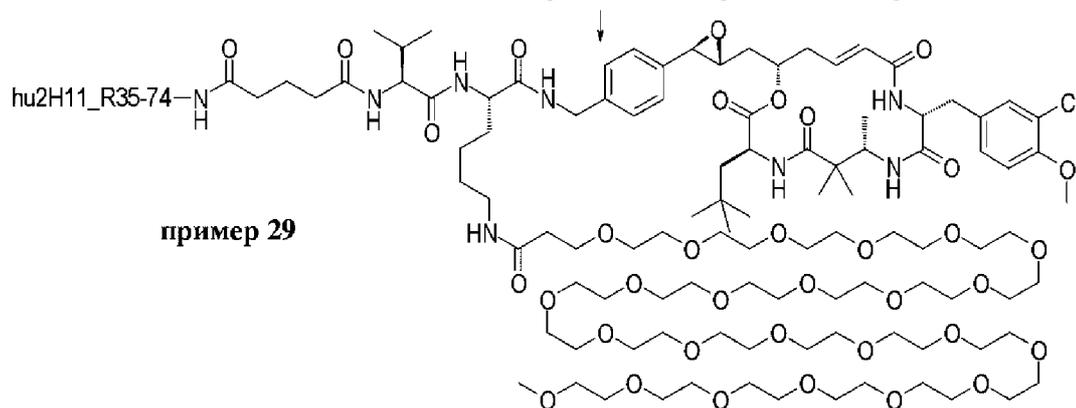
Синтез примеров 27–29: глутарил–Val–PEG24Lys–азакриптобензиламин, NHS–сложный эфир глутарил–Val–PEG24Lys–азакриптобензиламина и соответствующий ADC



пример 27



пример 28



пример 29

Соединение 67: N-((S)-5-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)-6-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,7S, 10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-6,6,7-триметил-3-неопентил-2,5,9,12-тетраоксо-1-окса-4,8,11-триазациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)амино)-6-оксогексил)-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-тетракозаоксатетрагептаконтан-74-амид

К раствору (3S,7S,10R,16S, E)-16-((S)-1-((2R,3R)-3-(4-(аминометил)фенил)-оксиран-2-ил)этил)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-6,6,7-триметил-3-неопентил-1-окса-4,8,11-триазациклогексадец-13-ен-2,5,9,12-тетраона (который может быть синтезирован как описано в **РСТ/ЕР2016/076603**, исходя из метил-(3S)-3-амино-2,2-диметилбутаноата, [MFCD09256689], 75 мг, 103,4 мкмоль) в DMF (5 мл) добавляли раствор **соединения 65** (211 мг, 134,7 мкмоль) в DMF (5 мл), HOBT (21 мг, 155,4 мкмоль) и EDC (20 мкл 123,0 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 4 ч. при к. т. перед добавлением пиперидина (95 мкл, 961,9 мкмоль); перемешивание проводили в течение 2 ч. при к. т., затем реакционную среду концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 25 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 132 мг **соединения 67** в виде бесцветного масла (62%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,76 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 0,87 (m, 15 H); 1,00 (s, 3 H); 1,03 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 1,15 до 1,40 (m, 5 H); 1,18 (s, 3 H); 1,46 до 2,00 (m, 8 H); 2,25 (m, 1 H); 2,28 (t, J=6,7 Гц, 2 H); 2,60 (m, 1 H); 2,69 (dd, J=11,2 и 14,5 Гц, 1 H); 2,91 (dd, J=2,3 и 7,5 Гц, 1 H); 2,92 до 3,04 (m, 4 H); 3,23 (s, 3 H); 3,34 до 3,77 (m, 95 H); 3,80 (s, 3 H); 3,88 (d, J=2,3 Гц, 1 H); 4,08 (m, 2 H); 4,20 до 4,34 (m, 3 H); 5,04 (m, 1 H); 5,78 (dd, J=2,0 и 15,8 Гц, 1 H); 6,44 (ddd, J=4,7, 10,5 и 15,8 Гц, 1 H); 7,02 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,17 до 7,25 (m, 5 H); 7,32 (d, J=2,4 Гц, 1 H); 7,78 (t, J=6,0 Гц, 1 H); 7,85 (d, J=8,0 Гц, 1 H); 7,92 (d, J=7,0 Гц, 1 H); 8,00 (d, J=8,8 Гц, 1 H); 8,40 (t, J=7,5 Гц, 1 H); 8,46 (t, J=6,0 Гц, 1 H). LCMS (D): ES масса/заряд=2051 [M+H]⁺; Rt=2,57/2,55 мин (смесь изомеров 95/5).

Пример 27: (80S,83S)-80-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,7S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-6,6,7-триметил-3-неопентил-2,5,9,12-тетраоксо-1-окса-4,8,11-триазациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)карбамоил)-83-изопропил-74,82,85-триоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-тетракозаокса-75,81,84-триазанооктаконтан-89-овая кислота

К раствору **соединения 67** (132 мг, 64,3 мкмоль) в DCM (10 мл) добавляли глутаровый ангидрид (9 мг, 78,9 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 2 ч. при к. т., концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью двух последовательных операций флеш-хроматографии на 4 г и 12 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH/H₂O) с получением 71 мг соединения из **примера 27** в виде белого лака (51%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,80 до 0,90 (m, 18 H); 1,00 (s, 3 H); 1,03 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 1,15 до 1,42 (m, 5 H); 1,18 (s, 3 H); 1,51 до 1,74 (m, 4 H); 1,80 (m, 1 H); 1,98

(m, 2 H); 2,15 до 2,32 (m, 7 H); 2,60 (m, 1 H); 2,70 (dd, J=11,2 и 14,5 Гц, 1 H); 2,91 (dd, J=2,3 и 7,5 Гц, 1 H); 2,95 (dd, J=3,4 и 14,5 Гц, 1 H); 3,00 (m, 2 H); 3,24 (s, 3 H); 3,40 до 3,67 (m, 95 H); 3,80 (s, 3 H); 3,90 (d, J=2,3 Гц, 1 H); 4,00 до 4,34 (m, 6 H); 5,04 (m, 1 H); 5,80 (dd, J=2,0 и 15,8 Гц, 1 H); 6,44 (ddd, J=4,7, 10,5 и 15,8 Гц, 1 H); 7,02 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,17 до 7,25 (m, 5 H); 7,32 (d, J=2,4 Гц, 1 H); 7,80 (t, J=6,0 Гц, 1 H); 7,86 (d, J=8,6 Гц, 2 H); 7,92 (t, J=6,5 Гц, 2 H); 8,37 (t, J=6,0 Гц, 1 H); 8,41 (t, J=7,5 Гц, 1 H); 12,00 (m, 1 H). LCMS (D): ES масса/заряд=722; масса/заряд=2165 [M+H]⁺; Rt=2,95/2,92 мин (смесь изомеров 95/5).

Пример 28: 2,5-диоксопирролидин-1-ил-(80S,83S)-80-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,7S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-6,6,7-триметил-3-неопентил-2,5,9,12-тетраоксо-1-окса-4,8,11-триазациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)карбамоил)-83-изопропил-74,82,85-триоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-тетракозаокса-75,81,84-триазаноноактаконтан-89-оат

К раствору соединения из **примера 27** (33 мг, 15,2 мкмоль) в THF (3 мл) добавляли DSC (4 мг, 15,6 мкмоль) и DIEA (2,55 мкл, 15,4 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 20 ч. при к. т., затем добавляли DSC (1 мг, 3,9 мкмоль) и DIEA (1 мкл, 6,0 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 2 ч. при к. т., концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 4 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/iPrOH/MeCN) с получением 11 мг соединения из **примера 28** в виде белого лака (32%).

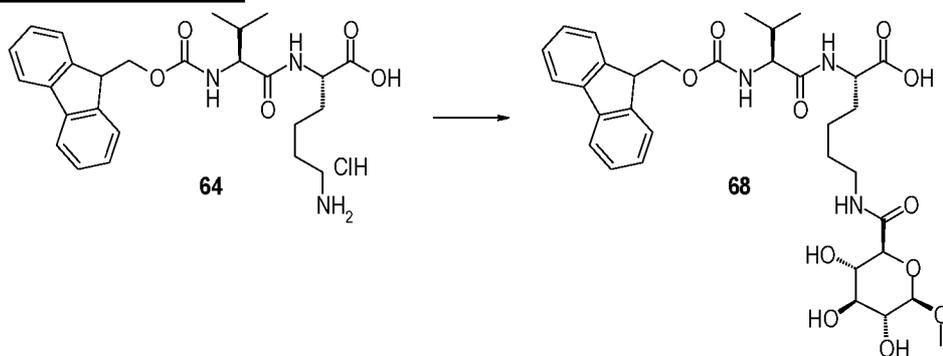
¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): 0,80 до 0,90 (m, 18 H); 1,00 (s, 3 H); 1,03 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 1,12 до 1,42 (m, 5 H); 1,19 (s, 3 H); 1,55 (m, 1 H); 1,65 (m, 1 H); 1,82 (m, 3 H); 1,96 (m, 2 H); 2,28 (m, 3 H); 2,67 (m, 4 H); 2,80 (s, 4 H); 2,91 (dd, J=2,3 и Гц, 1 H); 2,95 (dd, J=3,4 и 14,5 Гц, 1 H); 3,00 (m, 2 H); 3,23 (s, 3 H); 3,35 до 3,67 (m, 95 H); 3,80 (s, 3 H); 3,90 (d, J=2,3 Гц, 1 H); 4,03 до 4,32 (m, 6 H); 5,03 (m, 1 H); 5,90 (dd, J=2,0 и 15,8 Гц, 1 H); 6,44 (ddd, J=4,7, 10,5 и 15,8 Гц, 1 H); 7,03 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,17 до 7,25 (m, 5 H); 7,32 (d, J=2,4 Гц, 1 H); 7,79 (t, J=6,0 Гц, 1 H); 7,85 (d, J=8,7 Гц, 1 H); 7,90 (d, J=8,7 Гц, 1 H); 7,93 (m, 2 H); 8,35 (t, J=6,5 Гц, 1 H); 8,40 (d, J=7,1 Гц, 1 H).

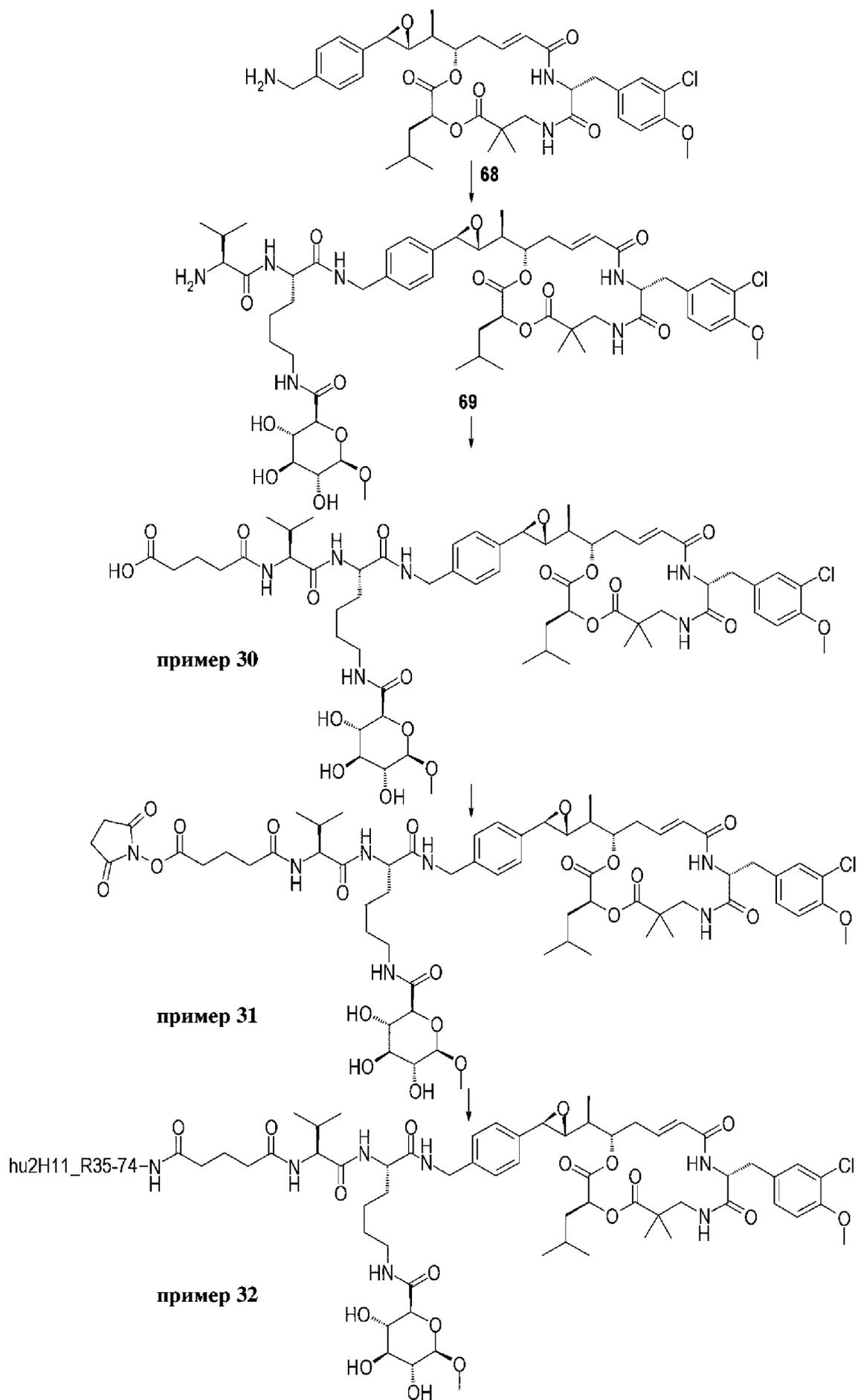
Пример 29: hu2H11_R35-74-Ex28

Общий способ, описанный ранее, использовали для получения соединения из **примера 29**. 44,64 мг hu2H11_R35-74 вводили в реакцию с 210 мкл 10 mM раствора соединения из **примера 28** в DMA (7 экв.) в течение 2 ч., затем последовательно добавляли 210 мкл 10 mM раствора соединения из **примера 28** в DMA (7 экв.) в течение 2 ч. 30 мин. и 90 мкл 10 mM раствора соединения из **примера 28** в DMA (3 экв.) в течение 2 ч. После хранения в течение ночи при 4°C, очистки на Superdex 200 pg в буфере В с pH 6,5+20% NMP, концентрирования на Amicon Ultra-15, замены буфера на Sephadex G25 в буфере В с pH 6,5+5% NMP и фильтрации на PVDF-фильтре с размером пор 0,22 мкм, получали 30,1 мг соединения из **примера 29** в виде бесцветного прозрачного раствора при концентрации 2,51 мг/мл с DAR 4 (HRMS), мономерной чистотой 98,4% и общим выходом 67%.

SEC-HRMS: масса/заряд=151502 (D1); масса/заряд=153649 (D2);
масса/заряд=155798 (D3); масса/заряд=157939 (D4); масса/заряд=160100 (D5);
масса/заряд=162262 (D6).

**Синтез примеров 30–32: глутарил–Val–глюкуроновый Lys–C52–бензиламин,
NHS–сложный эфир глутарил–Val–глюкуроновый Lys–C52–бензиламина и
соответствующий ADC**





Соединение 68: (S)-2-((S)-2-(((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)-6-((2S,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-тригидрокси-6-метокситетрагидро-2H-пиран-2-карбоксамидо)гексановая кислота

В круглодонную колбу при перемешивании с помощью магнитной мешалки вводили натриевую соль 1-O-метил-β-D-глюкуроновой кислоты (номер CAS [58189-74-5], 100 мг, 434 мкмоль) с последующим введением воды (5 мл) и *Q/S* Amberlite (номер CAS [9037-24-5]) до достижения pH 2, среду фильтровали.

В круглодонной колбе при перемешивании с помощью магнитной мешалки NaHCO₃ (43 мг, 511 мкмоль) в воде (5 мл) добавляли к раствору **соединения 64** (50 мг, 99 мкмоль) в THF (4 мл); реакционную среду перемешивали при к. т. в течение 5 мин. Затем раствор глюконовой кислоты, описанный выше, добавляли к реакционной среде с последующим добавлением 4-(4,6-диметокси-1,3,5-триазин-2-ил)-4-метилморфолиний хлорида N-гидрата (номер CAS [3945-69-5], 67 мг, 242 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи, затем концентрировали *in vacuo*. Неочищенную среду очищали с помощью флеш-хроматографии на 5 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH/H₂O) с получением 23 мг **соединения 68** (35%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,84 (d, J=6,7 Гц, 3 H); 0,86 (d, J=6,7 Гц, 3 H); 1,13 до 1,42 (m, 4 H); 1,52 до 1,72 (m, 2 H); 2,05 (m, 1 H); 2,96 до 3,08 (m, 2 H); 3,14 (m, 1 H); 3,30 (частично скрытый m, 1 H); 3,38 (s, 3 H); 3,53 (m, 1 H); 3,78 до 3,97 (m, 2 H); 4,09 (dd, J=2,3 и 7,8 Гц, 1 H); 4,19 до 4,34 (m, 3 H); 5,01 до 5,08 (широкий m, 1 H); 5,13 (широкий m, 1 H); 5,27 (m, 1 H); 7,33 (m, 2 H); 7,42 (t, J=7,6 Гц, 2 H); 7,52 до 7,62 (широкий m, 2 H); 7,75 (m, 2 H); 7,89 (d, J=7,6 Гц, 2 H); 7,93 (широкий m, 1 H); 12,00 (m, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=656 [M-H]⁻; масса/заряд=658 [M+H]⁺; Rt=1,05 мин.

Соединение 69: (2S,3S,4S,5R,6R)-N-((S)-5-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)-6-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дiazациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)-оксиран-2-ил)бензил)амино)-6-оксогексил)-3,4,5-тригидрокси-6-метокситетрагидро-2H-пиран-2-карбоксамид

К раствору (E)-(3S,10R,16S)-16-{(S)-1-[(2R,3R)-3-(4-аминометилфенил)-оксиранил]-этил}-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-1,4-диокса-8,11-дiazациклогексадец-13-ен-2,5,9,12-тетраона (синтез которого описан в **WO2011001052**, соединение 77, 90 мг, 129 мкмоль) при перемешивании с помощью магнитной мешалки добавляли раствор **соединения 68** (135 мг, 205 мкмоль) в DMF (5 мл) с последующим добавлением HOBt (30 мг, 222 мкмоль) и EDC (36 мкл, 203 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение 1 ч. В это же время добавляли DMA (1 мл) и перемешивание поддерживали в течение ночи. Затем добавляли EDC (20 мкл) и реакционную среду перемешивали в течение еще 2 часов. Затем к среде добавляли пиперидин (12,9 мкл, 129 мкмоль). После 1 ч. 30 мин. перемешивания реакционную среду концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью 3 последовательных операций флеш-хроматографии на силикагеле (изократическое элюирование DCM/MeOH/H₂O 40:5:0,5

об./об./об. и DCM/MeOH/NH₄OH 12:3:0,5 об./об./об.) с получением 47 мг **соединения 69** (33%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,77 до 0,81 (m, 9 H); 0,88 (d, J=6,6 Гц, 3 H); 1,00 (s, 3 H); 1,04 (d, J=6,6 Гц, 3 H); 1,12 (s, 3 H); 1,20 до 1,71 (m, 9 H); 1,80 (m, 1 H); 1,93 (m, 1 H); 2,28 (m, 1 H); 2,62 до 2,73 (m, 2 H); 2,93 до 3,14 (m, 9 H); 3,28 до 3,36 (частично скрытый m, 2 H); 3,39 (s, 3 H); 3,53 (d, J=9,5 Гц, 1 H); 3,81 (s, 3 H); 3,87 (d, J=1,7 Гц, 1 H); 4,09 (m, 1 H); 4,19 до 4,36 (m, 4 H); 4,91 (m, 1 H); 5,00 до 5,15 (m, 4 H); 5,79 (d, J=15,9 Гц, 1 H); 6,48 (m, 1 H); 7,05 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,17 (dd, J=2,1 и 8,6 Гц, 1 H); 7,20 до 7,25 (m, 5 H); 7,28 (d, J=2,1 Гц, 1 H); 7,92 (широкий t, J=5,9 Гц, 1 H); 8,02 (широкий m, 1 H); 8,35 (d, J=7,8 Гц, 1 H); 8,46 (широкий t, J=6,2 Гц, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=558 [M+2H]²⁺; масса/заряд=1113 [M-H]⁻; масса/заряд=1115 [M+H]⁺; масса/заряд=1159 [M-H+HCO₂H]⁻; Rt=0,9 мин.

Пример 30: 5-(((S)-1-(((S)-1-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дiazациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)амино)-1-оксо-6-((2S,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-тригидрокси-6-метокситетрагидро-2H-пиран-2-карбоксамидо)гексан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)амино)-5-оксопентановая кислота

К **соединению 69** (47 мг, 42,1 мкмоль) добавляли DMF (4 мл) и при перемешивании с помощью магнитной мешалки добавляли глутаровый ангидрид (8,5 мг, 74,5 мкмоль); реакционную среду перемешивали при к. т. в течение 2 ч. В это же время неочищенную среду концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью 2 последовательных операций флеш-хроматографии на силикагеле (градиентное элюирование DCM/MeOH/H₂O и DCM/MeOH/NH₄OH) с получением 17 мг соединения из **примера 30** (33%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,81 (разделенный d, J=6,4 Гц, 6 H); 0,84 (d, J=6,6 Гц, 3 H); 0,86 (d, J=6,6 Гц, 3 H); 0,98 (s, 3 H); 1,04 (d, J=6,6 Гц, 3 H); 1,11 (s, 3 H); 1,17 до 2,32 (широкий m, 18 H); 2,66 до 2,74 (m, 2 H); 2,91 до 3,03 (m, 5 H); 3,10 (широкий m, 1 H); 3,18 (t, J=8,8 Гц, 1 H); 3,28 до 3,36 (частично скрытый m, 2 H); 3,37 (s, 3 H); 3,60 (m, 1 H); 3,81 (s, 3 H); 3,87 (d, J=1,6 Гц, 1 H); 4,07 (m, 2 H); 4,14 до 4,26 (m, 3 H); 4,31 (m, 1 H); 4,92 (m, 1 H); 5,06 до 5,13 (m, 2 H); 5,35 (m, 2 H); 5,80 (d, J=15,3 Гц, 1 H); 6,45 (ddd, J=3,6, 11,1 и 15,3 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,5 Гц, 1 H); 7,18 (dd, J=2,1 и 8,5 Гц, 1 H); 7,22 (d, J=8,4 Гц, 2 H); 7,25 (d, J=8,4 Гц, 2 H); 7,29 (d, J=2,1 Гц, 1 H); 7,31 (m, 1 H); 7,77 до 8,81 (m, 5 H). LCMS (A): ES масса/заряд=1227 [M-H]⁻; масса/заряд=1229 [M+H]⁺; масса/заряд=615; Rt=1,16 мин.

Пример 31: 2,5-диоксопирролидин-1-ил-5-(((S)-1-(((S)-1-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дiazациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)амино)-1-оксо-6-((2S,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-тригидрокси-6-метокситетрагидро-2H-пиран-2-карбоксамидо)гексан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)амино)-5-

оксопентаноат

К соединению из **примера 30** (14 мг, 11,4 мкмоль) при перемешивании с помощью магнитной мешалки добавляли DMF (3 мл), DSC (4,2 мг, 15,6 мкмоль) и DIEA (6 мкл, 34,5 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение 4 ч. В это же время среду разбавляли с помощью MeTHF (10 мл) и промывали с помощью H₂O (5 мл). Водную фазу экстрагировали с помощью MeTHF (10 мл), объединенные органические фазы высушивали над MgSO₄, фильтровали, концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 4 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/iPrOH) с получением 3,5 мг соединения из **примера 31** (23%).

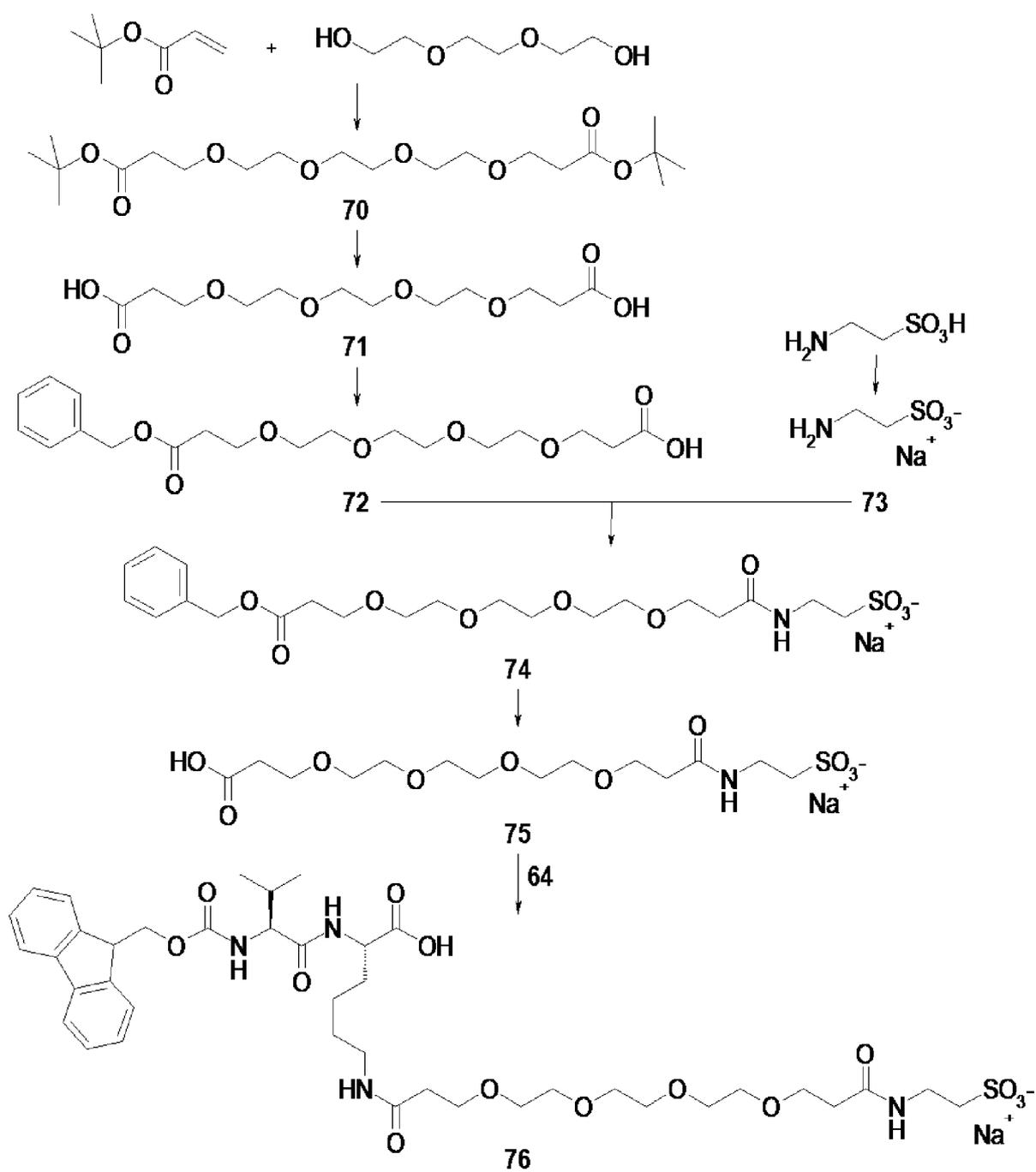
¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,78 (d, J=6,6 Гц, 6 H); 0,82 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 0,84 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 0,99 (s, 3 H); 1,04 (d, J=6,6 Гц, 3 H); 1,12 (s, 3 H); 1,17 до 1,70 (m, 9 H); 1,77 до 1,87 (m, 3 H); 1,98 (m, 1 H); 2,23 до 2,32 (m, 3 H); 2,65 до 2,70 (m, 4 H); 2,81 (s, 4 H); 2,93 до 3,07 (m, 6 H); 3,15 (m, 1 H); 3,28 до 3,38 (частично скрытый m, 2 H); 3,40 (s, 3 H); 3,53 (d, J=9,6 Гц, 1 H); 3,81 (s, 3 H); 3,87 (d, J=1,4 Гц, 1 H); 4,09 (d, J=7,7 Гц, 1 H); 4,17 (dd, J=6,9 и 8,2 Гц, 1 H); 4,20 до 4,33 (m, 4 H); 4,90 (dd, J=3,4 и 9,5 Гц, 1 H); 5,04 (m, 2 H); 5,10 (m, 1 H); 5,14 (d, J=5,2 Гц, 1 H); 5,79 (dd, J=0,8 и 15,3 Гц, 1 H); 6,47 (m, 1 H); 7,05 (d, J=8,8 Гц, 1 H); 7,17 (dd, J=1,6 и 8,8 Гц, 1 H); 7,20 до 7,25 (m, 5 H); 7,28 (d, J=1,6 Гц, 1 H); 7,86 до 7,99 (m, 3 H); 8,37 (m, 2 H). LCMS (A): ES масса/заряд=1370 [M-H+HCO₂H]⁻; ES масса/заряд=1326 [M+H]⁺; масса/заряд=663,5; Rt =1,21 мин.

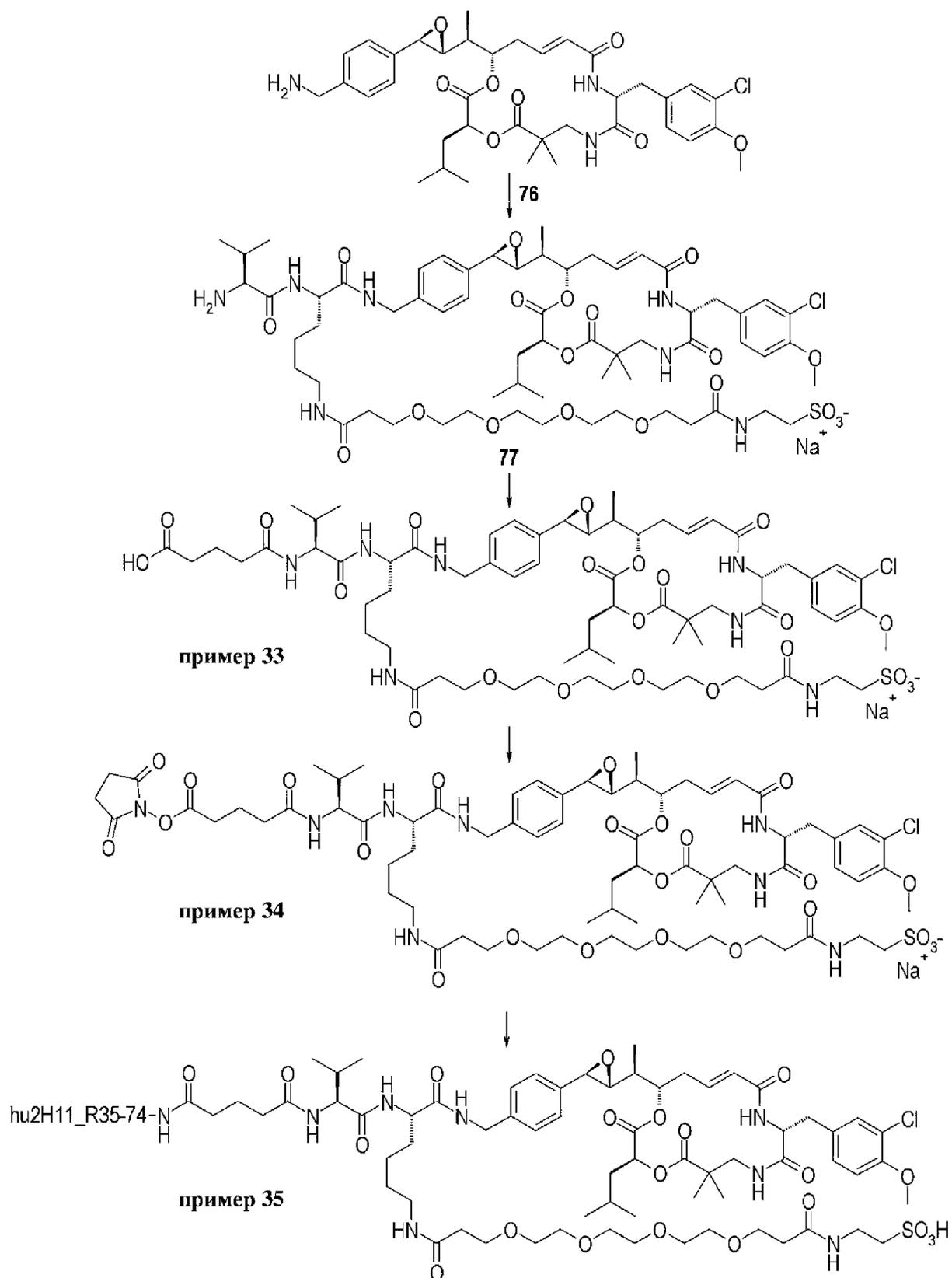
Пример 32: hu2H11_R35-74-Eh31

Общий способ, описанный ранее, использовали для получения соединения из **примера 32**. 27,9 мг hu2H11_R35-74 вводили в реакцию с 107 мкл 10,5 mM раствора соединения из **примера 31** в DMA (6 экв.) в течение 2 ч. 30 мин., затем добавляли 107 мкл 10,5 mM раствора соединения из **примера 31** в DMA (6 экв.) в течение 4 ч. 30 мин. После очистки на Superdex 200 pg в буфере В с pH 6,5+10% NMP, концентрирования на Amicon Ultra-15, разбавления в буфере В с pH 6,5 до конечной концентрации NMP 5% и фильтрации на PVDF-фильтре с размером пор 0,22 мкм получали 16,7 мг соединения из **примера 32** в виде бесцветного прозрачного раствора при концентрации 2,23 мг/мл с DAR 3 (HRMS), мономерной чистотой 100% и общим выходом 60%.

SEC-HRMS: масса/заряд=149407 (неконъюгированное mAb); масса/заряд=150619 (D1); масса/заряд=151831 (D2); масса/заряд=153044 (D3); масса/заряд=154256 (D4); масса/заряд=155468 (D5); масса/заряд=156685 (D6); масса/заряд=157899 (D7); масса/заряд=159014 (D8).

Синтез примеров 33-35: глутарил-Val-сульфо-PEG4Lys-C52-бензиламин, NHS-сложный эфир глутарил-Val-сульфо-PEG4Lys-C52-бензиламина и соответствующий ADC





Соединение 70: ди-*трет*-бутил-4,7,10,13-тетраоксагексадекан-1,16-диоат

К раствору триэтиленгликоля (5 мл, 37,5 ммоль) в THF (15 мл) добавляли натрий (18 мг, 783,0 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 2 ч. при к. т., затем добавляли по каплям в течение 5 мин. *трет*-бутилакрилат (14 мл, 95,58 ммоль). Реакционную среду перемешивали в течение 20 ч. при к. т., затем гасили с помощью

солевого раствора (300 мл) и экстрагировали дважды с помощью EtOAc (300 мл). Объединенные органические фазы высушивали над MgSO₄, фильтровали, концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 200 г силикагеля (градиентное элюирование гептан/EtOAc) с получением 8,05 г **соединения 70** в виде бесцветного масла (53%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 1,40 (s, 18 H); 2,40 (t, J=6,5 Гц, 4 H); 3,48 (m, 12 H); 3,58 (t, J=6,5 Гц, 4 H). LCMS (A): ES масса/заряд=407 [M+H]⁺; масса/заряд=429 [M+Na]⁺; Rt=1,32 мин.

Соединение 71: 4,7,10,13-тетраоксагексадекан-1,16-диовая кислота

К **соединению 70** (8,05 г, 19,8 ммоль) добавляли муравьиную кислоту (40 мл, 1,04 моль). Реакционную среду перемешивали в течение 1 дня при к. т., концентрировали *in vacuo* и выпаривали совместно с EtOAc (20 мл) с получением 5,9 г **соединения 71** в виде бесцветного масла (колич.).

¹H ЯМР (300 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 2,44 (t, J=6,5 Гц, 4 H); 3,48 (s, 8 H); 3,50 (s, 4 H); 3,59 (d, J=6,5 Гц, 4 H); 12,25 (широкий m, 2 H).

Соединение 72: 3-оксо-1-фенил-2,6,9,12,15-пентаоксооктадекан-18-овая кислота

К раствору **соединения 71** (5,9 г, 20,05 ммоль) в DMF (50 мл) добавляли DIEA (3,6 мл, 20,67 ммоль) и добавляли по каплям в течение 10 мин. раствор бензилбромида (2,43 мл, 20,05 ммоль) в DMF (50 мл). Реакционную среду перемешивали в течение 20 ч. при к. т., гасили с помощью 1 н. HCl (500 мл) и экстрагировали дважды с помощью EtOAc (200 мл). Объединенные органические фазы высушивали над MgSO₄, фильтровали, концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью двух последовательных операций флеш-хроматографии на 400 г и 100 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 2,7 г **соединения 72** в виде бледно-зеленого масла (35%).

¹H ЯМР (300 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 2,42 (m, 2 H); 2,60 (t, J=6,5 Гц, 2 H); 3,47 (s, 6 H); 3,49 (s, 6 H); 3,59 (m, 2 H); 3,66 (d, J=6,5 Гц, 2 H); 5,10 (s, 2 H); 7,29 до 7,41 (m, 5 H).

Соединение 73: 2-аминоэтансульфонат натрия

К раствору таурина (2 г, 15,98 ммоль) в H₂O (30 мл) добавляли гидрокарбонат натрия (1,34 г, 15,98 ммоль). Реакционную среду перемешивали в течение 2 ч. при к. т., затем концентрировали *in vacuo*. Неочищенный продукт растворяли в H₂O (100 мл) и лиофилизировали с получением 2,5 г **соединения 73** в виде белого порошка (колич.).

ИК-спектр в случае таблетки с КВг; основные полосы поглощения в обратных сантиметрах: 1458; 1344; 1212; 1184; 1046; 1037; 742; 737; 598; 576; 533 и 523.

Соединение 74: 3,18-диоксо-1-фенил-2,6,9,12,15-пентаокса-19-азагеникозан-21-сульфонат натрия

К раствору **соединения 72** (1 г, 2,69 ммоль) в DMF (40 мл) добавляли NHS (367 мг, 3,13 ммоль) и EDC (565 мкл, 3,12 ммоль). Реакционную среду перемешивали в течение 20 ч. при к. т., затем добавляли раствор **соединения 73** (1,9 г, 12,91 ммоль) в H₂O (20 мл) и бикарбонат натрия (219 мг, 2,61 ммоль). Реакционную среду перемешивали в течение 2 ч. при к. т., затем подкисляли до pH 3 с помощью Amberlite IR-120 (H) (номер CAS [78922-

04–0], фильтровали, концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш–хроматографии на 150 г силикагеля (DCM/MeOH/H₂O) с получением 824 мг **соединения 74** в виде бесцветного твердого вещества (61%).

LCMS (A): ES масса/заряд=490 [M–H][–]; масса/заряд=492 [M+H]⁺; t_R=1,1 мин.

Соединение 75: 1–карбокسي–15–оксо–3,6,9,12–тетраокса–16–азаоктадекан–18–сульфонат натрия

Раствор **соединения 74** (820 мг, 1,60 ммоль) в MeOH/H₂O 8:2 (30 мл) фильтровали через 0,22 мкм и подвергали гидрогенолизу на картридже 10% Pd/C с применением системы H–cube при 20°C. Реакционную среду концентрировали *in vacuo* с получением 530 мг **соединения 75** в виде желтой камеди (78%).

¹H ЯМР (300 МГц, δ в ppm, DMSO–d₆): 2,27 (t, J=6,6 Гц, 2 H); 2,40 (t, J=6,6 Гц, 2 H); 2,52 (частично скрытый m, 2 H); 3,28 (частично скрытый m, 2 H); 3,49 (m, 12 H); 3,59 (m, 4 H); 7,72 (широкий t, J=6,4 Гц, 1 H); 12,08 (широкий m, 1 H).

Соединение 76: (5S,8S)–8–карбокسي–1–(9H–флуорен–9–ил)–5–изопропил–3,6,14,29–тетраоксо–2,17,20,23,26–пентаокса–4,7,13,30–тетраазодотриаконтан–32–сульфонат натрия

К раствору **соединения 75** (300 мг, 708,5 мкмоль) в DMF (15 мл) добавляли NHS (98 мг, 851,5 мкмоль) и EDC (150 мкл, 855,1 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 20 ч. при к. т., затем добавляли раствор **соединения 64** (416 мг, 825,4 мкмоль) в DMF (15 мл) и раствор бикарбоната натрия (180 мг, 2,13 ммоль) в H₂O (10 мл). Реакционную среду перемешивали в течение 1 ч. при к. т., подкисляли до pH 3 с помощью Amberlit IR–120 (H) (номер CAS [78922–04–0]), фильтровали, промывали с помощью DMF (5 мл), концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш–хроматографии на 100 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH/уксусная кислота) с получением 447 мг бесцветного лака. Данный лак растворяли в THF/H₂O 2:1 (120 мл), подкисляли до pH 3,3 с помощью 0,1 н. HCl (приблизительно 4 мл) и концентрировали *in vacuo* с получением 354 мг **соединения 76** в виде белого полупрозрачного твердого вещества (57%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO–d₆): 0,86 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 0,89 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,20 до 1,41 (m, 4 H); 1,50 до 1,74 (m, 2 H); 1,98 (m, 1 H); 2,26 (t, J=6,8 Гц, 2 H); 2,28 (t, J=6,8 Гц, 2 H); 2,52 (скрытый m, 2 H); 3,00 (m, 2 H); 3,28 (частично скрытый m, 2 H); 3,45 (m, 12 H); 3,58 (t, J=6,8 Гц, 4 H); 3,91 (dd, J=7,0 и 9,2 Гц, 1 H); 4,14 (m, 1 H); 4,19 до 4,31 (m, 3 H); 7,32 (m, 2 H); 7,37 (d, J=9,2 Гц, 1 H); 7,41 (dt, J=1,0 и 7,8 Гц, 2 H); 7,75 (m, 3 H); 7,80 (t, J=6,0 Гц, 1 H); 7,89 (d, J=7,8 Гц, 2 H); 8,07 (d, J=8,0 Гц, 1 H); 12,49 (m, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=849 [M–H][–]; масса/заряд=851 [M+H]⁺; Rt=1,44 мин.

Соединение 77: (25S,28S)–28–амино–25–((4–((2R,3R)–3–((S)–1–((3S,10R,16S, E)–10–(3–хлор–4–метоксибензил)–3–изобутил–6,6–диметил–2,5,9,12–тетраоксо–1,4–диокса–8,11–дiazациклогексадец–13–ен–16–ил)этил)оксиран–2–ил)бензил)карбамоил)–29–метил–4,19,27–триоксо–7,10,13,16–тетраокса–3,20,26–триазатриаконтан–1–сульфонат натрия

К раствору (E)–(3S,10R,16S)–16–{(S)–1–[(2R,3R)–3–(4–аминаметилфенил)–

оксиранил]-этил}-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-1,4-диокса-8,11-дiazациклогексадец-13-ен-2,5,9,12-тетраона (синтез которого описан в **WO2011001052**, соединение **77**, 106 мг, 151,8 мкмоль) в DMF (5 мл) добавляли раствор **соединения 76** (225 мг, 257,7 мкмоль) в DMF (5 мл), HOBt (30 мг, 213,1 мкмоль) и EDC (40 мкл, 226,0 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 2 ч. при к. т., затем добавляли пиперидин (134 мкл, 1,36 ммоль) и перемешивание проводили в течение 2 ч. Реакционную среду концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью двух последовательных операций флеш-хроматографии на 50 г и 4 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH/H₂O) с получением 73 мг **соединения 77** в виде белого твердого вещества (36%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): 0,78 (d, J=6,8 Гц, 6 H); 0,91 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 0,93 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,00 (s, 3 H); 1,04 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 1,12 (s, 3 H); 1,18 до 1,45 (m, 5 H); 1,51 до 1,72 (m, 4 H); 1,80 (m, 1 H); 2,05 (m, 1 H); 2,23 до 2,35 (m, 5 H); 2,56 (m, 2 H); 2,68 (m, 2 H); 2,95 до 3,04 (m, 5 H); 3,32 (m, 3 H); 3,48 (m, 12 H); 3,57 (t, J=6,7 Гц, 2 H); 3,59 (t, J=6,7 Гц, 2 H); 3,66 (d, J=6,0 Гц, 1 H); 3,80 (s, 3 H); 3,87 (d, J=2,3 Гц, 1 H); 4,20 до 4,36 (m, 4 H); 4,90 (dd, J=3,8 и 9,8 Гц, 1 H); 5,12 (m, 1 H); 5,80 (dd, J=2,0 и 15,2 Гц, 1 H); 6,47 (ddd, J=3,8, 11,3 и 15,2 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,16 (dd, J=2,4 и 8,6 Гц, 1 H); 7,24 (m, 5 H); 7,29 (d, J=2,4 Гц, 1 H); 7,76 (t, J=6,0 Гц, 1 H); 7,86 (t, J=8,0 Гц, 1 H); 7,93 (широкий m, 3 H); 8,38 (d, J=8,0 Гц, 1 H); 8,49 (d, J=8,0 Гц, 1 H); 8,59 (t, J=6,0 Гц, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=655 [M+2H]²⁺; масса/заряд=1306 [M-H]⁻; масса/заряд=1308 [M+H]⁺; Rt=1,07 мин.

Пример 33: (2S,28S)-33-карбокситетрааза-25-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дiazациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)карбамоил)-28-изопропил-4,19,27,30-тетраоксо-7,10,13,16-тетраокса-3,20,26,29-тетраазатриаконтан-1-сульфонат натрия

К раствору **соединения 77** (73 мг, 54,9 мкмоль) в DMF добавляли глутаровый ангидрид (11 мг, 96,4 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 20 ч. при к. т., концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 4 г силикагеля (DCM/MeOH/H₂O) с получением 40 мг соединения из **примера 33** в виде белого лака (50%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): 0,81 (s, 9 H); 1,04 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,38 (s, 9 H); 1,50 (dd, J=3,0 и 14,5 Гц, 1 H); 1,58 (dd, J=9,1 и 14,5 Гц, 1 H); 2,38 до 2,48 (частично скрытый m, 3 H); 4,04 (m, 1 H); 4,19 (m, 2 H); 4,30 (m, 1 H); 4,49 (s, 2 H); 4,91 (m, 1 H); 5,80 (d, J=16,0 Гц, 1 H); 6,17 (dd, J=8,4 и 16,0 Гц, 1 H); 6,43 (d, J=16,0 Гц, 1 H); 6,70 (m, 1 H); 7,23 до 7,44 (m, 8 H); 7,68 (m, 2 H); 7,79 (d, J=8,3 Гц, 1 H); 7,88 (d, J=7,8 Гц, 2 H). LCMS (A): ES масса/заряд=712 [M+2H]²⁺; масса/заряд=1420 [M-H]⁻; масса/заряд=1422 [M+H]⁺; Rt=1,57 мин.

Пример 34: (2S,28S)-25-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-

диазациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)карбамоил)-34-((2,5-диоксопирролидин-1-ил)окси)-28-изопропил-4,19,27,30,34-пентаоксо-7,10,13,16-тетраокса-3,20,26,29-тетраазатетра триаконтан-1-сульфонат натрия

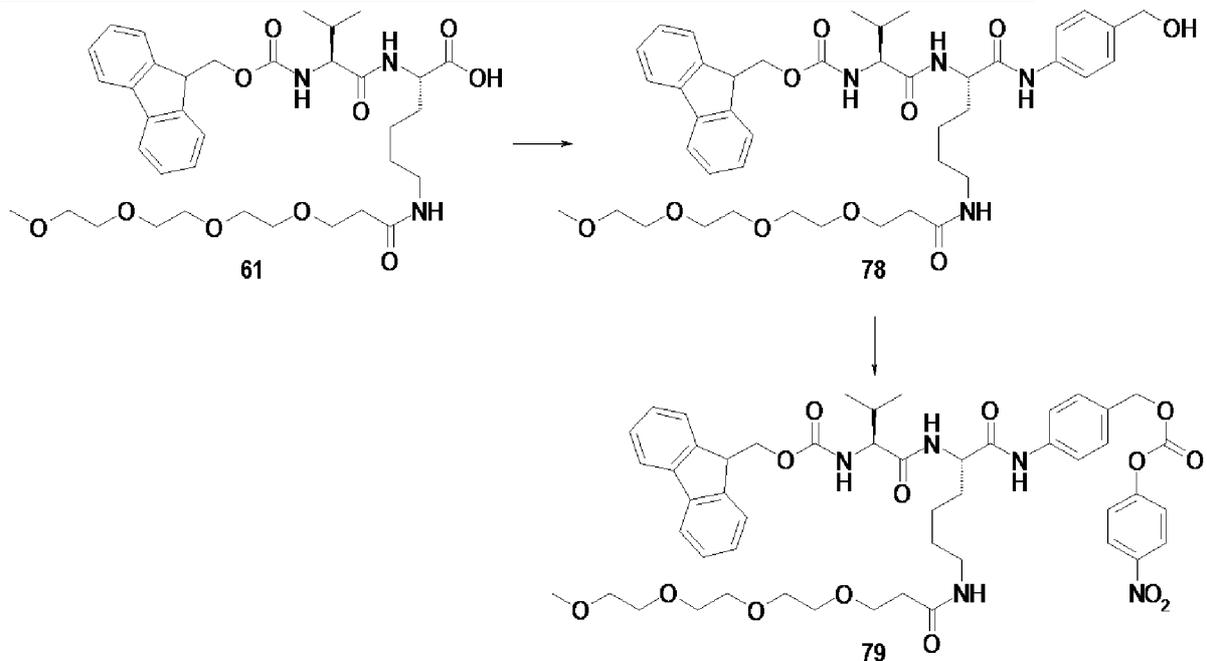
К раствору соединения из **примера 33** (3,57 мг, 2,47 мкмоль) в DMA (93 мкл) добавляли NHS (27,2 мкл, 2,72 мкмоль) и EDC (111 мкл, 2,22 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 48 ч. при к. т.: LCMS-анализ указывал на наличие ожидаемого соединения из **примера 34** при концентрации 95% с содержанием 5% остаточного соединения из **примера 33**. Данный раствор использовали, например, для конъюгации и получения соединения из **примера 35**.

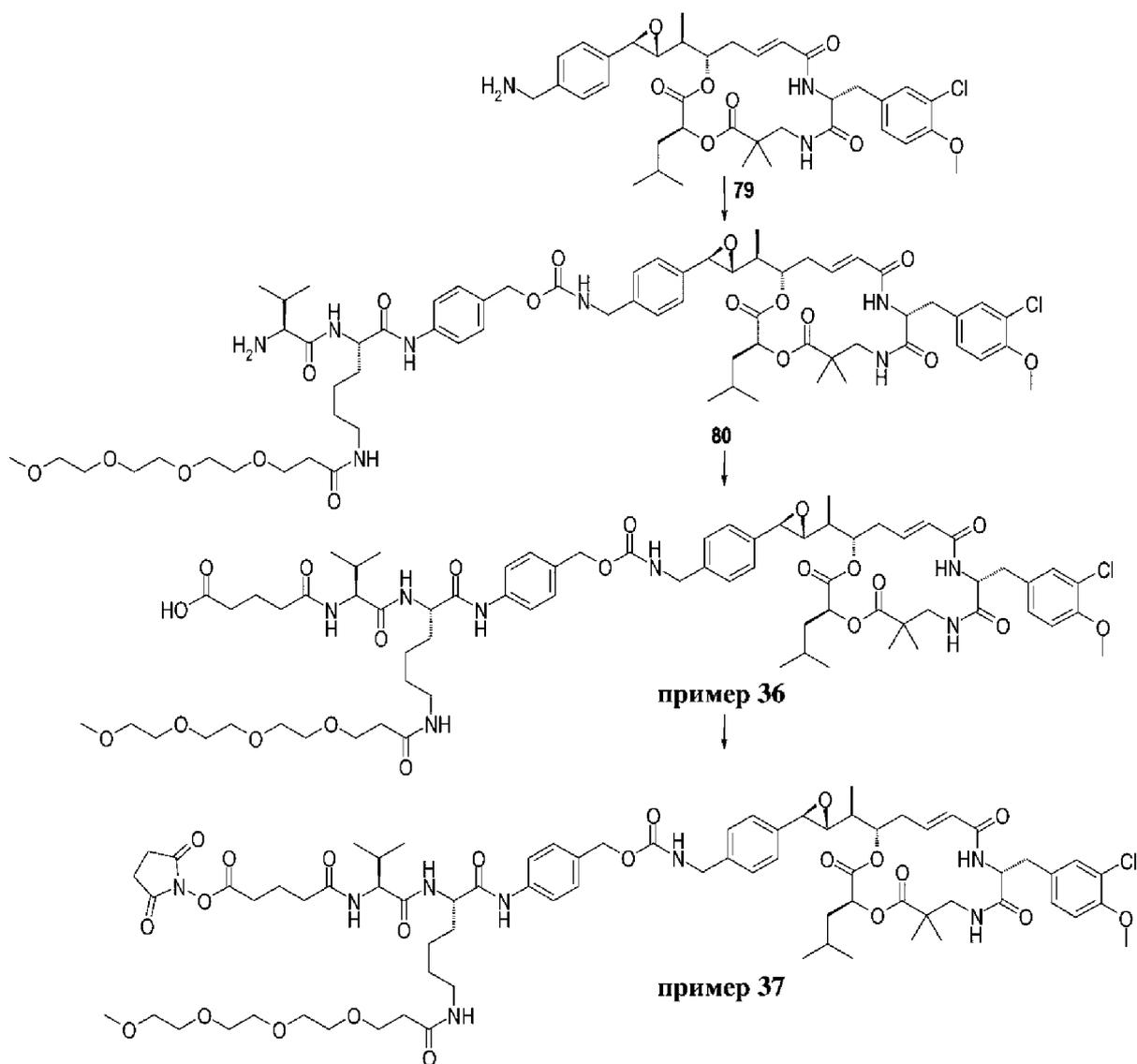
Пример 35: hu2H11_R35-74-Ex34

Общий способ, описанный ранее, использовали для получения соединения из **примера 35**. 11,16 мг hu2H11_R35-74 вводили в реакцию с 53 мкл 10 мМ раствора соединения из **примера 34** в DMA (7 экв.) в течение 2 ч. 30 мин., затем добавляли 15 мкл 10 мМ раствора соединения из **примера 34** в DMA (2 экв.) в течение 2 ч. 30 мин. После очистки на колонках PD-10 и Nap-10 в буфере В с pH 6,5+5% NMP получали 9,5 мг соединения из **примера 34** в виде бесцветного прозрачного раствора в концентрации 1,9 мг/мл с DAR 3,8 (HRMS), мономерной чистотой 97,5% и общим выходом 82%.

SEC-HRMS: масса/заряд=149330 (неконъюгированное mAb); масса/заряд=150744 (D1); масса/заряд=152147 (D2); масса/заряд=153554 (D3); масса/заряд=154959 (D4); масса/заряд=156366 (D5); масса/заряд=157771 (D6); масса/заряд=159172 (D7); масса/заряд=160578 (D8).

Синтез примеров 36 и 37: глутарил-Val-PEG4Lys-PAVA-C52-бензиламин и NHS-сложный эфир глутарил-Val-PEG4Lys-PAVA-C52-бензиламина





Соединение 78: (9H-флуорен-9-ил)метил-((20S,23S)-20-((4-(гидроксиметил)фенил)карбамоил)-24-метил-14,22-диоксо-2,5,8,11-тетраокса-15,21-диазапентакозан-23-ил)карбамат

К раствору **соединения 61** (180 мг, 257,2 мкмоль) в MeCN (35 мл) в атмосфере Ar добавляли DIEA (130 мкл, 771,7 мкмоль), 4-аминобензиловый спирт (48 мг, 385,8 мкмоль), HOAt (41 мг, 295,8 мкмоль), HATU (147 мг, 385,8 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 17 ч. при к. т., затем добавляли MeOH (30 мл) и диоксид кремния, смесь концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 30 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 94 мг **соединения 78** в виде бежевого твердого вещества (46%).

^1H ЯМР (300 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,85 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 0,88 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,18 до 1,45 (m, 4 H); 1,52 до 1,70 (m, 2 H); 1,99 (m, 1 H); 2,27 (m, 2 H); 3,00 (m, 2 H); 3,22 (s, 3 H); 3,35 до 3,51 (m, 12 H); 3,55 (t, J=6,8 Гц, 2 H); 3,90 (dd, J=7,2 и 9,1 Гц, 1 H); 4,18 до 4,56 (m, 4 H); 4,42 (d, J=5,9 Гц, 2 H); 5,07 (t, J=5,9 Гц, 1 H); 7,22 (d, J=8,9 Гц, 2 H); 7,31 (dt, J=1,8 и 7,8 Гц, 2 H); 7,40 (m, 3 H); 7,53 (d, J=8,9 Гц, 2 H); 7,73 (m, 3 H); 7,88 (d, J=7,8 Гц, 2 H); 8,02 (d, J=8,2 Гц, 1 H); 9,92 (s, 1 H).

Соединение 79: (9H-флуорен-9-ил)метил-((20S,23S)-24-метил-20-((4-(((4-нитрофенокси)-карбонил)окси)метил)фенил)карбамоил)-14,22-диоксо-2,5,8,11-тетраокса-15,21-диазапентакозан-23-ил)карбамат

К раствору **соединения 78** (94 мг, 118,9 мкмоль) в DMF добавляли бис-(4-нитрофенил)карбонат (112 мг, 357,1 мкмоль) и DIEA (40 мкл, 237,2 мкмоль). Реакционную среду перемешивали 20 ч. при к. т., концентрировали *in vacuo*, разбавляли с помощью DCM (10 мл) и промывали с помощью H₂O (10 мл). Органическую фазу высушивали над MgSO₄, фильтровали, концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 12 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 55 мг **соединения 79** в виде коричневого твердого вещества (48%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,86 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 0,88 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,18 до 1,45 (m, 4 H); 1,55 до 1,77 (m, 2 H); 1,99 (m, 1 H); 2,27 (t, J=6,8 Гц, 2 H); 3,00 (m, 2 H); 3,21 (s, 3 H); 3,40 до 3,52 (m, 12 H); 3,57 (t, J=6,8 Гц, 2 H); 3,91 (m, 1 H); 4,20 до 4,41 (m, 4 H); 5,24 (s, 2 H); 7,31 (t, J=7,8 Гц, 2 H); 7,35 до 7,48 (m, 5 H); 7,58 (d, J=9,2 Гц, 2 H); 7,63 (d, J=8,8 Гц, 2 H); 7,74 (m, 2 H); 7,80 (t, J=6,0 Гц, 1 H); 7,90 (d, J=7,8 Гц, 2 H); 8,10 (d, J=8,0 Гц, 1 H); 8,32 (d, J=9,2 Гц, 2 H); 10,12 (s, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=956 [M+H]⁺; масса/заряд=978 [M+Na]⁺; масса/заряд=1000 [M-H+HCO₂H]⁻; Rt=1,45 мин.

Соединение 80: 4-((S)-20-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)-14-оксо-2,5,8,11-тетраокса-15-азагеникозанамидо)бензил-4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-диазациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)-оксиран-2-ил)бензилкарбамат

К раствору (E)-(3S,10R,16S)-16-{(S)-1-[(2R,3R)-3-(4-аминометилфенил)-оксиранил]-этил}-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-1,4-диокса-8,11-диазациклогексадец-13-ен-2,5,9,12-тетраона (синтез которого описан в **WO2011001052**, соединение 77, 19 мг, 27,2 мкмоль) в DCM (2,5 мл) добавляли раствор **соединения 79** (58 мг, 60,7 мкмоль) в DCM (2,5 мл) и DIEA (15 мкл, 86,6 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 20 ч. при к. т., концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 4 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 38 мг Fmoc-защищенного промежуточного соединения в виде бесцветного лака (92%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,79 (d, J=6,7 Гц, 6 H); 0,86 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 0,88 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,00 (s, 3 H); 1,03 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,12 (s, 3 H); 1,20 до 1,45 (m, 5 H); 1,50 до 1,75 (m, 4 H); 1,80 (m, 1 H); 2,00 (m, 1 H); 2,27 (m, 3 H); 2,69 (m, 2 H); 2,92 до 3,04 (m, 5 H); 3,21 (s, 3 H); 3,32 (скрытый m, 1 H); 3,35 до 3,51 (m, 12 H); 3,56 (t, J=6,6 Гц, 2 H); 3,80 (s, 3 H); 3,87 (d, J=2,2 Гц, 1 H); 3,91 (dd, J=7,1 и 9,1 Гц, 1 H); 4,15 до 4,42 (m, 7 H); 4,90 (dd, J=3,7 и 9,8 Гц, 1 H); 4,97 (s, 2 H); 5,10 (m, 1 H); 5,79 (dd, J=2,0 и 15,2 Гц, 1 H); 6,48 (ddd, J=3,8, 11,1 и 15,2 Гц, 1 H); 7,04 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,17 (dd, J=2,4 и 8,6 Гц, 1 H); 7,20 до 7,34 (m, 10 H); 7,41 (m, 3 H); 7,58 (d, J=8,6 Гц, 2 H); 7,70 до 7,80 (m, 4 H); 7,89 (d, J=7,8 Гц, 2 H); 8,06 (d, J=7,6 Гц, 1 H); 8,35 (d, J=8,3 Гц, 1 H); 10,03 (s, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=698; масса/заряд=1514 [M+H]⁺; масса/заряд=1558 [M-H+HCO₂H]⁻; Rt=1,56

мин.

К раствору данного промежуточного соединения (35 мг, 23,1 мкмоль) в DCM (5 мл) добавляли пиперидин (20 мкл, 201,5 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 1 ч. 30 мин. при к. т., затем добавляли DMF (1 мл) и перемешивание проводили в течение 1 ч. 30 мин. Затем добавляли пиперидин (2 мкл); реакционную среду перемешивали в течение 1 ч. при к. т., концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 4 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 25 мг **соединения 80** в виде бесцветного лака (83%).

^1H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,78 (d, J=6,7 Гц, 6 H); 0,82 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 0,89 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,00 (s, 3 H); 1,04 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 1,11 (s, 3 H); 1,22 до 1,48 (m, 5 H); 1,51 до 1,75 (m, 6 H); 1,80 (m, 1 H); 1,98 (m, 1 H); 2,28 (m, 3 H); 2,69 (m, 2 H); 2,92 до 3,05 (m, 7 H); 3,15 (m, 1 H); 3,21 (s, 3 H); 3,32 (скрытый m, 1 H); 3,35 до 3,51 (m, 12 H); 3,57 (t, J=6,7 Гц, 2 H); 3,80 (s, 3 H); 3,87 (d, J=2,2 Гц, 1 H); 4,19 (d, J=6,4 Гц, 2 H); 4,23 (ddd, J=3,9, 8,3 и 11,8 Гц, 1 H); 4,43 (m, 2 H); 4,90 (dd, J=3,7 и 9,8 Гц, 1 H); 4,98 (s, 2 H); 5,10 (m, 1 H); 5,80 (dd, J=2,0 и 15,2 Гц, 1 H); 6,48 (ddd, J=3,9, 11,3 и 15,2 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,18 (dd, J=2,4 и 8,6 Гц, 1 H); 7,20 до 7,32 (m, 8 H); 7,59 (d, J=8,6 Гц, 2 H); 7,79 (t, J=6,0 Гц, 1 H); 7,82 (t, J=6,4 Гц, 1 H); 8,21 (m, 1 H); 8,39 (d, J=8,3 Гц, 1 H); 10,13 (s, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=646,5; масса/заряд=1292 [M+H]⁺; Rt=1,05 мин.

Пример 36: (20S,23S)-20-(((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-диазациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)карбамоил)окси)метил)-фенил)карбамоил)-23-изопропил-14,22,25-триоксо-2,5,8,11-тетраокса-15,21,24-триазанокозан-29-овая кислота

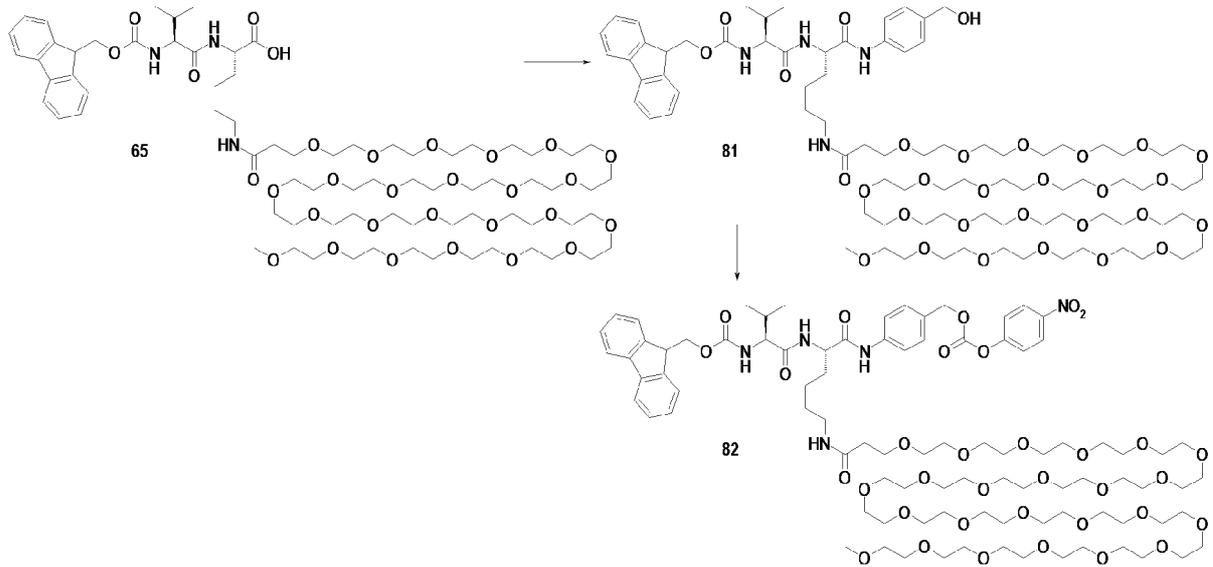
К раствору **соединения 80** (25 мг, 19,3 мкмоль) в DCM (5 мл) добавляли глутаровый ангидрид (4 мг, 19,3 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 2 ч. 30 мин. при к. т., затем добавляли глутаровый ангидрид (4 мг, 19,3 мкмоль) и DMF (0,5 мл) и перемешивание проводили в течение 26 ч. Реакционную среду концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 4 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 10 мг соединения из **примера 36** в виде белого лака (37%).

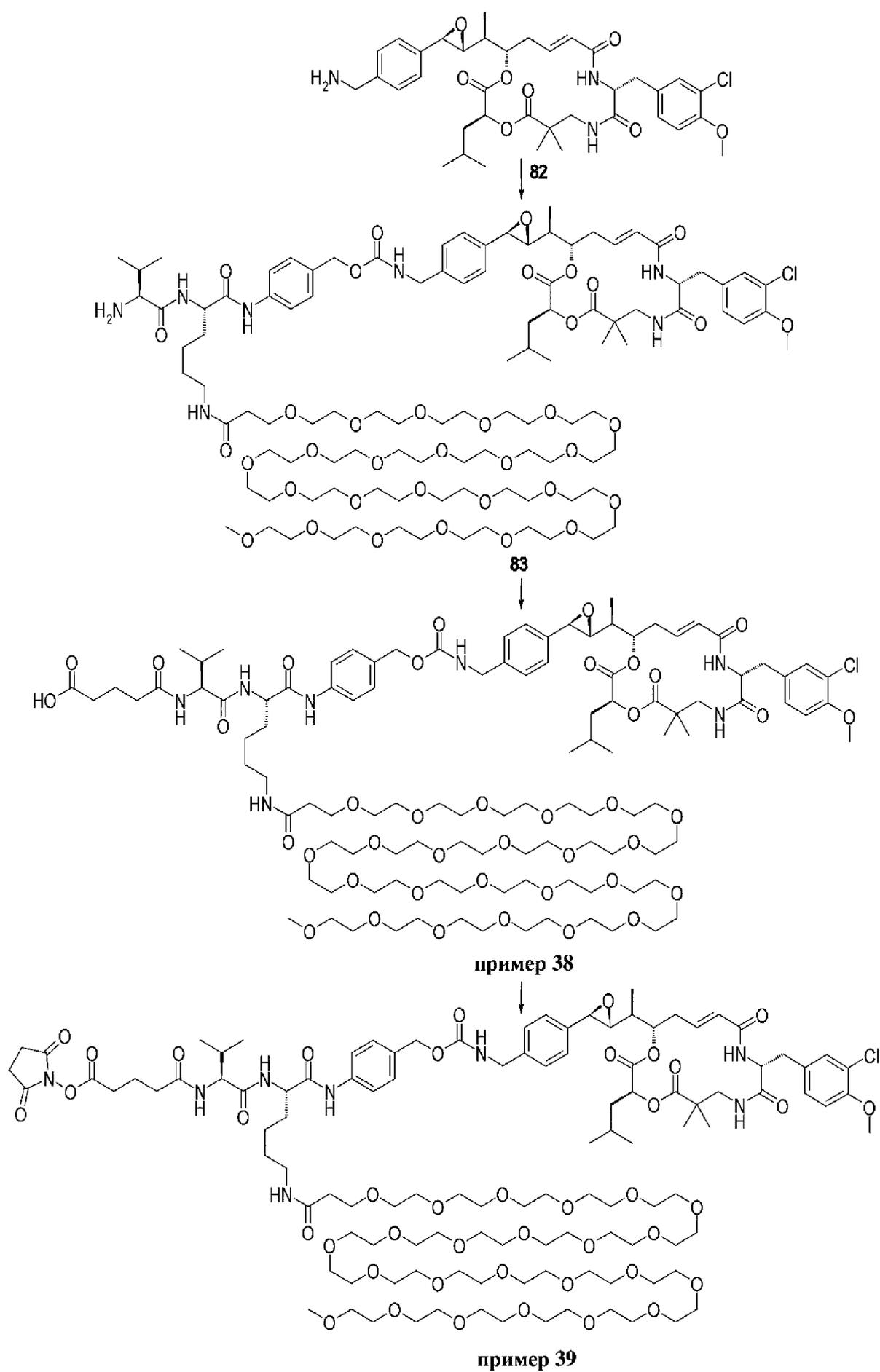
Пример 37: (20S,23S)-2,5-диоксопирролидин-1-ил-20-(((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-диазациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)-карбамоил)окси)метил)фенил)-карбамоил)-23-изопропил-14,22,25-триоксо-2,5,8,11-тетраокса-15,21,24-триазанокозан-29-оат

К раствору соединения из **примера 36** (10 мг, 7,11 мкмоль) в THF (2 мл) добавляли DSC (2 мг, 7,65 мкмоль) и DIEA (1,2 мкл, 7,26 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 20 ч. при к. т., концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью двух последовательных операций флеш-хроматографии на 0,6 г и 2 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/iPrOH) с получением 3,3 мг соединения из **примера 37** в

виде белого лака (31%).

Синтез примеров 38 и 39: глутарил–Val–PEG24Lys–РАВА–С52–бензиламин и NHS–сложный эфир глутарил–Val–PEG24Lys–РАВА–С52–бензиламина





Соединение 81: (9H-флуорен-9-ил)метил-((80S,83S)-80-((4-(гидроксиметил)фенил)карбамоил)-84-метил-74,82-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-тетракозаокса-75,81-диазапентаоктаконтан-83-ил)карбамат

К раствору **соединения 65** (360 мг, 229,8 мкмоль) в MeCN (70 мл) добавляли DIEA (77 мкл, 456,6 мкмоль), 4-аминобензиловый спирт (43 мг, 342,2 мкмоль), HOAt (36 мг, 264,5 мкмоль) и HATU (109 мг, 278,1 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 2 ч. при к. т., концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 25 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH/H₂O) с получением 307 мг **соединения 81** в виде белого твердого вещества (80%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,85 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 0,88 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,21 до 1,42 (m, 4 H); 1,54 до 1,78 (m, 2 H); 1,99 (m, 1 H); 2,27 (t, J=6,8 Гц, 2 H); 3,00 (m, 2 H); 3,22 (s, 3 H); 3,40 до 3,52 (m, 92 H); 3,54 (t, J=6,8 Гц, 2 H); 3,91 (dd, J=6,9 и 9,0 Гц, 1 H); 4,18 до 4,32 (m, 3 H); 4,39 (m, 1 H); 4,42 (d, J=5,9 Гц, 2 H); 5,08 (t, J=5,9 Гц, 1 H); 7,22 (d, J=8,9 Гц, 2 H); 7,32 (dt, J=1,2 и 7,8 Гц, 2 H); 7,41 (m, 3 H); 7,53 (d, J=8,9 Гц, 2 H); 7,75 (m, 3 H); 7,89 (d, J=7,8 Гц, 2 H); 8,02 (d, J=8,2 Гц, 1 H); 9,92 (s, 1 H). LCMS (d): ES масса/заряд=827; масса/заряд=1671 [M+H]⁺; Rt=2,94 мин.

Соединение 82: (9H-флуорен-9-ил)метил-((80S,83S)-84-метил-80-((4-(((4-нитрофенокси)-карбонил)окси)метил)фенил)карбамоил)-74,82-диоксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-тетракозаокса-75,81-диазапентаоктаконтан-83-ил)карбамат

К раствору **соединения 81** (300 мг, 179,4 мкмоль) в DCM (10 мл) добавляли бис-(4-нитрофенил)карбонат (450 мг, 1,48 ммоль) и DIEA (60 мкл, 361,2 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи, затем добавляли бис-(4-нитрофенил)карбонат (80 мг, 263,1 мкмоль) и перемешивание проводили в течение 4 ч. В это время добавляли бис-(4-нитрофенил)карбонат (80 мг, 263,1 мкмоль) и перемешивание проводили в течение ночи. Реакционную среду концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 80 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH/H₂O) с получением 325 мг **соединения 82** в виде белого лака (98%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,86 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 0,89 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,20 до 1,45 (m, 4 H); 1,58 до 1,76 (m, 2 H); 1,99 (m, 1 H); 2,27 (t, J=6,8 Гц, 2 H); 3,00 (m, 2 H); 3,22 (s, 3 H); 3,40 до 3,70 (m, 94 H); 3,91 (dd, J=7,2 и 9,1 Гц, 1 H); 4,19 до 4,32 (m, 3 H); 4,39 (m, 1 H); 5,24 (s, 2 H); 7,31 (dt, J=1,2 и 7,8 Гц, 2 H); 7,40 (m, 4 H); 7,57 (d, J=9,2 Гц, 2 H); 7,62 (d, J=8,6 Гц, 2 H); 7,73 (m, 3 H); 7,89 (d, J=7,8 Гц, 2 H); 8,07 (d, J=7,8 Гц, 1 H); 8,31 (d, J=9,2 Гц, 2 H); 10,10 (s, 1 H). LCMS (d): ES масса/заряд=827; масса/заряд=1836 [M+H]⁺; Rt=3,38 мин.

Соединение 83: 4-((S)-80-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)-74-оксо-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71-тетракозаокса-75-азагексооктаконтанамидо)-бензил-4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-

диазациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензилкарбамат

К раствору (E)-(3S,10R,16S)-16-((S)-1-((2R,3R)-3-(4-аминометилфенил)-оксиранил)-этил)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-1,4-диокса-8,11-диазациклогексадец-13-ен-2,5,9,12-тетраона (синтез которого описан в **WO2011001052**, соединение 77, 79 мг, 113,1 мкмоль) в DCM (5 мл) добавляли раствор **соединения 82** (325 мг, 177,5 мкмоль) в DCM (5 мл) и DIEA (63 мкл, 365,6 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 20 ч. при к. т., затем добавляли **соединение 82** (34 мг, 18,6 мкмоль) и перемешивание проводили в течение 4 ч. Реакционную среду концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью двух последовательных операций флеш-хроматографии на 25 г силикагеля и 15 г диол-модифицированного силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 152 мг неочищенного продукта, который очищали с помощью хроматографии с обращенной фазой на колонке C18 10 мкм, 250×40 мм (градиентное элюирование MeCN/H₂O) с получением 78 мг Fmoc-защищенного промежуточного соединения, содержащего 16% **соединения 83** в виде белого порошка (29%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,78 (d, J=6,8 Гц, 6 H); 0,85 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 0,88 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,00 (s, 3 H); 1,04 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 1,12 (s, 3 H); 1,20 до 1,43 (m, 5 H); 1,50 до 1,74 (m, 4 H); 1,79 (m, 1 H); 1,99 (m, 1 H); 2,25 (m, 3 H); 2,68 (m, 2 H); 2,93 до 3,04 (m, 5 H); 3,22 (s, 3 H); 3,32 (скрытый m, 2 H); 3,40 до 3,76 (m, 94 H); 3,80 (s, 3 H); 3,87 (d, J=2,0 Гц, 1 H); 3,90 (dd, J=7,5 и 9,1 Гц, 1 H); 4,19 (d, J=6,5 Гц, 2 H); 4,20 до 4,33 (m, 4 H); 4,39 (m, 1 H); 4,90 (dd, J=3,9 и 9,9 Гц, 1 H); 4,93 (s, 2 H); 5,11 (m, 1 H); 5,79 (dd, J=1,8 и 15,2 Гц, 1 H); 6,47 (ddd, J=3,8, 11,4 и 15,2 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,17 (dd, J=2,4 и 8,6 Гц, 1 H); 7,20 до 7,36 (m, 10 H); 7,41 (m, 3 H); 7,48 (d, J=8,6 Гц, 2 H); 7,70 до 7,80 (m, 5 H); 7,89 (d, J=7,8 Гц, 2 H); 8,08 (d, J=8,0 Гц, 1 H); 8,35 (d, J=8,0 Гц, 1 H); 10,04 (s, 1 H).

К раствору данного промежуточного соединения (75 мг, 31,3 мкмоль) в DMF (5 мл) добавляли пиперидин (25 мкл, 253,2 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 1 ч. 30 мин. при к. т., концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 4 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH/H₂O) с получением 58 мг **соединения 83** в виде белого лака (85%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 0,78 (d, J=6,9 Гц, 9 H); 0,88 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,00 (s, 3 H); 1,05 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 1,12 (s, 3 H); 1,15 до 1,50 (m, 7 H); 1,52 до 1,73 (m, 4 H); 1,80 (m, 1 H); 1,93 (m, 1 H); 2,27 (m, 3 H); 2,69 (m, 2 H); 2,95 до 3,04 (m, 6 H); 3,23 (s, 3 H); 3,32 (m, 1 H); 3,40 до 3,55 (m, 92 H); 3,57 (t, J=6,8 Гц, 2 H); 3,80 (s, 3 H); 3,87 (d, J=2,2 Гц, 1 H); 4,20 (d, J=6,5 Гц, 2 H); 4,24 (ddd, J=3,9, 8,2 и 12,0 Гц, 1 H); 4,42 (m, 1 H); 4,90 (dd, J=3,8 и 9,8 Гц, 1 H); 4,98 (s, 2 H); 5,10 (m, 1 H); 5,79 (d, J=15,8 Гц, 1 H); 6,47 (ddd, J=3,8, 6,0 и 11,5 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,16 (dd, J=2,4 и 8,6 Гц, 1 H); 7,20 до 7,31 (m, 8 H); 7,58 (d, J=8,6 Гц, 2 H); 7,78 (m, 2 H); 8,10 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 8,36 (d, J=8,1 Гц, 1 H); 10,10 (s, 1 H). LCMS (d): ES масса/заряд=725; масса/заряд=1087 [M+2H]²⁺; Rt=1,07 мин.

Пример 38: (80S,83S)-80-(((4-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-

диазациклогексадец–13–ен–16–ил)этил)оксиран–2–ил)бензил)карбамоил)окси)метил)–
 фенил)карбамоил)–83–изопропил–74,82,85–триоксо–
 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71–тетракозаокса–
 75,81,84–триазаноноактаконтан–89–овая кислота

К раствору **соединения 83** (58 мг, 26,7 мкмоль) в DCM (2 мл) добавляли глутаровый ангидрид (5,5 мг, 48,2 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 3 ч. при к. т., концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью двух последовательных операций флеш–хроматографии на 4 г и 12 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH/H₂O) с получением 37 мг соединения из **примера 38** в виде белого лака (61%).

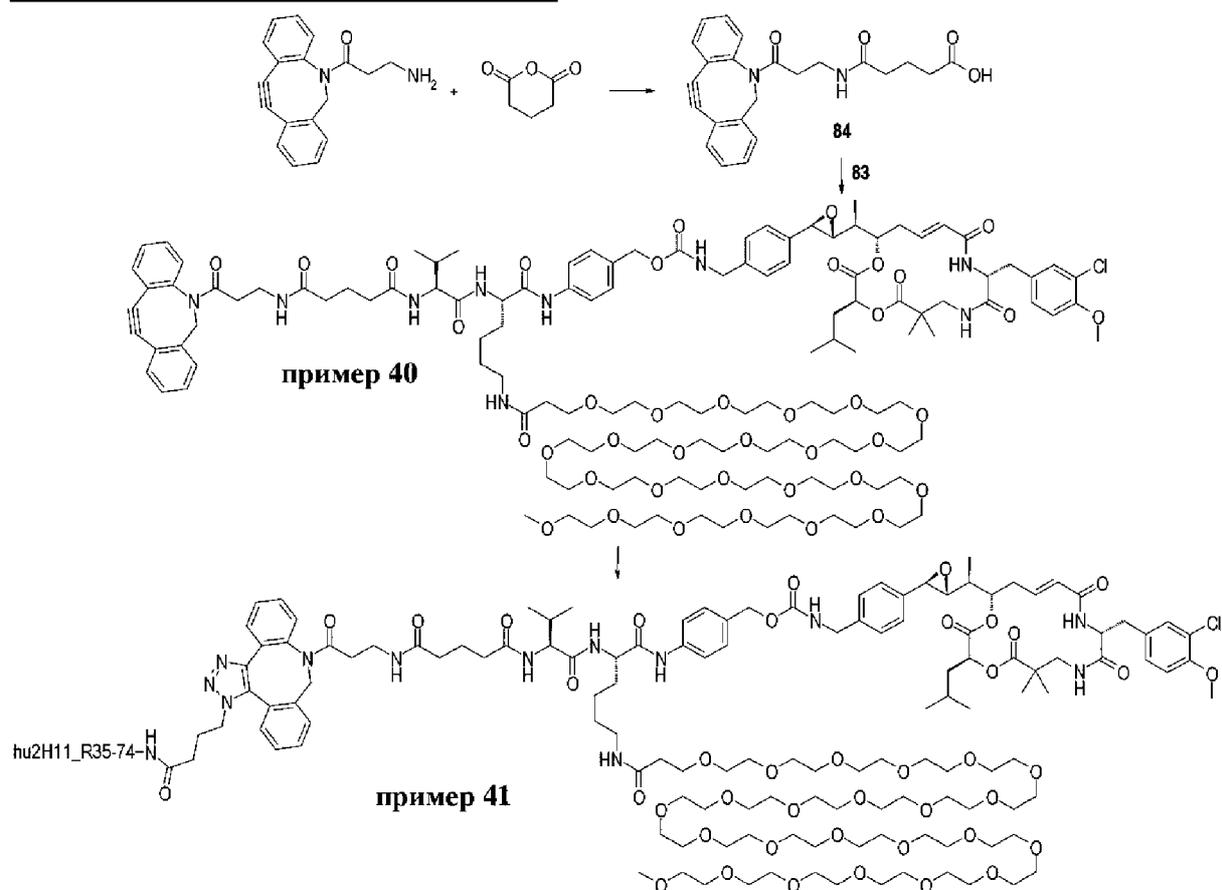
¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO–d₆): 0,79 (d, J=6,8 Гц, 6 H); 0,93 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 0,97 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,00 (s, 3 H); 1,04 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 1,12 (s, 3 H); 1,20 до 1,45 (m, 5 H); 1,51 до 1,75 (m, 6 H); 1,80 (m, 1 H); 2,00 (m, 1 H); 2,13 до 2,33 (m, 7 H); 2,69 (m, 2 H); 2,95 до 3,05 (m, 5 H); 3,23 (s, 3 H); 3,32 (m, 1 H); 3,40 до 3,58 (m, 94 H); 3,80 (s, 3 H); 3,87 (d, J=2,2 Гц, 1 H); 4,15 до 4,38 (m, 4 H); 4,32 (m, 1 H); 4,90 (dd, J=3,8 и 9,8 Гц, 1 H); 4,98 (s, 2 H); 5,10 (m, 1 H); 5,79 (d, J=15,2 Гц, 1 H); 6,47 (ddd, J=3,8, 11,4 и 15,2 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,16 (dd, J=2,4 и 8,6 Гц, 1 H); 7,20 до 7,32 (m, 8 H); 7,60 (d, J=8,6 Гц, 2 H); 7,78 (t, J=6,5 Гц, 1 H); 7,90 (широкий d, J=8,6 Гц, 2 H); 8,20 (m, 1 H); 8,38 (d, J=8,6 Гц, 2 H); 10,08 (m, 1 H); 12,10 (m, 1 H). LCMS (d): ES масса/заряд=698; масса/заряд=2287 [M+H]⁺; Rt=3,13 мин.

Пример 39: (80S,83S)–2,5–диоксопирролидин–1–ил–80–((4–(((4–((2R,3R)–3–((S)–1–((3S,10R,16S, E)–10–(3–хлор–4–метоксибензил)–3–изобутил–6,6–диметил–2,5,9,12–тетраоксо–1,4–диокса–8,11–диазациклогексадец–13–ен–16–ил)этил)оксиран–2–ил)бензил)карбамоил)окси)метил)фенил)карбамоил)–83–изопропил–74,82,85–триоксо–
 2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41,44,47,50,53,56,59,62,65,68,71–тетракозаокса–
 75,81,84–триазаноноактаконтан–89–оат

К раствору соединения из **примера 38** (29 мг, 12,7 мкмоль) в THF (3 мл) добавляли DSC (3,6 мг, 13,8 мкмоль) и DIEA (2,1 мкл, 12,9 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 20 ч. при к. т., концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш–хроматографии на 4 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/iPrOH) с получением 6,9 мг соединения из **примера 39** в виде бесцветного лака (23%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO–d₆): 0,79 (d, J=6,8 Гц, 6 H); 0,93 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 0,97 (d, J=7,0 Гц, 3 H); 1,00 (s, 3 H); 1,04 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 1,11 (s, 3 H); 1,13 до 1,42 (m, 5 H); 1,52 до 1,88 (m, 7 H); 1,98 (m, 1 H); 2,28 (m, 5 H); 2,53 до 2,72 (m, 4 H); 2,80 (s, 4 H); 2,96 до 3,05 (m, 5 H); 3,23 (s, 3 H); 3,32 (m, 1 H); 3,60 до 3,65 (m, 94 H); 3,80 (s, 3 H); 3,87 (d, J=2,2 Гц, 1 H); 4,15 до 4,28 (m, 4 H); 4,33 (m, 1 H); 4,90 (dd, J=3,8 и 9,8 Гц, 1 H); 4,98 (s, 2 H); 5,10 (m, 1 H); 5,79 (d, J=15,8 Гц, 1 H); 6,47 (ddd, J=3,8, 11,4 и 15,2 Гц, 1 H); 7,05 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,17 (dd, J=2,4 и 8,6 Гц, 1 H); 7,20 до 7,32 (m, 8 H); 7,60 (d, J=8,6 Гц, 2 H); 7,78 (m, 2 H); 7,90 (d, J=8,5 Гц, 1 H); 8,07 (m, 2 H); 8,37 (d, J=8,5 Гц, 2 H); 9,95 (s, 1 H). LCMS (D): ES масса/заряд=698; масса/заряд=2384 [M+H]⁺; Rt=3,19 мин.

Синтез примеров 40 и 41: DBCO–глутарил–Val–PEG24Lys–РАВА–С52–бензиламин и соответствующий ADC



Соединение 84: 5–[[3–(11,12–дидегидродибенз[b, f]азоцин–5(6H)–ил)–3–оксопропил]амино]–5–оксопентановая кислота

К раствору DBCO–аминa (50 мг, 180,9 мкмоль) в DCM (2 мл) добавляли глутаровый ангидрид (21,1 мг, 180,9 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 2 ч. при к. т., концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш–хроматографии на 4 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH) с получением 32,6 мг **соединения 84** (45%).

¹H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO–*d*6): 1,59 (m, 2 H) ; 1,81 (m, 1 H); 1,94 (t, J=7,4 Гц, 2 H); 2,11 (t, J=7,4 Гц, 2 H); 2,40 (m, 1 H); 2,91 (m, 1 H); 3,09 (m, 1 H); 3,62 (d, J=14,2 Гц, 1 H); 5,13 (d, J=14,2 Гц, 1 H); 7,38 до 7,53 (m, 6 H); 7,56 до 7,67 (m, 3 H); 12,05 (широкий m, 1 H).

Пример 40: DBCO–глутарил–Val–PEG24Lys–РАВА–С52–бензиламин

К раствору **соединения 83** (22 мг, 10,1 мкмоль) в DCM (2 мл) добавляли **соединение 84** (5,14 мг, 13,2 мкмоль), EDC (1,8 мкл, 10,1 мкмоль) и HOBT (1,4 мг, 10,1 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи, концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью хроматографии с обращенной фазой на C18–модифицированной колонке 5 мкм, 150 мм x 30 мм (градиентное элюирование MeCN/0,2 н. ацетат аммония с pH 5,6) с получением 9,2 мг соединения из **примера 40** в виде белого порошка (36%).

^1H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): 0,78 (d, $J=6,8$ Гц, 6 H); 0,80 до 0,90 (m, 6 H); 1,00 (s, 3 H); 1,05 (d, $J=7,1$ Гц, 3 H); 1,12 (s, 3 H); 1,20 до 1,41 (m, 5 H); 1,52 до 1,72 (m, 6 H); 1,75 до 2,00 (m, 5 H); 2,09 (m, 2 H); 2,27 (m, 3 H); 2,40 (m, 1 H); 2,68 (m, 2 H); 2,88 до 3,12 (m, 7 H); 3,23 (s, 3 H); 3,28 до 3,58 (частично скрытый m, 95 H); 3,60 (d, $J=11,0$ Гц, 1 H); 3,80 (s, 3 H); 3,88 (d, $J=2,0$ Гц, 1 H); 4,11 до 4,28 (m, 4 H); 4,33 (m, 1 H); 4,90 (dd, $J=3,8$ и 9,8 Гц, 1 H); 4,97 (s, 2 H); 5,04 (d, $J=11,0$ Гц, 1 H); 5,11 (m, 1 H); 5,80 (d, $J=15,2$ Гц, 1 H); 6,47 (ddd, $J=3,8$, 11,4 и 15,2 Гц, 1 H); 7,05 (d, $J=8,6$ Гц, 1 H); 7,17 (dd, $J=2,4$ и 8,6 Гц, 1 H); 7,20 до 7,31 (m, 6 H); 7,32 до 7,50 (m, 6 H); 7,53 до 7,70 (m, 4 H); 7,80 (m, 3 H); 8,08 (d, $J=8,9$ Гц, 1 H); 8,36 (d, $J=8,4$ Гц, 1 H); 9,95 (s, 1 H). LCMS (D): ES масса/заряд=849 $[\text{M}+3\text{H}]^{3+}$; масса/заряд=1273 $[\text{M}+2\text{H}]^{2+}$; Rt=5,29 мин.

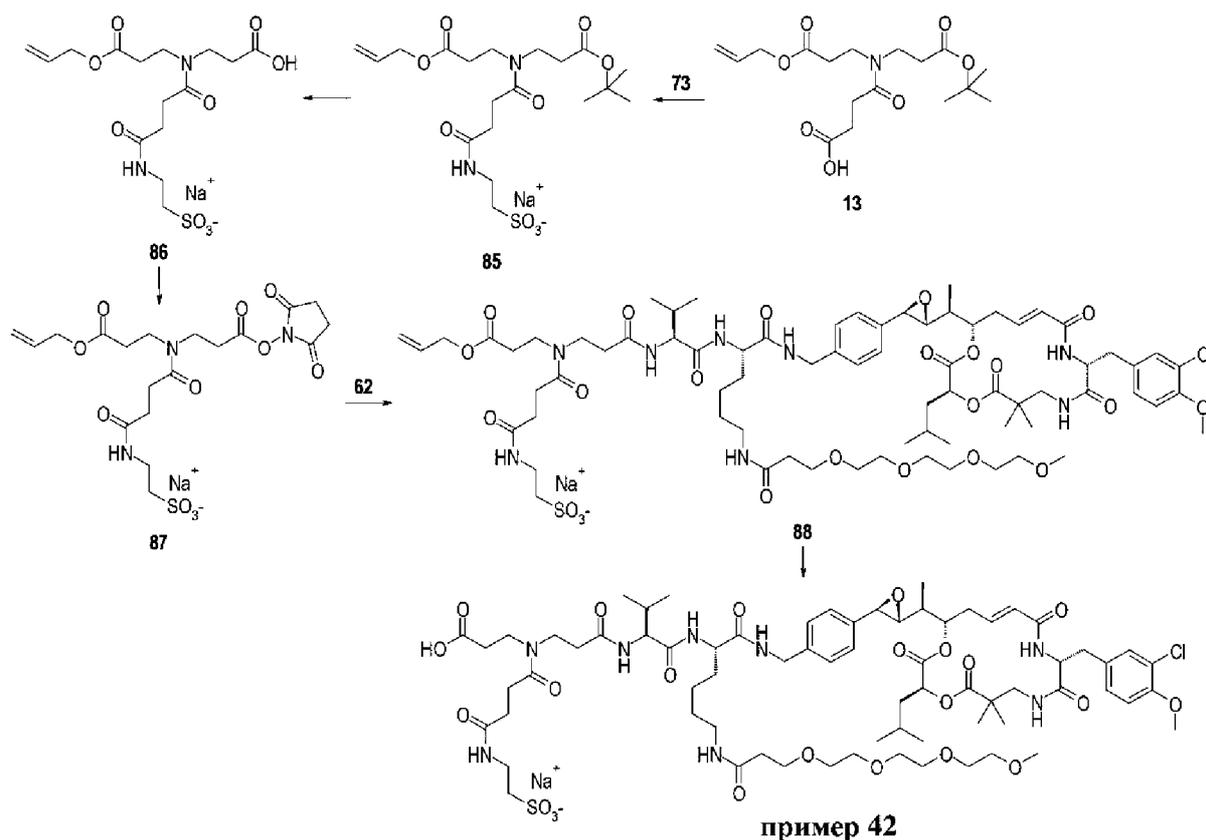
Пример 41: hu2H11_R35–74–Ex40

194 мг hu2H11_R35–74 в буфере А вводили в реакцию с 627 мкл раствора 2,5–диоксопирролидин–1–ил–4–азидобутаноата (номер CAS [943858–70–6]) при 22,0 mM в DMA (10 экв.) так, чтобы конечная концентрация антитела составляла 10,5 мг/мл, а процентная доля DMA в буфере А составляла 5%. После перемешивания в течение 2 ч. при к. т. смесь очищали с помощью гель–фильтрации с применением матрицы SephadexTM G25 (обессоливающая колонка HiPrep 26/10, GEHealthcare), предварительно уравновешенной в буфере А. Фракции, содержащие мономерное модифицированное антитело, объединяли и фильтровали через фильтровальный блок Steriflip® (PVDF–мембрана Durapore® 0,22 мкм, Millipore) с получением 173 мг модифицированного антитела при концентрации 5,75 мг/мл с соотношением линкера и антитела 5,2 (HRMS), мономерной чистотой 97% и общим выходом 89%.

Общий способ, описанный ранее, использовали для получения соединения из **примера 41**. 45 мг модифицированного hu2H11_R35–74 вводили в реакцию с 604 мкл 6,89 mM раствора соединения из **примера 40** в DMA (14 экв.) в течение 4 ч. 30 мин., затем добавляли 604 мкл 10 mM раствора соединения из **примера 40** в DMA (14 экв.) и перемешивание проводили в течение ночи при к. т. После очистки на Superdex 200 pg в буфере В с pH 6,5+20% NMP, концентрирования на Amicon Ultra–15, гель–фильтрации на PD–10 в буфере В с pH 6,5+5% NMP и фильтрации на PVDF–фильтре с размером пор 0,22 мкм получали 28 мг соединения из **примера 41** в виде бесцветного прозрачного раствора при концентрации 1,6 мг/мл с DAR 3,44 (HRMS), мономерной чистотой 99,6% и выходом 62%.

SEC–HRMS: масса/заряд=152041 (D1); масса/заряд=154678 (D2); масса/заряд=157332 (D3); масса/заряд=159992 (D4); масса/заряд=162648 (D5); масса/заряд=165303 (D6); масса/заряд=168004 (D7).

Синтез примера 42: сульфо–Val–PEG4Lys–C52–бензиламин



Соединение 85: 2-(4-((3-(аллилокси)-3-оксопропил)(3-(*трет*-бутокси)-3-оксопропил)амино)-4-оксобутанамидо)этан-1-сульфонат натрия

К раствору **соединения 13** (0,958 г, 2,68 ммоль) в DMF (5 мл) добавляли NHS (390,3 мг, 3,32 ммоль) и EDC (604,2 мкл, 3,4 ммоль). Реакционную среду перемешивали в течение 2 ч. при к. т., затем хранили 2 дня при -20°C . После возвращения до к. т. реакцию перемешивали в течение 2 ч. при к. т., затем добавляли EDC (60 мкл, 340 мкмоль) и раствор NHS (20 мг, 170,3 мкмоль) в DMF (3 мл). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи, затем добавляли раствор **соединения 73** (1,96 г, 13,3 ммоль) в H_2O (10 мл) и гидрокарбонат натрия (225,2 мг, 2,68 ммоль). Реакционную среду перемешивали в течение 1 ч. при к. т., разбавляли с помощью H_2O (6 мл), подкисляли до pH 3 с помощью Amberlite IR-120 (H) (номер CAS [78922-04-4]), фильтровали, концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на силикагеле (градиентное элюирование DCM/MeOH/ H_2O) с получением 270 мг **соединения 85** в виде бесцветной пены (21%).

^1H ЯМР (400 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): 50:50 смесь конформеров; 1,39 (s, 4,5 H); 1,40 (s, 4,5 H); 2,27 (t, $J=7,0$ Гц, 4 H); 2,38 (t, $J=7,0$ Гц, 2 H); 3,53 (m, 3 H); 2,68 (t, $J=7,0$ Гц, 1 H); 3,25 до 3,61 (m, 6 H); 4,55 до 4,58 (m, 2 H); 5,18 до 5,36 (m, 2 H); 5,90 (m, 1 H); 7,70 (t, $J=6,8$ Гц, 1 H); 10,53 (широкий m, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=409; масса/заряд=463 [M-H] $^-$; масса/заряд=465 [M+H] $^+$; Rt=1,13 мин.

Соединение 86: 2-(4-((3-(аллилокси)-3-оксопропил)(2-карбоксиэтил)амино)-4-оксобутанамидо)-этан-1-сульфонат натрия

К раствору **соединения 85** (60 мг, 123,3 мкмоль) в DCM (4 мл) добавляли TFA (100

мкл, 1,25 ммоль). Реакционную среду перемешивали в течение 2 ч. при к. т., затем добавляли TFA (100 мкл, 1,25 ммоль) и перемешивание проводили в течение 2 дней при к. т. Затем добавляли TFA (50 мкл, 0,625 ммоль), реакционную среду перемешивали при к. т., концентрировали *in vacuo* и выпаривали совместно с толуолом (3 х) с получением 60 мг **соединения 86** в виде бесцветного лака (колич.).

Соединение 87: 2-(4-((3-(аллилокси)-3-оксопропил)(3-((2,5-диоксопирролидин-1-ил)окси)-3-оксопропил)амино)-4-оксобутанамидо)этан-1-сульфонат натрия

К раствору **соединения 86** (52,94 мг, 123 мкмоль) в DCM (5 мл) добавляли EDAC (26,0 мкл, 147,6 мкмоль), NHS (14,75 мг, 123 мкмоль) и DMF (0,5 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 4 ч. при к. т., затем добавляли EDC (10 мкл, 45,7 мкмоль) и перемешивание проводили при к. т. в течение ночи. Реакционную среду хранили при –20°C и использовали, например, для синтеза соединения 88.

Соединение 88: (20S,23S)-28-(2-аллилокси-2-карбоксиэтил)-20-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-диазациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)карбамоил)-23-изопропил-14,22,25,29,32-пентаоксо-2,5,8,11-тетраокса-15,21,24,28,33-пентаазапентаатриаконтан-35-сульфонат натрия

К раствору **соединения 62** (50 мг, 43,7 мкмоль) в DCM (4 мл) в атмосфере Ar добавляли по каплям реакционную среду, содержащую **соединение 87** (23,06 мг, 43,7 мкмоль). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение 15 мин., концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 15 г силикагеля (градиентное элюирование DMC/MeOH/H₂O) с получением 26 мг **соединения 88** в виде белого лака (38%).

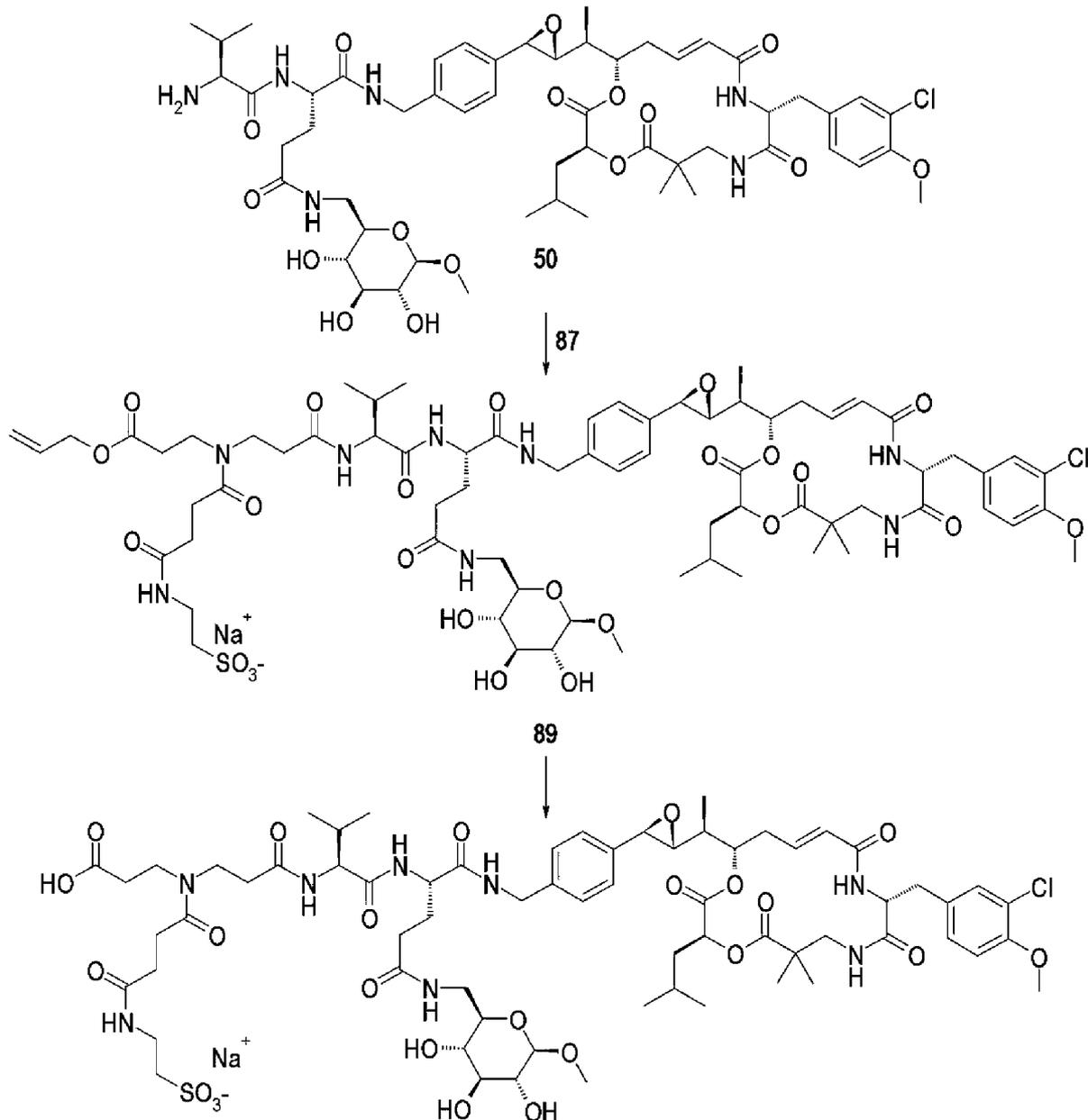
Пример 42: (20S,23S)-28-(2-карбоксиэтил)-20-(((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-диазациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)карбамоил)-23-изопропил-14,22,25,29,32-пентаоксо-2,5,8,11-тетраокса-15,21,24,28,33-пентаазапентаатриаконтан-35-сульфонат натрия

К раствору **соединения 88** (14 мг, 9 мкмоль) в THF добавляли димедон (2,57 мг, 18,0 мкмоль) и тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0) (5,3 мг, 4,5 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 1 ч. при к. т., затем добавляли димедон (2,57 мг, 18,0 мкмоль) и тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0) (5,3 мг, 4,5 мкмоль) и перемешивание проводили при к. т. в течение ночи. В это время добавляли димедон (2,57 мг, 18,0 мкмоль) и тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0) (5,3 мг, 4,5 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 4 ч. при к. т., фильтровали, концентрировали *in vacuo* и очищали с помощью флеш-хроматографии на 4 г силикагеля (градиентное элюирование DCM/MeOH/H₂O) с получением 7 мг соединения из **примера 42** в виде белого лака (51%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*₆): 50:50 смесь конформеров; 0,78 (d, J=6,8 Гц, 6 H); 0,81 (d, J=6,8 Гц, 6 H); 0,86 (m, 6 H); 1,00 (s, 3 H); 1,04 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 1,11 (s, 3 H); 1,15 до 1,41 (m, 5 H); 1,53 до 1,70 (m, 4 H); 1,80 (m, 1 H); 2,00 (m, 1 H); 2,11 до 2,58

(частично скрытый m, 13 H); 2,70 (m, 2 H); 2,92 до 3,05 (m, 5 H); 3,23 (s, 3 H); 3,25 до 3,58 (частично скрытый m, 23 H); 3,81 (s, 3 H); 3,88 (d, J=2,0 Гц, 1 H); 4,10 до 4,32 (m, 5 H); 4,91 (dd, J=3,8 и 9,9 Гц, 1 H); 5,10 (m, 1 H); 5,80 (d, J=15,2 Гц, 1 H); 6,47 (ddd, J=3,8, 11,4 и 15,2 Гц, 1 H); 7,06 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,18 (dd, J=2,4 и 8,6 Гц, 1 H); 7,20 до 7,32 (m, 6 H); 7,67 до 7,93 (m, 3 H); 8,18 до 8,60 (m, 4 H). LCMS (E): ES масса/заряд=747,5 [M+2H]²⁺; масса/заряд=1491 [M-H]⁻; масса/заряд=1493 [M+H]⁺; Rt=4,74 мин.

Синтез примера 43: сульфо-Val-глюкоза-Gln-C52-бензиламин



пример 43

Соединение 89: (6S,9S)-14-(3-(аллилокси)-3-оксопропил)-6-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R, 16S, E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-дизациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)карбамоил)-9-изопропил-3,8,11,15,18-пентаоксо-1-((2R,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-

тригидрокси-6-метокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-2,7,10,14,19-пентаазагеникозан-21-сульфонат натрия

К раствору **соединения 50** (55 мг, 49,9 мкмоль) в DMF (3 мл) добавляли раствор **соединения 87** в DMF (1,66 мл при 30 мМ, 49,9 мкмоль). Реакционную среду перемешивали в течение 18 ч. при к. т., фильтровали через 0,45 мкм, промывали дважды с помощью DMF (0,8 мл) и очищали с помощью хроматографии с обращенной фазой на колонке C18 5 мкм, 30×150 мм (градиентное элюирование MeCN/0,2 н. ацетат аммония с pH 5,6) с получением 19,8 мг **соединения 89** в виде белого твердого вещества (26%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): смесь конформеров 60:40; 0,78 (d, J=6,8 Гц, 6 H); 0,81 (d, J=6,8 Гц, 6 H); 0,81 до 0,87 (m, 6 H); 0,99 (s, 3 H); 1,03 (d, J=7,1 Гц, 3 H); 1,12 (s, 3 H); 1,30 (m, 1 H); 1,52 до 1,62 (m, 2 H); 1,80 (m, 3 H); 1,85 до 2,00 (m, 3 H); 2,10 до 2,30 (m, 5 H); 2,35 до 2,48 (m, 2 H); 2,53 (m, 6 H); 2,68 (m, 2 H); 2,88 до 3,15 (m, 9 H); 3,28 (m, 3 H); 3,38 (m, 3 H); 3,40 до 3,58 (m, 5 H); 3,80 (s, 3 H); 3,87 (d, J=2,3 Гц, 1 H); 4,01 (d, J=8,0 Гц, 1 H); 4,10 до 4,24 (m, 6 H); 4,55 (m, 1,2 H); 4,57 (0,8 H); 4,91 (dd, J=3,8 и 9,9 Гц, 1 H); 4,95 (d, J=5,0 Гц, 1 H); 5,01 (d, J=5,0 Гц, 1 H); 5,06 (d, J=5,0 Гц, 1 H); 5,10 (m, 1 H); 5,18 до 5,35 (m, 2 H); 5,80 (dd, J=2,0 и 15,2 Гц, 1 H); 5,92 (m, 1 H); 6,47 (ddd, J=3,8, 11,4 и 15,2 Гц, 1 H); 7,06 (d, J=8,6 Гц, 1 H); 7,18 (dd, J=2,4 и 8,6 Гц, 1 H); 7,23 (m, 5 H); 7,29 (d, J=2,4 Гц, 1 H); 7,69 (t, J=6,8 Гц, 1 H); 7,88 (t, J=6,8 Гц, 1 H); 7,98 (d, J=9,0 Гц, 0,4 H); 8,04 (d, J=7,0 Гц, 0,4 H); 8,08 (d, J=9,0 Гц, 0,6 H); 8,14 (d, J=7,0 Гц, 0,6 H); 8,32 (t, J=7,0 Гц, 1 H); 8,38 (d, J=8,0 Гц, 1 H). LCMS (A): ES масса/заряд=746,5 [M+2H]²⁺; масса/заряд=1490 [M-H]⁻; масса/заряд=1492 [M+H]⁺; Rt=1,4 мин.

Пример 43: (6S,9S)-14-(2-карбоксиэтил)-6-((4-((2R,3R)-3-((S)-1-((3S,10R,16S,E)-10-(3-хлор-4-метоксибензил)-3-изобутил-6,6-диметил-2,5,9,12-тетраоксо-1,4-диокса-8,11-диазациклогексадец-13-ен-16-ил)этил)оксиран-2-ил)бензил)карбамоил)-9-изопропил-3,8,11,15,18-пентаоксо-1-((2R,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-тригидрокси-6-метокситетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-2,7,10,14,19-пентаазагеникозан-21-сульфонат натрия

К раствору **соединения 89** (19 мг, 12,6 мкмоль) в DMF (1 мл) добавляли барбитуровую кислоту (5,94 мг, 37,7 мкмоль) и раствор тетраakis-(трифенилфосфин)палладия(0) (0,74 мг, 0,63 мкмоль) в DMF (0,5 мл). Реакционную среду перемешивали в течение 3 ч. при к. т., затем добавляли барбитуровую кислоту (5,94 мг, 37,7 мкмоль) и раствор тетраakis-(трифенилфосфин)палладия(0) (0,74 мг, 0,63 мкмоль) в DMF (0,5 мл). Реакционную среду перемешивали при к. т. в течение ночи, разбавляли с помощью DMF, фильтровали через 0,45 мкм и очищали с помощью двух последовательных операций хроматографии с обращенной фазой на колонке C18 5 мкм, 30×150 мм (градиентное элюирование MeCN/0,2 н. ацетат аммония с pH 5,6) с получением 4,7 мг **соединения из примера 43** в виде белого твердого вещества (25%).

¹H ЯМР (500 МГц, δ в ppm, DMSO-*d*6): 0,80 (m, 6 H); 0,85 (m, 6 H); 0,99 (s, 3 H); 1,03 (d, J=7,3 Гц, 3 H); 1,11 (s, 3 H); 1,33 (m, 1 H); 1,58 (m, 2 H); 1,78 (m, 2 H); 1,90 (m, 2 H); 2,03 до 2,55 (частично скрытый m, 11 H); 2,70 (m, 2 H); 2,90 до 3,58 (частично скрытый m,

ADC1	4,1	99	3,25	88,7	-21%	-10%	колич.
ADC3	3,5	99,7	3,5	99,5	0%	-0,2%	н. о.
Прим. 3	3,4	99,8	3,2	99,7	-6%	-0,1%	88%
Прим. 6	4,05	99	3,4	99	-16%	0%	75%
Прим. 16*	2,5	99,8	2,3	99,8	-8%	0%	73%
Прим. 19	2,8	97,9	2,4	97,8	-14%	-0,1%	72%
Прим. 23*	2,9	100	2,4	100	-17%	0%	76%
Прим. 26	3,9	100	3,9	100	0%	0%	н. о.
Прим. 29	4	98,4	3,9	100	-2,5%	0%	76%
Прим. 32	2,8	95,1	2,9	94,1	0	-11%	82%

*Через 10 месяцев при 4°C наблюдали значительную агрегацию для **прим. 16** и **прим. 23** (-22% и -19% соответственно в отношении мономерной чистоты), поэтому обе партии очищали посредством гель-фильтрации на Superdex 200 pg перед проведением исследования стабильности.

Стабильность через 10 дней при 40°C в фосфатном буфере

ADC в 10 mM фосфате, 70 mM NaCl, 5% сахарозе с pH 6,5 нагревали при 40°C в течение 10 дней и анализировали с помощью HRMS и SEC HPLC для определения DAR и мономерной чистоты.

Таблица II	В t0		Через 10 дней при 40°C		ΔDAR (%)	Δ%мономера (%)	извлечение белка
	DAR	%мономера	DAR	%мономера			
ADC1	3,25	88,7	3,0	85,7%	-8%	-3%	56%
ADC3	3,5	99,5	3	85	-14%	-15%	46%
Прим. 3	3,2	99,7	2,9	92	-9%	-8%	96%
Прим. 6	3,4	99	3,3	97	-3%	-2%	91%
Прим. 16	2,3	99,8	1,8	93,8	-22%	-6%	89%
Прим. 19	2,4	97,8	1,8	92,9	-25%	-5%	колич.
Прим. 23	2,4	100	2,4	91,6	0%	-8%	91%
Прим. 26	3,9	100	3,6	100	-8%	0%	н. о.
Прим. 29	3,9	100	3,9	98,7	0%	-1%	97%
Прим. 32	2,9	94,1	2,7	89,8	-7%	-5%	95%
Прим. 41	3,3	97,9	3,05	75,3	-7,5%	-23%	колич.

Оценка высвобождения лекарственного средства после обработки конъюгатов формулы (V) катепсином В

Высвобождение лекарственного средства катепсином В оценивали *in vitro* с помощью инкубирования ADC (1,5 мкг/мл) в присутствии катепсина В человека (Calbiochem №219362, 40 мкг/мл) в ацетатном буфере с pH 5 при 37°C в течение 24 ч. и выявления лекарственного средства с помощью UPLC–MS–SIR–DAD–ELSD. Угол наклона определяли на основе кинетических показателей в течение 1^{ого} часа, период полужизни определяли на основе кинетических показателей за 24 ч.

Таблица III	угол наклона	t _{1/2} (ч.)
ADC1	34,3	2
ADC2	14,1	15
Прим. 16	12,8	> 24
Прим. 19	22,3	3,5
Прим. 23	19,3	6
Прим. 32	33,5	2

Конъюгаты формулы (V) на основе криптофицина расщепляли с помощью катепсина В человека с кинетическими показателями, подобными кинетическим показателям контрольных ADC.

Фармакологические результаты

Конъюгаты формулы (V) подвергали фармакологическим тестам для определения их противоопухолевого эффекта.

Оценка ингибирования пролиферации клеточной линии MDA–MB–231 конъюгатами формулы (V)

Клетки MDA–MB–231 в их экспоненциальной фазе роста трипсинизировали и ресуспендировали в их культуральной среде (DMEM/F12 Gibco №21331, 10% FCS Gibco №10500–056, 2 нМ глутамин Gibco №25030). Суспензию клеток высевали в 96–луночные культуральные планшеты Cytostar (GE Healthcare Europe, №RPNQ0163) по всей культуральной среде, содержащей сыворотку с плотностью 5000 клеток/лунка. После инкубации в течение 4 ч. в лунки добавляли последовательные разбавления ADC в концентрациях, уменьшающихся от 10⁻⁷ до 10⁻¹² М (в трех повторностях для каждой концентрации). Клетки культивировали при 37°C в атмосфере, содержащей 5% CO₂, в присутствии ADC в течение 3 дней. На 4^{ый} день в каждую лунку добавляли 10 мкл раствора ¹⁴C–тимидина (0,1 мКи/лунка, Perkin Elmer №NEC56825000). Включение ¹⁴C–тимидина измеряли через 96 ч. после начала эксперимента с помощью счетчика радиоактивности Microbeta (Perkin Elmer). Данные выражали в виде процентной доли выживания с помощью определения соотношения уменьшенного количества, полученного для клеток, обработанных ADC, и количества, полученного для клеток контрольной лунки (обработанных только культуральной средой). В некоторых экспериментах

неконъюгированное антитело добавляли в лунки при концентрации 1 мкМ в начале эксперимента и ингибирование пролиферации измеряли как описано ранее.

Таблица IV	IC ₅₀ (пМ), MDA–MB–231		Коэффициент селективности
	только ADC	в присутствии неконъюгированного антитела	
ADC1	42	4571	109
ADC2	46	9377	204
Прим. 3	19	5602	295
Прим. 6	22	7417	337
Прим. 16	39	13908	357
Прим. 19	29	18243	629
Прим. 23	37	9022	243
Прим. 26	27	33689	1248
Прим. 29	67	> 100000	> 1493
Прим. 32	25	7953	318
Прим. 35	25	11272	451
Прим. 41	34	5043	148

Было обнаружено, что конъюгаты формулы (V) на основе криптофицина, а также ADC1 и ADC2, ингибируют пролиферацию клеточной линии MDA–MB–231 с IC₅₀ в диапазоне от 19 пМ до 67 пМ и соотношением селективности только ADC и ADC+неконъюгированное антитело от 109 до > 1493.

Определение MTD конъюгатов формулы (V) после однократного внутривенного введения у SCID–мышей

MTD определяли как максимальную дозу, которая не вызывает потерю 15% веса тела в течение 3 дней подряд для отдельной мыши или потерю 20% веса тела в течение 1 дня или смерти. Ее оценивали после однократной внутривенной (i.v.) болюсной инъекции 3 самкам SCID–мышей и в течение периода, составляющего 28 дней после обработки.

Таблица V	MTD (мг/кг)
ADC1	20
ADC2	30
Прим. 3	30
Прим. 6	> 40
Прим. 16	н. о.

Прим. 19	н. о.
Прим. 23	н. о.
Прим. 26	30
Прим. 29	40
Прим. 32	н. о.
Прим. 35	н. о.
Прим. 41	30

Протестированные конъюгаты формулы (V) на основе криптофина демонстрировали MTD у SCID-мышей, находящуюся в диапазоне от 30 мг/кг до ≥ 40 мг/кг.

Оценка противоопухолевой активности *in vivo* конъюгатов формулы (V) по отношению к MDA-MB-231 у SCID-мышей после однократного внутривенного введения

Противоопухолевую активность *in vivo* оценивали при 3 уровнях доз по отношению к поддающимся измерению ксенотрансплантатам MDA-MB-231 молочной железы, имплантированным подкожно самкам SCID-мышей. Контрольные группы оставляли необработанными. Конъюгаты вводили посредством однократной внутривенной болюсной инъекции, день обработки обозначали на каждом графике стрелкой (▼).

Для оценки противоопухолевой активности конъюгатов животных взвешивали дважды в неделю и опухоли измеряли штангенциркулем дважды в неделю. Масса тела животных включала массу опухолей. Объем опухоли рассчитывали с применением формулы: масса (мм³) = [длина (мм) × ширина (мм)²]/2. Первичными конечными точками эффективности были $\Delta T/\Delta C$, средний процент регрессии, частичная и полная регрессии (PR и CR). Изменения объема опухоли для каждой группы обработки (T) и контрольной группы (C) рассчитывали для каждой опухоли путем вычитания объема опухоли в день первой обработки (день определения стадии) из объема опухоли в указанный день наблюдения. Среднее значение ΔT рассчитывали для группы обработки, а среднее значение ΔC рассчитывали для контрольной группы. Затем рассчитывали соотношение $\Delta T/\Delta C$ и выражали как процентную долю: $\Delta T/\Delta C = (\text{дельта T}/\text{дельта C}) \times 100$.

Процентную долю регрессии опухоли определяли как % снижения объема опухоли в группе обработки в обозначенный день наблюдения (t) по сравнению с ее объемом в первый день первой обработки (t₀). В конкретный момент времени и для каждого животного рассчитывали % регрессии. Затем рассчитывали средний % регрессии для группы. % регрессии (в момент t) = $((\text{объем}_{t_0} - \text{объем}_t)/\text{объем}_{t_0}) \times 100$. Регрессии определяли как частичную (PR), если объем опухоли уменьшался до 50% от объема опухоли в начале обработки, и как полную (CR), когда объем опухоли не мог быть измерен (0 мм³). Выживших без опухоли (TFS) определяли как животных с неопределяемыми опухолями в конце исследования (>100 дней после последней

обработки).

Оценка противоопухолевой активности *in vivo* прим. 6 по отношению к MDA–MB–231 у SCID–мышей после однократного внутривенного введения

Таблица VI	Доза (мг/кг)	Среднее значение $\Delta T/\Delta C$ в % (D36)	Средний % регрессии	Регрессии		
				PR	CR	TFS
Контроль	–	–	–	–	–	–
ADC2	2,5	8	–	1	1	1
Прим. 6	5	< 0	100%	5	4	–
	2,5	< 0	4%	2	1	–
	1,25	33	–	–	–	–

Оценка противоопухолевой активности *in vivo* прим. 16, прим. 19, прим. 23 и прим. 32 по отношению к MDA–MB–231 у SCID–мышей после однократного внутривенного введения в дозе 2,5 мг/кг

Таблица VII	Доза (мг/кг)	Среднее значение $\Delta T/\Delta C$ в % (D59)	Средний % регрессии	Регрессии		
				PR	CR	TFS
Контроль	–	–	–	–	–	–
ADC2	2,5	< 0	14%	–	–	–
Прим. 16	2,5	< 0	92%	6	3	–
Прим. 19	2,5	< 0	100%	6	5	2
Прим. 23	2,5	< 0	100%	6	6	1
Прим. 32	2,5	< 0	100%	6	6	2

Оценка противоопухолевой активности *in vivo* прим. 16, прим. 19, прим. 23 и прим. 32 по отношению к MDA–MB–231 у SCID–мышей после однократного внутривенного введения в дозе 1,25 мг/кг

Таблица VIII	Доза (мг/кг)	Среднее значение $\Delta T/\Delta C$ в % (D50)	Средний % регрессии	Регрессии		
				PR	CR	TFS
Контроль	–	–	–	–	–	–
ADC2	1,25	14	–	–	–	–
Прим. 16	1,25	7	–	–	–	–
Прим. 19	1,25	1	–	1	1	–
Прим. 23	1,25	0	–	1	–	–
Прим. 32	1,25	9	–	2	1	–

Оценка противоопухолевой активности *in vivo* прим. 26 по отношению к MDA-MB-231 у SCID-мышей после однократного внутривенного введения

Таблица IX	Доза (мг/кг)	Среднее значение $\Delta T/\Delta C$ в % (D36)	Средний % регрессии	Регрессии		
				PR	CR	TFS
Контроль	–	–	–	–	–	–
ADC2	2,5	8	–	1	–	1
Прим. 26	5	< 0	100%	6	6	2
	2,5	< 0	100%	6	4	1
	1,25	10	–	1	–	–

Оценка противоопухолевой активности *in vivo* прим. 29 по отношению к MDA-MB-231 у SCID-мышей после однократного внутривенного введения

Таблица X	Доза (мг/кг)	Среднее значение $\Delta T/\Delta C$ в % (D27)	Средний % регрессии	Регрессии		
				PR	CR	TFS
Контроль	–	–	–	–	–	–
Прим. 29	4	< 0	100%	6	6	6
	2	< 0	100%	6	6	4
	1	0	–	–	–	–

Оценка противоопухолевой активности *in vivo* прим. 35 по отношению к MDA-MB-231 у SCID-мышей после однократного внутривенного введения

Таблица XI	Доза (мг/кг)	Среднее значение $\Delta T/\Delta C$ в % (D27)	Средний % регрессии	Регрессии		
				PR	CR	TFS
Контроль	–	–	–	–	–	–
Прим. 35	4	< 0	100%	6	6	4
	2	< 0	100%	6	4	1
	1	3	–	–	–	–

Оценка противоопухолевой активности *in vivo* прим. 41 по отношению к MDA-MB-231 у SCID-мышей после однократного внутривенного введения

Таблица XII	Доза (мг/кг)	Среднее значение $\Delta T/\Delta C$ в % (D49)	Средний % регрессии	Регрессии		
				PR	CR	TFS
Контроль	–	–	–	–	–	–

Прим. 26	4	< 0	100%	6	6	6
	2	< 0	100%	6	6	4
	1	< 0	51%	3	2	1
Прим. 41	4	< 0	100%	6	4	2
	2	< 0 (D46)	25%	2	–	–
	1	20	–	–	–	–

Все исследуемые ADC криптофицина по настоящему изобретению, а также ADC2 проявляли противоопухолевую активность в дозах, находящихся в диапазоне от 1 мг/кг до 5 мг/кг.

Следовательно, является очевидным, что соединения (V) по настоящему изобретению обладают противораковой активностью.

Соответственно, в других своих аспектах настоящее изобретение также относится к применению конъюгатов формулы (V) на основе криптофицина в качестве противораковых средств.

Соответственно, в других своих аспектах настоящее изобретение также относится к применению конъюгатов формулы (V) на основе криптофицина для получения лекарственного препарата для лечения рака, например, рака молочной железы.

Согласно другим своим аспектам в настоящем изобретении также предусмотрены конъюгаты формулы (V) в соответствии с настоящим изобретением для применения в лечении рака.

Согласно другим своим аспектам в настоящем изобретении также предусмотрены лекарственные препараты, которые содержат по меньшей мере один конъюгат формулы (V).

Эти лекарственные препараты используются терапевтически, особенно в лечении рака, например, рака молочной железы.

Согласно другим своим аспектам настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим в качестве активного вещества конъюгат формулы (V) в соответствии с настоящим изобретением. Эти фармацевтические композиции содержат эффективную дозу по меньшей мере одного конъюгата формулы (V) в соответствии с настоящим изобретением и также по меньшей мере одно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

Таким образом, в соответствии с другим аспектом настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере один конъюгат формулы (V) в соответствии с настоящим изобретением, а также по меньшей мере одно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

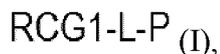
Указанные вспомогательные вещества выбирают в соответствии с фармацевтической формой и требуемым способом введения из обычных вспомогательных веществ, которые известны специалисту в данной области.

Согласно другим своим аспектам в настоящем изобретении также предусмотрен

способ лечения указанных выше патологий, таких как рак, например, рак молочной железы, который включает введение пациенту эффективной дозы конъюгата формулы (V) в соответствии с настоящим изобретением.

ИЗМЕНЕННАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединения формулы (I):

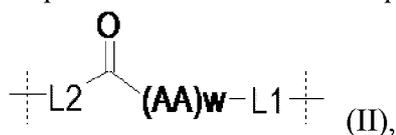


где

RCG1 представляет собой реакционноспособную химическую группу, которая является реакционноспособной в отношении химической группы, присутствующей на полипептиде, таком как антитело;

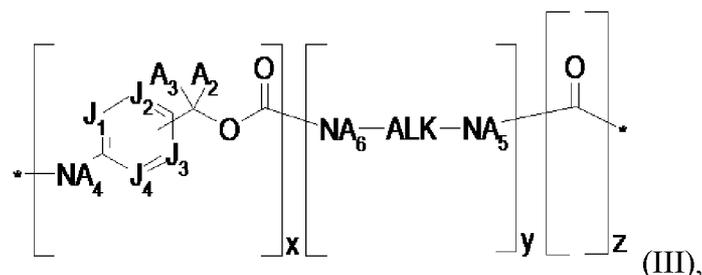
P представляет собой атом водорода, –ОН или активированный O;

L представляет собой линкер формулы (II):



где

L1 представлен формулой (III):



где

если **P** представляет собой атом водорода, то $x=0$ или 1, и $y=1$, и $z=0$;

если **P** представляет собой –ОН, то $x=y=z=0$;

если **P** представляет собой активированный O, то $x=1$, и $y=z=0$, или $x=y=z=1$;

J₁, **J₂**, **J₃** и **J₄** выбраны независимо друг от друга из CA_1 и **N**;

ALK представляет собой ($\text{C}_1\text{--C}_{12}$)алкиленовую группу, например ($\text{C}_1\text{--C}_6$)алкилен, например, в форме $\text{---}(\text{CH}_2)_n\text{---}$, при этом n представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 12, и, например, находящееся в диапазоне от 1 до 6;

A₁, **A₂**, **A₃**, **A₄**, **A₅** и **A₆** представляют собой независимо друг от друга атом водорода или ($\text{C}_1\text{--C}_6$)алкильную группу, например, атом водорода или метильную группу.

(AA)_w представляет собой последовательность из w аминокислот, соединенных друг с другом через пептидную связь, где аминокислоты **(AA)_w** являются незамещенными аминокислотами **AA_{ns}**;

w представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 12, например, от 1 до 6, такое как 2 или 3;

каждую **(AA_{ns})** выбирают из природной или не природной аминокислоты, независимо выбранной из группы, состоящей из аланина, γ -аминомасляной кислоты, 2-амино-2-циклогексилуксусной кислоты, 2-амино-2-фенилуксусной кислоты, аргинина,

аспарагина, аспарагиновой кислоты, цитруллина, цистеина α,α -диметил- γ -аминомасляной кислоты, 3,3-диметил- γ -аминомасляной кислоты, глутамина, глутаминовой кислоты, глицина, гомоцистеина, селеноцистеина, гомоселеноцистеина, гистидина, изолейцина, лейцина, лизина, ϵ -ацетиллизина, метионина, орнитина, фенилаланина, пролина, серина, треонина, триптофана, тирозина и валина;

L2 представляет собой $\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- NA_7 , $\text{NA}_7-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_i(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, NA_7 -арильную группу, NA_7 -гетероарильную группу, (C_1-C_6) алкил- $\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- NA_7 , $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_7-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_i(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_7$ -арильную группу, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_7$ -гетероарильную группу, $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, $\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- NA_7 , $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу $\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- NA_7 , $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $\text{NA}_7\text{C}(=\text{O})-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $\text{C}(=\text{O})\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$, $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу, группу $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i$ или $\text{C}(=\text{O})-\text{NA}_8-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкил- $(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_i-\text{NA}_7-(\text{C}_1-\text{C}_6)$ алкильную группу;

A₇ представляет собой прямую или разветвленную, насыщенную или ненасыщенную, необязательно замещенную $\text{C}_1-\text{C}_{160}$ углеводородную цепь, где необязательно по меньшей мере одно метиленовое звено независимо заменено $-\text{NHC}(=\text{O})-$, $-\text{N}(\text{алкил})\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{OC}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$, $-\text{CH}(\text{OH})-$, $-\text{CH}(\text{SO}_3\text{H})-$, $-\text{O}-$, $-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{NHS}(=\text{O})_2-$, $-\text{N}(\text{алкил})\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}-$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{алкил})-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})\text{O}-$, $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$, $-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-\text{O}-$ или гетероциклоалкильной группой, необязательно замещенной по меньшей мере одним заместителем, идентичным или отличающимся, выбранным из $-\text{OH}$, $-\text{Oалкила}$, $-\text{алкила}$, атома галогена, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHалкила}$ и $-\text{N}(\text{алкил})_2$,

при этом следует понимать, что каждый A_7 , содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($SO_3^- +Na$);

A_8 представляет собой атом водорода или (C_1-C_6) алкильную группу, например, атом водорода или метильную группу;

i представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 50, в таком диапазоне как от 1 до 35.

2. Соединения формулы (I) по п. 1, где указанная последовательность $(AA)_w$ из незамещенных аминокислот AA_{ns} выбрана из следующего перечня: Gly-Gly, Phe-Lys, Val-Lys, Val-AcLys, Val-Cit, Phe-Phe-Lys, D-Phe-Phe-Lys, Gly-Phe-Lys, Ala-Lys, Val-Ala, Phe-Cit, Phe-Gly, Leu-Cit, Ile-Cit, Trp-Cit, Phe-Ala, Ala-Phe, Gly-Gly-Gly, Gly-Ala-Phe, Gly-Phe-Gly, Gly-Val-Cit, Gly-Phe-Leu-Cit, Gly-Phe-Leu-Gly, and Ala-Leu-Ala-Leu, например, Val-Ala и Val-Cit, например, Val-Ala.

3. Соединения формулы (I) по п. 1, где $(AA)_w$ содержит w незамещенных аминокислот AA_{ns} , и $L2$ представляет собой

(C_1-C_6) алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, например группу $-(CH_2)_2-NA_7-(CH_2)_2-$, в которой A_7 представляет собой

– группу $-C(=O)-[(CH_2)_2-O]_a-CH_3$, где "a" представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 50, в таком диапазоне как от 1 до 24, например 4, 7 и 24, например, A_7 представляет собой группу $-C(=O)-[(CH_2)_2-O]_4-CH_3$, группу $-C(=O)-[(CH_2)_2-O]_7-CH_3$ или группу $-C(=O)-[(CH_2)_2-O]_{24}-CH_3$;

– группу $-C(=O)-(CH_2)_2-C(=O)-NH-(CH_2)_2-SO_3H$ или

– группу $-C(=O)-(CH_2)_2-C(=O)-NH-[(CH_2)_2-O]_a-(CH_2)_2-C(=O)-NH-(CH_2)_2-SO_3H$, где "a" представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 50, в таком диапазоне как от 1 до 24, например 4, например, A_7 представляет собой группу $-C(=O)-(CH_2)_2-C(=O)-NH-[(CH_2)_2-O]_4-(CH_2)_2-C(=O)-NH-(CH_2)_2-SO_3H$;

при этом следует понимать, что каждый A_7 , содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($SO_3^- +Na$).

4. Соединения формулы (I) по п. 1, где A_7 представляет собой группу $-C(=O)-[(CH_2)_2-O]_4-CH_3$; группу $-C(=O)-[(CH_2)_2-O]_7-CH_3$; группу $-C(=O)-[(CH_2)_2-O]_{24}-CH_3$; группу $-C(=O)-(CH_2)_2-C(=O)-NH-(CH_2)_2-SO_3H$; группу $-C(=O)-(CH_2)_2-C(=O)-NH-[(CH_2)_2-O]_4-(CH_2)_2-C(=O)-NH-(CH_2)_2-SO_3H$;

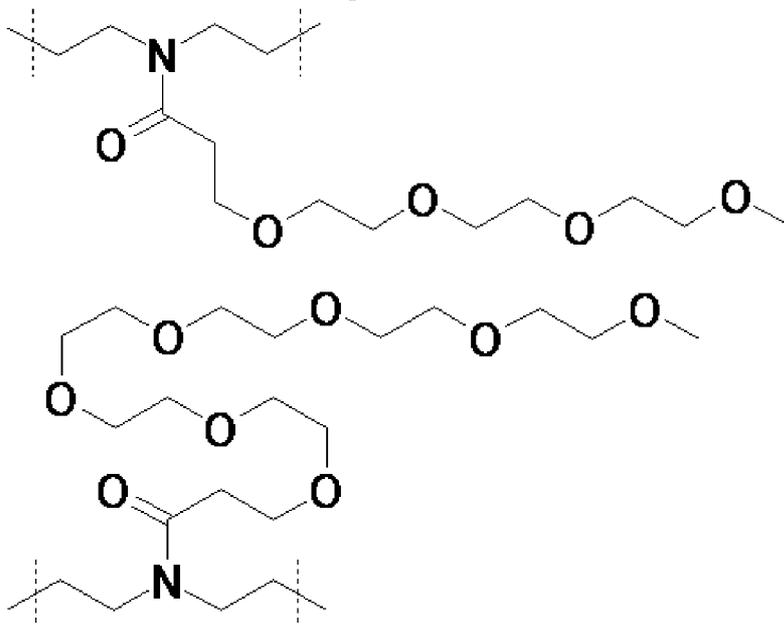
при этом следует понимать, что каждый A_7 , содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($SO_3^- +Na$).

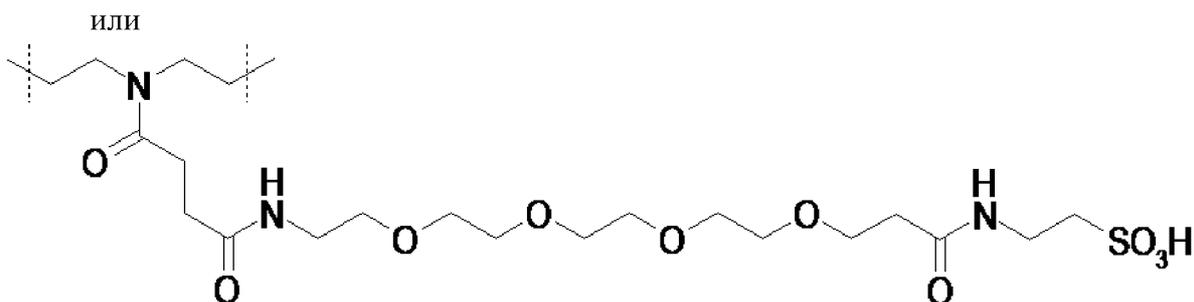
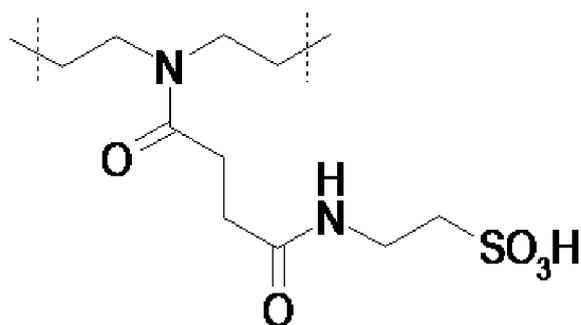
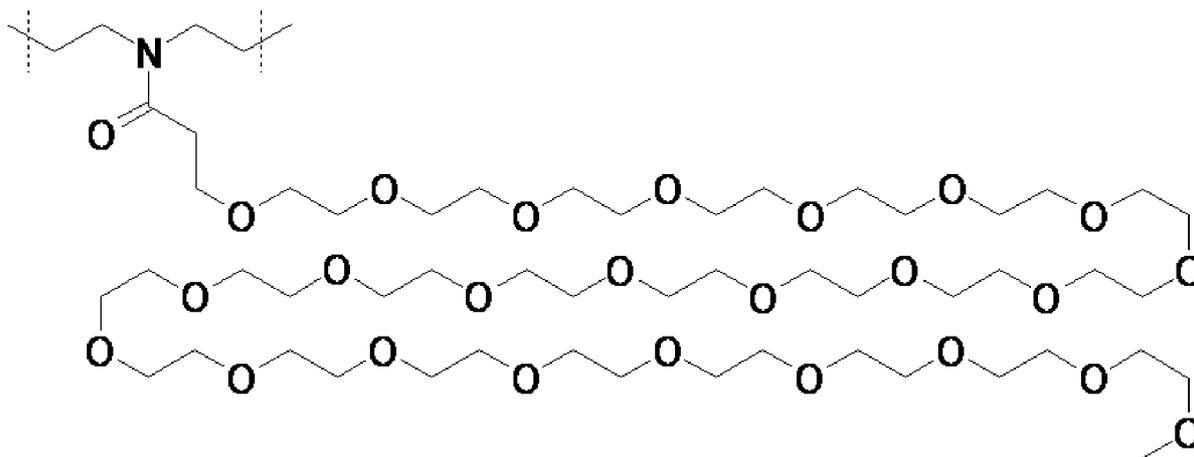
5. Соединения формулы (I) по п. 1, где $(AA)_w$ содержит w незамещенных аминокислот AA_{ns} , и $L2$ представляет собой

$NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- NA_7 , $NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, NA_7 -арильную группу, NA_7 -гетероарильную группу, $(C_1-$

C_6 алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу (C_1-C_6) алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, (C_1-C_6) алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- NA_7 , $C(=O)-NA_7-(CH_2CH_2O)_i(C_1-C_6)$ алкильную группу, $C(=O)-NA_7$ арильную группу, $C(=O)-NA_7$ -гетероарильную группу, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- NA_7 , $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- NA_7 , $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7C(=O)-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $C(=O)NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$, $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу, группу $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $NA_7-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i$ или $C(=O)-NA_8-(C_1-C_6)$ алкил- $(OCH_2CH_2)_i-NA_7-(C_1-C_6)$ алкильную группу.

6. Соединения формулы (I) по п. 1, где **(AA)_w** содержит w незамещенных аминокислот **AA_{ns}**, и **L2** представляет собой

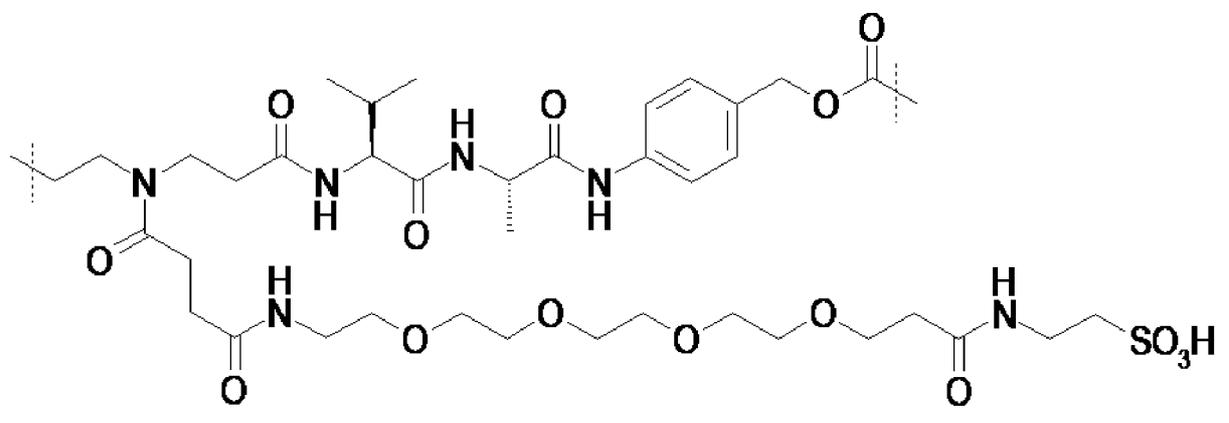
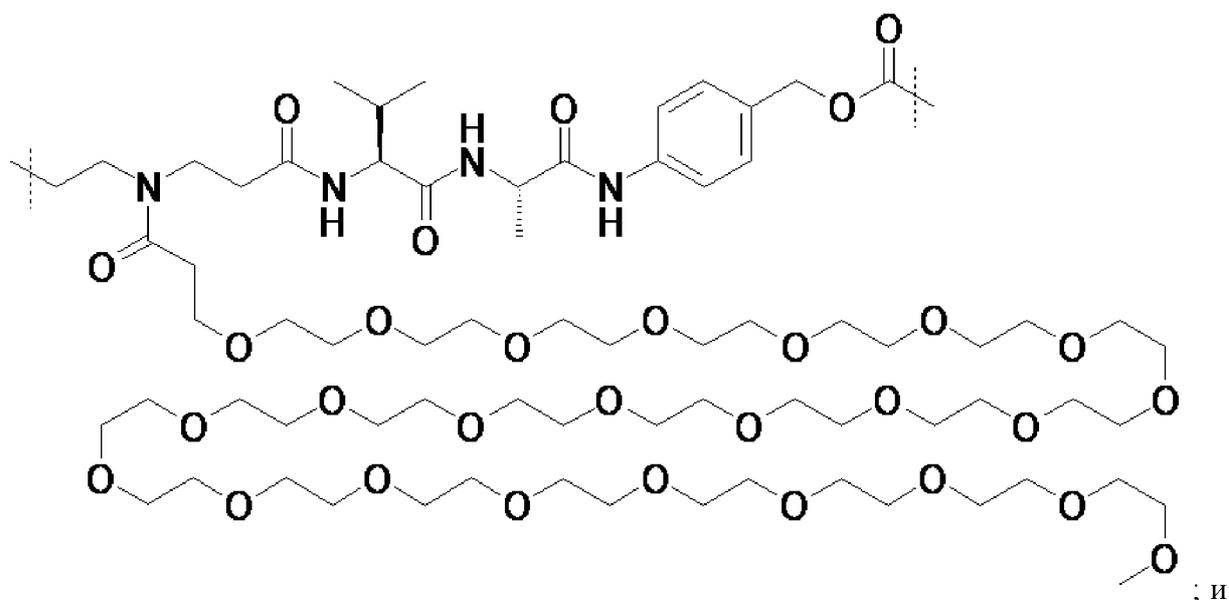




7. Соединения формулы (I) по п. 1, где $(AA)_w$ содержит w незамещенных аминокислот AA_{ns} , и $L2$ содержит A_7 , представляющую собой

группу $C(=O)-[(CH_2)_2-O]_4-CH_3$; группу $C(=O)-[(CH_2)_2-O]_7-CH_3$; группу $C(=O)-[(CH_2)_2-O]_{24}-CH_3$; группу $C(=O)-(CH_2)_2-C(=O)-NH-(CH_2)_2-SO_3H$; группу $C(=O)-(CH_2)_2-C(=O)-NH-[(CH_2)_2-O]_4-(CH_2)_2-C(=O)-NH-(CH_2)_2-SO_3H$; при этом следует понимать, что каждый A_7 , содержащий функциональную группу SO_3H , может находиться в формах солей, таких как соли щелочных металлов, например натриевые соли ($SO_3^- +Na$).

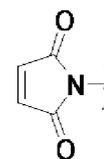
8. Соединения формулы (I) по любому из пп. 1–7 где указанный линкер L выбран из следующего перечня:

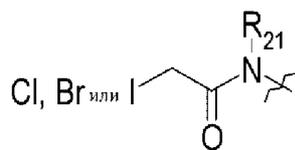


9. Соединения формулы (I) по любому из пп. 1–8, где **RCG1** выбран из следующего перечня:

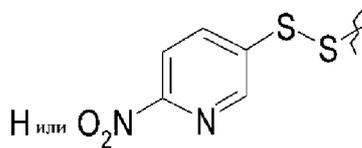
(i) реакционноспособная группа $R_aZ_a-C(=O)$, в которой Z_a представляет собой одинарную связь, $-O-$ или $-NH-$, например $-O-$, и R_a представляет собой атом водорода, (C_1-C_6) алкильную группу, (C_3-C_7) циклоалкильную группу, алкенильную группу, арильную группу, гетероарильную группу или (C_3-C_7) гетероциклоалкильную группу, при этом арильная группа, гетероарильная группа и/или (C_3-C_7) гетероциклоалкильная группа необязательно замещены 1–5 атомами/группами, выбранными из атома галогена, например атома фтора, алкильной группы, алкоксигруппы, гидроксильной группы, оксогруппы, нитрогруппы и цианогруппы;

(ii) одна из следующих реакционноспособных групп: мелеимидогруппа

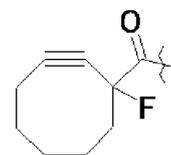
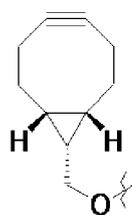
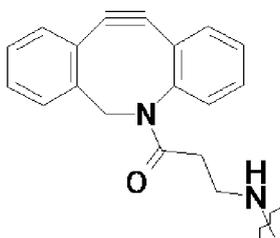




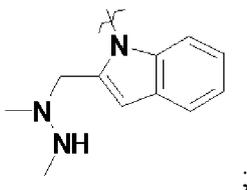
галогенацетида группа, при этом R_{21} представляет собой атом водорода или (C_1-C_6) алкильную группу, например Me; Cl-; N_3 -; HO-; HS-;



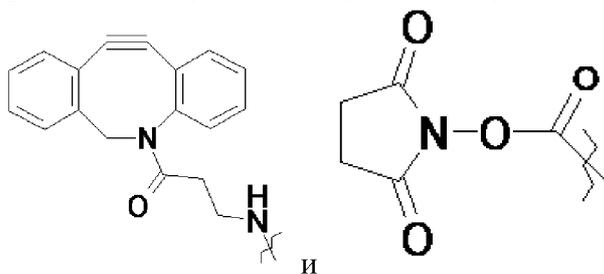
активированный дисульфид, такой как ; H_2N -; группа $HC\equiv C$ - или активированная группа $C\equiv C$, например, циклооктиновый фрагмент, например DBCO-



амин, или BCN, или MFCO ; O- алкилгидроксиламин или субстрат реакции Пикте-Шпенглера, такой как



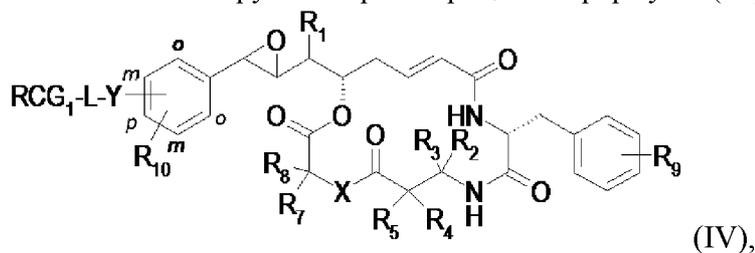
например, RCG1 выбран из следующего перечня:



COOH,

и

10 Полезные нагрузки с криптофицином формулы (IV):



(IV),

где

R_1 представляет собой (C_1-C_6) алкильную группу;

R_2 и R_3 представляют собой независимо друг от друга атом водорода или (C_1-C_6) алкильную группу;

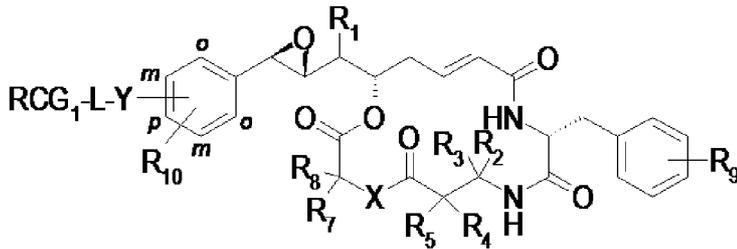
R_{11} и R_{12} представляют собой независимо друг от друга атом водорода или (C_1 – C_6)алкил, например, атом водорода или метильную группу;

n представляет собой целое число, находящееся в диапазоне от 1 до 6;

L определен в формуле (I), как указано в п. 1, и представляет собой линкер формулы (II), как определено в любом из пп. 1–9;

RCG_1 представляет собой реакционноспособную химическую группу, присутствующую на конце линкера L , при этом RCG_1 является реакционноспособным в отношении химической группы, присутствующей на полипептиде, таком как антитело.

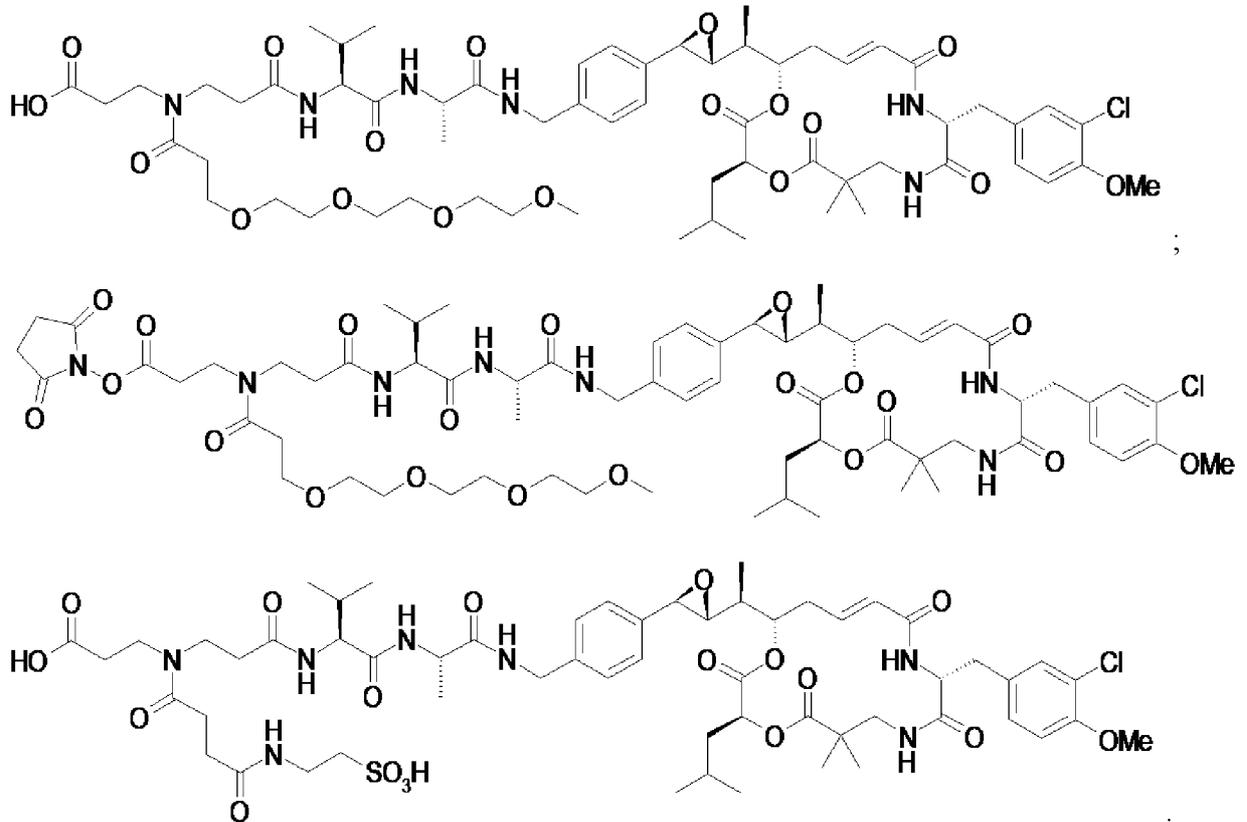
11. Полезные нагрузки с криптофицином формулы (IV) по п. 10, характеризующиеся следующей структурой:

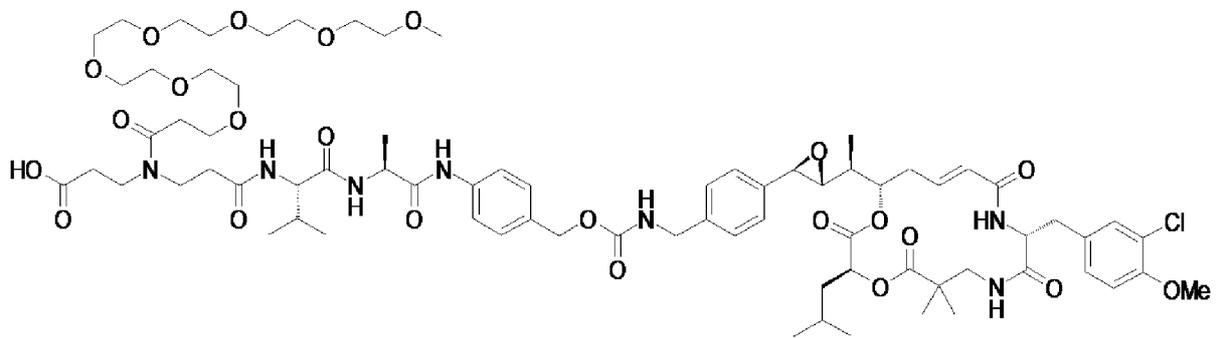
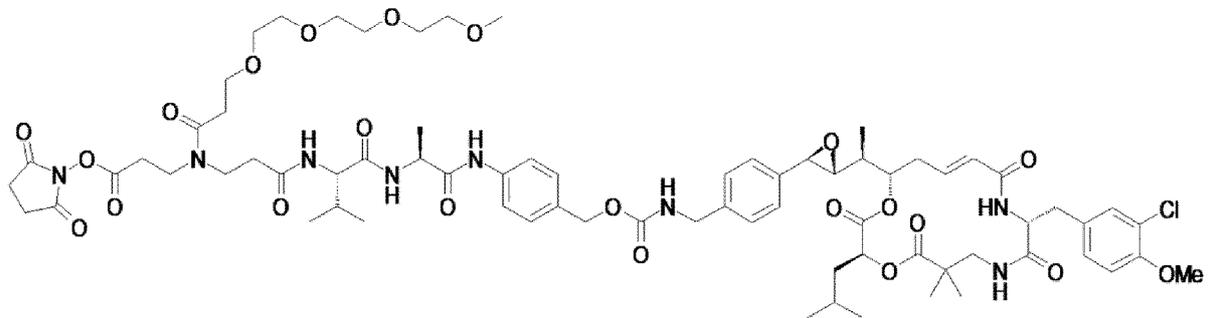
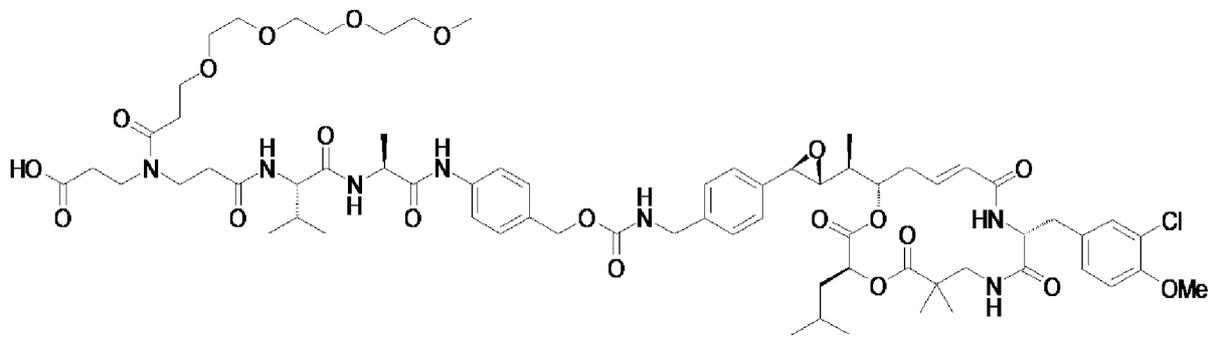
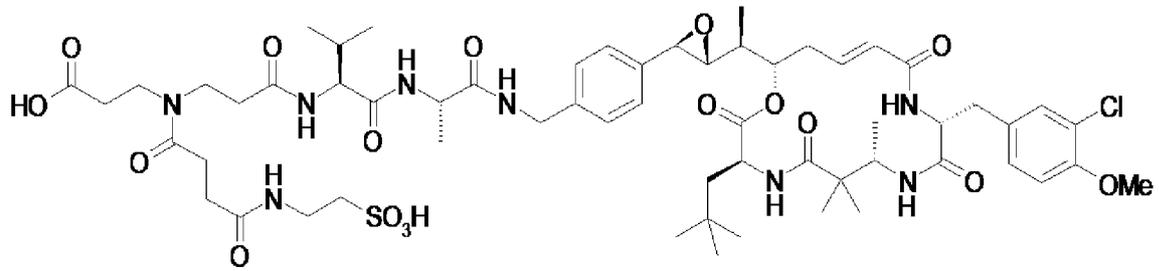
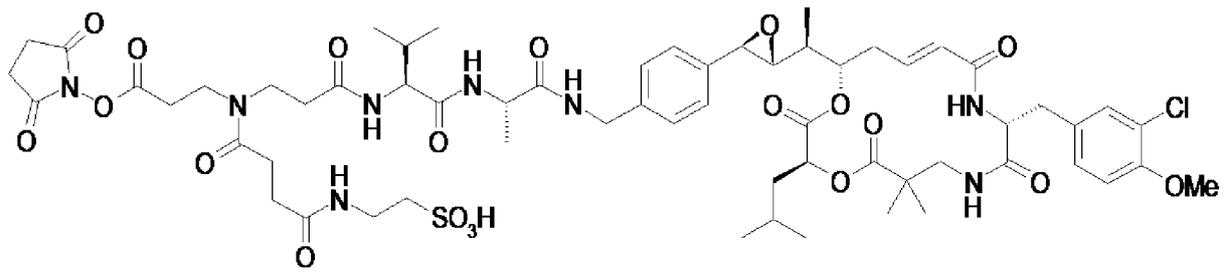


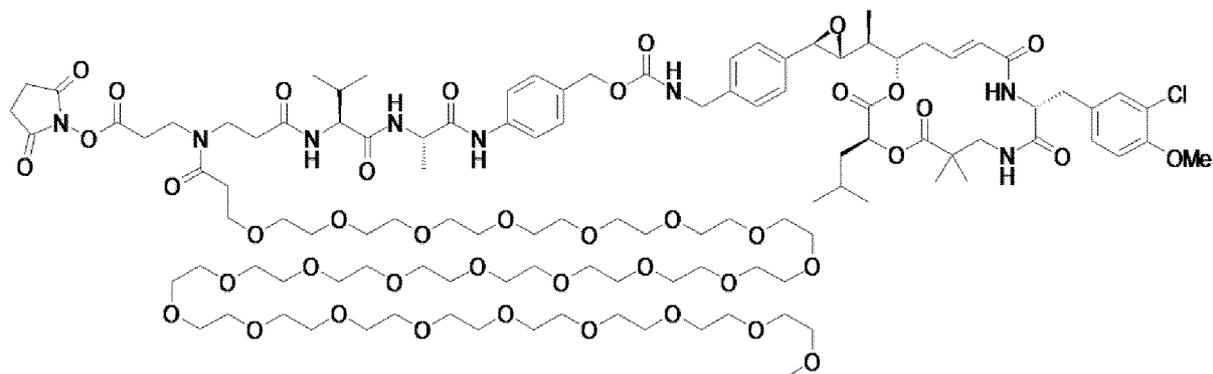
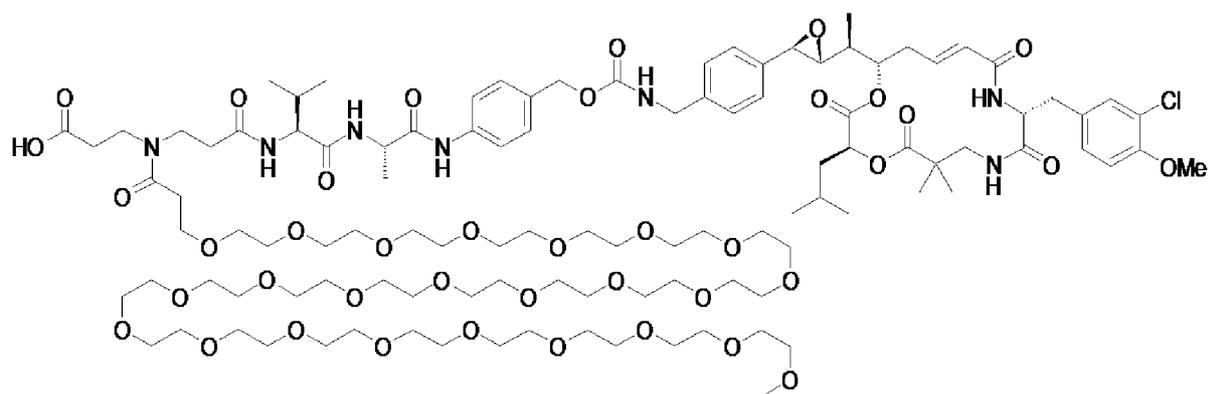
где

$R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11}, R_{12}, n, RCG_1, X, Y$ и L определены в формуле (IV), как указано в п. 10.

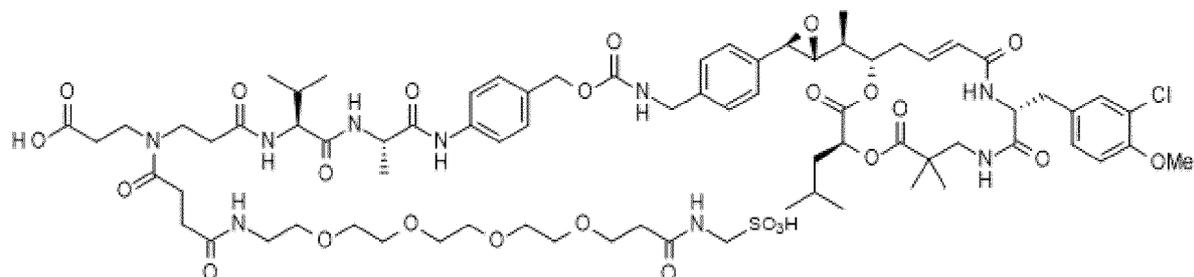
12. Полезные нагрузки с криптофицином формулы (IV) по п. 10, которые выбраны из следующего перечня:



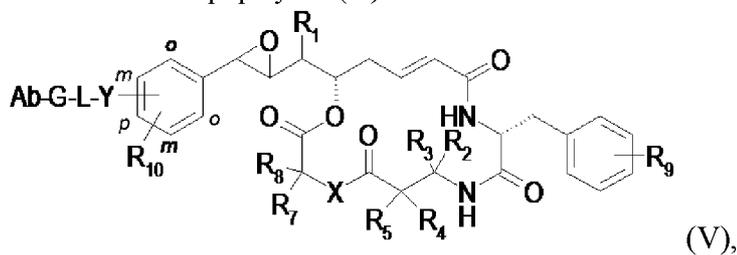




и



13. Конъюгат формулы (V):



где

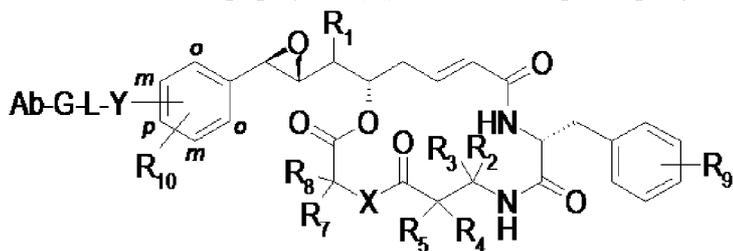
$R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9, R_{10}, R_{11}, R_{12}, n, X, Y$ и L определены в формуле (IV), как указано в п. 10 или п. 11;

G представляет собой продукт реакции между $RCG1$, как определено в п. 9, реакционноспособной химической группой, присутствующей на конце линкера L формулы (II), как определено в любом пункте из пп. 1–9, и $RCG2$, ортогональной реакционноспособной химической группой, присутствующей на полипептиде, таком как

антитело (Ab); и

Ab представляет собой антитело.

14. Конъюгаты формулы (V) по п. 13, характеризующиеся следующей структурой:



где

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₉, R₁₀, R₁₁, R₁₂, n, X, Y, L, G, RCG1, RCG2 и **Ab** являются такими, как в формуле (V), указанной в п. 13.

15. Конъюгаты формулы (V) по п. 13 или п. 14, где **RCG2** выбран из

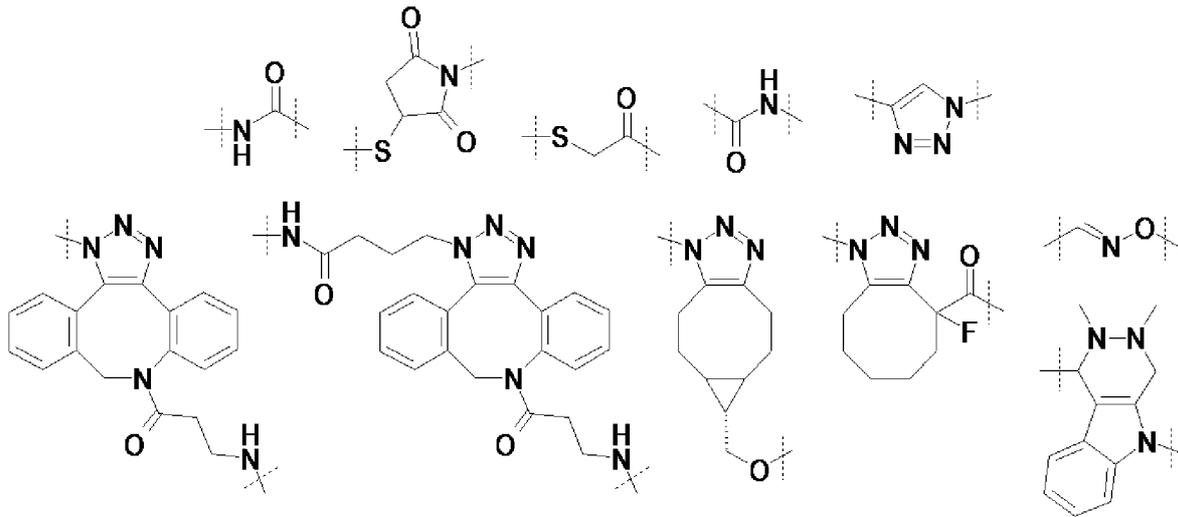
- (i) ε-аминогрупп лизинов, находящихся на боковых цепях лизиновых остатков, которые присутствуют на поверхности антитела;
- (ii) α-аминогрупп N-концевых аминокислот тяжелых и легких цепей антитела;
- (iii) групп сахаридов шарнирной области;
- (iv) тиолов цистеинов, образованных посредством восстановления внутрицепочечных дисульфидных связей, или тиолов сконструированных цистеинов;
- (v) амидных групп, находящихся на боковых цепях некоторых глутаминовых остатков, которые присутствуют на поверхности антитела; и
- (vi) альдегидных групп, введенных с применением формилглицин-образующего фермента.

16. Конъюгаты формулы (V) по п. 13 или п. 14, где

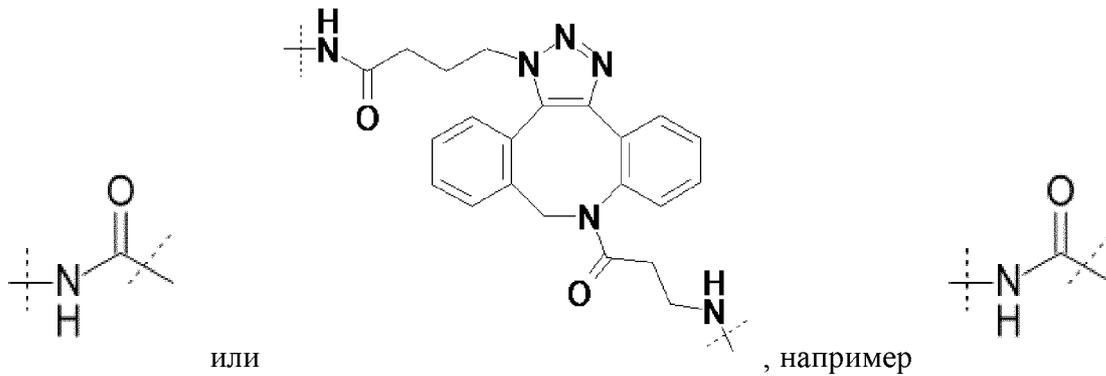
- если **RCG1** представляет собой сложный N-гидроксисукцинимидильный эфир, **RCG2** представляет собой группу NH₂;
- если **RCG1** представляет собой функциональную малеимидогруппу, функциональную галогенацетидамидогруппу, атом хлора или активированный дисульфид, **RCG2** представляет собой группу –SH;
- если **RCG1** представляет собой группу N₃, **RCG2** представляет собой группу C≡CH или активированную группу C≡C, например, циклооктиновый фрагмент;
- если **RCG1** представляет собой группу OH или NH₂, **RCG2** представляет собой функциональную группу карбоновой кислоты или функциональную амидную группу;
- если **RCG1** представляет собой группу SH, **RCG2** представляет собой функциональную малеимидогруппу, функциональную галогенацетидамидогруппу или функциональную группу, представляющую собой активированный дисульфид;
- если **RCG1** представляет собой группу C≡CH или активированную группу C≡C, **RCG2** представляет собой группу N₃;
- если **RCG1** представляет собой функциональную группу, представляющую собой O-алкилгидроксиламин, или субстрат реакции Пикте–Шпенглера, **RCG2** представляет

собой функциональную альдегидную или кетонную группу.

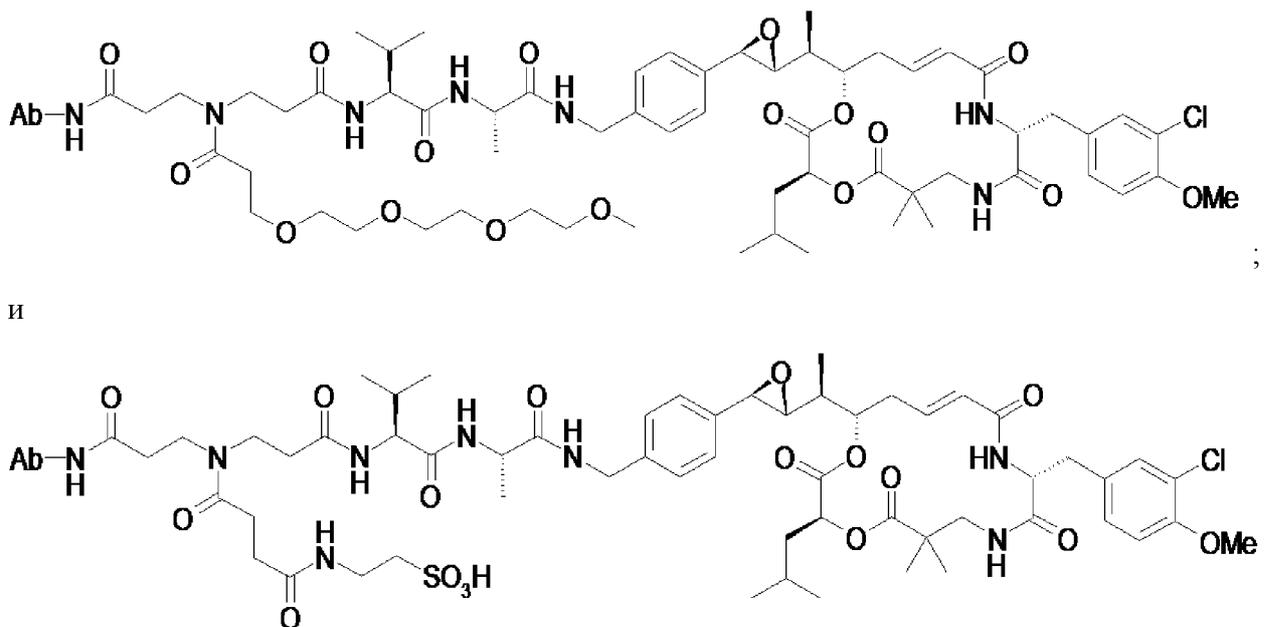
17. Конъюгаты формулы (V) по любому из пп. 13–16, где G выбран из



; например, G представляет собой следующие группы:



18. Конъюгаты формулы (V) по п. 13, которые выбраны из следующего перечня:



где Ab представляет собой антитело.

19. Способ получения конъюгата формулы (V), определенного в любом из пп. 13–18, включающий по меньшей мере стадии

(i) приведения в контакт и обеспечения проведения реакции:

– необязательно забуференного водного раствора антитела, необязательно модифицированного с помощью модифицирующего средства,

и

– раствора полезной нагрузки с криптофицином формулы (IV) по любому из пп. 10–12,

при этом химическая группа **RCG1** в полезной нагрузке с криптофицином формулы (IV) является реакционноспособной в отношении химической группы **RCG2**, присутствующей на полипептиде, таком как антитело, особенно в отношении аминокрупп, присутствующих на антителах, при этом указанные химические группы **RCG2** были введены, если необходимо, с помощью модифицирующего средства,

так, чтобы присоединить полезную нагрузку с криптофицином формулы (IV) к антителу посредством образования ковалентной связи;

(ii) и затем необязательно отделения конъюгата, образованного на стадии (i), от полезной нагрузки с криптофицином формулы (IV), и/или от непрореагировавшего антитела, и/или от любых агрегатов, которые могли образоваться.

20. Лекарственный препарат, где он содержит по меньшей мере один конъюгат формулы (V) по любому из пп. 13–18.

21. Фармацевтическая композиция, где она содержит по меньшей мере один конъюгат формулы (V) по любому из пп. 13–18, а также по меньшей мере одно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

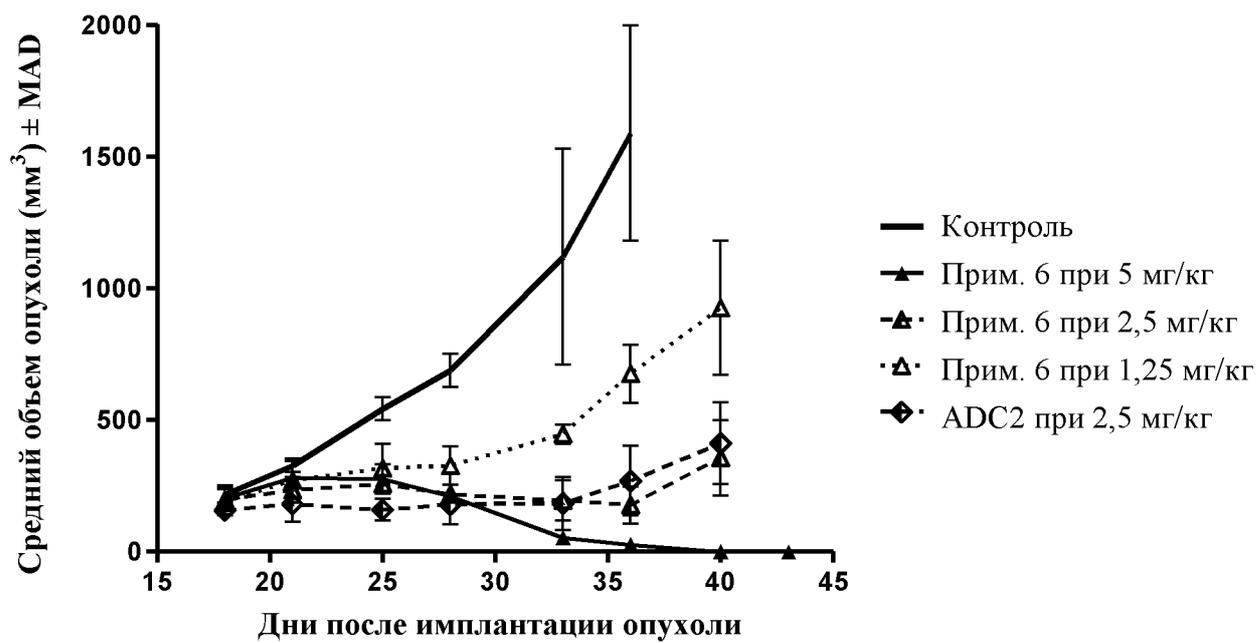
22. Применение конъюгатов формулы (V) по любому из пп. 13–18 в качестве противораковых средств.

23. Конъюгаты формулы (V) по любому из пп. 13–18 для применения в лечении рака.

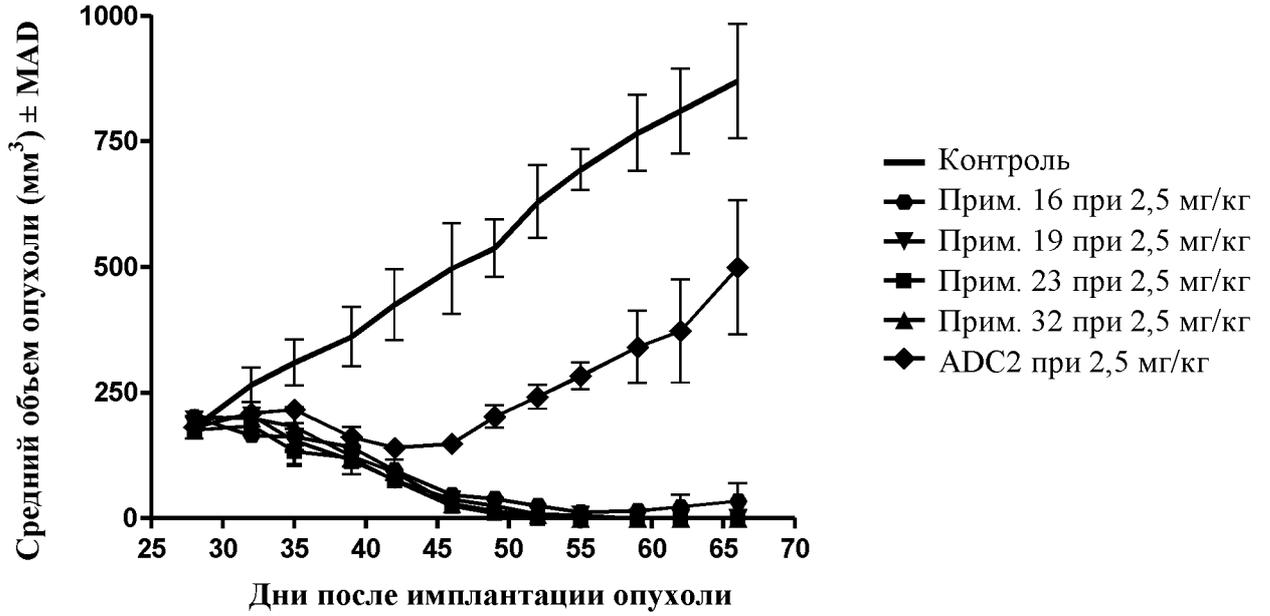
По доверенности

Фигуры

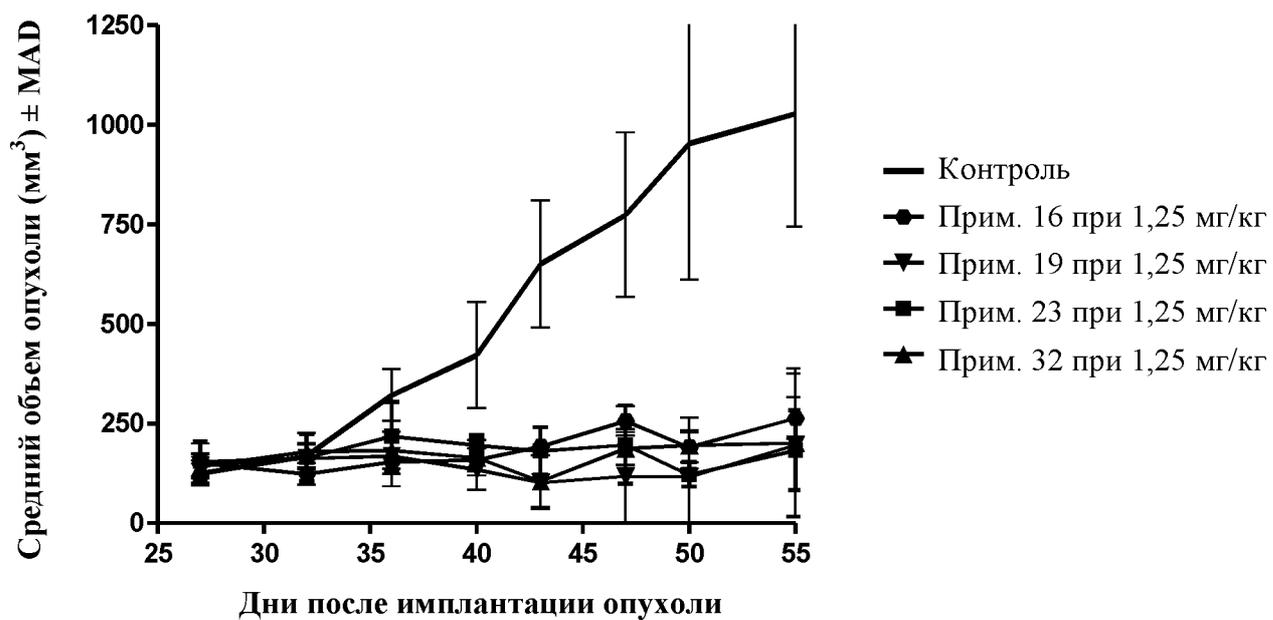
Фигура 1. Эффективность *in vivo* прим. 6 в отношении ксенотрансплантата MDA-MB-231 у SCID-мышей



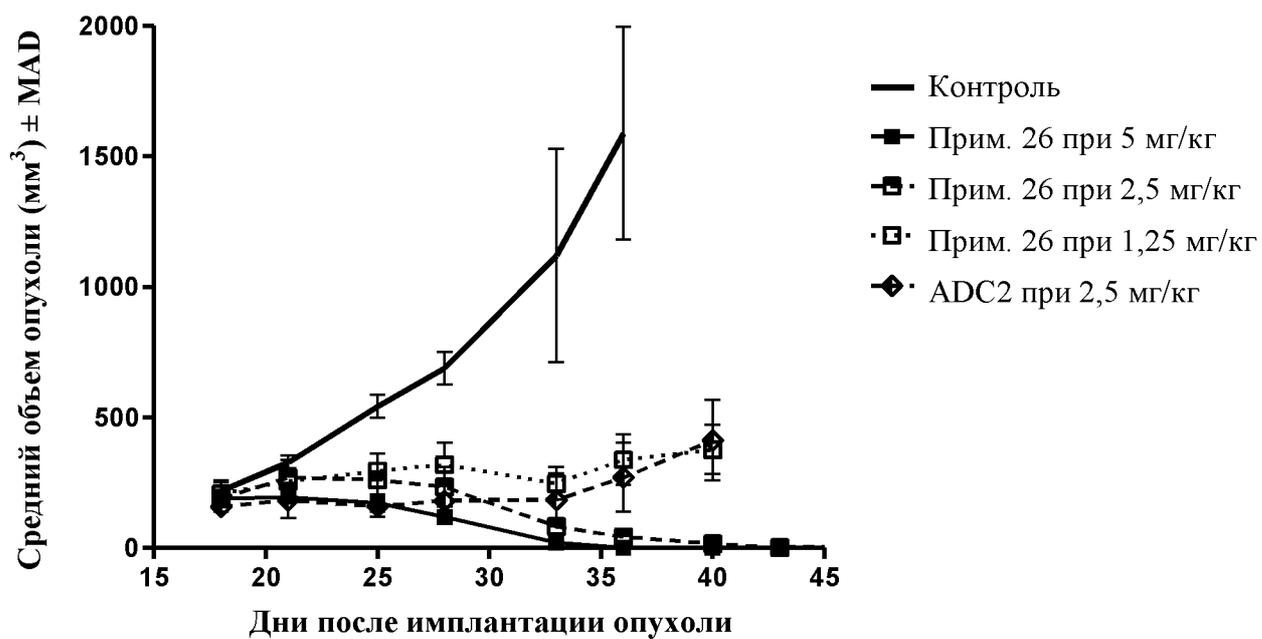
Фигура 2. Эффективность *in vivo* прим. 16, прим. 19, прим. 23 и прим. 32 в отношении ксенотрансплантата MDA-MB-231 у SCID-мышей при 2,5 мг/кг



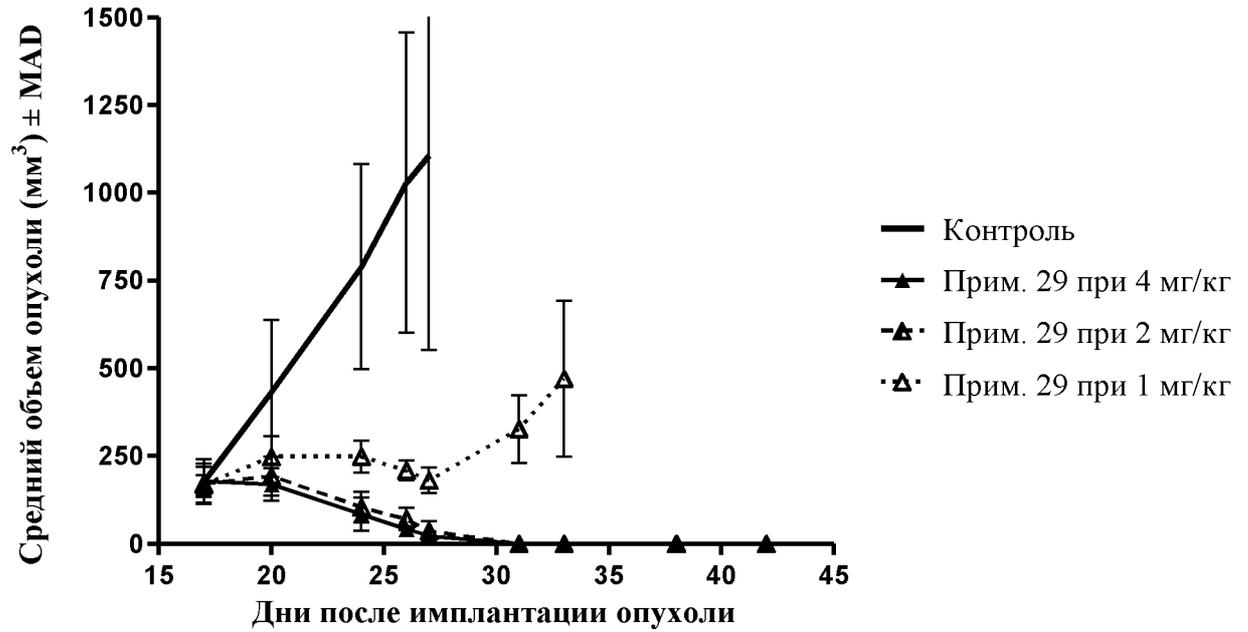
Фигура 3. Эффективность *in vivo* прим. 16, прим. 19, прим. 23 и прим. 32 в отношении ксенотрансплантата MDA-MB-231 у SCID-мышей при 1,25 мг/кг



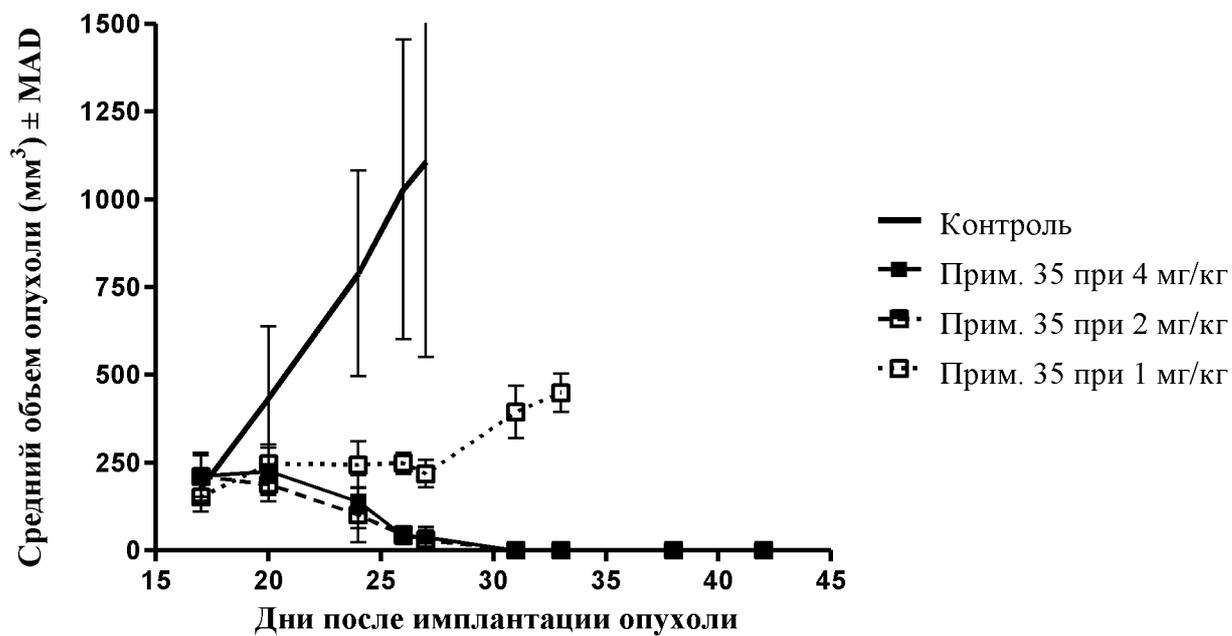
Фигура 4. Эффективность *in vivo* прим. 26 в отношении ксенотрансплантата MDA-MB-231 у SCID-мышей



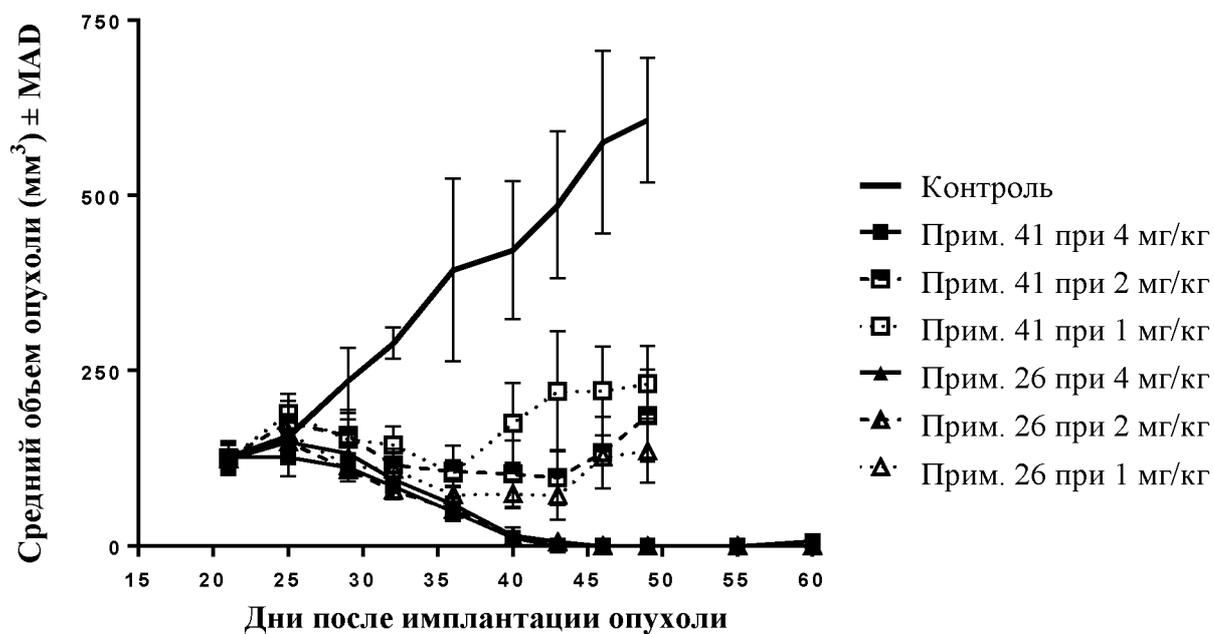
Фигура 5. Эффективность *in vivo* прим. 29 в отношении ксенотрансплантата MDA-MB-231 у SCID-мышей



Фигура 6. Эффективность *in vivo* прим. 35 в отношении ксенотрансплантата MDA-MB-231 у SCID-мышей



Фигура 7. Эффективность *in vivo* прим. 41 в отношении ксенотрансплантата MDA-MB-231 у SCID-мышей



ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ

(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

202390646**А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:**

A61K 47/65 (2017.01)
 A61K 47/68 (2017.01)
 C07K 11/00 (2006.01)
 A61P 35/00 (2006.01)

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

Просмотренная документация (система классификации и индексы МПК)
 A61K 47/65, 47/68, C07K 11/00, A61P 35/00

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)
 Espacenet, ЕАПАТИС, ЕРОQUE Net, Reaxys, Google

В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
A	WO 2011/001052 A1 (SANOFI AVANTIS) 06.01.2011, формула, примеры 21, 23	1-23
A	WO 2016/172273 A1 (STEM CENTRX INC) 27.10.2016, соединение 14, страница 201	1-9
A	DUBOWCHIK Gene M. et al. Cathepsin B-labile dipeptide linkers for lysosomal release of doxorubicin from internalizing immunoconjugates: model studies of enzymatic drug release and antigen-specific in vitro anticancer activity. Bioconjugate Chemistry, 2002, vol. 13, no. 4, pages 855 - 869, страница 866, соединения 67, 70	1-9

 последующие документы указаны в продолжении

* Особые категории ссылочных документов:

«А» - документ, определяющий общий уровень техники

«D» - документ, приведенный в евразийской заявке

«E» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее

«O» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.

"P" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета"

«Т» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения

«X» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности

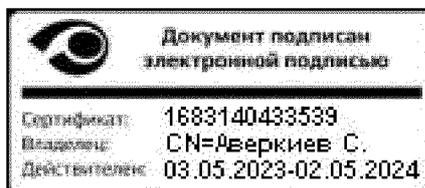
«Y» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории

«&» - документ, являющийся патентом-аналогом

«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: 21 сентября 2023 (21.09.2023)

Уполномоченное лицо:
 Начальник Управления экспертизы



С.Е. Аверкиев