

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202392197 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.11.30

(51) Int. Cl. C07J 41/00 (2006.01)
C07J 71/00 (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01)

(22) Дата подачи заявки
2017.11.07

(54) СТЕРОИДЫ И ИХ КОНЬЮГАТЫ С БЕЛКАМИ

(31) 62/419,365; 62/508,317

(32) 2016.11.08; 2017.05.18

(33) US

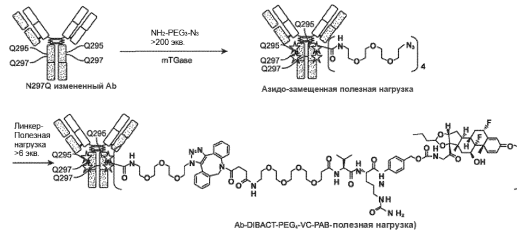
(62) 201900275; 2017.11.07

(71) Заявитель:
РЕГЕНЕРОН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Хан Эми, Олсон Вильям, Мерфи Дж.
Эндрю (US)

(74) Представитель:
Безрукова О.М. (RU)

(57) Заявляются белковые стероидные конъюгаты, которые полезны, например, для направленной доставки глюкокортикоидов (GCs) к клеткам.



202392197

A1

202392197 A1

СТЕРОИДЫ И ИХ КОНЬЮГАТЫ С БЕЛКАМИ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет и выгоду из предварительной заявки на патент США № 62/508,317, поданной 18 мая 2017 года, а также предварительной заявки на патент США № 62/419,365, поданной 8 ноября 2016 года, содержание каждой из которых полностью включено в настоящий документ для всех целей.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0002] В настоящем документе представлены новые стероиды, их белковые конъюгаты и способы лечения заболеваний, расстройств и состояний, включающие введение стероидов и конъюгатов.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

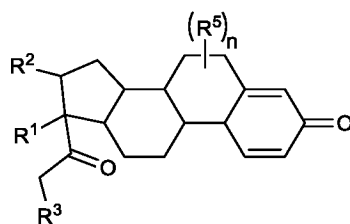
[0003] Конъюгаты антитело-лекарственное средство (конъюгаты АЛС) представляют собой антитела, которые ковалентно связаны с биологически активными низкомолекулярными лекарственными средствами, таким образом объединяя направленную специфичность антител с механизмом действия и эффективностью низкомолекулярных лекарственных средств. Терапевтическая полезность конъюгатов антитело-лекарственное средство была подтверждена в лечении рака и является основной постоянной целью исследования. ADCETRIS® (бентруксимаб ведотин) и KADCYLA® (адотрастузумаб эмтанзин) являются конъюгатами антитело-лекарственное средство, одобренными для лечения определенных типов рака, и в настоящее время находятся в клинической разработке по крайней мере сорок конъюгатов антитело-лекарственное средство.

[0004] Глюкокортикоиды (ГК) представляют собой низкомолекулярные стероиды, которые связываются с глюкокортикоидными рецепторами (ГКР) и используются в противовоспалительной и иммуносупрессивной терапии. Тем не менее, из-за универсальной экспрессии глюкокортикоидных рецепторов во многих типах клеток лечение глюкокортикоидами ставится под сомнение из-за токсичности для большинства систем органов. Таким образом, существует потребность как в новых глюкокортикоидах, так и в новых способах лечения, которые минимизируют побочные эффекты, возникающие при введении глюкокортикоидов, особенно эффекты, возникающие в результате активации рецепторов глюкокортикоидов в нецелевых клетках. Настоящее изобретение обеспечивает решения для удовлетворения вышеупомянутых потребностей, а также других потребностей

в области, к которой оно относится. В настоящее изобретение включены конъюгаты антитело-лекарственное средство, содержащие полезные нагрузки глюкокортикоидов.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0005] В настоящем документе представлены соединения и способы, полезные для лечения различных заболеваний, расстройств или состояний. В определенных аспектах соединения имеют структуру Формулы (A):



(A);

или ее фармацевтически приемлемой соли, сольвата, стереоизомера или производного, где:

R¹ и R² независимо означают -H, алкил, алкил-C(O)-O-, -OH, или гало; или R¹ и R²

вместе образуют ,

где R⁴ означает алкил, арил, арилалкил, или an N-содержащий гетероциклоалкил, при этом алкил, арил, арилалкил, и N-содержащий гетероциклоалкил в каждом случае независимо необязательно замещены -NR^aR^b;

R³ означает -OH, R^Z-C(O)-X-, гетероалкил, пиперидинил, -NR^aR^b, -оксиарил-NR^aR^b, или -Z-A(R^P)_t,

R⁵ в каждом случае независимо означает -OH, гало, алкил, или арилалкил;

R^Z означает алкил;

X означает O или NR^a;

Z означает S, S(O), S(O)₂, SO₂NR^a, O, C(O)NR^a, C(O), или NR^a;

A означает арил или гетероарил;

R^P в каждом случае независимо означает гало, необязательно замещенный алкил, -OH, или -NR^aR^b;

R^a и R^b в каждом случае независимо означают -H, необязательно замещенный алкил, или необязательно замещенный арил;

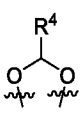
n означает целое число от 0 до 19; и

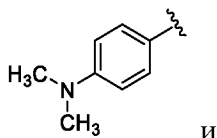
t означает целое число от 1-3;

при условии, что:

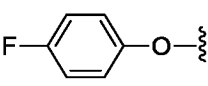
(1) R³ не означает –ОН

(а) когда R¹ означает –ОН или

(b) когда R¹ и R² вместе образуют , где R⁴ означает C₁-алкил или



и

(2) R³ не означает .

[0006] В определенных аспектах соединения представляют собой конъюгаты белок-лекарственное средство, например конъюгаты антитело-лекарственное средство, содержащие антигенсвязующий белок, например антитело и соединение по Формуле (А).

[0007] В некоторых аспектах соединения представляют собой конъюгаты белок-лекарственное средство, например конъюгаты антитело-лекарственное средство, содержащие антигенсвязующий белок, например антитело, соединение по Формуле (А) и циклодекстриновую группу.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЛЛЮСТРАЦИЙ

[0008] На ФИГ. 1 показана последовательность синтеза определенных стероидов, описанных в настоящем документе.

[0009] На ФИГ. 2 показана последовательность для изменения позиции будесонида по первичному спирту.

[0010] На ФИГ. 3 показана последовательность для изменения позиции флуметаона по первичному спирту.

[0011] На ФИГ. 4 показана последовательность для изменения позиции дексаметазона по первичному спирту.

[0012] На ФИГ. 5 показан двухмерный магнитно-резонансный спектр с ядерным эффектом Оверхаузера (NOE) (далее «спектр 2D–NOESY») для соединения 7-1R в Таблице 1.

[0013] На ФИГ. 6 показан спектр 2D–NOESY для соединения 7-1S в Таблице 1.

[0014] На ФИГ. 7 показан спектр 2D–NOESY для соединения 11-5R в Таблице 1.

[0015] На ФИГ. 8 показан спектр 2D–NOESY для соединения 11-5S в Таблице 1.

[0016] На ФИГ. 9 показаны общие подходы к синтезированию линкеров, содержащих полезную нагрузку.

- [0017] На ФИГ. 10 показана последовательность синтезирования DIBAC–Suc–NHS (соединение (V)).
- [0018] На ФИГ. 11 показана последовательность синтезирования DIBAC–Suc–PEG₄–acid/NHS (соединение (VI)).
- [0019] На ФИГ. 12 показана последовательность синтезирования BCN–PEG₄–Acid (соединение (VII)).
- [0020] На ФИГ. 13 показана последовательность синтезирования DIBAC–Suc–PEG₄–VC–pAB–PNP (соединение (VIII)).
- [0021] На ФИГ. 14 показана последовательность синтезирования линкера, содержащего полезную нагрузку 1 (LP1).
- [0022] На ФИГ. 15 показана последовательность синтезирования линкера, содержащего полезную нагрузку 2 (LP2) и линкера, содержащего полезную нагрузку 3 (LP3).
- [0023] На ФИГ. 16 показана последовательность синтезирования линкеров, содержащих полезную нагрузку 4-11 (LP4-LP11).
- [0024] На ФИГ. 17 показана последовательность синтезирования линкера, содержащего полезную нагрузку 12 (LP12).
- [0025] На ФИГ. 18 показана последовательность синтезирования линкера, содержащего полезную нагрузку 12 (LP13) и линкера, содержащего полезную нагрузку 14 (LP14).
- [0026] На ФИГ. 19 показан общий процесс синтеза конъюгата АЛС через клик-реакцию [2+3] с линкером LP4.
- [0027] На ФИГ. 20 показан окрашенный по Кумасси гель SDS–PAGE антитела к рецептору антипролактина (антитело к АПР), азидо-функционализованного антитела к АПР и конъюгата антитело к АПР-линкер LP4, как описано в ПРИМЕРЕ 59.
- [0028] На ФИГ. 21 показана эксклюзионная хроматография (ЭХГ) антитела к АПР, азидо-функционализованного антитела и конъюгата 4DAR антитело к АПР-линкер LP4, как описано в ПРИМЕРЕ 59.
- [0029] На ФИГ. 22 показана масс-спектрометрия с ионизацией электрораспылением (ИЭР/МС) антитела к АПР, азидо-функционализованного антитела и конъюгата антитело к АПР-линкер LP4, как описано в ПРИМЕРЕ 59.
- [0030] На ФИГ. 23 показана избирательная активация ГКР в клетках 293/PRLR/GRE–Luc (ФИГ. 23А) и клетках 293/MMTV–Luc (ФИГ. 23В) стероидными конъюгатами АЛС и контроль будесонида, как описано в ПРИМЕРЕ 64.
- [0031] На ФИГ. 24 показано участие линкера, содержащего полезную нагрузку, в активации ГКР стероидным конъюгатом АЛС и контроле будесонида, испытанное на клетках 293/PRLR/GRE–Luc, как описано в ПРИМЕРЕ 65.

[0032] На ФИГ. 25 показана активация глюкокортикоидного рецептора в клеточной линии НЕК293/ММТV-luc/IL-2R γ /IL7R будесонидом, 11-5 в Таблице 1, и конъюгатом АЛС анти-IL2R γ pcADC в течение 24 (двадцати четырех), 48 (сорока восьми), или 72 (семидесяти двух) часов, как описано в ПРИМЕРЕ 66.

[0033] На ФИГ. 26 показана последовательность синтезирования линкера, содержащего полезную нагрузку (LP7).

[0034] На ФИГ. 27 показан синтетический процесс приготовления соединения (27b).

[0035] На ФИГ. 28 показана последовательность синтезирования линкеров, содержащих полезную нагрузку (LP15 и LP16).

[0036] На ФИГ. 29 показан общий процесс синтеза конъюгата АЛС через клик-реакцию [2+3] с линкером, содержащим полезную нагрузку циклодекстрина (ЦД).

[0037] На ФИГ. 30 показаны конъюгаты АЛС с линкерами циклодекстрина и без них в виде зависимости относительных световых единиц (ОСЕ) от Log₁₀ [M].

[0038] На ФИГ. 31 показана последовательность синтезирования определенных стероидов (полезные нагрузки 1-6), описанных в настоящем документе.

[0039] На ФИГ. 32 показана последовательность синтезирования определенных линкер-стероидов (LP101 - LP116).

[0040] На ФИГ. 33 показан общий процесс синтеза конъюгата АЛС через клик-реакцию [2+3].

[0041] На ФИГ. 34 показана ИЭР/МС антитела к АПР, анти-PRLR Ab-N₃, и анти-PRLR-LPs.

[0042] На ФИГ. 35 показана ИЭР/МС анти-Fel d1 Ab, анти-Fel d1 Ab-PEG₃-N₃, и анти-Fel d1 Ab-LPs.

[0043] На ФИГ. 36 показана биоактивность стероидных конъюгатов АЛС в антиген-положительных клетках (клетки 293_PRLR_PBind GR/UAS-Luc, риунок 36А) в сравнении с антиген-отрицательными клетками (клетки 293_PBind GR/UAS-Luc, ФИГ. 36В) в виде зависимости относительных световых единиц (ОСЕ) от Log₁₀ [M].

[0044] На ФИГ. 37А показано среднее время концентрации крови для соединений 4b и 6-I.

[0045] На ФИГ. 37В показан уровень TNF- α в образцах крови полезных нагрузок 4b и 6-I, как описано в примерах 120-121.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

А. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

[0046] Используемый здесь термин «алкил» относится к одновалентному и насыщенному углеводородному радикальному фрагменту. Алкил необязательно замещен и может быть

линейным, разветвленным или циклическим, т.е. циклоалкилом. Алкил включает, в том числе алкилы, которые имеют 1-20 атомов углерода, т.е. C₁₋₂₀ алкил; 1-12 атомов углерода, т.е. C₁₋₁₂ алкил; 1-8 атомов углерода, т.е. C₁₋₈ алкил; 1-6 атомов углерода, т.е. C₁₋₆ алкил; и 1-3 атома углерода, т.е. C₁₋₃ алкил. Примеры алкильных групп включают, в том числе метил, этил, *n*-пропил, изопропил, *n*-бутил, *s*-бутил, *t*-бутил, *i*-бутил, пентильную группу, гексильную группу, циклопропил, циклобутил, циклопентил и циклогексил. «Алкилен» означает двухвалентный алкил.

[0047] Используемый здесь термин «галоалкил» относится к алкилу, как определено выше, где алкил включает, по меньшей мере, один заместитель, выбранный из галогенома, например, F, Cl, Br или I.

[0048] Используемый здесь термин «алкенил» относится к одновалентному углеводородному радикальному фрагменту, содержащему по меньшей мере два атома углерода и одну или несколько неароматических углерод-углеродных двойных связей. Алкенил необязательно замещен и может быть линейным, разветвленным или циклическим. Алкенил включает, в том числе алкенилы, которые имеют 2-20 атомов углерода, т.е. C₂₋₂₀ алкенил; 2-12 атомов углерода, т.е. C₂₋₁₂ алкенил; 2-8 атомов углерода, т.е. C₂₋₈ алкенил; 2-6 атомов углерода, т.е. C₂₋₆ алкенил; и 2-4 атома углерода, т.е. C₂₋₄ алкенил. Примеры алкенильных групп включают, в том числе винил, пропенил, бутенил и циклогексенил. «Алкенилен» представляет собой двухвалентный алкенил.

[0049] Используемый здесь термин «алкинил» относится к одновалентному углеводородному радикальному фрагменту, содержащему, по меньшей мере, два атома углерода и одну или несколько тройных связей углерод-углерод. Алкинил необязательно замещен и может быть линейным, разветвленным или циклическим. Алкинил включает, в том числе алкинилы, которые имеют 2-20 атомов углерода, т.е. C₂₋₂₀ алкинил; 2-12 атомов углерода, т.е. C₂₋₁₂ алкинил; 2-8 атомов углерода, т.е. C₂₋₈ алкинил; 2-6 атомов углерода, т.е. C₂₋₆ алкинил; и 2-4 атома углерода, т.е. C₂₋₄ алкинил. Примеры алкинильных групп включают, в том числе этинил, пропирил и бутирил. «Алкинилен» представляет собой двухвалентный алкинил.

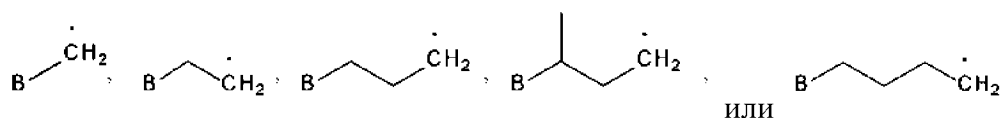
[0050] Используемый здесь термин «алкокси» относится к одновалентному и насыщенному углеводородному радикальному фрагменту, в котором углеводород включает в себя одинарную связь с атомом кислорода и где радикал локализован на атоме кислорода, например CH₃CH₂-O для этокси. Алкоксизаместители связываются с соединением, которое они замещают через этот атом кислорода алкоксизаместителя. Алкокси необязательно замещен и может быть линейным, разветвленным или

циклическим, т.е. циклоалкокси. Алкокси включает, в том числе алкокси с 1-20 атомами углерода, т.е. C₁₋₂₀ алкокси; 1-12 атомов углерода, т.е. C₁₋₁₂ алкокси; 1-8 атомов углерода, т.е. C₁₋₈ алкокси; 1-6 атомов углерода, т.е. C₁₋₆ алкокси; и 1-3 атома углерода, т.е. C₁₋₃ алкокси. Примеры алкокси-групп включают, в том числе метокси, этокси, *n*-пропокси, *i*-пропокси, *n*-бутокси, *s*-бутокси, *t*-бутокси, *i*-бутокси, пентокси-группу, гексокси-группу, циклопропокси, циклобутокси, циклопентокси и циклогексокси.

[0051] Используемый здесь термин «галоалкокси» относится к алкокси, как определено выше, где алкокси включает, по меньшей мере, один заместитель, выбранный из галогенома, например, F, Cl, Br или I.

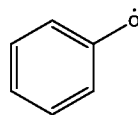
[0052] Используемый здесь термин «арил» относится к одновалентному фрагменту, который является радикалом ароматического соединения, в котором атомы кольца представляют собой атомы углерода. Арил необязательно замещен и может быть моноциклическим или полициклическим, например, бициклическим или трициклическим. Примеры арилфрагментов включают, в том числе арилфрагменты, которые содержат от 6 до 20 кольцевых атомов углерода, т.е. C₆₋₂₀ арил; от 6 до 15 кольцевых атомов углерода, т.е. C₆₋₁₅ арил, и от 6 до 10 кольцевых атомов углерода, т.е. C₆₋₁₀ арил. Примеры арилфрагментов включают, в том числе фенил, нафтил, флуоренил, азуленил, антрил, фенантрил и пиренил.

[0053] Используемый здесь термин «арилалкил» относится к одновалентному фрагменту, который является радикалом алкилсодержащего соединения, в котором алкилсодержащее соединение замещено ароматическим заместителем, т.е. ароматическое соединение включает одинарную связь с алкильной группой, а радикал локализован на алкил группе. Арилалкильная группа связывается с показанной химической структурой через алкильную группу. Арилалкил может быть представлен структурой, *напр.*,



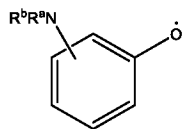
где В означает ароматический фрагмент, *например*, фенил. Арилалкил необязательно замещен, т.е. арильная группа и/или алкильная группа может быть замещена, как описано в настоящем документе. Примеры арилалкила включают, в том числе бензил.

[0054] Используемый здесь термин «арилокси» относится к одновалентному фрагменту, который является радикалом ароматического соединения, в котором атомы кольца представляют собой атомы углерода, кольцо замещено кислородным радикалом, т.е. ароматическое соединение включает простую связь с атомом кислорода, а радикал

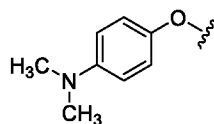


локализован на атоме кислорода, например, в случае фенокси. Арилокси заместители связываются с соединением, которое они замещают через этот атом кислорода. Арилокси необязательно замещен. Арилокси включает, в том числе арилокси, которые имеют от 6 до 20 кольцевых атомов углерода, т.е. C_{6-20} арилокси; от 6 до 15 кольцевых атомов углерода, т.е. C_{6-15} арилокси, и от 6 до 10 кольцевых атомов углерода, т.е. C_{6-10} арилокси. Примеры арилоксигрупп включают, в том числе фенокси, нафтокси и антрокси.

[0055] Используемый здесь термин « R^aR^bN -арилокси» относится к одновалентному фрагменту, который является радикалом ароматического соединения, в котором атомы кольца представляют собой атомы углерода, кольцо замещено R^aR^bN -заместителем и кислородным радикалом, т.е. ароматическое соединение включает простую связь с R^aR^bN -заместителем и одинарную связь с атомом кислорода, а радикал локализован на атоме



кислорода, например, . Заместители R^aR^bN -арилокси связываются с соединением, которое они замещают через этот атом кислорода. R^aR^bN -арилокси необязательно замещен. R^aR^bN -арилокси включает, в том числе R^aR^bN -арилокси, которые имеют от 6 до 20 кольцевых атомов углерода, от 6 до 15 кольцевых атомов углерода; и 6-10 кольцевых атомов углерода. Примеры R^aR^bN -арилокси групп включают, в том числе 4-



(диметил-амино)-фенокси, .

[0056] Используемый здесь термин «арилен» относится к двухвалентному фрагменту ароматического соединения, в котором атомы кольца представляют собой только атомы углерода. Арилен необязательно замещен и может быть моноциклическим или полициклическим, например, бициклическим или трициклическим. Примеры ариленовых фрагментов включают, в том числе ариленовые фрагменты, которые имеют от 6 до 20 кольцевых атомов углерода, то есть C_{6-20} арилен; от 6 до 15 кольцевых атомов углерода, т.е. C_{6-15} арилен, и от 6 до 10 кольцевых атомов углерода, т.е. C_{6-10} арилен.

[0057] Используемый здесь термин «гетероалкил» относится к алкилу, в котором один или несколько атомов углерода замещены гетероатомами. Используемый здесь термин «гетероалкенил» относится к алкенилу, в котором один или несколько атомов углерода заменены гетероатомами. Используемый здесь термин «гетероалкинил» относится к алкинилу, в котором один или несколько атомов углерода заменены гетероатомами.

Подходящие гетероатомы включают, в том числе атомы азота, кислорода и серы. Гетероалкил необязательно замещен. Примеры гетероалкильных фрагментов включают, в том числе аминоалкил, сульфониалкил, сульфинилалкил. Примеры гетероалкильных фрагментов также включают, в том числе метиламино, метилсульфонил и метилсульфинил.

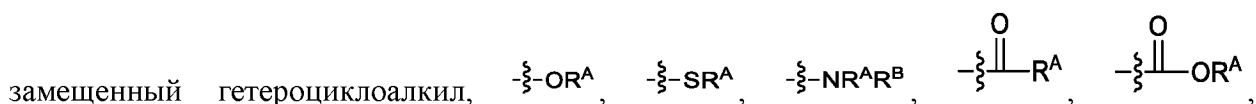
[0058] Используемый здесь термин «гетероарил» относится к одновалентному фрагменту, который является радикалом ароматического соединения, где атомы кольца содержат атомы углерода и, по меньшей мере, один атом кислорода, серы, азота или фосфора. Примеры гетероарильных фрагментов включают, но не ограничиваются ими, те, которые имеют от 5 до 20 кольцевых атомов; от 5 до 15 кольцевых атомов; и от 5 до 10 кольцевых атомов. Гетероарил необязательно замещен.

[0059] Используемый здесь термин «гетероарилен» относится к арилену, в котором один или несколько кольцевых атомов ароматического кольца заменены атомом кислорода, серы, азота или фосфора. Гетероарилен необязательно замещен.

[0060] Используемый здесь термин «гетероциклоалкил» относится к циклоалкилу, в котором один или несколько атомов углерода замещены гетероатомами. Подходящие гетероатомы включают, в том числе атомы азота, кислорода и серы. Гетероциклоалкил необязательно замещен. Примеры гетероциклоалкильных фрагментов включают, в том числе морфолинил, пиперидинил, тетрагидропиранил, пирролидинил, имидазолидинил, оксазолидинил, тиазолидинил, диоксоланил, дитиоланил, оксанил или тианил.

[0061] Используемый здесь термин «N-содержащий гетероциклоалкил» относится к циклоалкилу, в котором один или несколько атомов углерода заменены гетероатомами и где по меньшей мере один гетероатом представляет собой атом азота. Подходящие гетероатомы, помимо азота, включают, в том числе атомы кислорода и серы. N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещен. Примеры N-содержащих гетероциклоалкильных фрагментов включают, в том числе морфолинил, пиперидинил, пирролидинил, имидазолидинил, оксазолидинил или тиазолидинил.

[0062] Используемый здесь термин «необязательно замещенный», когда он используется для описания радикального фрагмента, например необязательно замещенного алкила, означает, что такой фрагмент необязательно связан с одним или несколькими заместителями. Примеры таких заместителей включают, в том числе, гало, циано, нитро, галоалкил, азидо, эпоксид, необязательно замещенный гетероарил, необязательно





где R^{A} , R^{B} , и R^{C} в каждом случае независимо означают атом водорода, алкил, алкенил, алкинил, арил, алкиларил, арилалкил, гетероалкил, гетероарил или гетероциклоалкил, или R^{A} и R^{B} , вместе с атомами, с которыми они связаны, образуют насыщенное или ненасыщенное карбоциклическое кольцо, при этом кольцо необязательно замещено, и один или несколько атомов кольца необязательно замещены гетероатомом. В некоторых вариантах осуществления, когда радикальный фрагмент необязательно замещен необязательно замещенным гетероарилом, необязательно замещенным гетероциклоалкилом или необязательно замещенным насыщенным или ненасыщенным карбоциклическим кольцом, заместители в необязательно замещенном гетероариле, необязательно замещенном гетероциклоалкиле, или необязательно обязательном насыщенном или ненасыщенном карбоциклическом кольце, если они являются замещенными, не замещены заместителями, которые дополнительно необязательно замещены дополнительными заместителями. В некоторых вариантах осуществления, когда описанная здесь группа необязательно замещена, заместитель, связанный с группой, является незамещенным, если не указано иное.

[0063] Используемый здесь термин «связующий агент» относится к любой способной связываться молекуле, обладающей специфичностью к данному партнеру по связыванию. В некоторых вариантах осуществления связующий агент представляет собой антитело или его антигенсвязующий фрагмент.

[0064] Используемый здесь термин «линкер» относится к двухвалентному фрагменту, который ковалентно связывает связующий агент со стероидом, описанным в настоящем документе.

[0065] Используемый здесь термин «условия синтеза амида» относится к условиям реакции, подходящим для облегчения образования амида, например, путем реакции карбоновой кислоты, активированной карбоновой кислоты или ацилгалогенида с амином. В некоторых примерах «условия синтеза амида» относятся к условиям реакции, подходящим для облегчения образования амидной связи между карбоновой кислотой и амином. В некоторых из этих примеров карбоновая кислота сначала превращается в активированную карбоновую кислоту до того, как активированная карбоновая кислота вступает в реакцию с амином с образованием амида. Подходящие условия для осуществления образования амида включают, но не ограничиваются ими, условия, в

которых используются реагенты для осуществления реакции между карбоновой кислотой и амином, включая, в том числе дициклогексилкарбодиимид (DCC), диизопропилкарбодиимид (DIC), (бензотриазол-1-илокси)трис(диметиламино)фосфоний гексафторфосфат (BOP), (бензотриазол-1-илокси) трипирролидино фосфоний гексафторфосфат (PyBOP), (7-азабензотриазол-1-илокси) трипирролидино фосфоний гексафторфосфат (PyAOP), бромтрипирролидинофосфоний гексафторфосфат (PyBrOP), O-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилуроний гексафторфосфат (HBTU), O-(бензотриазол)-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилуроний тетрафторборат (TBTU), 1-[бис(диметиламино) метилен]1*H*-1,2,3-триазоло[4,5-*b*] пиридиния 3-оксид гексафторфосфата (HATU), 2-этокси-1-этоксикарбонил-1,2-дигидрохинолин (EEDQ), 1-этил-3-(3-диметиламинопропил) карбодиимид (EDC), 2-хлор-1,3-диметилимидазолидиния гексафторфосфат (CIP), 2-хлор-4,6-диметокси-1,3,5-триазин (CDMT) и карбонилдиимидазол (CDI). В некоторых примерах карбоновая кислота сначала превращается в активированный сложный эфир карбоновой кислоты перед реакцией с амином с образованием амидной связи. В определенных вариантах осуществления карбоновая кислота взаимодействует с реагентом. Реагент активирует карбоновую кислоту, депротонируя карбоновую кислоту и затем образуя комплекс продуктов с депротонированной карбоновой кислотой в результате нуклеофильной атаки депротонированной карбоновой кислоты на протонированный реагент. Для некоторых карбоновых кислот этот активированный сложный эфир более чувствителен к нуклеофильной атаке амина, чем карбоновая кислота до его превращения. Это приводит к образованию амидной связи. Как таковая, карбоновая кислота описана как активированная. Типичные реагенты включают DCC и DIC.

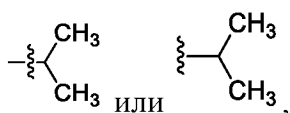
[0066] Используемый здесь термин «терапевтически эффективное количество» относится к количеству (соединения), которое является достаточным для обеспечения терапевтического эффекта для пациента при лечении или контроле заболевания или расстройства, или для задержки развития или минимизации одного или нескольких симптомов, связанных с заболеванием или расстройством.

[0067] Используемый здесь термин «фармацевтически приемлемое производное» относится к любой форме, например сложному эфиру или пролекарству, которое обеспечивает указанное соединение при введении пациенту.

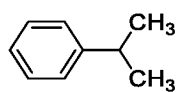
[0068] Используемый здесь термин «фармацевтически приемлемая соль» относится к любой соли, подходящей для введения пациенту. Подходящие соли включают, в том числе соли, описанные в работе Berge et al., "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci., 1977, 66: 1,

включенной сюда посредством ссылки. Примеры солей включают, в том числе соли кислотного, основного, органического, неорганического происхождения, соли аминов и щелочных или щелочноземельных металлов, включая, в том числе соли кальция, магния, калия, натрия, соляной кислоты, бромистоводородной кислоты, серной кислоты, азотной кислоты, фосфорной кислоты, уксусной кислоты, пропионовой кислоты, гликолевой кислоты, пировиноградной кислоты, щавелевой кислоты, малеиновой кислоты, малоновой кислоты, янтарной кислоты, фумаровой кислоты, винной кислоты, лимонной кислоты, бензойной кислоты, коричной кислоты, миндальной кислоты, метансульфоновой кислоты, этансульфоновой кислоты, p-толуолсульфоновой кислоты и салициловой кислоты и т.п.

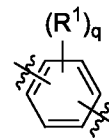
[0069] Некоторые группы, фрагменты, заместители и атомы изображены волнистой линией, которая пересекает или закрывает связь или связи, чтобы указать атом, через который связаны группы, фрагменты, заместители, атомы. Например, фенильная группа, которая замещена пропильной группой, обозначенная как



имеет следующую структуру:

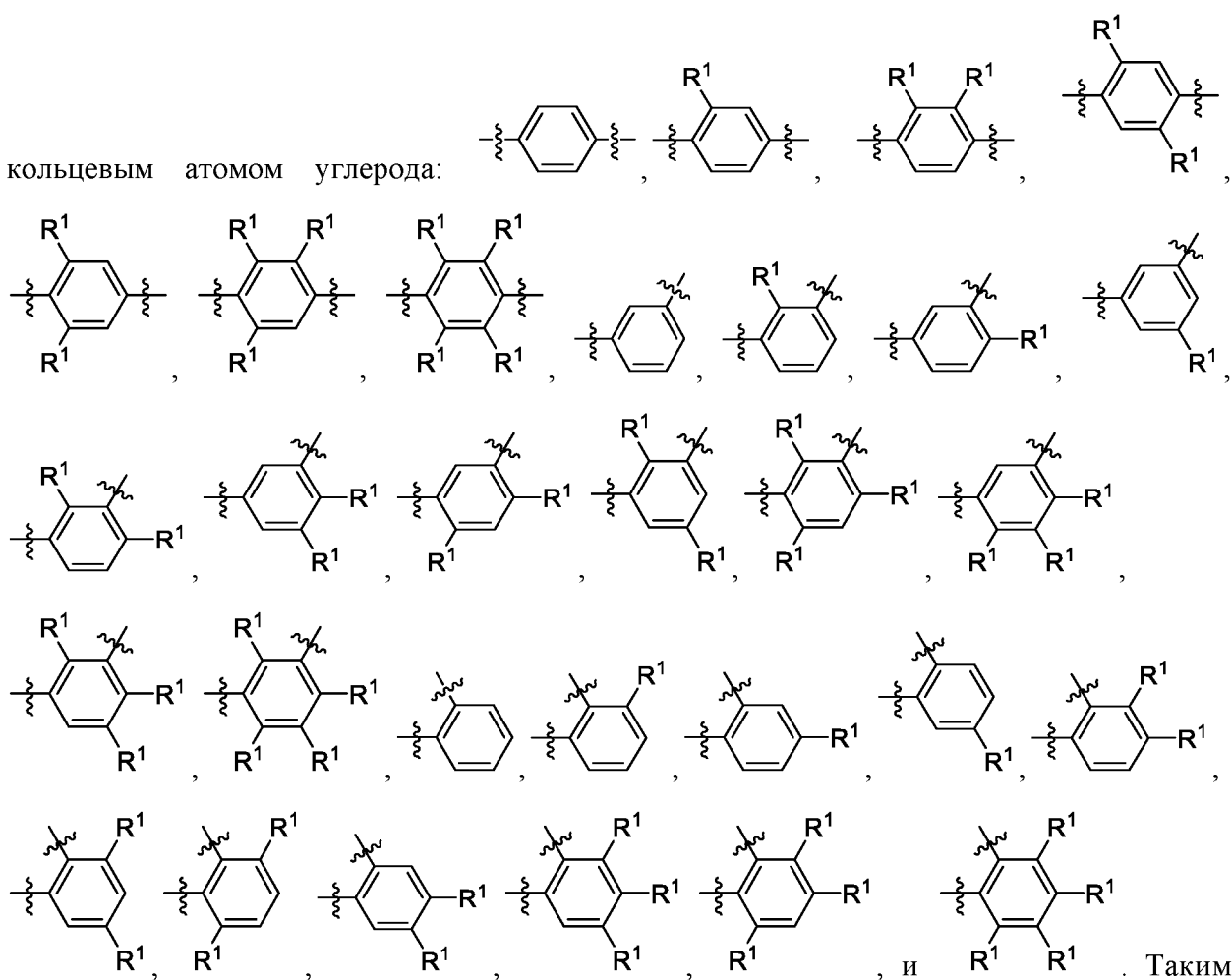


Используемые здесь иллюстрации, показывающие заместители, связанные с циклической группой (например, ароматическим, гетероароматическим, конденсированным кольцом и насыщенным или ненасыщенным циклоалкилом или гетероциклоалкилом) через связь между атомами кольца, означают, если не указано иное, что циклическая группа может быть замещена этим заместителем в любом положении кольца в циклической группе или в любом кольце в группе с конденсированным кольцом в соответствии с методиками, изложенными в настоящем документе, или известными в

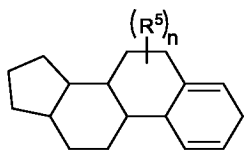


области, к которой относится настоящее изобретение. Например, группа $(R^1)_q$, в которой нижний индекс q означает целое число от 0 до 4, положения заместителя R^1 описаны в общем, т. е. не связаны напрямую с какой-либо вершиной структуры линии связи, т. е. с конкретным кольцевым атомом углерода, включает в себя следующие неограничивающие примеры из групп, в которых заместитель R^1 связан с определенным

кольцевым атомом углерода:



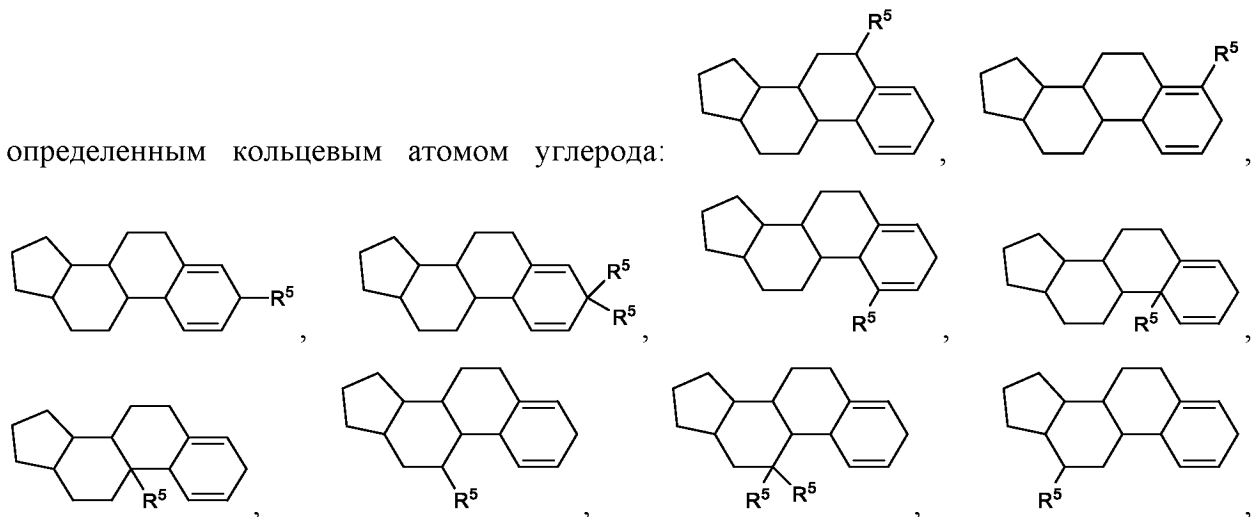
Таким

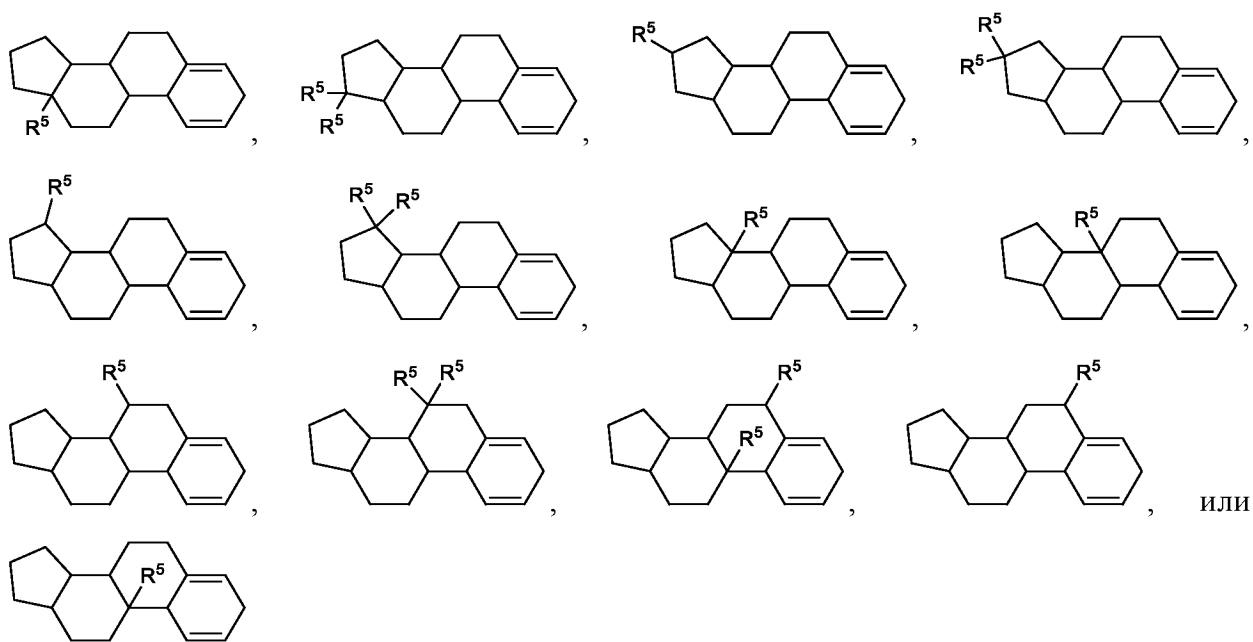


же образом, например, группа

, в которой индекс n означает целое число от 0 до 19, положения заместителя R^5 описаны в общем виде, т. е. изображены как не связанные напрямую с какой-либо вершиной структуры линии связи, и включают в себя следующие неограничивающие примеры групп, в которых заместитель R^5 связан с

определенным кольцевым атомом углерода:



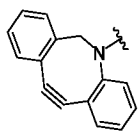


[0070] Используемое здесь выражение «реакционноспособный линкер» или аббревиатура «RL» относится к одновалентной группе, которая включает реакционноспособную группу и связующую группу, изображенную как $RG-L-\zeta$,

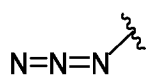
где RL означает реакционноспособную группу, а L означает связующую группу. Связующая группа представляет собой любой двухвалентный фрагмент, который соединяет реакционноспособную группу с полезной нагрузкой. Реакционноспособные линкеры (RL) вместе с полезными нагрузками, с которыми они связаны, содержат промежуточные соединения («линкеры с полезной нагрузкой»), используемые в качестве синтетических предшественников для получения описанных здесь стероидных конъюгатов антител. Реакционноспособный линкер содержит реакционноспособную группу («RG»), которая представляет собой функциональную группу или фрагмент, который реагирует с реакционноспособной частью антитела, модифицированного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. Часть, полученная в результате реакции реакционноспособной группы с антителом, модифицированным антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, вместе со связывающей группой, содержит часть конъюгата «линкер связывающего агента» («BL»), описанную здесь. В определенных вариантах осуществления «реакционноспособная группа» представляет собой функциональную группу или фрагмент (например, малеимид или сложный эфир NHS), который реагирует с остатком цистеина или лизина антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В определенных вариантах осуществления «реакционноспособная группа» представляет собой функциональную группу или группу, которая способна подвергаться химической клик-реакции. В некоторых вариантах осуществления указанной химической клик-реакции

реакционноспособная группа представляет собой алкин, который способен подвергаться реакции 1,3-циклоприсоединения с азидом. Такие подходящие реакционноспособные группы включают, в том числе напряженные алкины, например, алкины, которые подходят для облегченных напряжением азид-алкиновых циклоприсоединений (SPAAC), циклоалкины, например циклооктины, бензанулированные алкины и алкины, способные подвергаться реакциям 1,3 циклоприсоединения с азидами в отсутствие медных катализаторов. Подходящие алкины также включают, в том числе DIBAC, DIBO, BARAC, DIFO, замещенные, например, фторированные алкины, азациклоалкины, BCN и их производные. Линкеры с полезными нагрузками, содержащие такие реакционноспособные группы, полезны для конъюгирования антител, которые были функционализированы азидогруппами. Такие функционализированные антитела включают антитела, функционализированные азидо-полиэтиленгликолевые группы. В некоторых вариантах осуществления такое функционализированное антитело получают путем взаимодействия антитела, содержащего, по меньшей мере, один глутаминовый остаток, например тяжелую цепь Q295 (нумерация ЕС), с соединением по Формуле H₂N-LL-N₃, где LL представляет собой группу двухвалентного полиэтиленгликоля, в присутствии фермента трансглутаминазы.

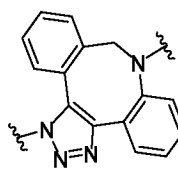
[0071] В некоторых примерах реакционноспособная группа означает алкин, например,



, который может вступать в реакцию с азидом методом клик-химии, например,

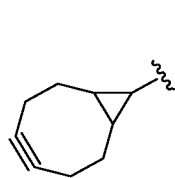


, образуя продукт клик-химии, например,

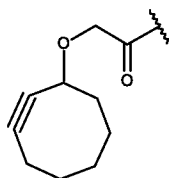


, его региоизомер или их смесь.

В некоторых примерах реакционноспособная группа означает алкин, например,

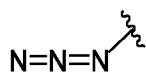


или

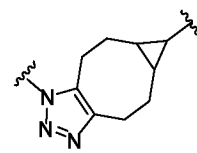


, который может вступать в реакцию с азидом методом клик-

химии, например,

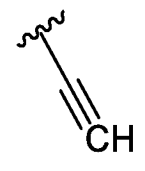


образуя продукт клик-химии, например,

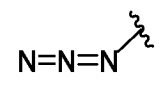


. В

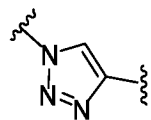
некоторых примерах реакционноспособная группа означает алкин, например,



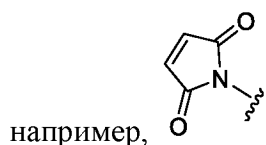
который может вступать в реакцию с азидом методом клик-химии, например,



образуя продукт клик-химии, например,

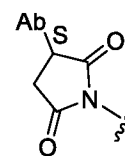


некоторых примерах реакционноспособная группа означает функциональную группу,



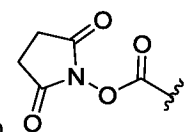
например, , которая вступает в реакцию с остатком цистеина на его антителе или

антигенсвязующем фрагменте, образуя их связь, например,



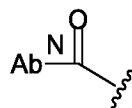
антигенсвязующем фрагменте, образуя их связь, например, , где Ab относится к антителу или его антигенсвязующему фрагменту, S относится к S-атому на остатке цистеина, через который функциональная группа соединяется с Ab. В некоторых примерах

реакционноспособная группа означает а функциональную группу, например,



которая вступает в реакцию с остатком лизина на его антителе или антигенсвязующем

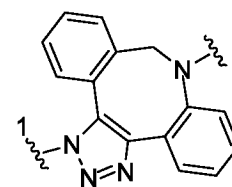
фрагменте, образуя их связь, например,




фрагменте, образуя их связь, например, , где Ab относится к антителу или его антигенсвязующему фрагменту, N относится к N-атому на остатке лизина, через который функциональная группа соединяется с Ab.

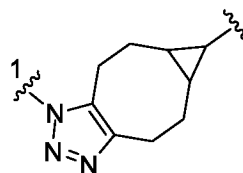
[0072] Используемое здесь выражение «линкер связующего агента» или «BL» относится к любой двухвалентной группе или фрагменту, который связывает связующий агент (например, антитело или его антигенсвязующий фрагмент) с описанным здесь соединением с полезной нагрузкой (например, стероидом). Как правило, подходящие линкеры связующего агента для конъюгатов антител, описанных в настоящем документе, представляют собой линкеры, которые являются достаточно стабильными, чтобы использовать период полужизни антитела в кровотоке, и в то же время способны высвободить его полезную нагрузку после антиген-опосредованной интернализации конъюгата. Линкеры могут быть расщепляемыми или нерасщепляемыми. Расщепляемые

линкеры представляют собой линкеры, которые расщепляются посредством внутриклеточного метаболизма после интернализации, например, расщепления посредством гидролиза, восстановления или ферментативной реакции. Нерасщепляемые линкеры представляют собой линкеры, которые высвобождают присоединенную полезную нагрузку посредством лизосомальной деградации антитела после интернализации. Подходящие линкеры включают, в том числе, кислотно-лабильные линкеры, гидролизно-лабильные линкеры, ферментативно расщепляемые линкеры, восстанавливающие лабильные линкеры, самовоспламеняющиеся линкеры и нерасщепляемые линкеры. Подходящие линкеры также включают, в том числе, линкеры, которые включают или включают глюкурониды, сукцинимид-тиоэферы, полиэтиленгликолевые (ПЭГ) звенья, гидразоны, маль-капроильные звенья, дисульфидные звенья (например, $-S-S-$, $-S-C(R^1R^2)-$, где R^1 и R^2 независимо представляют собой водород или гидрокарбил), карбаматные звенья, пара-амино-бензиловые звенья (РАВ), фосфатные звенья, например, моно-, бис- или трисфосфатные звенья, и пептидные звенья, например, пептидные единицы, содержащие две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или более аминокислот, включая, но не ограничиваясь, валин-цитруллин и единицы. В некоторых вариантах осуществления линкер связующего агента (СЛ) включает фрагмент, который образуется в результате реакции реакционноспособной группы (RG) реакционноспособного линкера (RL) и реакционноспособной части связующего агента, например антитела, модифицированного антитела или его антигенсвязующий фрагмент.




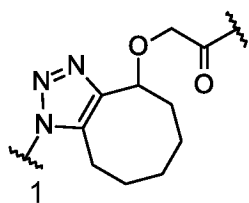
[0073] В некоторых примерах СЛ включает следующий фрагмент:

региоизомер или их смесь, где  означает связь со связующим агентом. В некоторых

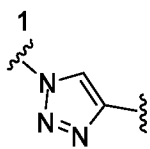


примерах СЛ включает следующий фрагмент: , его региоизомер или их

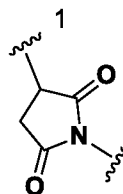
смесь, где  означает связь со связующим агентом. В некоторых примерах СЛ включает



следующий фрагмент: , его региоизомер или их смесь, где означает связь со связующим агентом. В некоторых примерах СЛ включает следующий фрагмент:



, его региоизомер или их смесь, где означает связь со связующим агентом. В

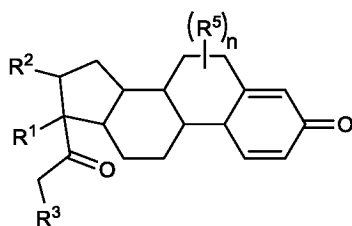


некоторых примерах СЛ включает следующий фрагмент: , где означает связь с

цистеином антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых примерах СЛ включает следующий фрагмент: , где представляет собой связь с лизином антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В этих примерах связь со связующим агентом реализуется напрямую или через линкер. В конкретных вариантах осуществления связывающий агент модифицируют азидом для облегчения связи со СЛ. Примеры описаны ниже.

В. СТЕРОИДЫ

[0074] Здесь представлены соединения, имеющие структуру по Формуле (А):



(А);

или их фармацевтически приемлемая соль, сольват, стереоизомер, или их производное, где:

R^1 и R^2 независимо означают $-H$, алкил, алкилен- $C(O)-O-$, $-OH$, или гало; или R^1 и

R^2 вместе образуют

где R^4 означает алкил, арил, арилалкил, или N-содержащий гетероциклоалкил,

при этом алкил, арил, арилалкил, и N-содержащий гетероциклоалкил в каждом случае независимо необязательно замещены $-NR^aR^b$;

R^3 означает $-OH$, $R^Z-C(O)-X-$, гетероалкил, пиперидинил, $-NR^aR^b$, $-оксиарил-NR^aR^b$, или $-Z-A(R^P)$;

R^5 в каждом случае независимо означает $-OH$, гало, алкил, или арилалкил;

R^Z означает алкил;

X означает O или NR^a ;

Z означает S, $S(O)$, $S(O)_2$, SO_2NR^a , O, $C(O)NR^a$, $C(O)$, или NR^a ;

A означает арил или гетероарил;

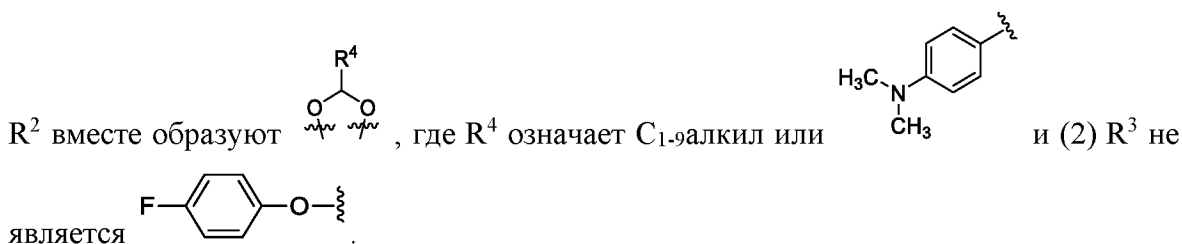
R^P в каждом случае независимо означает гало, необязательно замещенный алкил, $-OH$, или $-NR^aR^b$;

R^a и R^b в каждом случае независимо означают $-H$ или необязательно замещенный алкил;

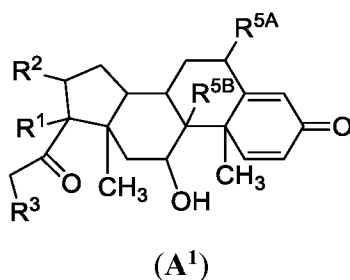
n означает целое число от 0 до 19; и

t означает целое число от 1 до 3;

при условии что (1) R^3 не является $-OH$ (а) когда R^1 означает $-OH$ или (b) когда R^1 и



[0075] В некоторых вариантах осуществления соединение по Формуле (A) имеет структуру по Формуле (A¹):




где R^1-R^3 определены выше и R^{5A} и R^{5B} в каждом случае независимо означают гало или атом водорода.


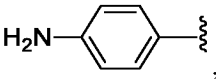
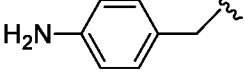
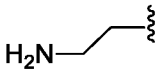
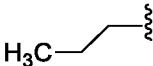
[0076] В некоторых вариантах осуществления соединения по Формуле (A¹) R^{5A} и R^{5B} означают атомы водорода. В некоторых вариантах осуществления соединения по Формуле (A¹) R^{5A} и R^{5B} означают фтор. В некоторых вариантах осуществления соединения по Формуле (A¹) R^{5A} означает атом водорода, R^{5B} означает фтор.

[0077] В некоторых вариантах осуществления соединения по Формуле (A¹) R¹ означает алкилен-C(O)-O- или -OH, и R² означает алкил.

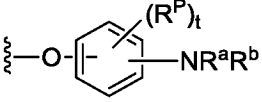
[0078] В некоторых вариантах осуществления соединения по Формуле (A¹) R¹ и R² вместе

образуют , где R⁴ означает арил, арилалкил, или алкил, где арил, арилалкил, и алкил необязательно замещены -NR^aR^b. В некоторых вариантах осуществления R⁴ означает - арил- NR^aR^b. В некоторых вариантах осуществления R⁴ означает -фенил- NR^aR^b.

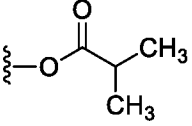
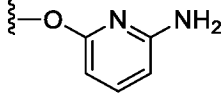
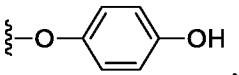
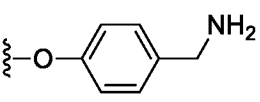
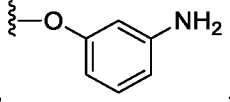
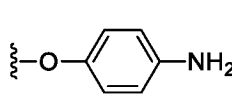
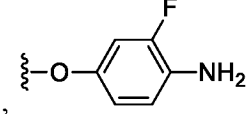
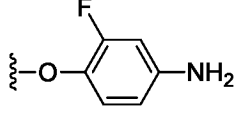
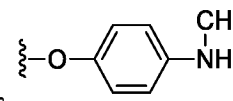
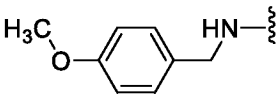
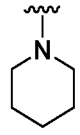
[0079] В некоторых вариантах осуществления соединения по Формуле (A¹) R¹ и R² вместе

образуют , где R⁴ означает , , , или .


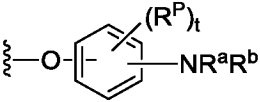
[0080] В некоторых вариантах осуществления соединения по Формуле (A¹) R³ означает

-OH, -NR^aR^b, R^Z-C(O)-X-, или , где R^P означает гало, t означает целое число от 0 до 2, R^a означает H, R^b означает H или алкил, X означает O или NH, R^Z означает алкил.

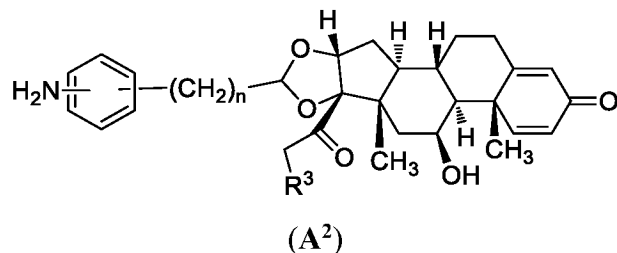
[0081] В некоторых вариантах осуществления соединения по Формуле (A¹) R³ означает

-OH, -NH₂, -NHCH₃, -N(CH₃)₂, , , , , , , , , , , или .

[0082] В некоторых вариантах осуществления соединения по Формуле (A¹) R¹ и R² вместе

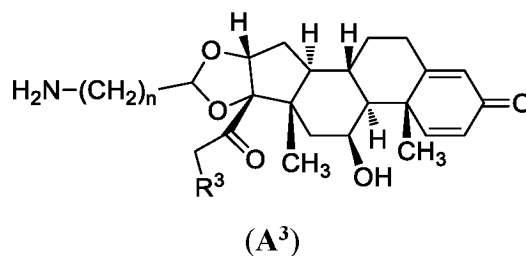
образуют , где R⁴ означает арил, арилалкил, или алкил, при этом арил, арилалкил, и алкил необязательно замещены -NR^aR^b; R³ означает -OH, -NR^aR^b, R^Z-C(O)-X-, или , где R^P означает гало, t означает целое число от 0 до 2, R^a означает H, R^b означает H или алкил, X означает O или NH, R^Z означает алкил; и R⁵ в каждом случае независимо означает фтор или атом водорода.

[0083] Здесь также приведены соединения по Формуле (A²):



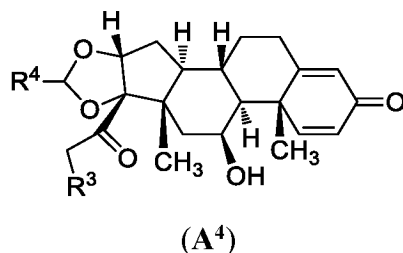
где n означает целое число от 0 до 4, R³ означает –OH или R^Z-C(O)-O–; при этом R^Z означает алкил. В определенных вариантах осуществления n означает 0 или 1.

[0084] Здесь также приведены соединения по Формуле (A³):



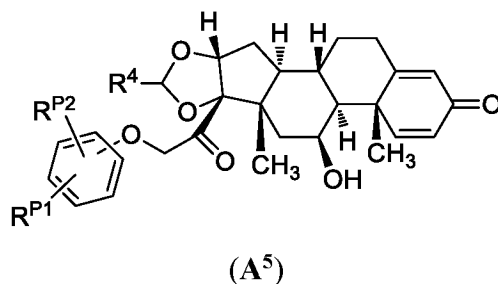
где n означает целое число от 1-4, R³ означает –OH или R^Z-C(O)-O–; при этом R^Z означает алкил. В определенных вариантах осуществления n означает 2.

[0085] Здесь также приведены соединения по Формуле (A⁴):



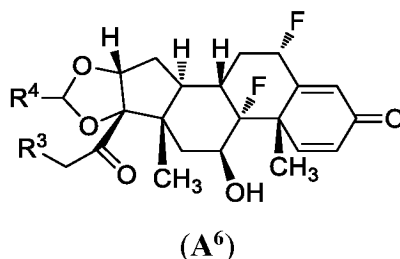
где R³ означает –NR^aR^b и R⁴ означает алкил, при этом R^a и R^b в каждом случае независимо означают атом водорода или алкил, или R^a и R^b вместе образуют 3-7-членное кольцо. В определенных вариантах осуществления R⁴ означает C₁₋₄ алкил. В некоторых вариантах осуществления R⁴ означает пропил. В определенных вариантах осуществления R³ означает –NH₂, –NHCH₃, или –N(CH₃)₂.

[0086] Здесь также приведены соединения по Формуле (A⁵):



где R^4 означает алкил, R^{P1} означает гало или атом водорода, и R^{P2} означает $-NR^aR^b$ или $-OH$, при этом R^a и R^b в каждом случае независимо означают атом водорода или алкил. В некоторых вариантах осуществления R^4 означает C_{1-4} алкил, R^{P2} означает $-NH_2$.

[0087] Здесь также приведены соединения по Формуле (A⁶):

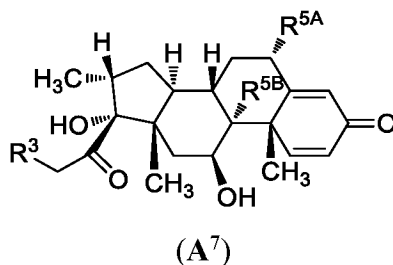


где R^3 означает $\xi-X-\overset{(R^P)_t}{\text{A}}-(CH_2)_{0-1}-NR^aR^b$, $R^ZC(O)X-$, $\xi-NR^a-(CH_2)_{0-1}$, или NR^aR^b , где X

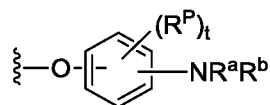
означает O или NR^a , A означает арил или гетероарил, R^P означает гало, t означает целое число от 0 до 2, R^a и R^b в каждом случае независимо означают атом водорода или алкил, R^Z означает алкил, R^Q означает алкокси, R^4 означает алкил. В некоторых вариантах

осуществления R^3 означает $\xi-O-\text{C}_6\text{H}_4-\overset{(R^P)_t}{\text{A}}-NR^aR^b$.

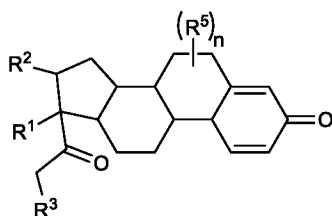
[0088] Здесь также приведены соединения по Формуле (A⁷)



где R^3 означает $\xi-X-\overset{(R^P)_t}{\text{A}}-(CH_2)_{0-1}-NR^aR^b$, где X означает O или NR^a , A означает арил или гетероарил, R^P означает гало, t означает целое число от 0 до 2, R^a и R^b в каждом случае независимо означают атом водорода или алкил, R^{5A} означает атом водорода или фтор, R^{5B} означает фтор. В некоторых вариантах осуществления R^3 означает



[0089] В некоторых примерах здесь приведено соединение, имеющее структуру по Формуле (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемая соль, сольват, стереоизомер, или его производное, где:

R^1 и R^2 независимо означают $-H$, алкил, алкил- $C(O)-O-$, $-OH$, или гало; или R^1 и R^2



где R^4 означает алкил, арил, арилалкил, или N-содержащий гетероциклоалкил, при этом алкил, арил, арилалкил, и N-содержащий гетероциклоалкил в каждом случае независимо необязательно замещены $-NR^aR^b$;

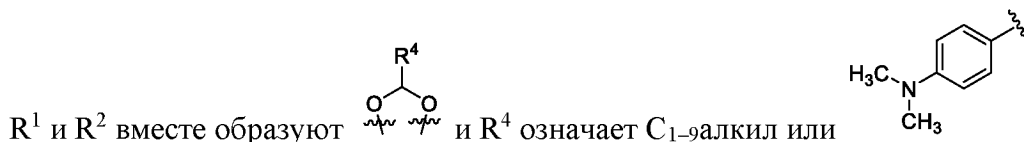
R^3 означает $-OH$, алкил- $C(O)-O-$, гетероалкил, $-NR^aR^b$, $-NR^aR^b$ -арилокси, или R^aR^bN -арилокси-, при этом алкил- $C(O)-O-$, гетероалкил, $-NR^aR^b$, и R^aR^bN -арилокси- необязательно замещены гало;

R^5 в каждом случае независимо означает $-OH$, гало, алкил, или арилалкил;

R^a и R^b в каждом случае независимо означают H или алкил;

n означает целое число от 0 до 19;

при условии, что R^3 не является $-OH$, где или (a) или (b): (a) R^1 означает $-OH$ или (b)

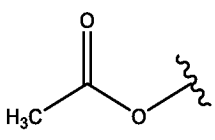


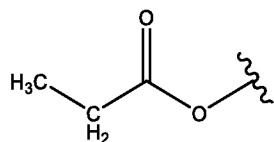
[0090] В некоторых из этих примеров R^1 и R^2 независимо выбраны $-H$, алкил, алкил- $C(O)-$

$O-$, $-OH$, и гало. В других примерах R^1 и R^2 вместе образуют . В определенных примерах R^1 означает $-H$. В других примерах R^1 означает алкил. В некоторых примерах R^1 означает алкил- $C(O)-O-$. В других примерах R^1 означает $-OH$. В определенных примерах R^1 означает гало. В других примерах R^1 означает $-F$. В некоторых примерах R^1 означает $-Cl$. В других примерах R^1 означает $-Br$. В определенных примерах R^1 означает $-I$. В других примерах R^2 означает $-OH$. В некоторых примерах R^2 означает гало. В других примерах R^2 означает $-F$. В определенных примерах R^2 означает $-Cl$. В других примерах R^2 означает $-Br$. В некоторых примерах R^2 означает $-I$.

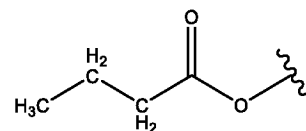
[0091] В некоторых примерах по Формуле (I) R^5 означает $-\text{OH}$. В некоторых примерах R^5 означает гало в том числе $-\text{F}$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, или $-\text{I}$. В некоторых примерах R^5 означает $-\text{F}$. В некоторых примерах R^5 означает $-\text{Cl}$. В некоторых примерах R^5 означает $-\text{Br}$. В некоторых примерах R^5 означает $-\text{I}$. В некоторых примерах R^5 означает алкил в том числе метил, этил, пропи́л, бути́л, пенти́л, гекси́л, гепти́л, окти́л, или нони́л. В некоторых примерах R^5 означает бензил.

[0092] В некоторых примерах по Формуле (I) R^3 выбран из $-\text{OH}$, алкил- $\text{C}(\text{O})-\text{O}-$, и $\text{R}^a\text{R}^b\text{N}$ -арилокси. В некоторых из этих примеров алкил- $\text{C}(\text{O})-\text{O}-$ или $\text{R}^a\text{R}^b\text{N}$ -арилокси необязательно замещены гало. В некоторых примерах R^3 означает $-\text{OH}$. В некоторых примерах R^3 означает алкил- $\text{C}(\text{O})-\text{O}-$. В некоторых примерах R^3 означает $\text{R}^a\text{R}^b\text{N}$ -арилокси.

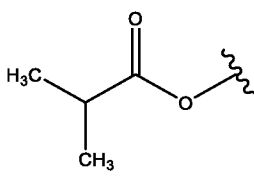
В некоторых примерах R^3 означает . В некоторых примерах R^3 означает

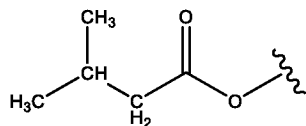


В некоторых примерах R^3 означает



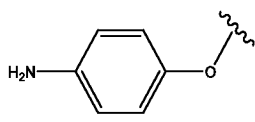
В

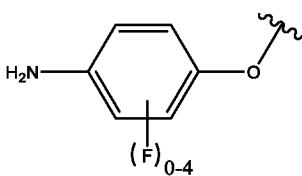
некоторых примерах R^3 означает . В некоторых примерах R^3 означает

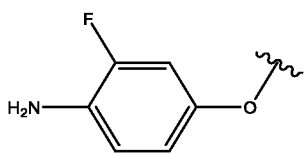


[0093] В некоторых примерах по Формуле (I) R^3 означает $-\text{OH}$, алкил- $\text{C}(\text{O})-\text{O}-$, гетероалкил, $-\text{NR}^a\text{R}^b$, или $\text{R}^a\text{R}^b\text{N}$ -арилокси, при этом алкил- $\text{C}(\text{O})-\text{O}-$, гетероалкил, $-\text{NR}^a\text{R}^b$, или $\text{R}^a\text{R}^b\text{N}$ -арилокси необязательно замещены гало. R^a и R^b в каждом случае независимо означают $-\text{H}$ или алкил.

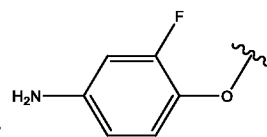
[0094] В некоторых примерах R^3 означает $\text{R}^a\text{R}^b\text{N}$ -арилокси, где R^a и R^b в каждом случае независимо означают $-\text{H}$ или алкил.

[0095] В некоторых примерах R^3 означает . В некоторых примерах R^3

означает . В некоторых примерах R^3 означает

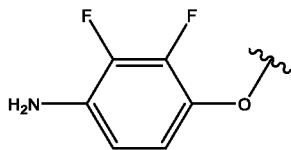


. В некоторых примерах R^3 означает



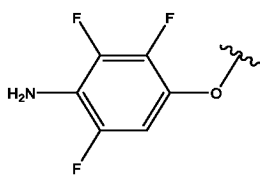
. В

некоторых примерах R^3 означает

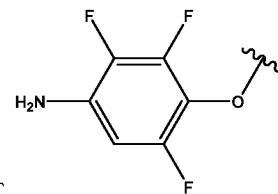


. В некоторых примерах R^3

означает

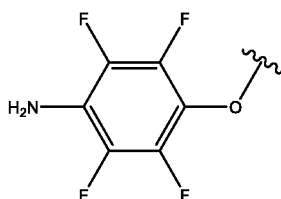


. В некоторых примерах R^3 означает

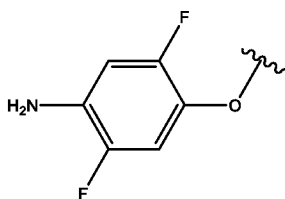


. В

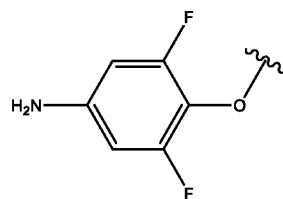
некоторых примерах R^3 означает



. В некоторых примерах R^3 означает

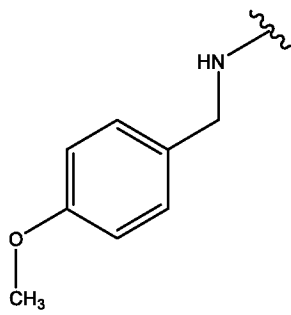


. В некоторых примерах R^3 означает



. В

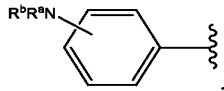
некоторых примерах R^3 означает CH_3



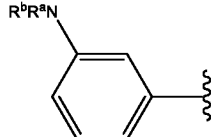
[0096] В некоторых примерах R^3 означает $R^a R^b N$ -арилокси, где R^a и R^b в каждом случае независимо означают $-H$ или алкил.

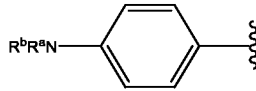
[0097] В некоторых примерах по Формуле (I) R^4 выбран из группы, включающей алкил, арил, арилалкил, и N-содержащий гетероциклоалкил. В некоторых из этих примеров алкил, арил, арилалкил, или N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещены $-NR^a R^b$. В некоторых примерах R^4 означает алкил в том числе метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, или нонил. В некоторых примерах R^4 означает метил. В некоторых примерах R^4 означает этил. В некоторых примерах R^4 означает n-пропил. В некоторых примерах R^4 означает i-пропил. В некоторых примерах R^4 означает n-бутил. В некоторых примерах R^4 означает i-бутил. В некоторых примерах R^4 означает t-бутил. В некоторых примерах R^4 означает втор-бутил. В некоторых примерах R^4 означает пентил. В

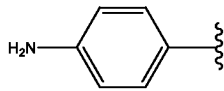
некоторых примерах R^4 означает гексил. В некоторых примерах R^4 означает гептил. В некоторых примерах R^4 означает октил, или нонил. В некоторых примерах R^4 означает арил в том числе фенил или нафтил. В некоторых примерах R^4 означает фенил. В некоторых примерах R^4 означает нафтил. В некоторых примерах R^4 означает арилалкил-, в том числе бензил. В некоторых примерах R^4 означает N-содержащий гетероциклоалкил в том числе пиперидинил. В некоторых примерах R^4 означает 4-амино-фенил. В некоторых примерах R^4 означает 4-аминофенил, необязательно замещенный гало.

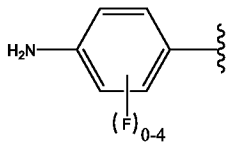
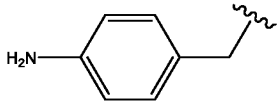
[0098] В некоторых примерах R^4 означает , где R^a и R^b в каждом случае независимо означают H или алкил.

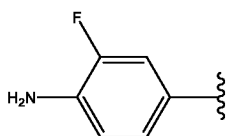
[0099] В некоторых примерах R^4 означает 

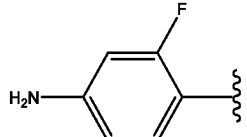
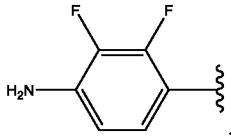
[0100] В некоторых примерах R^4 означает 

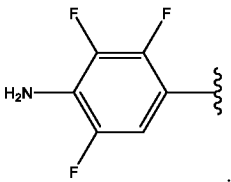
[0101] В некоторых примерах R^4 означает 

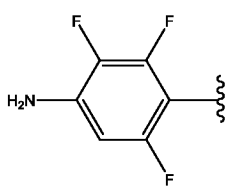
[0102] В некоторых примерах R^4 означает . В некоторых примерах R^4

означает . В некоторых примерах R^4 означает . В

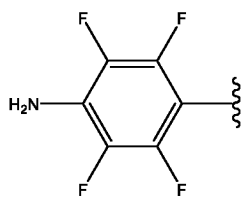
некоторых примерах R^4 означает . В некоторых примерах R^4 означает

. В некоторых примерах R^4 означает . В некоторых

примерах R^4 означает . В некоторых примерах R^4 означает

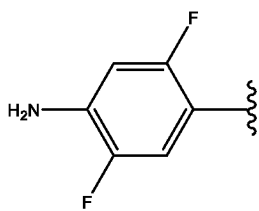


. В некоторых примерах R⁴ означает

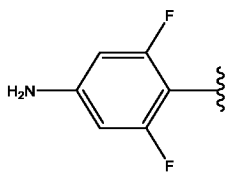


. В некоторых

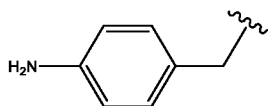
примерах R⁴ означает



. В некоторых примерах R⁴ означает

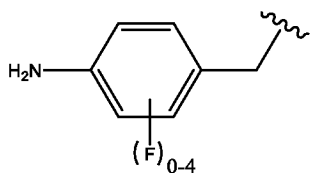


[0103] В некоторых примерах R⁴ означает

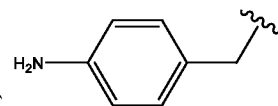


. В некоторых примерах R⁴

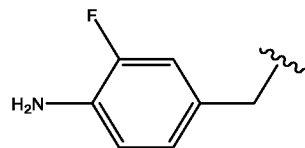
означает



. В некоторых примерах R⁴ означает

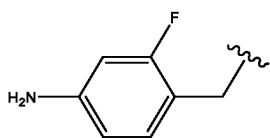


В некоторых примерах R⁴ означает

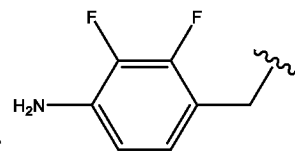


. В некоторых примерах R⁴

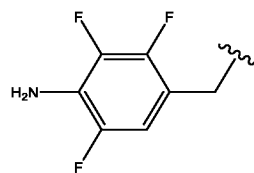
означает



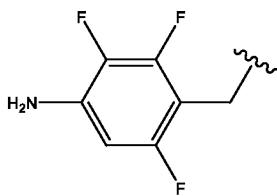
. В некоторых примерах R⁴ означает



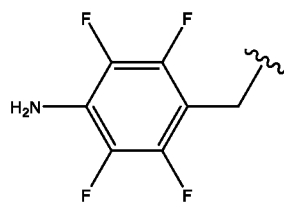
В некоторых примерах R⁴ означает



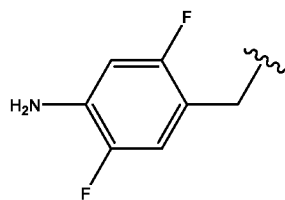
. В некоторых примерах R⁴ означает



. В некоторых примерах R⁴ означает

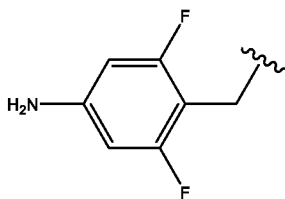


. В

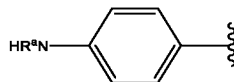


некоторых примерах R^4 означает

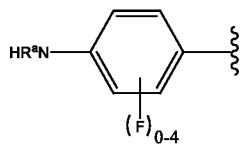
. В некоторых примерах R^4 означает



[0104] В некоторых примерах R^4 означает

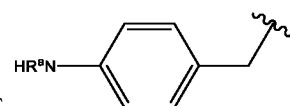


. В некоторых примерах R^4



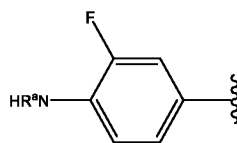
означает

. В некоторых примерах R^4 означает

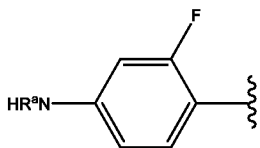


. В

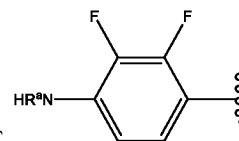
некоторых примерах R^4 означает



. В некоторых примерах R^4 означает

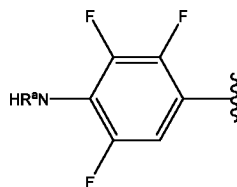


. В некоторых примерах R^4 означает

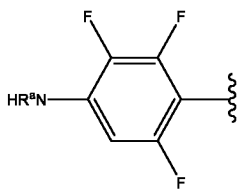


. В некоторых

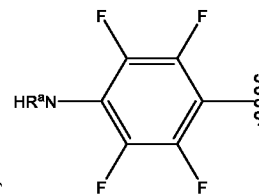
примерах R^4 означает



. В некоторых примерах R^4 означает

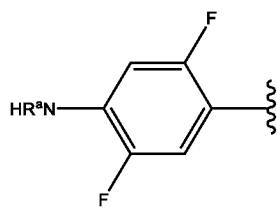


. В некоторых примерах R^4 означает

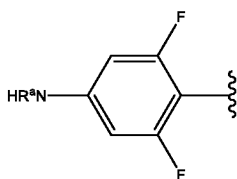


. В некоторых

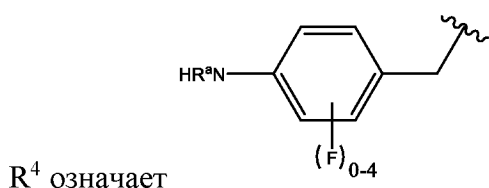
примерах R^4 означает



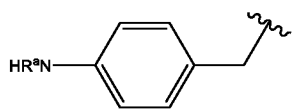
. В некоторых примерах R^4 означает



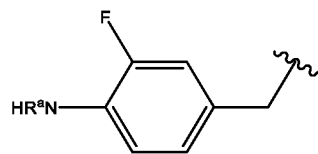
[0105] В некоторых примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах



. В некоторых примерах R⁴ означает

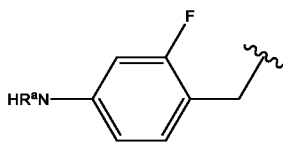


. В некоторых примерах R⁴ означает

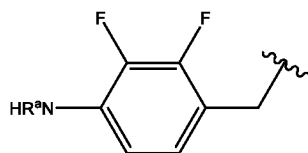


. В

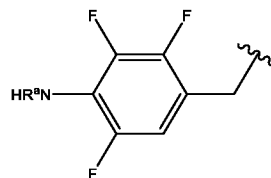
некоторых примерах R⁴ означает



. В некоторых примерах R⁴ означает

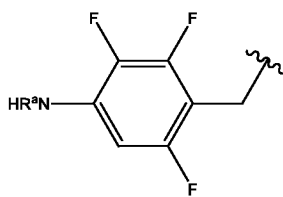


. В некоторых примерах R⁴ означает



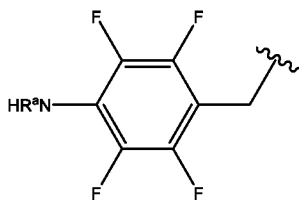
. В

некоторых примерах R⁴ означает

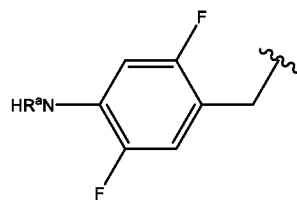


. В некоторых примерах R⁴

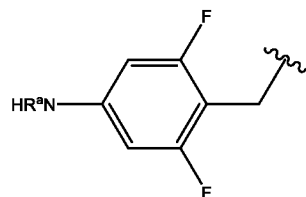
означает



. В некоторых примерах R⁴ означает

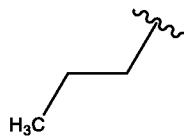


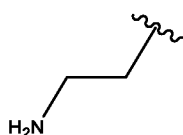
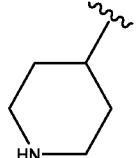
В некоторых примерах R⁴ означает

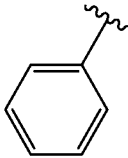


[0106] В некоторых примерах R⁴ означает алкил, замещенный аминами, в том числе метил-амино, этил-амино, пропил-амино, бутил-амино, пентил-амино, гексил-амино, гептил-амино, октил-амино, или нонил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает метил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает этил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает n-пропил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает i-пропил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает n-бутил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает i-бутил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает t-бутил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает

пентил–амино. В некоторых примерах R^4 означает гексил–амино. В некоторых примерах R^4 означает гептил–амино. В некоторых примерах R^4 означает октил–амино. В некоторых примерах R^4 означает нонил–амино.

[0107] В некоторых примерах R^4 означает . В некоторых примерах R^4

означает . В некоторых примерах R^4 означает . В некоторых

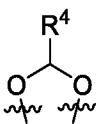
примерах R^4 означает .

[0108] В некоторых приведенных здесь примерах R^a и R^b в каждом случае независимо выбраны из H и алкил. В некоторых примерах R^a и R^b означают H. В некоторых примерах R^a и R^b означают метил. В некоторых примерах R^a и R^b означают этил. В некоторых примерах R^a и R^b означают пропил. В некоторых примерах один из R^a или R^b означает –H, а другой означает алкил. В некоторых примерах один из R^a или R^b означает –H, а другой означает метил. В некоторых примерах один из R^a или R^b означает –H, а другой означает этил. В некоторых примерах один из R^a или R^b означает –H, а другой означает пропил.

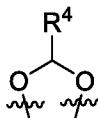
[0109] В некоторых примерах n означает целое число от 0 до 19. В некоторых примерах n означает 0. В других примерах n означает 1. В определенных примерах n означает 2. В других примерах n означает 3. В определенных примерах n означает 4. В некоторых примерах n означает 5. В других примерах n означает 6. В определенных примерах n означает 7. В других примерах n означает 8. В определенных примерах n означает 9. В некоторых примерах n означает 10. В других примерах n означает 11. В определенных примерах n означает 12. В других примерах n означает 13. В определенных примерах n означает 14. В некоторых примерах n означает 15. В других примерах n означает 16. В определенных примерах n означает 17. В других примерах n означает 18. В определенных примерах n означает 19.

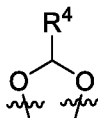
[0110] В некоторых примерах по Формуле (I) R^3 не является –ОН, когда R^1 означает –ОН.

[0111] В некоторых примерах по Формуле (I) R^3 не является –ОН, когда R^1 и R^2 вместе

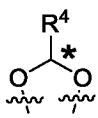
образуют , где R^4 означает C_{1-9} алкил или 4–(диметил–амино)–фенил.

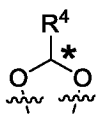
[0112] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (I), где R¹ и R²



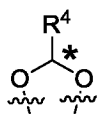
вместе образуют . В некоторых из этих примеров R⁴ означает алкил, арил, арилалкил, или а N-содержащий гетероциклоалкил. В определенных примерах алкил, арил, гетероарил, арилалкил, или N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещены –NR^aR^b. В некоторых из этих примеров R⁴ означает алкил. В некоторых из этих примеров R⁴ означает арил. В некоторых из этих примеров R⁴ означает арилалкил. В некоторых из этих примеров R⁴ означает N-содержащий гетероциклоалкил. В некоторых примерах R⁴ означает алкил в том числе метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, или нонил. В некоторых примерах R⁴ означает метил. В некоторых примерах R⁴ означает этил. В некоторых примерах R⁴ означает n-пропил. В некоторых примерах R⁴ означает i-пропил. В некоторых примерах R⁴ означает n-бутил. В некоторых примерах R⁴ означает i-бутил. В некоторых примерах R⁴ означает t-бутил. В некоторых примерах R⁴ означает втор-бутил. В некоторых примерах R⁴ означает пентил. В некоторых примерах R⁴ означает гексил. В некоторых примерах R⁴ означает гептил. В некоторых примерах R⁴ означает октил, или нонил. В некоторых примерах R⁴ означает арил, в том числе фенил или нафтил. В некоторых примерах R⁴ означает фенил. В некоторых примерах R⁴ означает нафтил. В некоторых примерах R⁴ означает гетероарил-, в том числе тиофен или фенол. В некоторых примерах R⁴ означает арилалкил-, в том числе бензил. В некоторых примерах R⁴ означает N-содержащий гетероциклоалкил, в том числе пиперидинил. В некоторых примерах R⁴ означает 4-амино-фенил. В некоторых примерах R⁴ означает 4-аминофенил, необязательно замещенный гало.

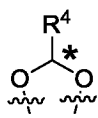
[0113] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (I), где R¹ и R²



вместе образуют , где R⁴ выбран из группы, включающей алкил, арил, арилалкил, и а N-содержащий гетероциклоалкил; и где алкил, арил, арилалкил, или N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещены –NR^aR^b; и где стереохимия углерода, обозначенная символом *, означает конфигурацию R.

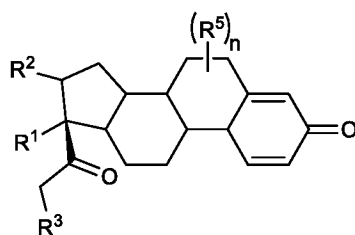
[0114] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (I), где R¹ и R²



вместе образуют  где R⁴ выбран из группы, включающей алкил, арил, арилалкил, и а N-содержащий гетероциклоалкил; и где алкил, арил, арилалкил, или N-содержащий

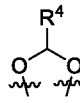
гетероциклоалкил необязательно замещены $-NR^aR^b$; и где стереохимия углерода, обозначенная символом *, означает конфигурацию S.

[0115] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (I), где соединение имеет структуру по Формуле (PIa):



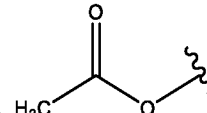
(PIa).

В некоторых из этих примеров R¹ и R² независимо выбраны из -H, алкил, алкил-C(O)-O-,

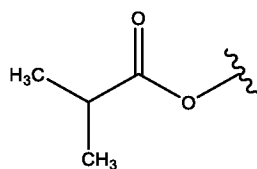
-OH, и гало. В других примерах R¹ и R² вместе образуют . В определенных примерах R¹ означает -H. В других примерах R¹ означает алкил. В некоторых примерах R¹ означает алкил-C(O)-O-. В других примерах R¹ означает -OH. В определенных примерах R¹ означает гало. В других примерах R¹ означает -F. В некоторых примерах R¹ означает -Cl. В других примерах R¹ означает -Br. В определенных примерах R¹ означает -I. В других примерах R² означает -OH. В некоторых примерах R² означает гало. В других примерах R² означает -F. В определенных примерах R² означает -Cl. В других примерах R² означает -Br. В некоторых примерах R² означает -I.

[0116] В некоторых примерах по Формуле (PIa) R⁵ означает -OH. В некоторых примерах R⁵ означает гало, в том числе -F, -Cl, -Br, или -I. В некоторых примерах R⁵ означает -F. В некоторых примерах R⁵ означает -Cl. В некоторых примерах R⁵ означает -Br. В некоторых примерах R⁵ означает -I. В некоторых примерах R⁵ означает алкил, в том числе метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил или нонил.

[0117] В некоторых примерах по Формуле (PIa) R³ выбран из -OH, алкил-C(O)-O-, и R^aR^bN-арилокси. В некоторых из этих примеров алкил-C(O)-O- или R^aR^bN-арилокси необязательно замещены гало. В некоторых примерах R³ означает -OH. В некоторых примерах R³ означает алкил-C(O)-O-. В некоторых примерах R³ означает R^aR^bN-

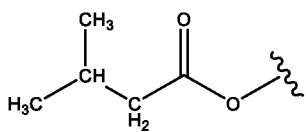
арилокси-. В некоторых примерах R³ означает . В некоторых примерах R³

означает . В некоторых примерах R³ означает . В



некоторых примерах R^3 означает

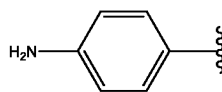
. В некоторых примерах R^3 означает



. В некоторых примерах R^3 означает R^aR^bN -арилокси-. В некоторых примерах R^3 означает $-NR^aR^b$ -арилокси.

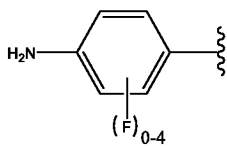
[0118] В некоторых примерах по Формуле (PIa) R^4 выбран из группы, включающей алкил, арил, арилалкил и N-содержащий гетероциклоалкил. В некоторых из этих примеров алкил, арил, арилалкил или N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещены $-NR^aR^b$. В некоторых примерах R^4 означает алкил, в том числе метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил или нонил. В некоторых примерах R^4 означает метил. В некоторых примерах R^4 означает этил. В некоторых примерах R^4 означает n-пропил. В некоторых примерах R^4 означает i-пропил. В некоторых примерах R^4 означает n-бутил. В некоторых примерах R^4 означает i-бутил. В некоторых примерах R^4 означает t-бутил. В некоторых примерах R^4 означает пентил. В некоторых примерах R^4 означает гексил. В некоторых примерах R^4 означает гептил. В некоторых примерах R^4 означает октил или нонил. В некоторых примерах R^4 означает арил, в том числе фенил или нафтил. В некоторых примерах R^4 означает фенил. В некоторых примерах R^4 означает нафтил. В некоторых примерах R^4 означает арилалкил, в том числе бензил. В некоторых примерах R^4 означает N-содержащий гетероциклоалкил, в том числе пиперидинил. В некоторых примерах R^4 означает 4-амино-фенил. В некоторых примерах R^4 означает 4-аминофенил, необязательно замещенный гало.

[0119] В некоторых примерах R^4 означает

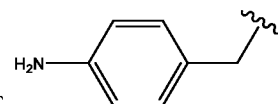


. В некоторых примерах R^4

означает

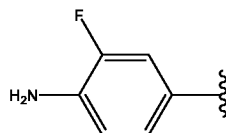


. В некоторых примерах R^4 означает

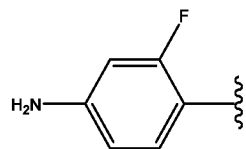


. В

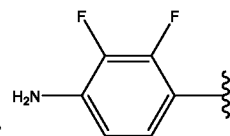
некоторых примерах R^4 означает



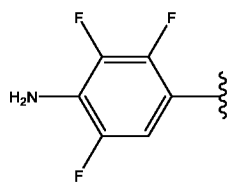
. В некоторых примерах R^4 означает



. В некоторых примерах R^4 означает

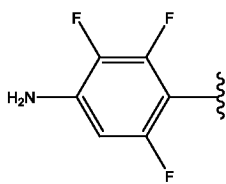


. В некоторых

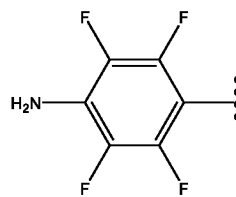


примерах R^4 означает

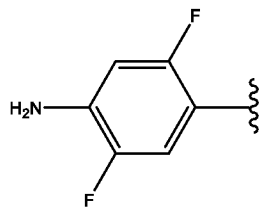
. В некоторых примерах R^4 означает



. В некоторых примерах R^4 означает

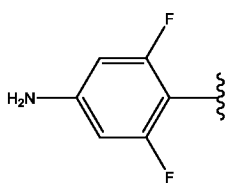


. В некоторых

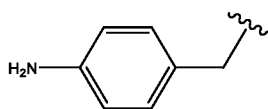


примерах R^4 означает

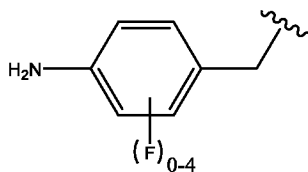
. В некоторых примерах R^4 означает



[0120] В некоторых примерах R^4 означает

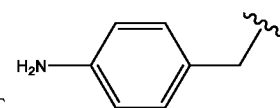


. В некоторых примерах R^4

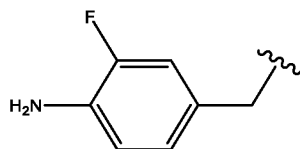


означает

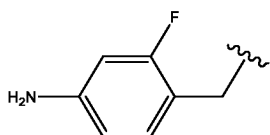
. В некоторых примерах R^4 означает



В некоторых примерах R^4 означает

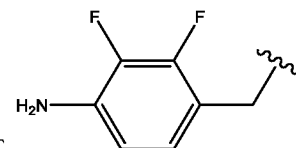


. В некоторых примерах R^4



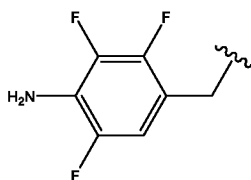
означает

. В некоторых примерах R^4 означает

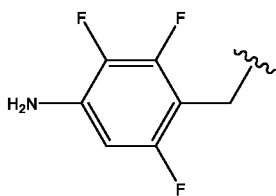


. В

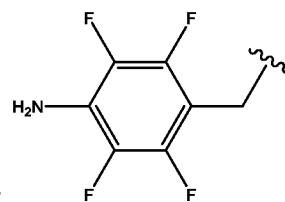
некоторых примерах R^4 означает



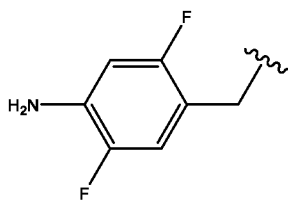
. В некоторых примерах R^4 означает



. В некоторых примерах R^4 означает

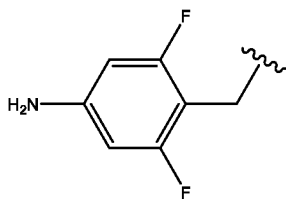


. В



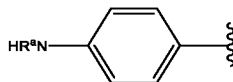
некоторых примерах R^4 означает

. В некоторых примерах R^4

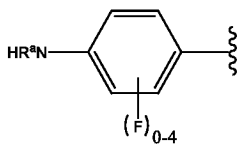


означает

[0121] В некоторых примерах R^4 означает

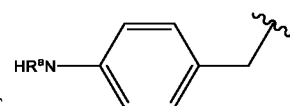


. В некоторых примерах R^4



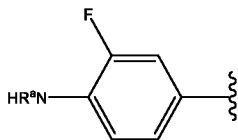
означает

. В некоторых примерах R^4 означает

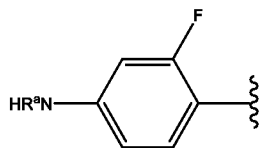


. В

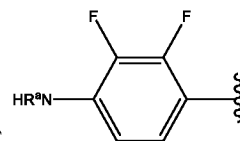
некоторых примерах R^4 означает



. В некоторых примерах R^4 означает

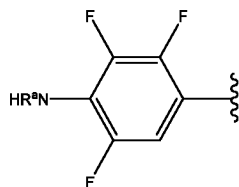


. В некоторых примерах R^4 означает

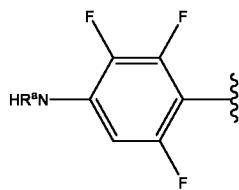


. В некоторых

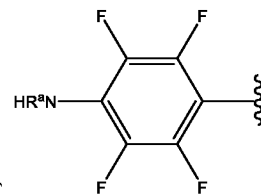
примерах R^4 означает



. В некоторых примерах R^4 означает

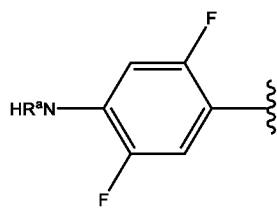


. В некоторых примерах R^4 означает

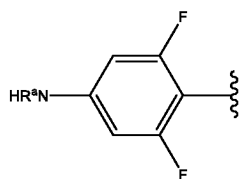


. В некоторых

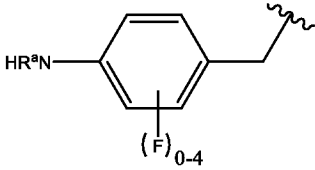
примерах R^4 означает

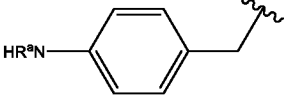
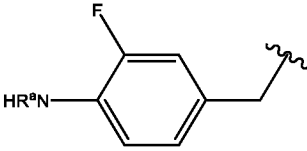


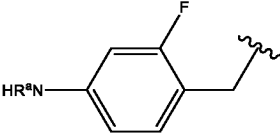
. В некоторых примерах R^4 означает



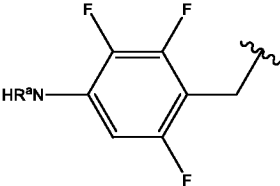
[0122] В некоторых примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах

R⁴ означает  . В некоторых примерах R⁴ означает

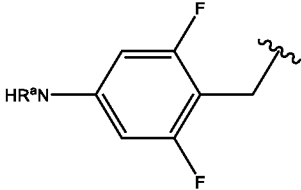
 . В некоторых примерах R⁴ означает  .

В некоторых примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах R⁴

означает  . В некоторых примерах R⁴ означает  .

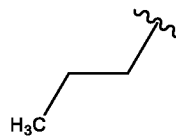
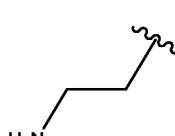
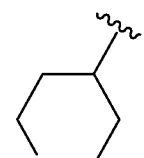
В некоторых примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах R⁴

означает  . В некоторых примерах R⁴ означает  . В

некоторых примерах R⁴ означает  .

[0123] В некоторых примерах R⁴ означает алкил, замещеный амино, в том числе метил-амино, этил-амино, пропил-амино, бутил-амино, пентил-амино, гексил-амино, гептил-амино, октил-амино или нонил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает метил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает этил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает n-пропил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает i-пропил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает n-бутил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает i-бутил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает t-бутил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает

пентил–амино. В некоторых примерах R^4 означает гексил–амино. В некоторых примерах R^4 означает гептил–амино. В некоторых примерах R^4 означает октил–амино. В некоторых примерах R^4 означает нонил–амино.

[0124] В некоторых примерах R^4 означает . В некоторых примерах R^4 означает . В некоторых примерах R^4 означает .

[0125] В некоторых приведенных здесь примерах R^a и R^b в каждом случае независимо выбраны из –H или алкил. В некоторых примерах R^a и R^b означают –H. В некоторых примерах R^a и R^b означают метил. В некоторых примерах R^a и R^b означают этил. В некоторых примерах R^a и R^b означают пропил. В некоторых примерах один из R^a или R^b означает –H, а другой означает алкил. В некоторых примерах один из R^a или R^b означает –H, а другой означает метил. В некоторых примерах один из R^a или R^b означает –H, а другой означает этил. В некоторых примерах один из R^a или R^b означает –H, а другой означает пропил.

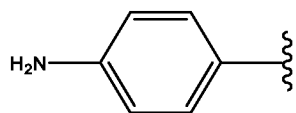
[0126] В некоторых примерах по Формуле (PIa) n означает целое число от 0 до 19. В некоторых примерах n означает 0. В других примерах n означает 1. В определенных примерах n означает 2. В других примерах n означает 3. В определенных примерах n означает 4. В некоторых примерах n означает 5. В других примерах n означает 6. В определенных примерах n означает 7. В других примерах n означает 8. В определенных примерах n означает 9. В некоторых примерах n означает 10. В других примерах n означает 11. В определенных примерах n означает 12. В других примерах n означает 13. В определенных примерах n означает 14. В некоторых примерах n означает 15. В других примерах n означает 16. В определенных примерах n означает 17. В других примерах n означает 18. В определенных примерах n означает 19.

[0127] В некоторых примерах по Формуле (PIa) R^3 не является –OH, когда R^1 означает –OH.

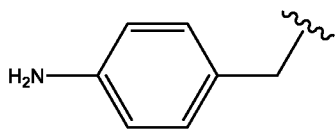
[0128] В некоторых примерах по Формуле (PIa) R^3 не является –OH, когда R^1 и R^2 вместе

образуют , где R^4 означает C_{1-9} алкил или 4–(диметил–амино)–фенил. В некоторых

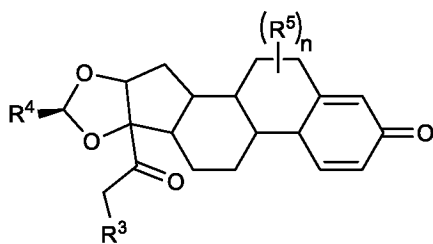
примерах R^4 означает



. В некоторых примерах R^4 означает

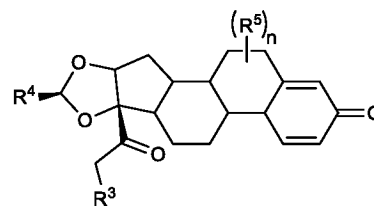


[0129] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (PIa), где соединение имеет структуру по Формуле (PIb-1) или (PIb-2):



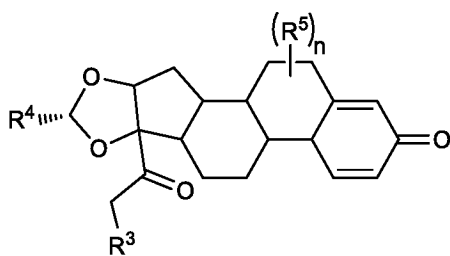
(PIb-1)

или



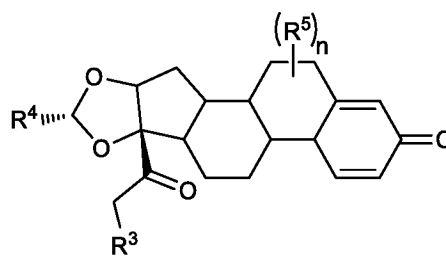
(PIb-2)

[0130] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (PIa), где соединение имеет структуру по Формуле (PIc-1) или (PIc-2):



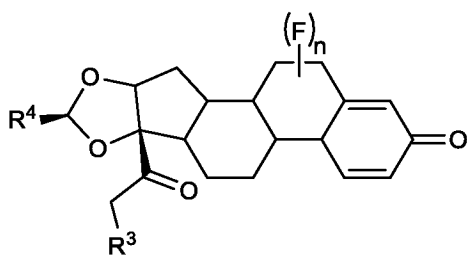
(PIc-1)

или



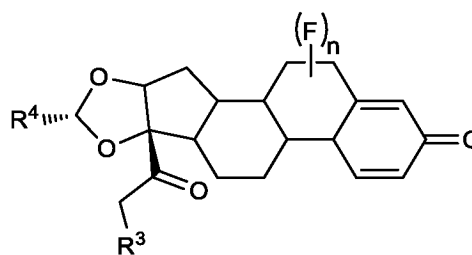
(PIc-2)

[0131] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (PIa), где соединение имеет структуру по Формуле (PId-1) или (PId-2):



(PId-1)

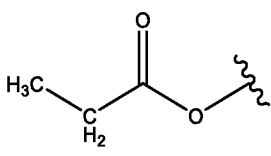
или

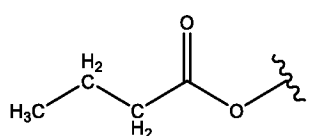
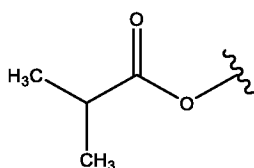


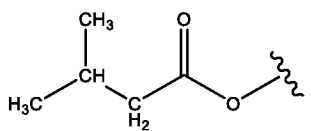
(PId-2)

В некоторых примерах n означает 0. В некоторых примерах n означает 1. В некоторых примерах n означает 2.

[0132] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (I), где соединение имеет структуру по Формуле (PIe-1) или (PIe-2):

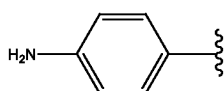
примерах R^3 означает . В некоторых примерах R^3 означает

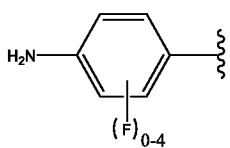
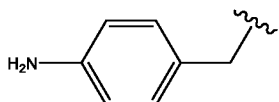
. В некоторых примерах R^3 означает . В некоторых

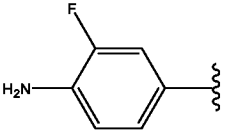
примерах R^3 означает . В некоторых примерах R^3 означает R^aR^bN -арилокси-. В некоторых примерах R^3 означает $-NR^aR^b$ -арилокси.

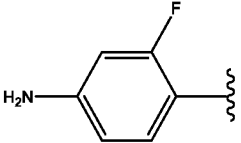
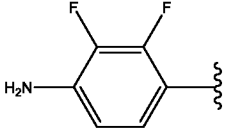
[0140] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (PIa), (PIb-1), (PIb-2), (PIc-1), (PIc-2), (PId-1), (PId-2), (PIe-1) или (PIe-2), где R^3 означает R^aR^bN -арилокси-, где R^a и R^b в каждом случае независимо означают H или алкил.

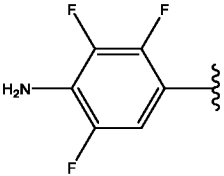
[0141] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (PIa), (PIb-1), (PIb-2), (PIc-1), (PIc-2), (PId-1), (PId-2), (PIe-1) или (PIe-2), где R^4 выбран из группы, включающей алкил, арил, арилалкил и N-содержащий гетероциклоалкил. В некоторых из этих примеров алкил, арил, арилалкил или N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещены $-NR^aR^b$. В некоторых примерах R^4 означает алкил, в том числе метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, или нонил. В некоторых примерах R^4 означает метил. В некоторых примерах R^4 означает этил. В некоторых примерах R^4 означает n-пропил. В некоторых примерах R^4 означает i-пропил. В некоторых примерах R^4 означает n-бутил. В некоторых примерах R^4 означает i-бутил. В некоторых примерах R^4 означает t-бутил. В некоторых примерах R^4 означает пентил. В некоторых примерах R^4 означает гексил. В некоторых примерах R^4 означает гептил. В некоторых примерах R^4 означает октил, или нонил. В некоторых примерах R^4 означает арил, в том числе фенил или нафтил. В некоторых примерах R^4 означает фенил. В некоторых примерах R^4 означает нафтил. В некоторых примерах R^4 означает арилалкил-в том числе бензил. В некоторых примерах R^4 означает N-содержащий гетероциклоалкил, в том числе пиперидинил. В некоторых примерах R^4 означает 4-амино-фенил. В некоторых примерах R^4 означает 4-аминофенил, необязательно замещенный гало.

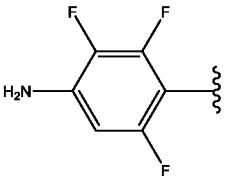
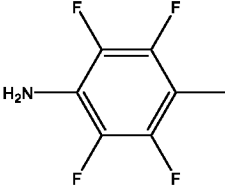
[0142] В некоторых примерах R^4 означает . В некоторых примерах R^4

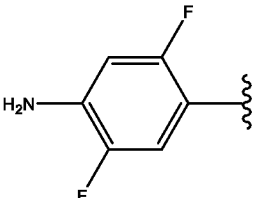
означает . В некоторых примерах R^4 означает . В

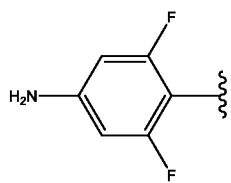
некоторых примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах R⁴ означает

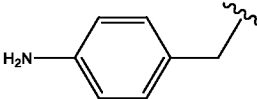
 . В некоторых примерах R⁴ означает  . В некоторых

примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах R⁴ означает

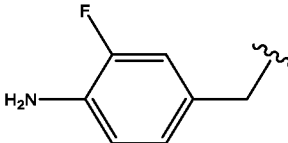
 . В некоторых примерах R⁴ означает  . В некоторых

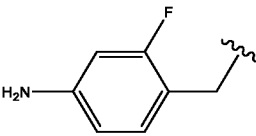
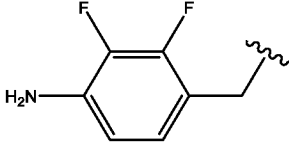
примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах R⁴ означает

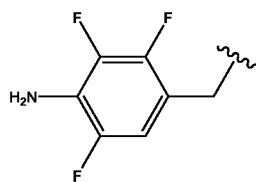


[0143] В некоторых примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах R⁴

означает  . В некоторых примерах R⁴ означает  .

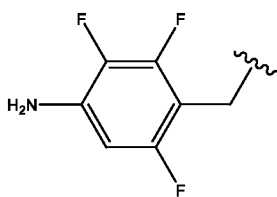
В некоторых примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах R⁴

означает  . В некоторых примерах R⁴ означает  . В

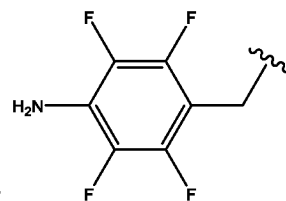


некоторых примерах R^4 означает

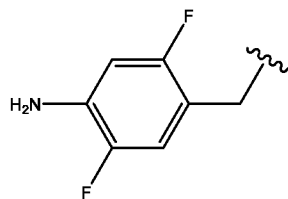
. В некоторых примерах R^4 означает



. В некоторых примерах R^4 означает

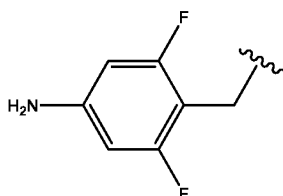


. В



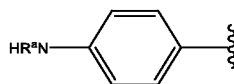
некоторых примерах R^4 означает

. В некоторых примерах R^4

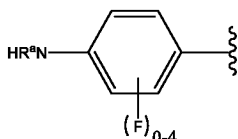


означает

[0144] В некоторых примерах R^4 означает

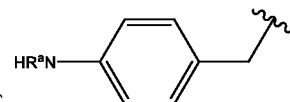


. В некоторых примерах R^4



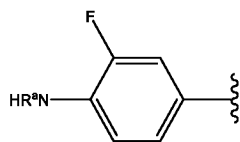
означает

. В некоторых примерах R^4 означает

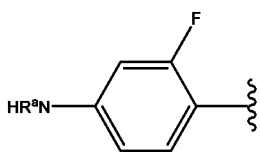


. В

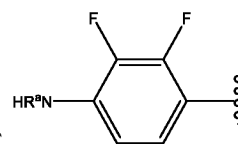
некоторых примерах R^4 означает



. В некоторых примерах R^4 означает

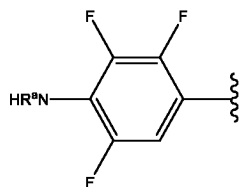


. В некоторых примерах R^4 означает

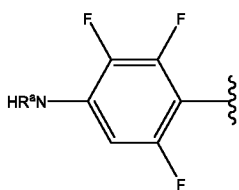


. В некоторых

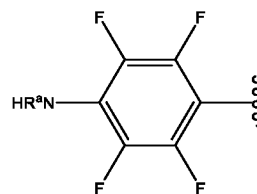
примерах R^4 означает



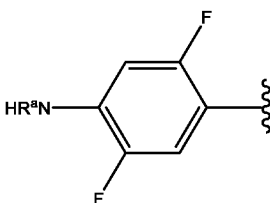
. В некоторых примерах R^4 означает

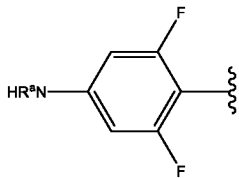


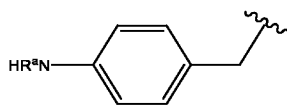
. В некоторых примерах R^4 означает

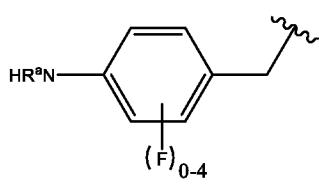


. В некоторых

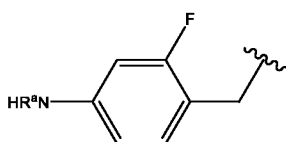
примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах R⁴ означает

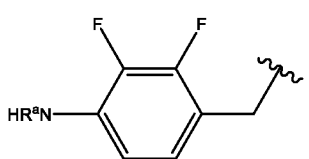
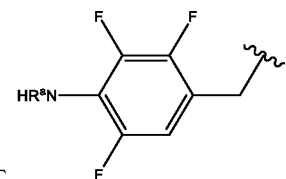


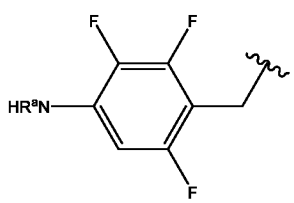
[0145] В некоторых примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах

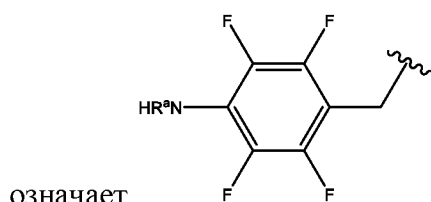
R⁴ означает  . В некоторых примерах R⁴ означает

 . В некоторых примерах R⁴ означает  . В

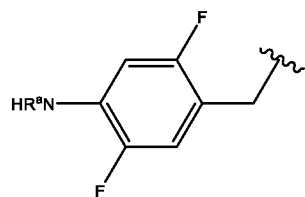
некоторых примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах R⁴ означает

 . В некоторых примерах R⁴ означает  . В

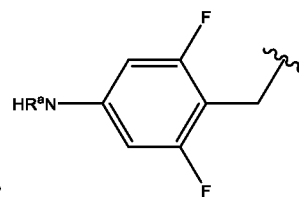
некоторых примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах R⁴



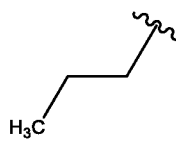
. В некоторых примерах R⁴ означает



. В некоторых примерах R⁴ означает

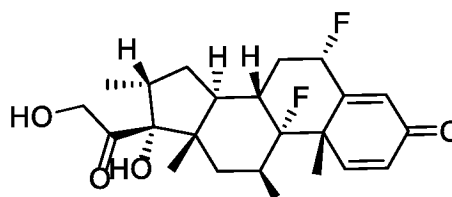
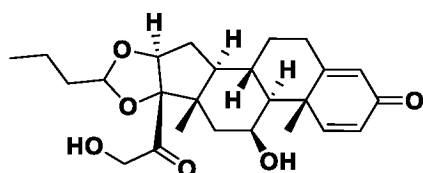


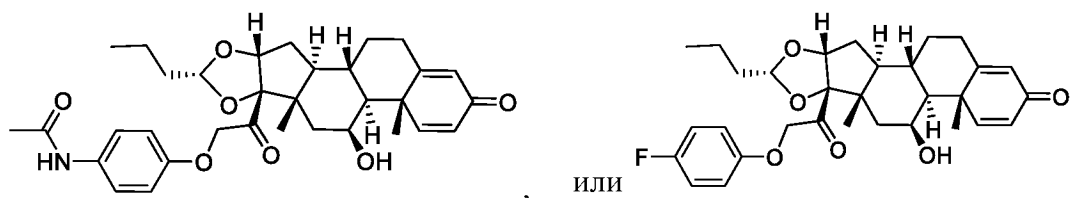
[0146] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (PIa), (PIb-1), (PIb-2), (PIc-1), (PIc-2), (PIId-1), (PIId-2), (PIE-1) или (PIE-2), где R⁴ означает алкил замещены амино, в том числе метил-амино, этил-амино, пропил-амино, бутил-амино, пентил-амино, гексил-амино, гептил-амино, октил-амино или нонил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает метил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает этил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает n-пропил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает i-пропил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает n-бутил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает i-бутил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает t-бутил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает пентил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает гексил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает гептил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает октил-амино. В некоторых примерах R⁴ означает нонил-амино.

[0147] В некоторых примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах R⁴

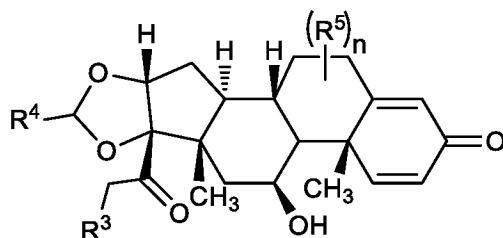
означает  . В некоторых примерах R⁴ означает .

[0148] Соединение по Формуле (I) не является одним из следующих соединений:





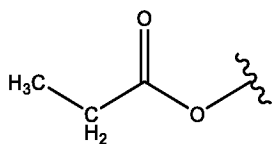
[0149] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (I), где соединение имеет структуру по Формуле (PII):



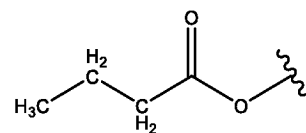
(PII).

[0150] В Формуле (PII) R^3 выбран из $-\text{OH}$, алкил- $\text{C}(\text{O})-\text{O}-$, или $\text{R}^a\text{R}^b\text{N}$ -арилокси. В некоторых из этих примеров алкил- $\text{C}(\text{O})-\text{O}-$ или $\text{R}^a\text{R}^b\text{N}$ -арилокси необязательно замещены гало. В некоторых примерах R^3 означает $-\text{OH}$. В некоторых примерах R^3 означает алкил- $\text{C}(\text{O})-\text{O}-$. В некоторых примерах R^3 означает $\text{R}^a\text{R}^b\text{N}$ -арилокси-. В некоторых

примерах R^3 означает $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-$. В некоторых примерах R^3 означает

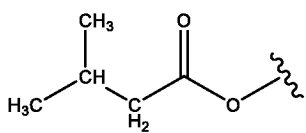


. В некоторых примерах R^3 означает



. В

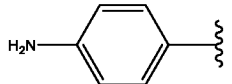
некоторых примерах R^3 означает $\text{H}_3\text{C}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{C}(\text{O})-\text{O}-$. В некоторых примерах R^3 означает

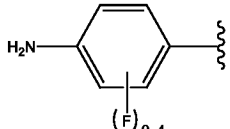
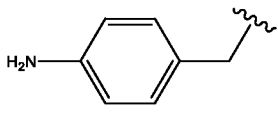


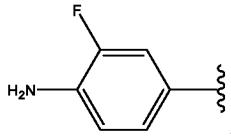
. В некоторых примерах R^3 означает $\text{R}^a\text{R}^b\text{N}$ -арилокси-.

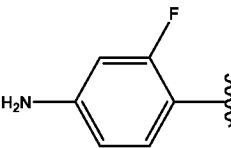
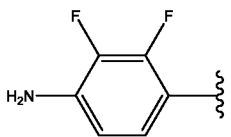
[0151] В некоторых примерах по Формуле (PII) R^4 выбран из группы, включающей алкил, арил, арилалкил, и N-содержащий гетероциклоалкил. В некоторых из этих примеров алкил, арил, арилалкил или N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещены $-\text{NR}^a\text{R}^b$. В некоторых примерах R^4 означает алкил, в том числе метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, или нонил. В некоторых примерах R^4 означает метил. В некоторых примерах R^4 означает этил. В некоторых примерах R^4 означает n-пропил. В некоторых примерах R^4 означает i-пропил. В некоторых примерах R^4 означает n-бутил. В некоторых

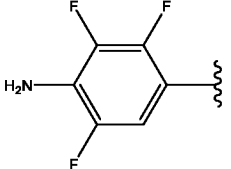
примерах R^4 означает *i*-бутил. В некоторых примерах R^4 означает *t*-бутил. В некоторых примерах R^4 означает втор-бутил. В некоторых примерах R^4 означает пентил. В некоторых примерах R^4 означает гексил. В некоторых примерах R^4 означает гептил. В некоторых примерах R^4 означает октил или нонил. В некоторых примерах R^4 означает арил, в том числе фенил или нафтил. В некоторых примерах R^4 означает фенил. В некоторых примерах R^4 означает нафтил. В некоторых примерах R^4 означает арилалкил–в том числе бензил. В некоторых примерах R^4 означает N-содержащий гетероциклоалкил, в том числе пиперидинил. В некоторых примерах R^4 означает 4-амино-фенил. В некоторых примерах R^4 означает 4-аминофенил, необязательно замещенный гало.

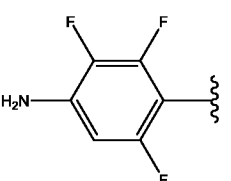
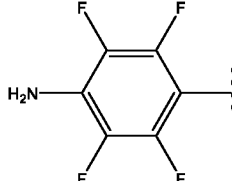
[0152] В некоторых примерах R^4 означает . В некоторых примерах R^4

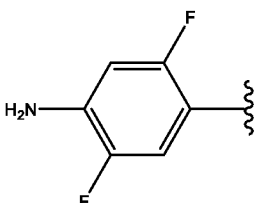
означает . В некоторых примерах R^4 означает . В

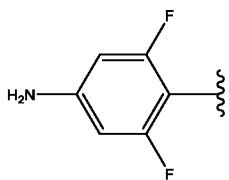
некоторых примерах R^4 означает . В некоторых примерах R^4 означает

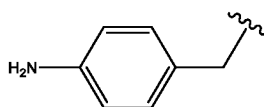
. В некоторых примерах R^4 означает . В некоторых

примерах R^4 означает . В некоторых примерах R^4 означает

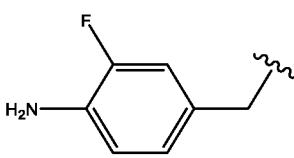
. В некоторых примерах R^4 означает . В некоторых

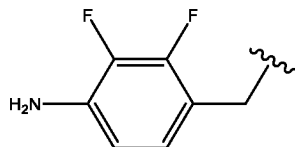
примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах R⁴ означает

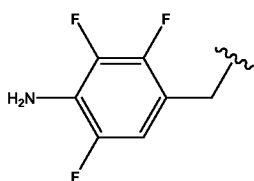


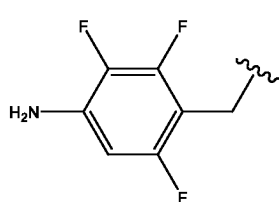
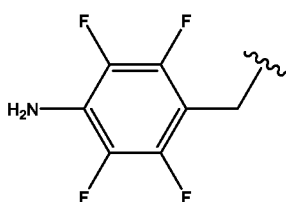
[0153] В некоторых примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах R⁴

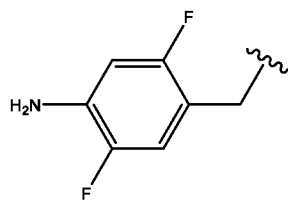
означает  . В некоторых примерах R⁴ означает  .

В некоторых примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах R⁴

означает  . В некоторых примерах R⁴ означает  . В

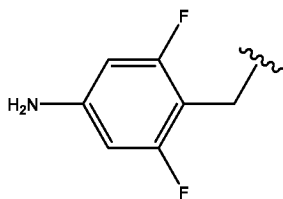
некоторых примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах R⁴ означает

 . В некоторых примерах R⁴ означает  . В



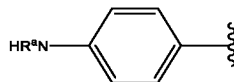
некоторых примерах R^4 означает

. В некоторых примерах R^4

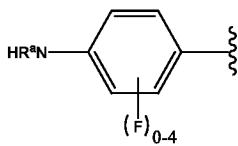


означает

[0154] В некоторых примерах R^4 означает

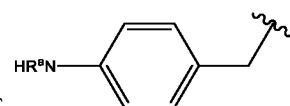


. В некоторых примерах R^4



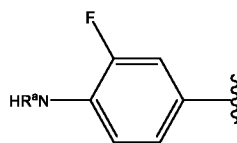
означает

. В некоторых примерах R^4 означает

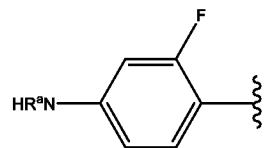


. В

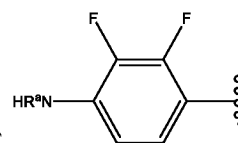
некоторых примерах R^4 означает



. В некоторых примерах R^4 означает

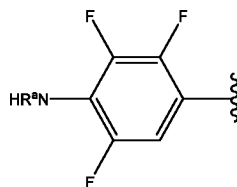


. В некоторых примерах R^4 означает

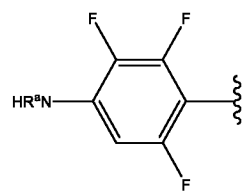


. В некоторых

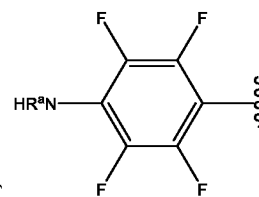
примерах R^4 означает



. В некоторых примерах R^4 означает

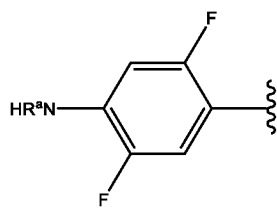


. В некоторых примерах R^4 означает

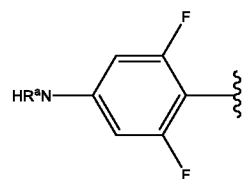


. В некоторых

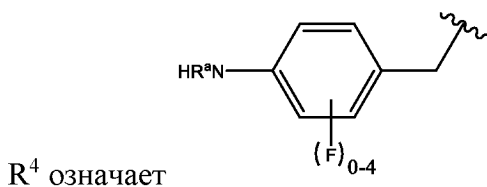
примерах R^4 означает



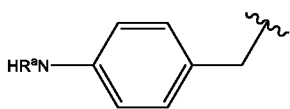
. В некоторых примерах R^4 означает



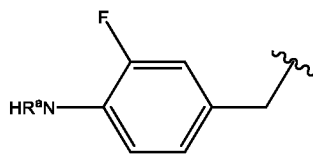
[0155] В некоторых примерах R^4 означает  . В некоторых примерах



. В некоторых примерах R^4 означает

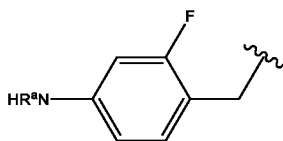


. В некоторых примерах R^4 означает

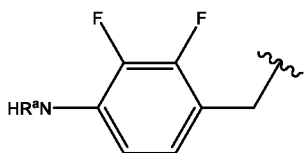


. В

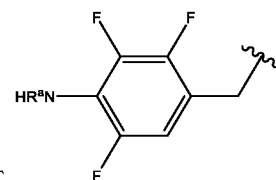
некоторых примерах R^4 означает



. В некоторых примерах R^4 означает

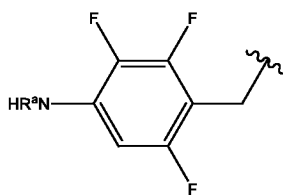


. В некоторых примерах R^4 означает



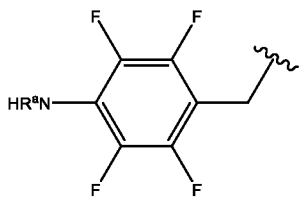
. В

некоторых примерах R^4 означает

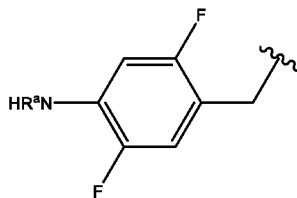


. В некоторых примерах R^4

означает



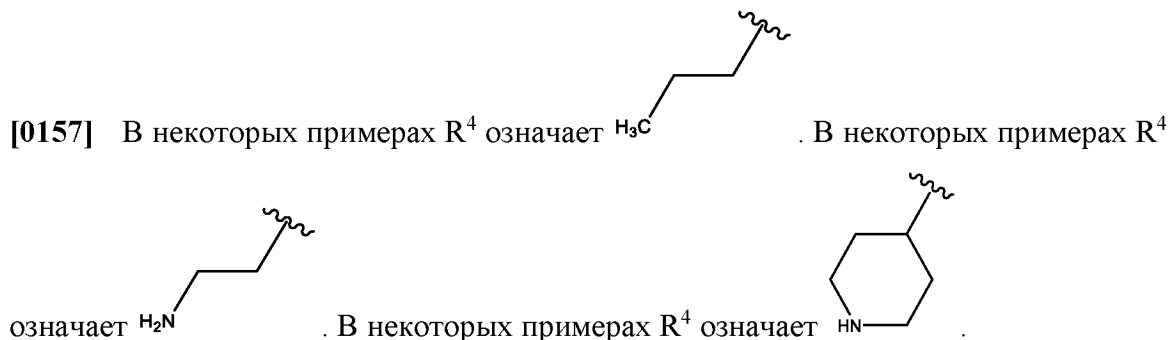
. В некоторых примерах R^4 означает



В некоторых примерах R^4 означает

[0156] В некоторых примерах R^4 означает алкил, замещенный аминами, в том числе метил-амино, этил-амино, пропил-амино, бутил-амино, пентил-амино, гексил-амино, гептил-амино, октил-амино или нонил-амино. В некоторых примерах R^4 означает метил-амино. В некоторых примерах R^4 означает этил-амино. В некоторых примерах R^4 означает *n*-пропил-амино. В некоторых примерах R^4 означает *i*-пропил-амино. В некоторых примерах R^4 означает *n*-бутил-амино. В некоторых примерах R^4 означает *i*-бутил-амино. В некоторых примерах R^4 означает *t*-бутил-амино. В некоторых примерах R^4 означает

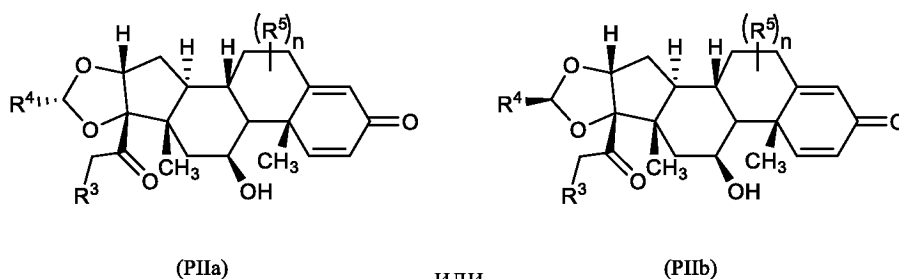
пентил–амино. В некоторых примерах R^4 означает гексил–амино. В некоторых примерах R^4 означает гептил–амино. В некоторых примерах R^4 означает октил–амино. В некоторых примерах R^4 означает нонил–амино.



[0158] В некоторых приведенных здесь примерах R^a и R^b в каждом случае независимо выбраны из H или алкил. В некоторых примерах R^a и R^b означают –H. В некоторых примерах R^a и R^b означают метил. В некоторых примерах R^a и R^b означают этил. В некоторых примерах R^a и R^b означают пропил. В некоторых примерах один из R^a или R^b означает –H, а другой означает алкил. В некоторых примерах один из R^a или R^b означает –H, а другой означает метил. В некоторых примерах один из R^a или R^b означает –H, а другой означает этил. В некоторых примерах один из R^a или R^b означает –H, а другой означает пропил.

[0159] В некоторых примерах по Формуле (PII) n означает целое число от 0 до 19. В некоторых примерах n означает 0. В других примерах n означает 1. В определенных примерах n означает 2. В других примерах n означает 3. В определенных примерах n означает 4. В некоторых примерах n означает 5. В других примерах n означает 6. В определенных примерах n означает 7. В других примерах n означает 8. В определенных примерах n означает 9. В некоторых примерах n означает 10. В других примерах n означает 11. В определенных примерах n означает 12. В других примерах n означает 13. В определенных примерах n означает 14. В некоторых примерах n означает 15. В других примерах n означает 16. В определенных примерах n означает 17. В других примерах n означает 18. В определенных примерах n означает 19.

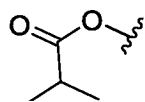
[0160] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (I), где соединение имеет структуру по Формуле (PIa) или (PIb):



[0161] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (P1a) или (P1b), где R^4 выбран из 4-амино-фенил, 4-амино-1-метил-фенил, 2-амино-этил, пиперидинил, или пропил. В некоторых примерах R^4 означает 4-амино-фенил. В некоторых примерах R^4 означает 4-амино-1-метил-фенил. В некоторых примерах R^4 означает 2-амино-этил. В некоторых примерах R^4 означает пиперидинил. В некоторых примерах R^4 означает пропил. В некоторых примерах R^4 означает n-пропил. В некоторых примерах R^4 означает i-пропил.

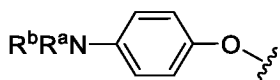
[0162] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (P1a) или (P1b), где R^3 выбран из алкил-C(O)-O- или R^aR^bN -арилокси; при этом алкил-C(O)-O- или R^aR^bN -арилокси необязательно замещены гало.

[0163] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (P1a) или (P1b),



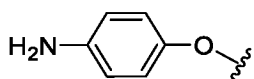
где R^3 означает

[0164] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (P1a) или (P1b),



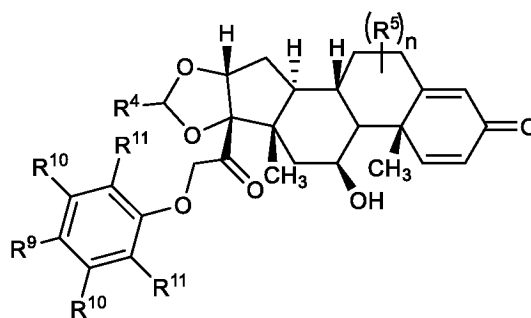
где R^3 означает

[0165] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (P1a) или (P1b),



где R^3 означает

[0166] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (P1a) или (P1b), где соединение имеет структуру по Формуле (P11):

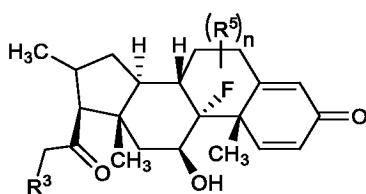


(P11)

[0167] В Формуле (P11) R^9 выбран из H или $-NR^aR^b$. В некоторых примерах R^9 означает H. В других примерах R^9 означает $-NR^aR^b$, R^4 , R^4 и нижний индекс n определяются по Формуле I и отмечены выше.

[0168] В Формуле (P11) R^{10} и R^{11} в каждом случае независимо выбраны из H, F или $-NR^aR^b$.

[0169] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (P11), где соединение имеет структуру по Формуле (P1a) или (P1b):



(PVI)

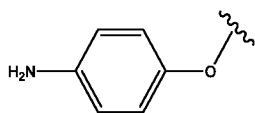
В Формуле (PVI) R^3 выбран из алкил- $C(O)-O-$ или R^aR^bN- арилокси, при этом алкил- $C(O)-O-$ или $-NR^aR^b-$ арилокси необязательно замещены гало.

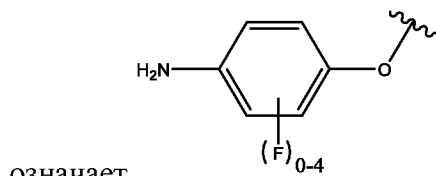
[0174] В некоторых примерах в Формуле (PVI) R^4 выбран из $-H$, $-OH$, гало или алкил. В некоторых примерах R^4 означает гало, в том числе $-F$, $-Cl$, $-Br$, или $-I$. В некоторых примерах R^4 означает $-F$. В некоторых примерах R^4 означает $-Cl$. В некоторых примерах R^4 означает $-Br$. В некоторых примерах R^4 означает $-I$. В некоторых примерах R^4 означает алкил, в том числе метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил или нонил. Нижний индекс n означает целое число от 0 до 19. В некоторых примерах n означает 0. В других примерах n означает 1. В определенных примерах n означает 2. В других примерах n означает 3. В определенных примерах n означает 4. В некоторых примерах n означает 5. В других примерах n означает 6. В определенных примерах n означает 7. В других примерах n означает 8. В определенных примерах n означает 9. В некоторых примерах n означает 10. В других примерах n означает 11. В определенных примерах n означает 12. В других примерах n означает 13. В определенных примерах n означает 14. В некоторых примерах n означает 15. В других примерах n означает 16. В определенных примерах n означает 17. В других примерах n означает 18. В определенных примерах n означает 19.

[0175] В некоторых примерах по Формуле (PVI) R^3 выбран из $-OH$, алкил- $C(O)-O-$, $-NR^aR^b$ или NR^aR^b- арилокси. В некоторых из этих примеров алкил- $C(O)-O-$ или R^aR^bN- арилокси необязательно замещены гало. В некоторых примерах R^3 означает $-OH$. В некоторых примерах R^3 означает алкил- $C(O)-O-$. В некоторых примерах R^3 означает R^aR^bN- арилокси.

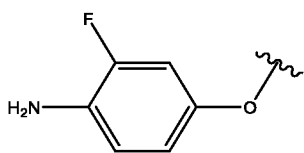
[0176] В некоторых примерах R^3 означает $-NR^aR^b$. В некоторых примерах R^3 означает $-NH_2$. В некоторых примерах R^3 означает $-NH(CH_3)$.

[0177] В некоторых примерах R^3 означает R^aR^bN- арилокси.

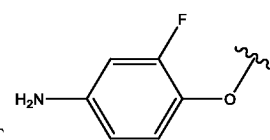
[0178] В некоторых примерах R^3 означает . В некоторых примерах R^3



. В некоторых примерах R^3 означает

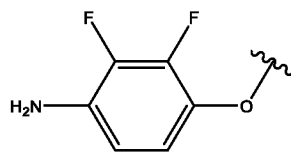


. В некоторых примерах R³ означает

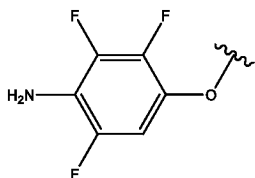


. В

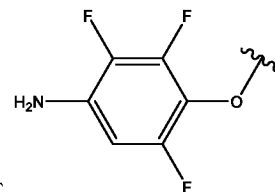
некоторых примерах R³ означает



. В некоторых примерах R³ означает

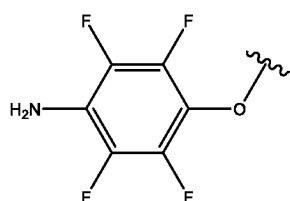


. В некоторых примерах R³ означает

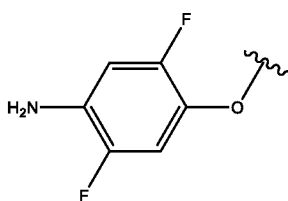


. В некоторых

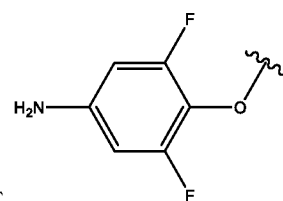
примерах R³ означает



. В некоторых примерах R³ означает

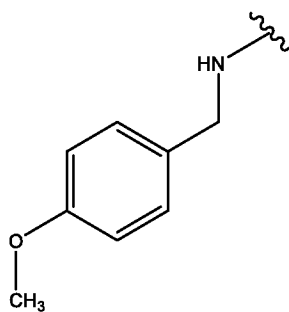


. В некоторых примерах R³ означает

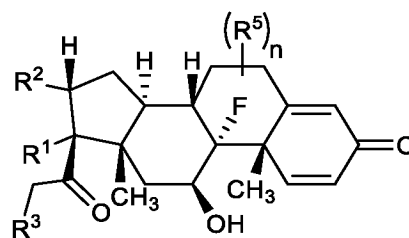


. В

некоторых примерах R³ означает



[0179] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (I), где соединение имеет структуру по Формуле (PVII):



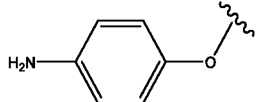
(PVII)

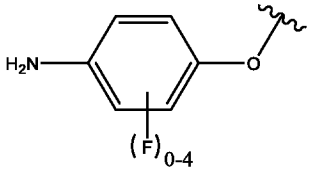
В Формуле (PVII) R³ выбран из алкил-C(O)-O- или R^aR^bN-арилокси, где алкил-C(O)-O- или R^aR^bN-арилокси необязательно замещены гало.

[0180] В некоторых примерах по Формуле (PVII) R^4 выбран из $-H$, $-OH$, гало или алкил. В некоторых примерах R^4 означает гало, в том числе $-F$, $-Cl$, $-Br$, или $-I$. В некоторых примерах R^4 означает $-F$. В некоторых примерах R^4 означает $-Cl$. В некоторых примерах R^4 означает $-Br$. В некоторых примерах R^4 означает $-I$. В некоторых примерах R^4 означает алкил, в том числе метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил или нонил. Нижний индекс n означает целое число от 0 до 19. В некоторых примерах n означает 0. В других примерах n означает 1. В определенных примерах n означает 2. В других примерах n означает 3. В определенных примерах n означает 4. В некоторых примерах n означает 5. В других примерах n означает 6. В определенных примерах n означает 7. В других примерах n означает 8. В определенных примерах n означает 9. В некоторых примерах n означает 10. В других примерах n означает 11. В определенных примерах n означает 12. В других примерах n означает 13. В определенных примерах n означает 14. В некоторых примерах n означает 15. В других примерах n означает 16. В определенных примерах n означает 17. В других примерах n означает 18. В определенных примерах n означает 19. В некоторых примерах по Формуле (PVII) R^3 выбран из $-OH$, алкил- $C(O)-O-$, $-NR^aR^b$ или R^aR^bN- арилокси. В некоторых из этих примеров алкил- $C(O)-O-$ или NR^aR^b -арилокси необязательно замещены гало. В некоторых примерах R^3 означает $-OH$. В некоторых примерах R^3 означает алкил- $C(O)-O-$. В некоторых примерах R^3 означает R^aR^bN- арилокси.

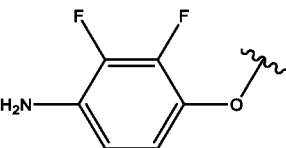
[0181] В некоторых примерах R^3 означает $-NR^aR^b$. В некоторых примерах R^3 означает $-NH_2$. В некоторых примерах R^3 означает $-NH(CH_3)$.

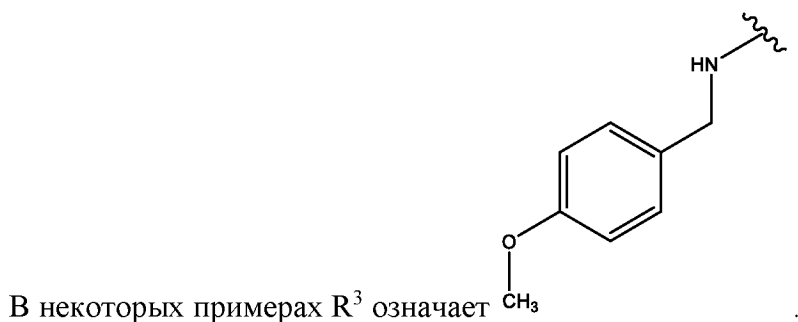
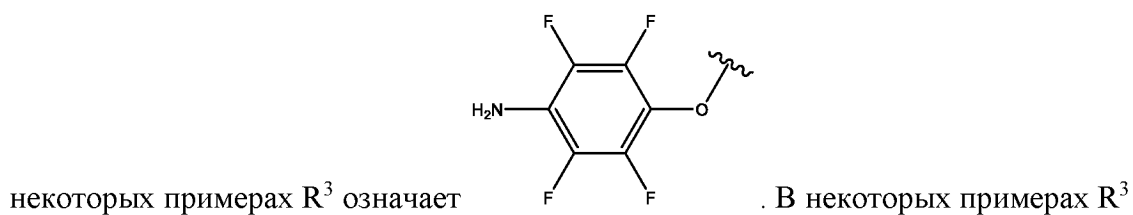
[0182] В некоторых примерах R^3 означает R^aR^bN- арилокси-.

[0183] В некоторых примерах R^3 означает . В некоторых примерах R^3

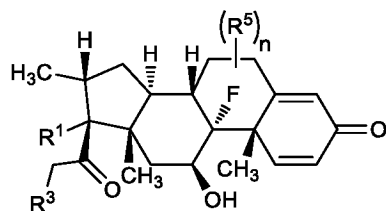
означает . В некоторых примерах R^3 означает

. В некоторых примерах R^3 означает . В

некоторых примерах R^3 означает . В некоторых примерах R^3

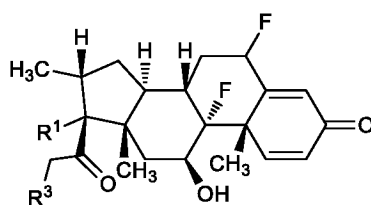


[0184] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (PVI), где соединение имеет структуру по Формуле (PVIa):



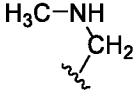
(PVIa).

[0185] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (PVI), где соединение имеет структуру по Формуле (PVIb):



(PVIb).

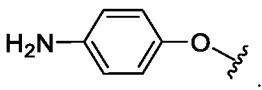
[0186] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (PVI), (PVIa),

или (PVIb), где R³ означает  или R^aR^bN-арилокси- необязательно замещены гало.

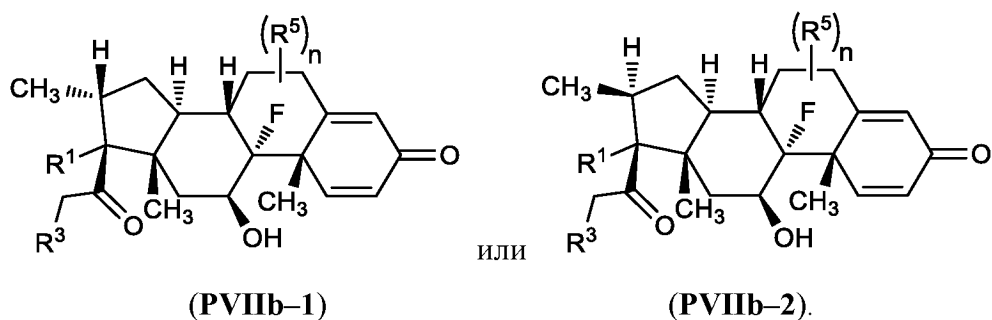
[0187] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (PVI), (PVIa),

или (PVIb), где R³ означает .

[0188] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (PVI), (PVIa),

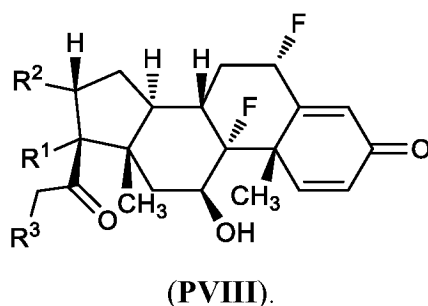
или (PVIb), где R³ означает .

[0189] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (PVI), где соединение имеет структуру по Формуле (PVIb-1) или (PVIb-2):



[0190] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (PVI), (PVIa), (PVIb), (PVIb-1) или (PVIb-2), где R³ означает алкил-C(O)-O- или R^aR^bN-арилокси.

[0191] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (I), где соединение имеет структуру по Формуле (PVIII):



[0192] В некоторых примерах по любой из Формул (PI), (PIa), (PIb-1), (PIb-2), (PIc-1), (PIc-2), (PID-1), (PID-2), (PIe-1), (PIe-2), (PII), (PIIa), (PIIb), (PIIIa), (PIIIb), (PIV), (PV), (PVa), (PVb), (PVI), (PVII), (PVIIa), (PVIIb), (PVIIb-1) или (PVIIb-2), где гало, при его присутствии, означает фтор.

[0193] В некоторых примерах соединения по Формуле (I) R¹ и R² независимо выбраны из -H, алкил, алкил-C(O)-O-, -OH, или гало. В других примерах R¹ и R² вместе образуют



В определенных примерах R¹ означает –H. В других примерах R¹ означает алкил.

В некоторых примерах R¹ означает алкил–C(O)–O–. В других примерах R¹ означает –ОН.

В определенных примерах R¹ означает гало. В других примерах R¹ означает –F. В

некоторых примерах R¹ означает –Cl. В других примерах R¹ означает –Br. В

определенных примерах R¹ означает –I. В других примерах R² означает –ОН. В некоторых

примерах R² означает гало. В других примерах R² означает –F. В определенных примерах

R² означает –Cl. В других примерах R² означает –Br. В некоторых примерах R² означает –

I.

[0194] В некоторых примерах по Формуле (I), R⁵ в каждом случае независимо выбран из

–ОН, гало, алкил или арилалкил. В некоторых примерах R⁵ означает –ОН. В некоторых

примерах R⁵ означает гало, в том числе –F, –Cl, –Br, или –I. В некоторых примерах R⁵

означает –F. В некоторых примерах R⁵ означает –Cl. В некоторых примерах R⁵ означает –

Br. В некоторых примерах R⁵ означает –I. В некоторых примерах R⁵ означает алкил, в том

числе метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил, или нонил. В некоторых

примерах R⁵ означает бензил.

[0195] В некоторых примерах по Формуле (I) R⁴ выбран из группы, включающей алкил,

арил, арилалкил, и N-содержащий гетероциклоалкил. В некоторых из этих примеров алкил,

арил, арилалкил, или N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещены

–NR^aR^b. В некоторых примерах R⁴ означает алкил, в том числе метил, этил, пропил, бутил,

пентил, гексил, гептил, октил или нонил. В некоторых примерах R⁴ означает метил.

В некоторых примерах R⁴ означает этил. В некоторых примерах R⁴ означает n–пропил.

В некоторых примерах R⁴ означает i–пропил. В некоторых примерах R⁴ означает n–бутил.

В некоторых примерах R⁴ означает i–бутил. В некоторых примерах R⁴ означает t–бутил.

В некоторых примерах R⁴ означает втор–бутил. В некоторых примерах R⁴ означает пентил.

В некоторых примерах R⁴ означает гексил. В некоторых примерах R⁴ означает гептил.

В некоторых примерах R⁴ означает октил или нонил. В некоторых примерах R⁴ означает

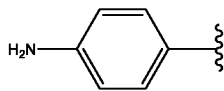
арил, в том числе фенил или нафтил. В некоторых примерах R⁴ означает фенил. В некоторых

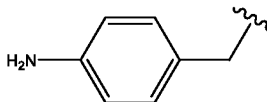
примерах R⁴ означает нафтил. В некоторых примерах R⁴ означает арилалкил–, в том числе

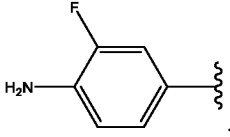
бензил. В некоторых примерах R⁴ означает N-содержащий гетероциклоалкил, в том числе

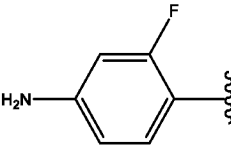
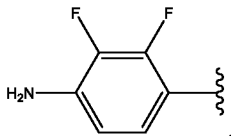
пиперидинил. В некоторых примерах R⁴ означает 4–амино–фенил. В некоторых примерах

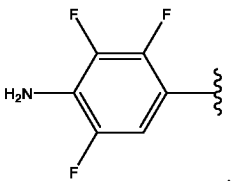
R⁴ означает 4–аминофенил, необязательно замещенный гало.

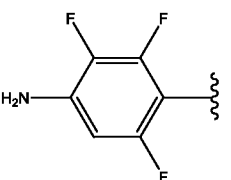
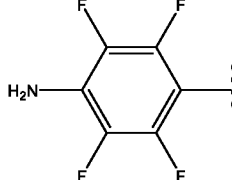
[0196] В некоторых примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах R⁴

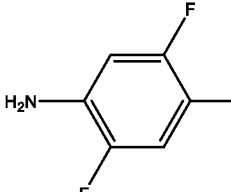
означает  . В некоторых примерах R⁴ означает  .

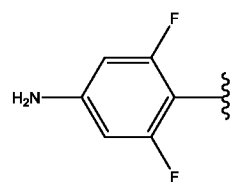
В некоторых примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах R⁴ означает

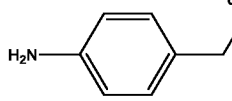
 . В некоторых примерах R⁴ означает  . В некоторых

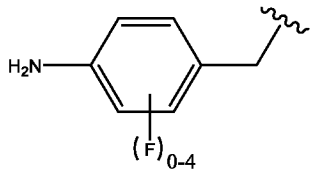
примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах R⁴ означает

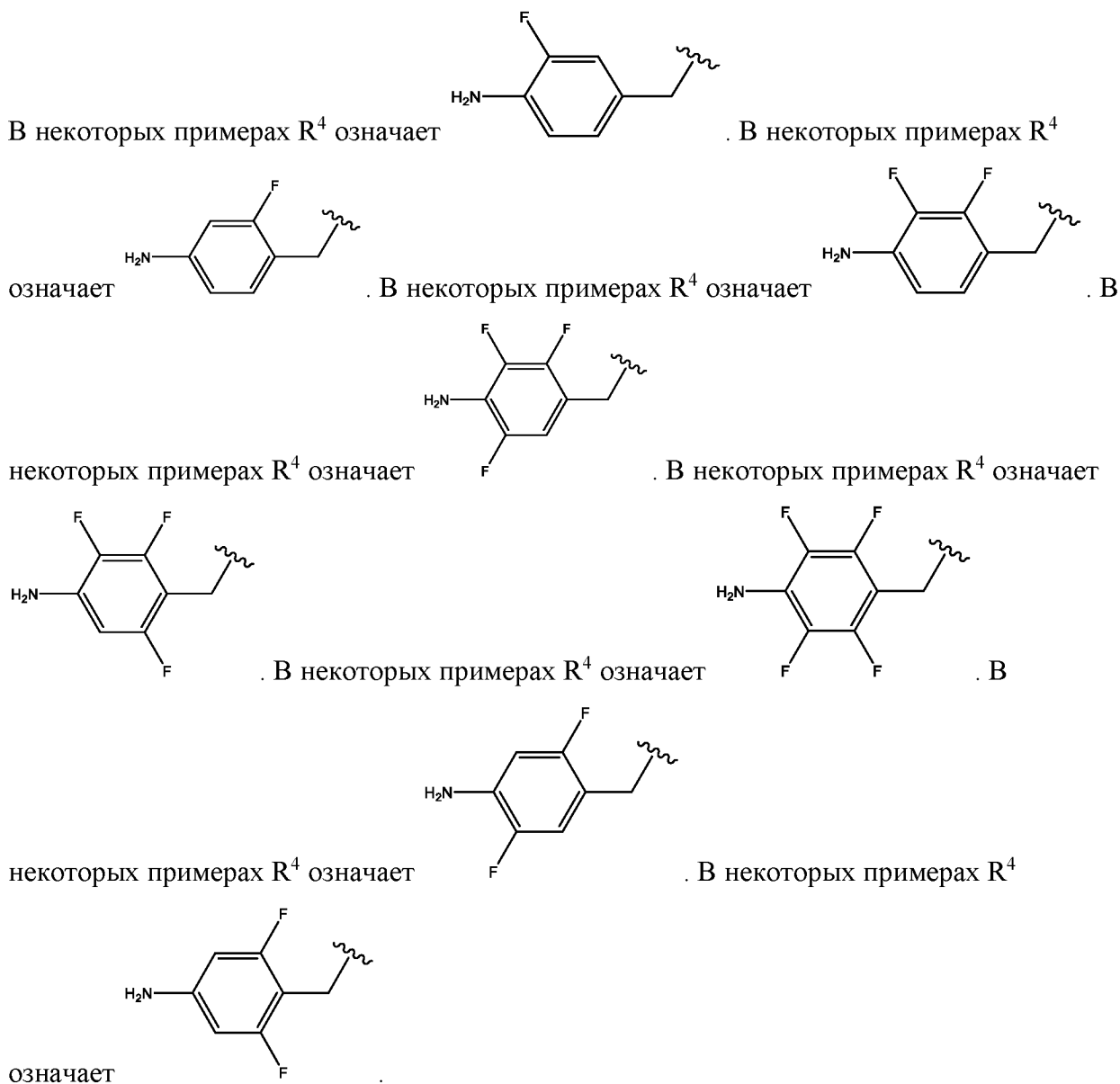
 . В некоторых примерах R⁴ означает  . В некоторых

примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах R⁴ означает

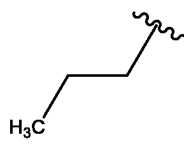


[0197] В некоторых примерах R⁴ означает  . В некоторых примерах R⁴

означает  . В некоторых примерах R⁴ означает  .



[0198] В некоторых примерах R^4 означает алкил, замещенный амино, в том числе метил-амино, этил-амино, пропил-амино, бутил-амино, пентил-амино, гексил-амино, гептил-амино, октил-амино или нонил-амино. В некоторых примерах R^4 означает метил-амино. В некоторых примерах R^4 означает этил-амино. В некоторых примерах R^4 означает n-пропил-амино. В некоторых примерах R^4 означает i-пропил-амино. В некоторых примерах R^4 означает n-бутил-амино. В некоторых примерах R^4 означает i-бутил-амино. В некоторых примерах R^4 означает t-бутил-амино. В некоторых примерах R^4 означает втор-бутил. В некоторых примерах R^4 означает пентил-амино. В некоторых примерах R^4 означает гексил-амино. В некоторых примерах R^4 означает гептил-амино. В некоторых примерах R^4 означает октил-амино. В некоторых примерах R^4 означает нонил-амино.

[0199] В некоторых примерах R^4 означает  . В некоторых примерах R^4

означает  . В некоторых примерах R^4 означает  .

[0200] В некоторых приведенных здесь примерах R^a и R^b в каждом случае независимо выбраны из H или алкил. В некоторых примерах R^a и R^b означают H. В некоторых примерах R^a и R^b означают метил. В некоторых примерах R^a и R^b означают этил. В некоторых примерах R^a и R^b означают пропил. В некоторых примерах один из R^a или R^b означает H, а другой означает алкил. В некоторых примерах один из R^a или R^b означает H, а другой означает метил. В некоторых примерах один из R^a или R^b означает H, а другой означает этил. В некоторых примерах один из R^a или R^b означает H, а другой означает пропил.

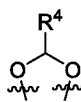
[0201] В некоторых примерах по Формуле (I) n означает целое число от 0 до 19. В некоторых примерах n означает 0. В других примерах n означает 1. В определенных примерах n означает 2. В других примерах n означает 3. В определенных примерах n означает 4. В некоторых примерах n означает 5. В других примерах n означает 6. В определенных примерах n означает 7. В других примерах n означает 8. В определенных примерах n означает 9. В некоторых примерах n означает 10. В других примерах n означает 11. В определенных примерах n означает 12. В других примерах n означает 13. В определенных примерах n означает 14. В некоторых примерах n означает 15. В других примерах n означает 16. В определенных примерах n означает 17. В других примерах n означает 18. В определенных примерах n означает 19.

[0202] В некоторых примерах по Формуле (I) R^3 не является –ОН, когда R^1 означает –ОН.

[0203] В некоторых примерах по Формуле (I) R^3 не является –ОН, когда R^1 и R^2 вместе

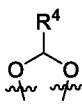
образуют , где R^4 означает C_{1-9} алкил или 4–(диметил–амино)–фенил.

[0204] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (I), где R^1 и R^2

вместе образуют  . В некоторых из этих примеров R^4 означает алкил, арил, арилалкил или а N-содержащий гетероциклоалкил. В определенных примерах алкил, арил, арилалкил или N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещены $-NR^aR^b$. В некоторых из этих примеров R^4 означает алкил. В некоторых из этих примеров R^4 означает арил. В

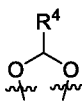
некоторых из этих примеров R⁴ означает арилалкил. В некоторых из этих примеров R⁴ означает N-содержащий гетероциклоалкил. В некоторых примерах R⁴ означает алкил, в том числе метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил, октил или нонил. В некоторых примерах R⁴ означает метил. В некоторых примерах R⁴ означает этил. В некоторых примерах R⁴ означает n-пропил. В некоторых примерах R⁴ означает i-пропил. В некоторых примерах R⁴ означает n-бутил. В некоторых примерах R⁴ означает i-бутил. В некоторых примерах R⁴ означает t-бутил. В некоторых примерах R⁴ означает втор-бутил. В некоторых примерах R⁴ означает пентил. В некоторых примерах R⁴ означает гексил. В некоторых примерах R⁴ означает гептил. В некоторых примерах R⁴ означает октил. В некоторых примерах R⁴ означает нонил. В некоторых примерах R⁴ означает арил, в том числе фенил или нафтил. В некоторых примерах R⁴ означает фенил. В некоторых примерах R⁴ означает нафтил. В некоторых примерах R⁴ означает арилалкил-, в том числе бензил. В некоторых примерах R⁴ означает N-содержащий гетероциклоалкил, в том числе пиперидинил. В некоторых примерах R⁴ означает 4-амино-фенил. В некоторых примерах R⁴ означает 4-аминофенил, необязательно замещенный гало.

[0205] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (I), где R¹ и R²



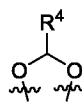
вместе образуют ---^* , где R⁴ выбран из группы, включающей алкил, арил, арилалкил и N-содержащий гетероциклоалкил; при этом алкил, арил, арилалкил или N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещены -NR^aR^b, и где стереохимия углерода, обозначенная символом *, означает R.

[0206] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (I), где R¹ и R²



вместе образуют ---^* , где R⁴ выбран из группы, включающей алкил, арил, арилалкил и N-содержащий гетероциклоалкил; при этом алкил, арил, арилалкил или N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещены -NR^aR^b, и где стереохимия углерода, обозначенная символом *, означает S.

[0207] По Формуле (I) R³ не является -ОН, когда R¹ означает -ОН, или когда R¹ и R²

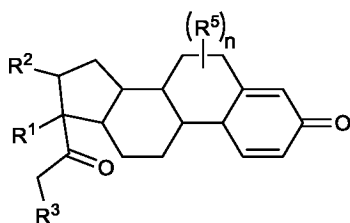


вместе образуют ---^* , где R⁴ означает C₁₋₉-алкил или 4-(диметил-амино)-фенил.

[0208] В некоторых примерах полезная нагрузка, приведенная в настоящем документе, является производным или аналогом будесонида или дифлоразона. В определенных примерах производное представляет собой молекулу, содержащую амин или анилин, которая по структуре связана с будесонидом или дифлоразоном. Как указано в настоящем

документе, приведенные здесь полезные нагрузки, а также другие стероиды могут быть конъюгированы с антителом или его антигенсвязующим фрагментом на основе способов, изложенных в настоящем документе. Как указано здесь, приведенные здесь полезные нагрузки, а также другие стероиды могут быть конъюгированы с антителом или его антигенсвязующим фрагментом, а также с фрагментом циклодекстрина на основе способов, изложенных в настоящем документе. Как указывается в настоящем документе, стабильные линкеры с полезными нагрузками можно использовать с этими методами конъюгации для получения конъюгатов антитело-стероид. В некоторых примерах конъюгаты антитело-стероид также включают циклодекстриновый фрагмент.

[0209] В некоторых вариантах осуществления здесь приведены соединения по Формуле (I¹):



(I¹);

или фармацевтически приемлемая соль, сольват, стереоизомер, или их производное, где:

R¹ и R² независимо означают –H, алкил, алкил–C(O)–O–, –OH или гало; или R¹ и R²



где R⁴ означает алкил, арил, арилалкил или N-содержащий гетероциклоалкил, при этом алкил, арил, арилалкил и N-содержащий гетероциклоалкил в каждом случае независимо необязательно замещены –NR^aR^b;

R⁵ в каждом случае независимо означает –OH, гало, алкил или арилалкил;

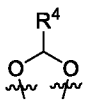
R³ означает –OH, алкил–C(O)–O– или –X–арил–NR^aR^b, при этом X выбран из S, S(O), S(O)₂, SO₂NR^a, CONR^a, C(O) или NR^a, где алкил–C(O)–O– и –X–арил–NR^aR^b необязательно замещены гало или пролекарством.

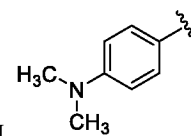
R^a и R^b в каждом случае независимо означают H или алкил, арил;

R^c означает –H или алкил;

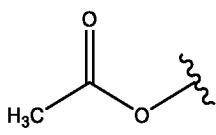
n означает целое число от 0 до 19;

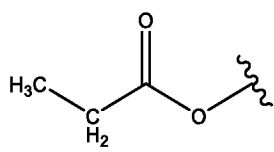
при условии, что R³ не является –OH, где или (a) или (b): (a) R¹ означает –OH или

(b) R^1 и R^2 вместе образуют , и R^4 означает а C_{1-9} -алкил или

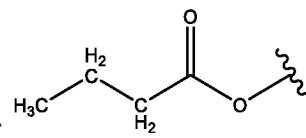


[0210] В некоторых из этих примеров алкил- $C(O)-O-$ или $-X-$ арил- NR^aR^b необязательно замещены гало. В некоторых примерах R^3 означает $-OH$. В некоторых примерах R^3 означает алкил- $C(O)-O-$. В некоторых примерах R^3 означает R^aR^bN-

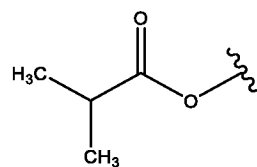
арилокси. В некоторых примерах R^3 означает . В некоторых примерах R^3

означает 

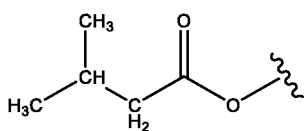
. В некоторых примерах R^3 означает



В некоторых примерах R^3 означает

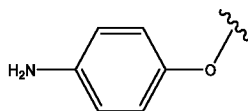


. В некоторых примерах R^3 означает

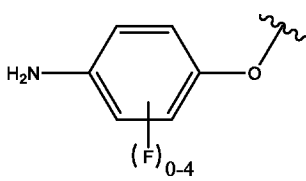


[0211] В некоторых примерах R^3 означает $-X-$ арил- NR^aR^b .

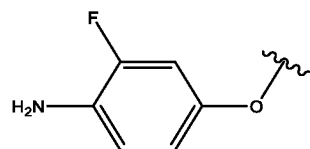
[0212] В некоторых примерах R^3 означает



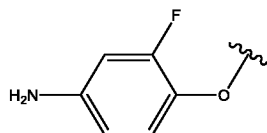
. В некоторых примерах R^3

означает 

. В некоторых примерах R^3 означает

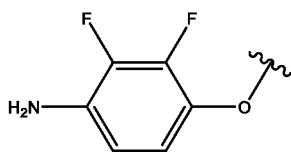


. В некоторых примерах R^3 означает



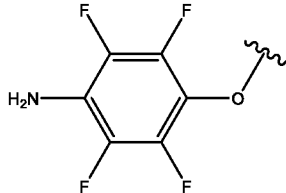
. В

некоторых примерах R^3 означает

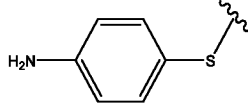


. В некоторых примерах R^3

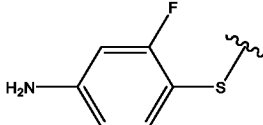
означает  . В некоторых примерах R³ означает  . В

некоторых примерах R³ означает  . В некоторых примерах R³

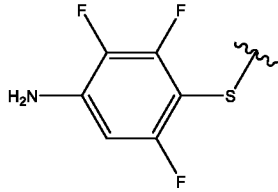
означает  . В некоторых примерах R³ означает  .

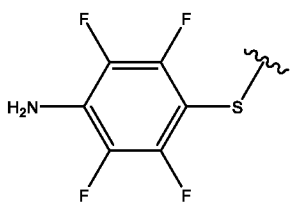
[0213] В некоторых примерах R³ означает  . В некоторых примерах R³

означает  . В некоторых примерах R³ означает  .

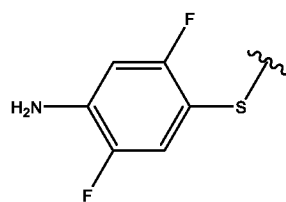
. В некоторых примерах R³ означает  . В некоторых примерах R³

означает  . В некоторых примерах R³ означает  . В

некоторых примерах R³ означает  . В некоторых примерах R³ означает

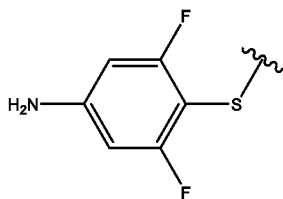


. В некоторых примерах R³ означает

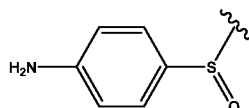


. В

некоторых примерах R³ означает

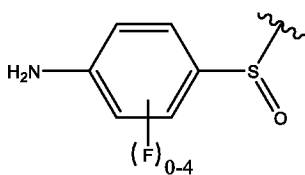


[0214] В некоторых примерах R³ означает

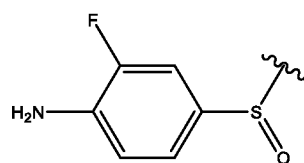


. В некоторых примерах R³

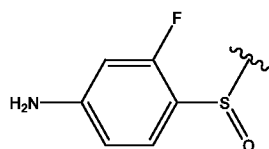
означает



. В некоторых примерах R³ означает

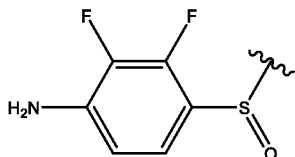


. В некоторых примерах R³ означает

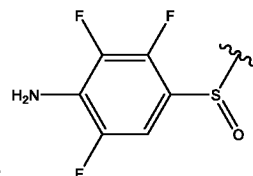


. В некоторых примерах R³

означает

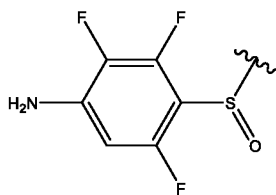


. В некоторых примерах R³ означает

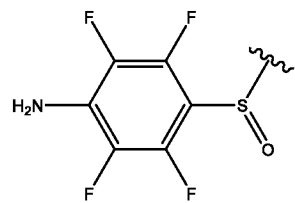


. В

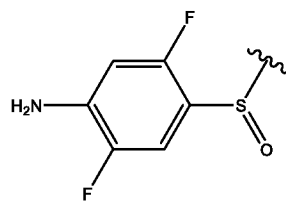
некоторых примерах R³ означает



. В некоторых примерах R³ означает

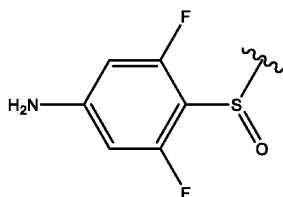


. В некоторых примерах R³ означает

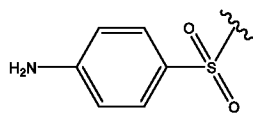


. В

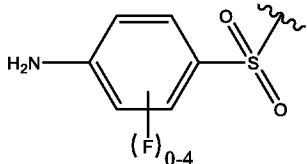
некоторых примерах R³ означает



[0215] В некоторых примерах R³ означает

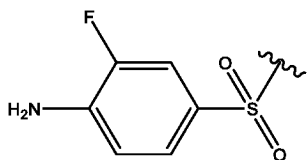


. В некоторых примерах R³

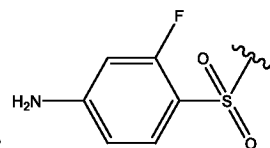


означает

. В некоторых примерах R³ означает

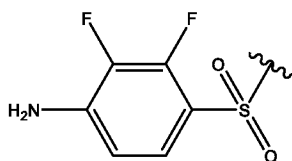


. В некоторых примерах R³ означает

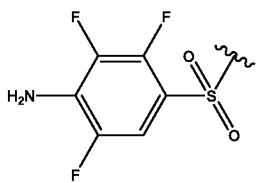


. В

некоторых примерах R³ означает

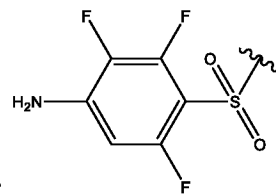


. В некоторых примерах R³



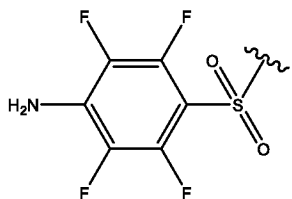
означает

. В некоторых примерах R³ означает

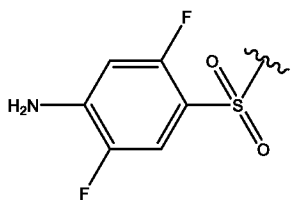


. В

некоторых примерах R³ означает

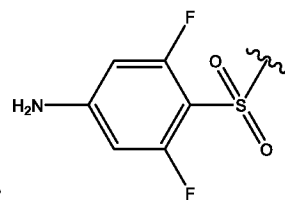


. В некоторых примерах R³

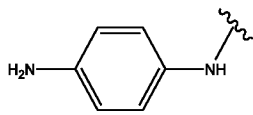


означает

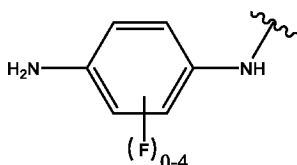
. В некоторых примерах R³ означает



[0216] В некоторых примерах R³ означает

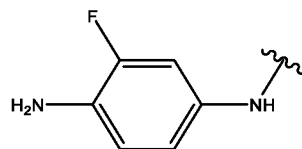


. В некоторых примерах R³

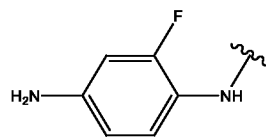


означает

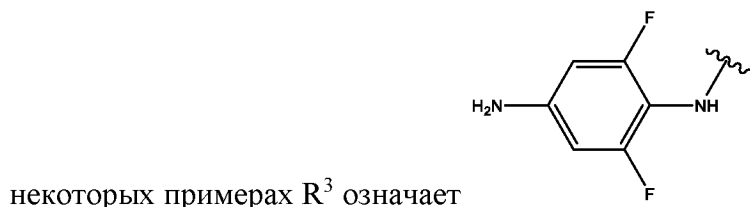
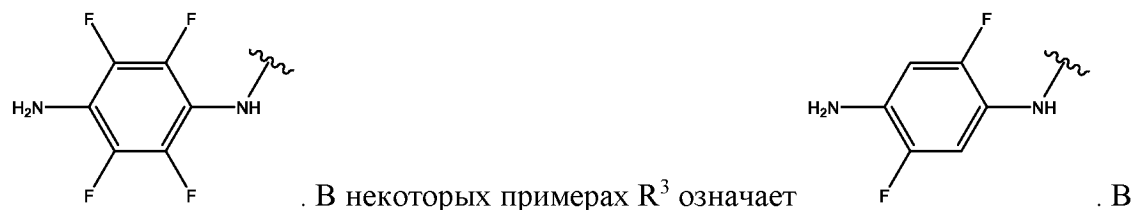
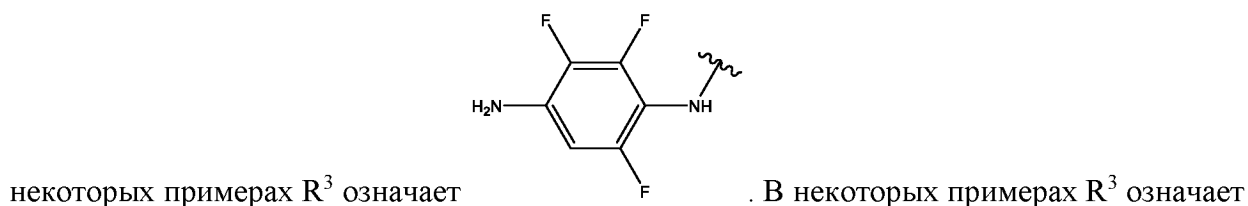
. В некоторых примерах R³ означает



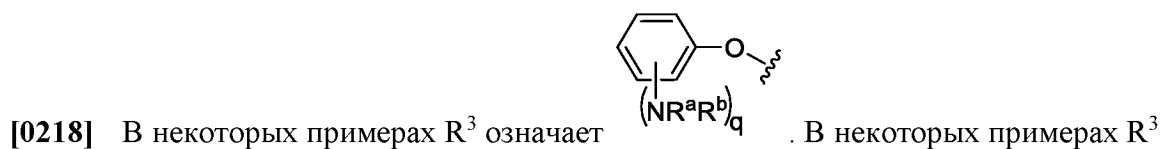
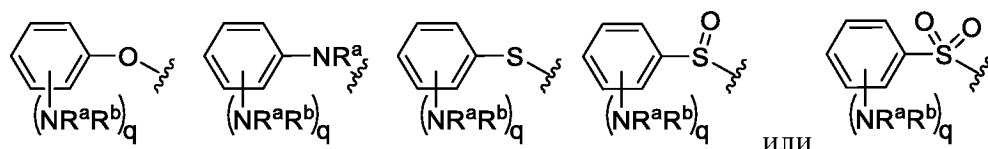
В некоторых примерах R³ означает



. В некоторых примерах R³

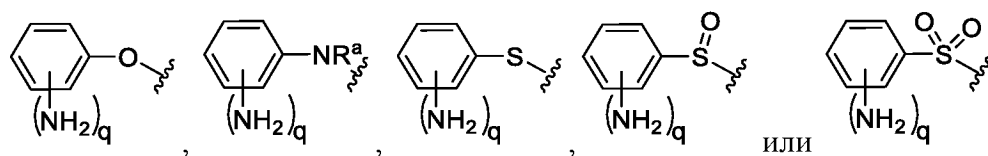


[0217] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (I), где R³ имеет структуру, выбранную из следующих структур:



этих примерах q означает целое число от 0 до 5.

[0219] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (I), где R³ имеет структуру, выбранную из следующих структур:



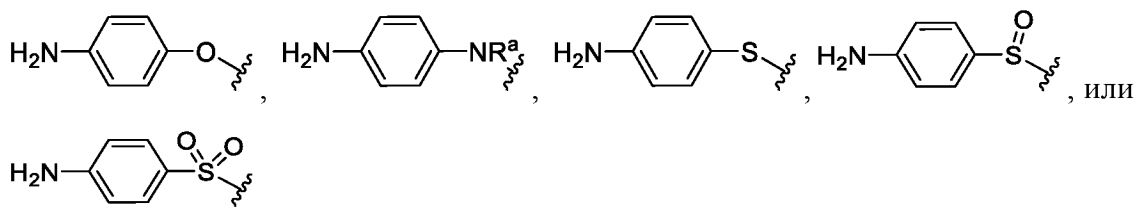
[0220] В некоторых примерах R^3 означает . В некоторых примерах R^3

означает . В некоторых примерах R^3 означает . В некоторых

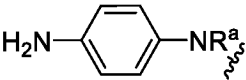
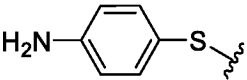
примерах R^3 означает . В некоторых примерах R^3 означает . В

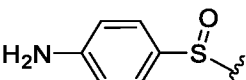
этих примерах q означает целое число от 0 до 5.

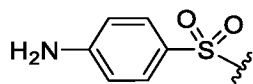
[0221] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (I), где R^3 имеет структуру, выбранную из следующих структур:



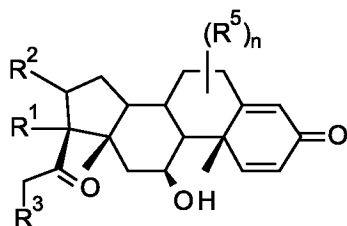
В некоторых примерах R^3 означает . В некоторых примерах R^3

означает . В некоторых примерах R^3 означает . В

некоторых примерах R^3 означает . В некоторых примерах R^3 означает

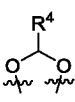


[0222] В некоторых примерах здесь приведено соединение по Формуле (I), где соединение имеет структуру по Формуле 1000:



1000

или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизомер. По Формуле 1000, R^1 и R^2 независимо выбраны из группы, включающей -H, -OH, алкил, -O-C(O)-алкил и гало;

или R^1 и R^2 вместе образуют , где R^4 выбран из группы, включающей алкил, арил, алкиларил, арилалкил, гетероарил, -алкилен- NR^aR^b , -X-арилен- $Y-NR^aR^b$, -X-гетероарилен- $Y-NR^aR^b$, и N-содержащий гетероциклоалкил; при этом X отсутствует или означает -N-, -CH₂-, или -O-; где Y отсутствует или означает -CH₂-. R^3 выбран из группы, включающей -OH, -O-C(O)-алкил, -O-арил, - NR^aR^b , -алкилен- NR^aR^b , -X-арилен- $Y-NR^aR^b$, -X-гетероарилен- $Y-NR^aR^b$, и N-содержащий гетероциклоалкил; где X отсутствует или означает -N-, -CH₂-, или -O-; где Y отсутствует или означает -CH₂-. R^5 в каждом случае независимо выбран из заместителя в группе, включающей -OH, гало и алкил; n означает целое число от 0 до 19; и каждый R^5 расположен на любом кольце атом. R^a и R^b в каждом случае независимо выбраны из группы, включающей -H и алкил; или R^a и R^b циклизируют с образованием циклогетероалкила с 3-6 кольцевыми атомами, включая один атом, который является N, к которому они прикреплены. R^a и R^b в каждом случае независимо необязательно замещены как минимум одним заместителем, выбранным из группы, включающей -OH, -PO₄H, NH₂, -C(O)OH и -C(O)CH₃.

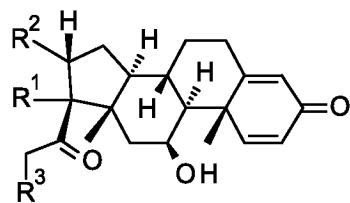
[0223] В определенных вариантах осуществления здесь представлены соединения, имеющее Формулу 1000, где R^3 выбран из группы, включающей -алкилен- NR^aR^b , -X-арилен- $Y-NR^aR^b$, -X-гетероарилен- $Y-NR^aR^b$ и N-содержащий гетероциклоалкил; при этом X отсутствует или означает -N-, -CH₂- или -O-; Y отсутствует или означает -CH₂-; R^4 выбран из группы, включающей алкил, арил, алкиларил, арилалкил, гетероарил, -алкилен- NR^aR^b , -X-арилен- $Y-NR^aR^b$, -X-гетероарилен- $Y-NR^aR^b$ и N-содержащий гетероциклоалкил; где X отсутствует или означает -N-, -CH₂-, или -O-; Y отсутствует или означает -CH₂-.

[0224] В определенных вариантах осуществления здесь представлены соединения, имеющее Формулу 1000, где R^3 выбран из группы, включающей -OH, -O-C(O)-алкил, -O-арил, - NR^aR^b , -алкилен- NR^aR^b , -X-арилен- $Y-NR^aR^b$, -X-гетероарилен- $Y-NR^aR^b$ и N-содержащий гетероциклоалкил; при этом X отсутствует или означает -N-, -CH₂-, или -O-; Y отсутствует или означает -CH₂-; R^4 выбран из группы, включающей -алкилен- NR^aR^b , -X-арилен- $Y-NR^aR^b$, -X-гетероарилен- $Y-NR^aR^b$ и N-содержащий гетероциклоалкил; где X отсутствует или означает -N-, -CH₂-, или -O-; Y отсутствует или означает -CH₂-.

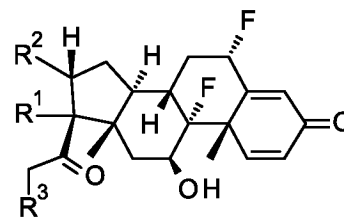
[0225] В определенных вариантах осуществления здесь представлены соединения, имеющее Формулу 1000, где R^3 означает - NR^aR^b ; R^4 означает алкил. В определенных вариантах осуществления R^3 означает -NH₂. В определенных вариантах осуществления R^4

означает n-пропил. В определенных вариантах осуществления R^3 означает $-NH_2$ и R^4 означает n-пропил.

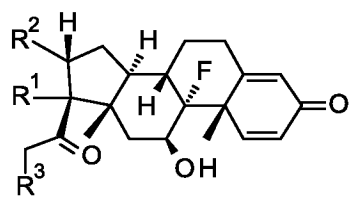
[0226] В определенных вариантах осуществления соединение по Формуле 1000 означает соединение, имеющее Формулу 1010, 1020, 1030, или 1040:



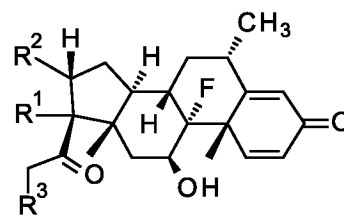
1010



1020



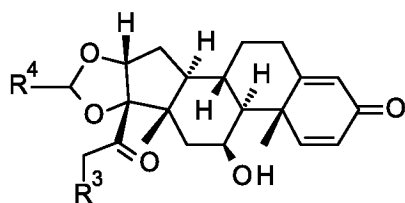
1030



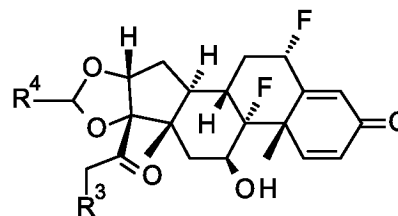
1040

или его фармацевтически приемлемую соль, сольват или стереоизомер.

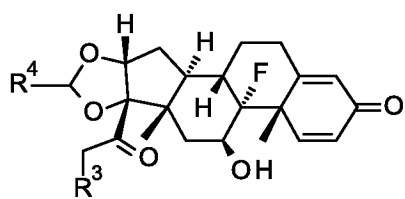
[0227] В определенных вариантах осуществления соединение по Формуле 1000 имеет Формулу 1110, 1120, 1130, или 1140:



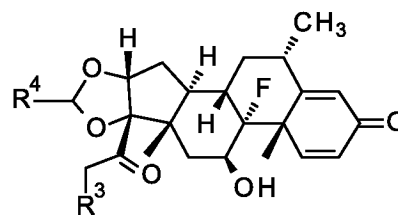
1110



1120



1130



1140

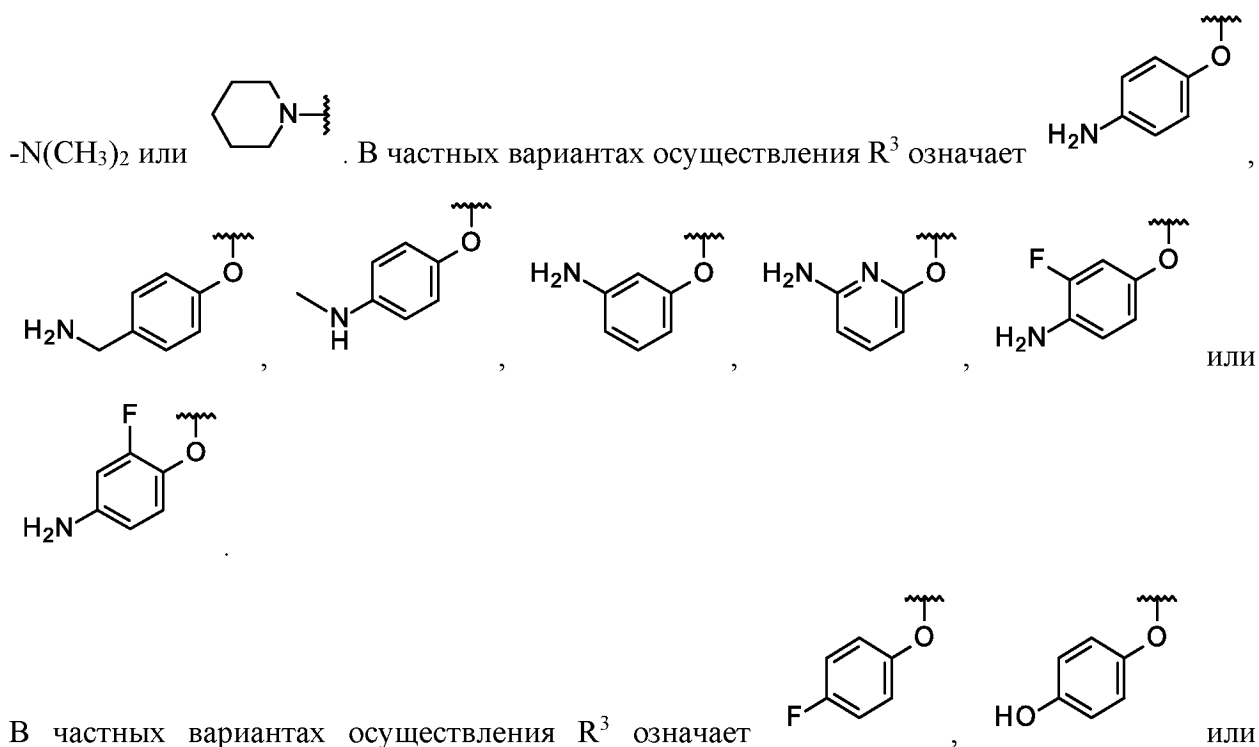
или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизомер.

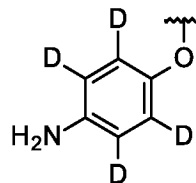
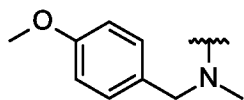
[0228] В определенных вариантах осуществления по любой из Формул 1000-1140 R^3 означает $-OH$ или $-O-C(O)$ -алкил; R^4 означает $-алкилен-NR^aR^b$, $-X-ариленил-NR^aR^b$, $-X-$ гетероариленил- NR^aR^b или N-содержащий гетероциклоалкил; при этом X отсутствует или означает $-CH_2-$. В определенных вариантах осуществления R^4 означает $-алкилен-NH_2$, $-C_6H_5-NH_2$ или $-CH_2-C_6H_5-NH_2$.

[0229] В определенных вариантах осуществления по любой из Формул 1000-1140 R^3 означает -О-арил, $-NR^aR^b$, -алкилен- NR^aR^b , -X-арилен- $Y-NR^aR^b$, -X-гетероарилен- $Y-NR^aR^b$ или N-содержащий гетероциклоалкил; где X отсутствует или означает -N-, $-CH_2-$, или -O-; Y отсутствует или означает $-CH_2-$; R^4 означает алкил, арил, алкиларил, или ариалкил. В определенных вариантах осуществления R^3 означает -О-арилен- NR^aR^b , -О-гетероарилен- NR^aR^b ; при этом арил или гетероарил необязательно замещены галогеном, дейтерием, гидроксилом, или метоксилом. В определенных вариантах осуществления R^3 означает -О-фенил- NR^aR^b , -О-гетероарилен- NR^aR^b ; где фенил или гетероарил необязательно замещены галогеном или дейтерием. В определенных вариантах осуществления согласно данному параграфу R^4 означает n-пропил.

[0230] В определенных вариантах осуществления здесь представлены соединения по любой из Формул 1000-1140, где R^3 означает $-NR^aR^b$; R^4 означает алкил. В определенных вариантах осуществления R^3 означает $-NH_2$. В определенных вариантах осуществления R^4 означает n-пропил. В определенных вариантах осуществления R^3 означает $-NH_2$ и R^4 означает n-пропил.

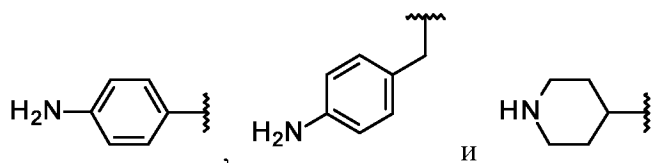
[0231] По любой из Формул 1000-1140 R^3 может быть любым из представленных выше специфичных R^3 . В частных вариантах осуществления R^3 означает $-NH_2$, $-N(H)CH_3$,





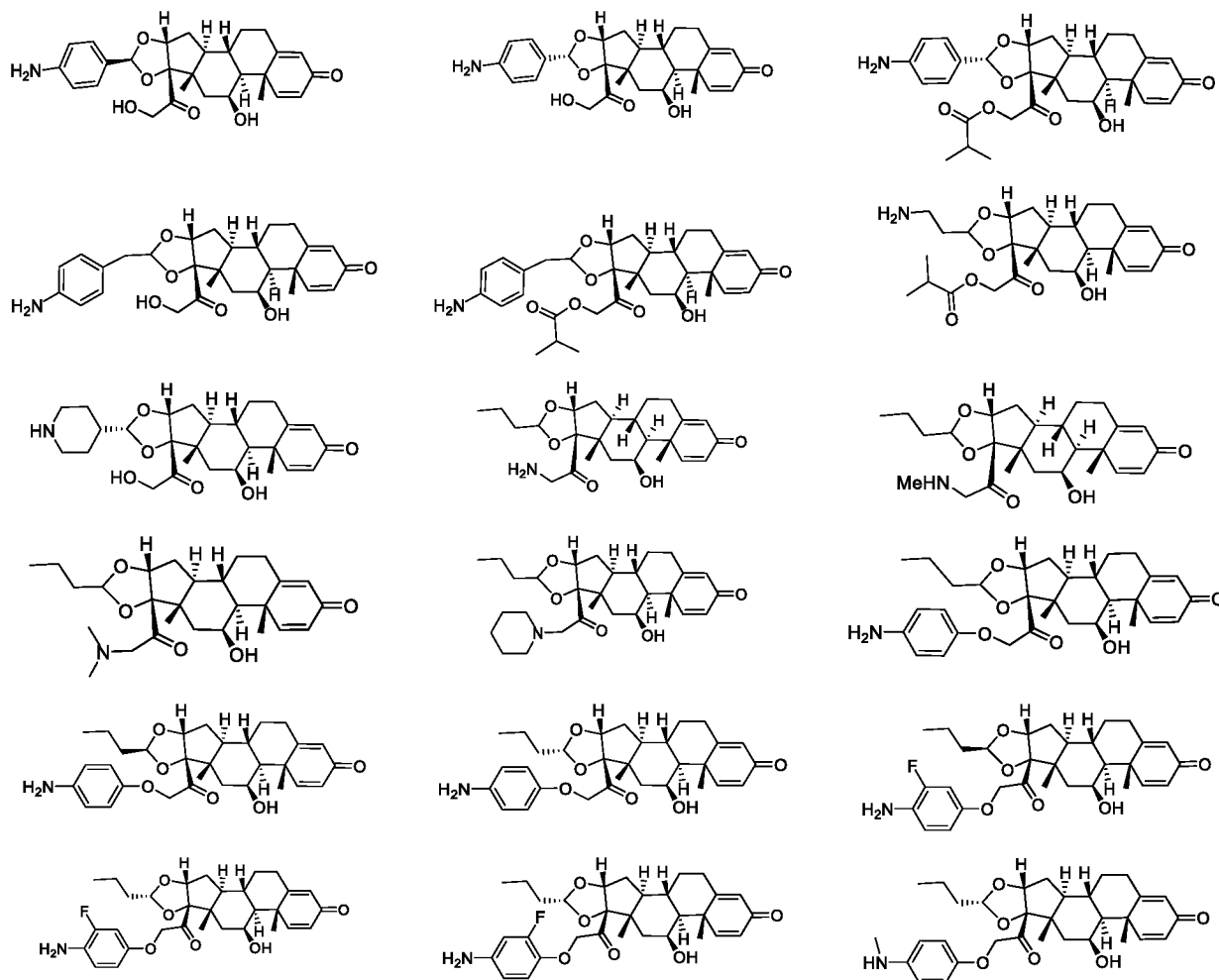
В частных вариантах осуществления R^3 означает

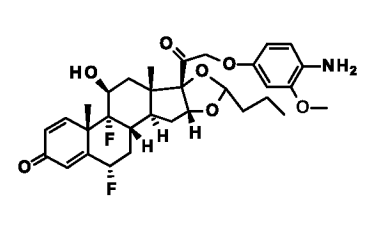
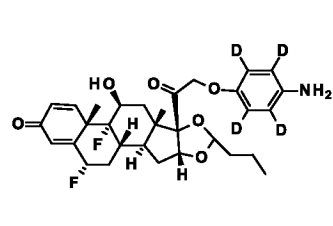
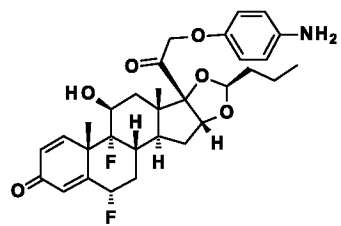
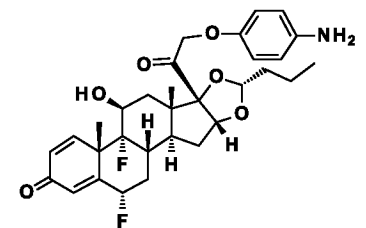
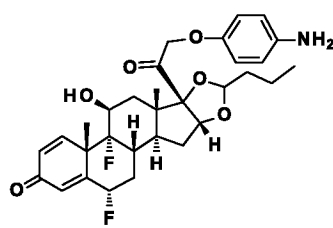
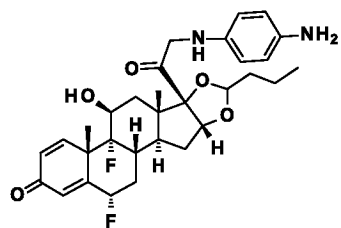
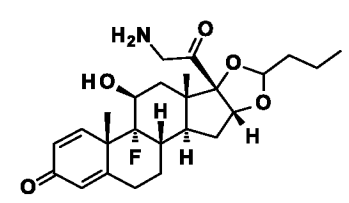
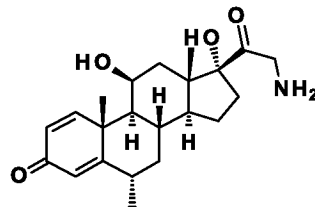
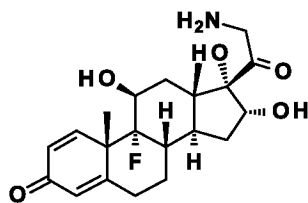
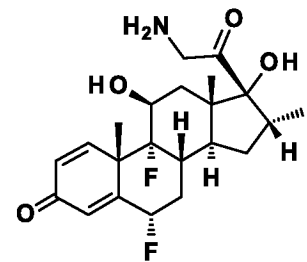
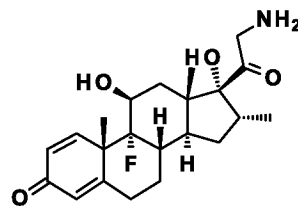
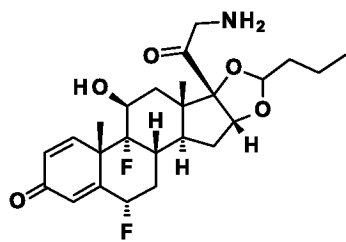
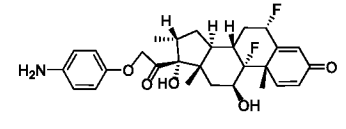
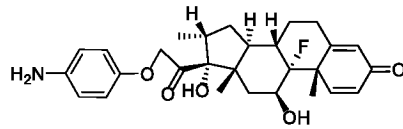
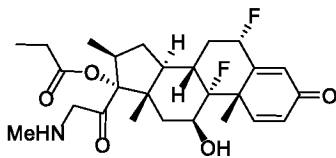
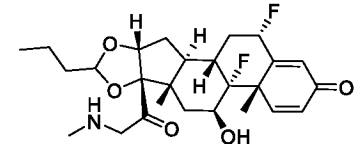
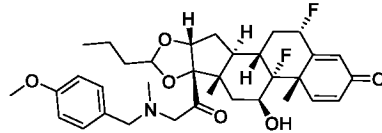
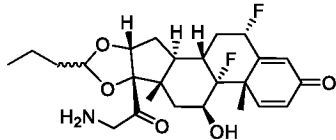
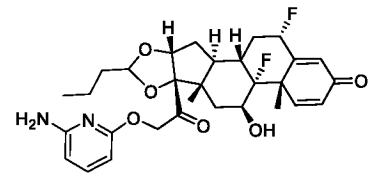
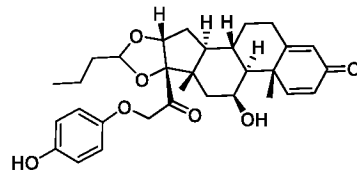
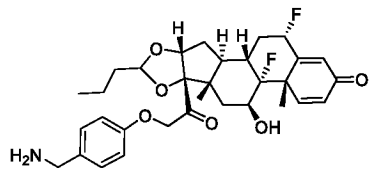
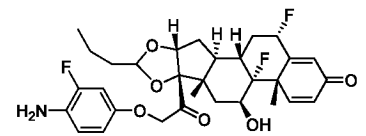
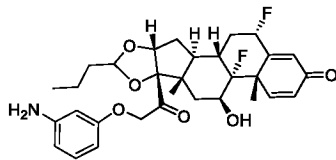
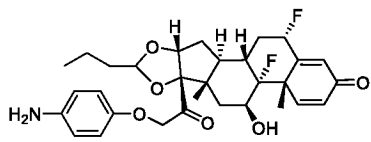
[0232] По любой из Формул 1000-1140 R^4 может быть любым из представленных выше специфических R^4 . В частных вариантах осуществления R^4 выбран из $-CH_2-CH_2-NH_2$,

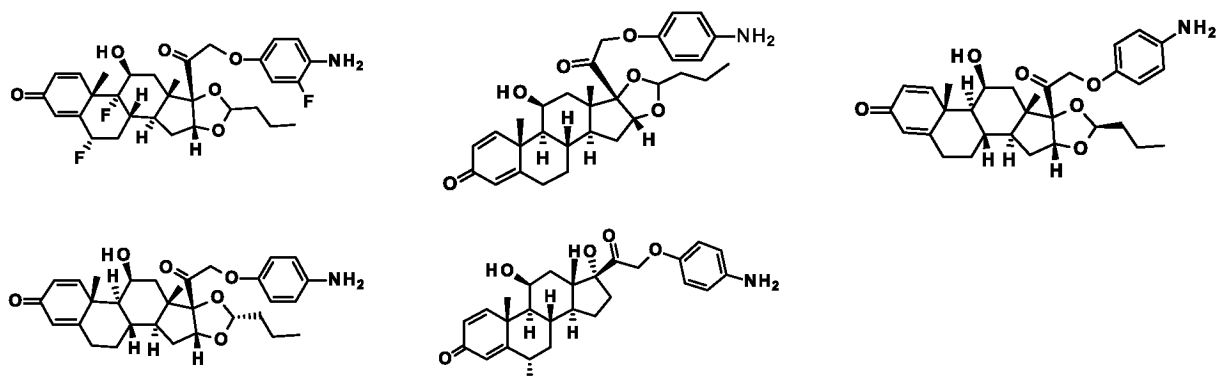


и . В частных вариантах осуществления R^4 означает n-пропил.

[0233] Здесь также представлены соединения, имеющие следующую структуру:







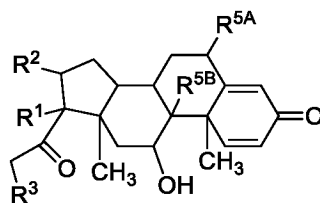
или их фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизомер.

[0234] В объем настоящего изобретения включены фармацевтически приемлемые соли, сольваты, кристаллические формы, аморфные формы, полиморфные формы, региоизомеры, стереоизомеры, пролекарства, например, пролекарства фосфатазы, пролекарства глюкозы, пролекарства сложных эфиров и т.д., метаболиты, и физиологические аддукты описанных здесь стероидных полезных нагрузок, в том числе по Формуле (I), (I¹), и (A¹)-(A⁷).

С. КОНЬЮГАТЫ ПРОТЕИН-СТЕРОИД

[0235] В настоящем документе представлены белковые конъюгаты стероидов, описанных в настоящем документе. Такие конъюгаты включают белки, например, антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые ковалентно связаны, например, через описанные здесь линкеры связывающего агента, с соединениями, описанными в разделе В выше, например, соединения по Формуле (A), (A¹), (A²), (A³), (A⁴), (A⁵), (A⁶), (A⁷), (I), (I¹), (PIa), (PIb-1), (PIb-2), (PIc-1), (PIc-2), (PId-1), (PId-2), (PIe-1), (PIe-2), (PII), (PIIa), (PIIb), (PIIc), (PIIa), (PIIb), (PIV), (PV), (PVa), (PVb), (PVI), (PVII), (PVIIa), (PVIIb), (PVIIb-1), (PVIIb-2), (PVIII) и (1000)-(1140).

[0236] Линкер связывающего агента может быть связан с описанным здесь стероидом, в любом подходящем фрагменте или положении стероида, в том числе, например, через амид, простой эфир, сложный эфир, карбамат или амин. Например, связывающий агент-линкер может быть присоединен к соединениям через R¹, R³ или R⁴ или гидроксигруппу, изображенную Формулой (A¹):



(A¹).

В определенных вариантах осуществления описанные здесь стероиды присоединяются к линкеру связывающего агента путем взаимодействия amino- или гидроксигруппы стероида с

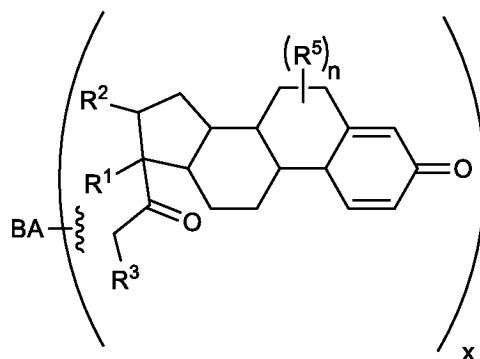
подходящей реакционноспособной группой, присутствующей на линкере. В некоторых вариантах осуществления линкер связующего агента также включает циклодекстриновый фрагмент. Например, циклодекстриновая часть может быть связана с химической структурой основной цепи линкера связующего агента.

[0237] В определенных вариантах осуществления здесь представлены соединения, имеющие следующую структуру:



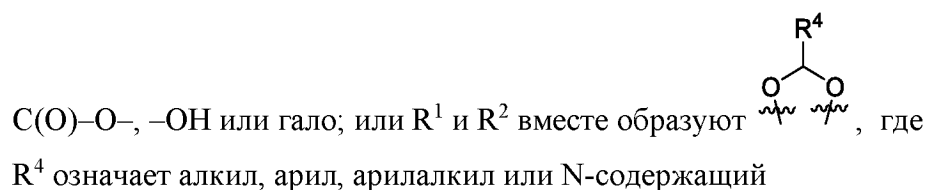
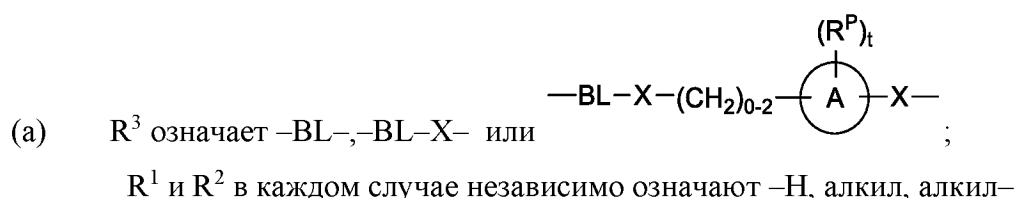
где BA означает описанный здесь связующий агент; L означает описанный здесь необязательный линкер; PAU означает описанное здесь стероидное соединение; x означает целое число от 1 до 30. В частных вариантах осуществления каждый PAU означает радикал, получаемый удалением из соединения атома, например, атома водорода, в соответствии с Формулой, выбранной из группы, включающей Формулы (A), (A¹), (A²), (A³), (A⁴), (A⁵), (A⁶), (A⁷), (I), (I¹), (PIa), (PIb-1), (PIb-2), (PIc-1), (PIc-2), (PIId-1), (PIId-2), (PIE-1), (PIE-2), (PII), (PIIa), (PIIb), (PIII), (PIIIa), (PIIIb), (PIV), (PV), (PVa), (PVb), (PVI), (PVII), (PVIIa), (PVIIb), (PVIIb-1), (PVIIb-2), (PVIII) и (1000)-(1140). Примеры таких соединений подробно описаны ниже.

[0238] В определенных вариантах осуществления здесь представлены соединения, имеющие структуру по Формуле (III):



(III);

где или (a) или (b):

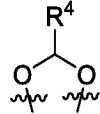


гетероциклоалкил; при этом алкил, арил, арилалкил и

N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещены $-NR^aR^b$;

или

(b) R^3 означает $-OH$, алкил- $C(O)-O-$, гетероалкил, $-NR^aR^b$ или арилокси, где алкил- $C(O)-O-$, гетероалкил, или арилокси необязательно замещены –

NR^aR^b , $-NR^aR^b$ -арилокси, или гало, и R^1 и R^2 вместе образуют , где

R^4 означает $-BL-$, $-BL-X-(A)-(CH_2)_{0-2}-$, $-BL-X-(CH_2)_{1-4}-$ или $-BL-$

Y , где Y означает N-содержащий двухвалентное гетероциклическое соединение;

$-BL-$ означает двухвалентный линкер связующего агента;


R^5 в каждом случае независимо означает $-OH$, гало, алкил, или арилалкил;

R^a и R^b в каждом случае независимо означают $-H$ или алкил;

R^p в каждом случае независимо означает гало;

BA означает связующий агент, связанный с $-BL-$;

X в каждом случае независимо означает NR^a или O ;

 означает арил или гетероарил;

t означает целое число от 0 до 2;

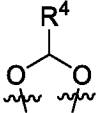
x означает целое число от 1 до 30;

n означает целое число от 0 до 19.

[0239] В некоторых примерах нижний индекс x равен 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30. В некоторых примерах нижний индекс x равен 0. В некоторых примерах нижний индекс x равен 1. В некоторых примерах нижний индекс x равен 2. В некоторых примерах нижний индекс x равен 3. В некоторых примерах нижний индекс x равен 4. В некоторых примерах нижний индекс x равен 5. В некоторых примерах нижний индекс x равен 6. В некоторых примерах нижний индекс x равен 7. В некоторых примерах нижний индекс x равен 8. В некоторых примерах нижний индекс x равен 9. В некоторых примерах нижний индекс x равен 10. В некоторых примерах нижний индекс x равен 11. В некоторых примерах нижний индекс x равен 12. В некоторых примерах нижний индекс x равен 13. В некоторых примерах индекс x равен 14. В некоторых примерах индекс x равен 15. В некоторых примерах индекс x равен 16. В некоторых примерах индекс x равен 17. В некоторых примерах индекс x равен 18. В некоторых примерах индекс x равен 19. В некоторых примерах индекс x равен 20. В

некоторых примерах индекс x равен 21. В некоторых примерах индекс x равен 22. В некоторых примерах нижний индекс x равен 23. В некоторых примерах нижний индекс x равен 24. В некоторых примерах нижний индекс x равен 25. В некоторых примерах нижний индекс x равен 26. В некоторых примерах нижний индекс x равен 27. В некоторых примерах индекс x равен 28. В некоторых примерах индекс x равен 29. В некоторых примерах индекс x равен 30.

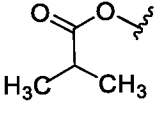
[0240] В некоторых примерах по Формуле (III) R^1 и R^2 в каждом случае независимо означают $-H$, алкил, или $-OH$. В некоторых примерах по Формуле (III) один из R^1 или R^2 означает $-H$, алкил, или $-OH$. В некоторых примерах по Формуле (III) R^1 и R^2 означают либо $-H$, алкил, либо $-OH$.

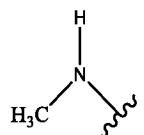
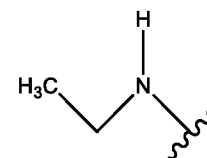
[0241] В некоторых примерах по Формуле (III) R^1 и R^2 вместе образуют . В некоторых примерах R^4 означает $-RL$. В некоторых примерах R^4 означает $RL-NR^a$ -арил. В других примерах R^4 означает алкил. В определенных примерах R^4 означает арилалкил, в некоторых примерах R^4 означает арил. В других примерах R^4 означает N-содержащий гетероциклоалкил. В некоторых из этих примеров алкил, арил, арилалкил или N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещены.

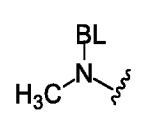
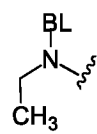
[0242] В некоторых примерах по Формуле (III) R^5 означает $-H$ или гало. В некоторых примерах по Формуле (II) R^5 означает $-H$ или фтор. В некоторых примерах по Формуле (III) один из R^5 означает $-H$ или гало. В некоторых примерах по Формуле (III) R^5 означает $-H$ или гало, n означает 2. В некоторых примерах по Формуле (III) R^5 означает $-F$, n означает 1. В некоторых примерах по Формуле (II) R^5 означает $-F$, n означает 2.

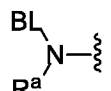
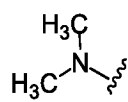
[0243] В некоторых примерах по Формуле (III) R^3 означает BL . В некоторых примерах по Формуле (III) R^3 означает $RL-NR^a$ -арилокси-. В некоторых других примерах по Формуле (III) R^3 означает $-OH$. В некоторых других примерах по Формуле (III) R^3 означает алкил- $C(O)-O-$. В некоторых других примерах по Формуле (III) R^3 означает гетероалкил. В некоторых других примерах по Формуле (III) R^3 означает $-N-R^aR^b$. В некоторых других примерах по Формуле (III) R^3 означает арил. В некоторых других примерах по Формуле (III) R^3 означает арилокси. В некоторых других примерах по Формуле (III) алкил- $C(O)-O-$, гетероалкил или арилокси, необязательно замещенный $-NR^aR^b$ или гало.

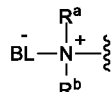
В некоторых примерах по Формуле (II) R^3 означает $-OH$. В некоторых примерах по

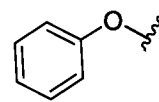
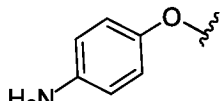
Формуле (III) R^3 означает алкил- $C(O)-O-$. В некоторых примерах R^3 означает . В некоторых примерах по Формуле (III) R^3 означает гетероалкил. В некоторых примерах

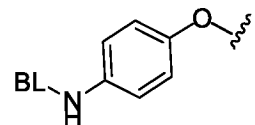
R^3 означает  или . В некоторых примерах по Формуле (III), R^3

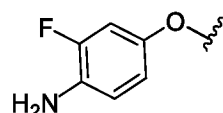
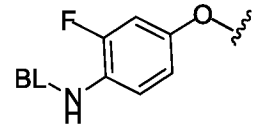
означает  или . В некоторых примерах по Формуле (III), R^3 означает $-NR^aR^b$. В некоторых примерах R^3 означает $-NR^aR^b$ -арилокси. В некоторых примерах R^3

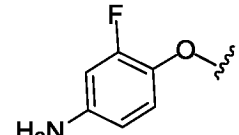
означает . В некоторых примерах R^3 означает . В некоторых примерах R^3

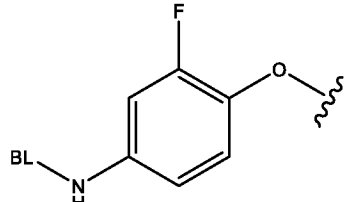
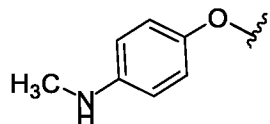
означает . В некоторых примерах R^3 означает арилокси. В некоторых примерах R^3

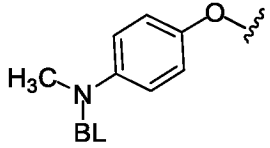
означает . В некоторых примерах R^3 означает . В некоторых

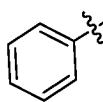
примерах R^3 означает . В некоторых примерах R^3 означает

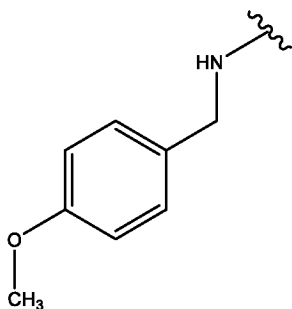
. В некоторых примерах R^3 означает . В некоторых

примерах R^3 означает . В некоторых примерах R^3 означает

. В некоторых примерах R^3 означает .

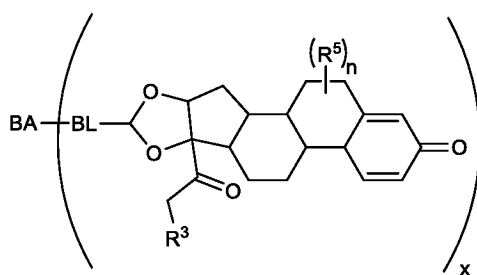
В некоторых примерах R^3 означает .

В некоторых примерах R^3 означает . В некоторых примерах R^3 означает



[0244] По Формуле (III) нижний индекс n означает целое число от 0 до 19. В некоторых примерах n означает 0. В других примерах n означает 1. В определенных примерах n означает 2. В других примерах n означает 3. В определенных примерах n означает 4. В некоторых примерах n означает 5. В других примерах n означает 6. В определенных примерах n означает 7. В других примерах n означает 8. В определенных примерах n означает 9. В некоторых примерах n означает 10. В других примерах n означает 11. В определенных примерах n означает 12. В других примерах n означает 13. В определенных примерах n означает 14. В некоторых примерах n означает 15. В других примерах n означает 16. В определенных примерах n означает 17. В других примерах n означает 18. В определенных примерах n означает 19.

[0245] В некоторых примерах здесь приведено соединение, имеющее структуру по Формуле (IIIa):



(IIIa);

где:

ВА означает связующий агент;

R^5 в каждом случае независимо означает -ОН, гало, или алкил;

R^3 выбран из -ОН, алкил-С(О)-О-, гетероалкил, $-NR^aR^b$, $-NR^aR^b$ -арилокси или арилокси, при этом алкил-С(О)-О-, гетероалкил или арилокси необязательно замещены $-NR^aR^b$ или гало;

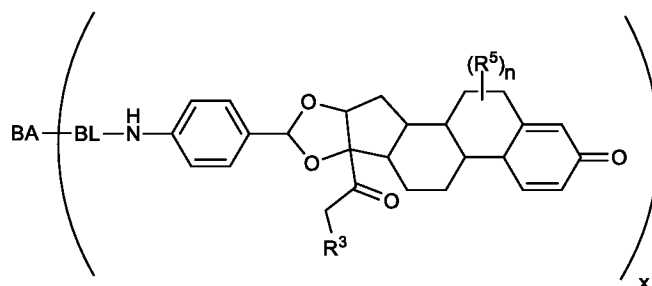
BL означает линкер связующего агента;

R^a и R^b в каждом случае независимо выбраны из H, алкил и алкил-С(О);

n означает целое число от 0 до 19;

x означает целое число от 1 до 30.

[0246] В некоторых примерах здесь приведено соединение, имеющее структуру по Формуле (IIIa2):



(IIIa2);

где:

BA означает связующий агент;

R^5 в каждом случае независимо означает -OH, гало или алкил;

R^3 означает -OH, алкил-C(O)-O-, гетероалкил, -NR^aR^b, -NR^aR^b-арилокси, или арилокси, при этом алкил-C(O)-O-, гетероалкил, или арилокси необязательно замещены -NR^aR^b или гало;

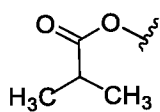
BL означает линкер связующего агента;

R^a и R^b в каждом случае независимо выбраны из H, алкил, или алкил-C(O);

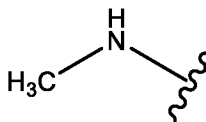
n означает целое число от 0 до 19;

x означает целое число от 0 до 30.

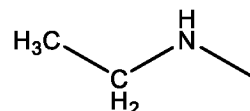
В некоторых примерах по Формуле (IIIa2) R^3 означает -OH. В некоторых примерах по Формуле (IIIa2) R^3 означает алкил-C(O)-O-. В некоторых примерах R^3 означает



В некоторых примерах по Формуле (IIIa2) R^3 означает гетероалкил. В



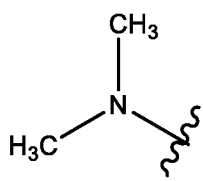
или



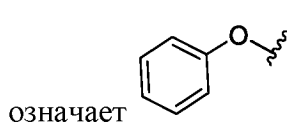
некоторых примерах R^3 означает

. В некоторых

примерах по Формуле (IIIa2) R^3 означает -NR^aR^b. В некоторых примерах R^3 означает

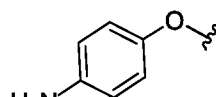


. В некоторых примерах R^3 означает арилокси. В некоторых примерах R^3



означает

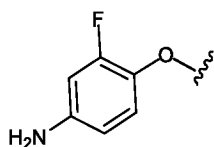
. В некоторых примерах R^3 означает



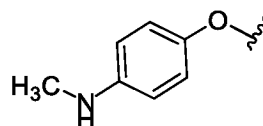
. В некоторых



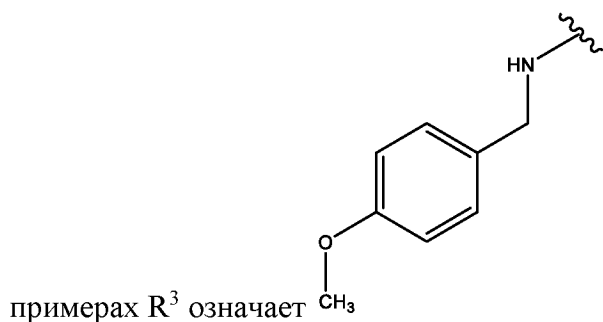
. В некоторых примерах R^3 означает



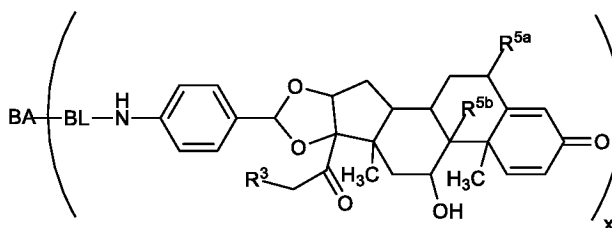
. В некоторых примерах R^3 означает



. В некоторых



[0247] В некоторых примерах соединение по Формуле (IIIa2) имеет следующую структуру:



где:

ВА означает связующий агент;

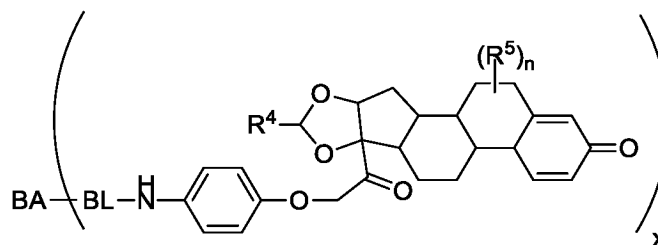
R^3 означает $-OH$ или алкил- $C(O)-O-$;

R^{5a} и R^{5b} в каждом случае независимо означают $-F$ или H ;

BL означает линкер связующего агента;

x означает целое число от 1 до 30.

[0248] В некоторых примерах здесь приведено соединение, имеющее структуру по Формуле (IIIb):



(IIIb);

где

ВА означает связующий агент;

R^5 в каждом случае независимо означает $-OH$, гало, или алкил;

R^4 выбран из алкил, арил, арилалкил, или N-содержащий гетероциклоалкил, при этом алкил, арил, арилалкил, или N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещены $-NR^aR^b$;

BL означает линкер связывающего агента;

R^a и R^b в каждом случае независимо выбраны из H, алкил и алкил-C(O);

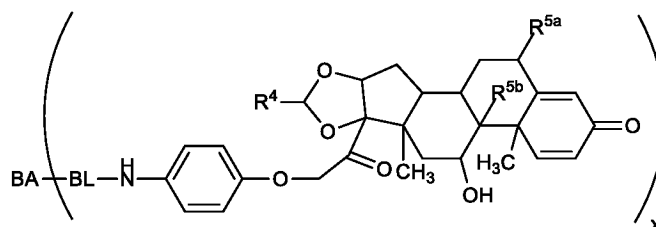
n означает целое число от 0 до 19;

x означает целое число от 0 до 30.

[0249] В некоторых примерах по Формуле (IIIb) R^5 означает -H или гало. В некоторых примерах по Формуле (IIIb) R^5 означает фтор. В некоторых примерах по Формуле (IIIb), n означает как минимум 2, и два R^5 означает гало. В некоторых примерах по Формуле (IIIb) R^5 означает -F, n означает 1. В некоторых примерах по Формуле (IIIb) R^5 означает -F.

[0250] В некоторых примерах по Формуле (IIIb) R^4 означает алкил. В некоторых примерах по Формуле (IIIb) R^4 означает метил, этил, n-пропил, i-пропил, n-бутил, s-бутил, t-бутил, i-бутил, пентильный фрагмент, гексиловый фрагмент, циклопропил, циклобутил, циклопентил или циклогексил. В некоторых примерах по Формуле (IIIb) R^4 означает n-пропил.

[0251] В некоторых примерах соединение по Формуле (IIIb) имеет следующую структуру:



где:

BA означает связывающий агент;

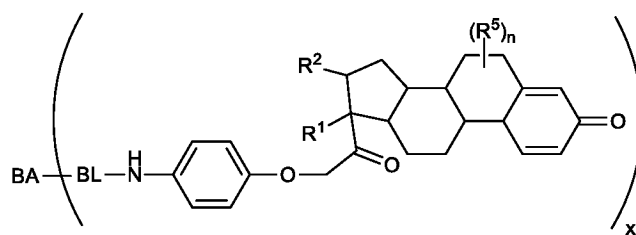
R^4 означает алкил;

R^{5a} и R^{5b} в каждом случае независимо означают -F или H;

BL означает линкер связывающего агента;

x означает целое число от 1 до 30.

[0252] В некоторых примерах здесь приведено соединение, имеющее структуру по Формуле (IIIc):



(IIIc);

где

BA означает связующий агент;

R^1 и R^2 независимо означают $-H$, алкил, алкил- $C(O)-O-$, $-OH$ или гало;

R^5 в каждом случае независимо выбран из $-OH$, гало или алкил;

BL означает линкер связующего агента;

n означает целое число от 0 до 19;

x означает целое число от 1 до 30.

[0253] В некоторых примерах по Формуле (IIIc) R^5 означает гало. В некоторых примерах по Формуле (IIIc) R^5 означает фтор. В некоторых примерах по Формуле (IIIc) один из R^5 означает гало. В некоторых примерах по Формуле (IIIc) два R^5 означает гало. В некоторых примерах по Формуле (IIIc) R^5 означает $-F$, n означает 2.

[0254] В некоторых примерах по Формуле (IIIc) R^1 означает CH_3 .

[0255] В других примерах по Формуле (IIIc) R^1 означает OH .

[0256] В некоторых других примерах по Формуле (IIIc) R^1 означает H .

[0257] В некоторых примерах по Формуле (IIIc) R^2 означает CH_3 .

[0258] В других примерах по Формуле (IIIc) R^2 означает OH .

[0259] В некоторых других примерах по Формуле (IIIc) R^2 означает H .

[0260] В некоторых примерах по Формуле (IIIc) R^1 означает CH_3 , R^2 означает CH_3 .

[0261] В других примерах по Формуле (IIIc) R^1 означает CH_3 , R^2 означает OH .

[0262] В некоторых примерах по Формуле (IIIc) R^1 означает CH_3 , R^2 означает H .

[0263] В некоторых других примерах по Формуле (IIIc) R^1 означает OH , R^2 означает CH_3 .

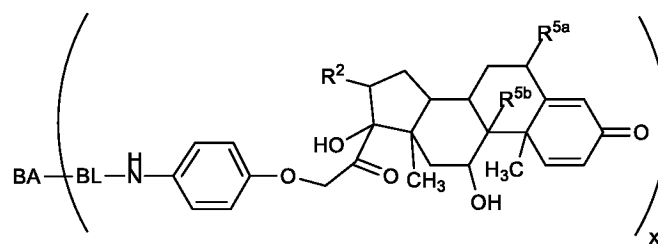
[0264] В других примерах по Формуле (IIIc) R^1 означает OH , R^2 означает OH .

[0265] В некоторых примерах по Формуле (IIIc) R^1 означает H , R^2 означает H .

[0266] В некоторых других примерах по Формуле (IIIc) R^1 означает H , R^2 означает OH .

[0267] В других примерах по Формуле (IIIc) R^1 означает H , R^2 означает H .

[0268] В некоторых вариантах осуществления соединения по Формуле (IIIc) имеет следующую структуру:



(IIIc)

где:

ВА означает связующий агент;

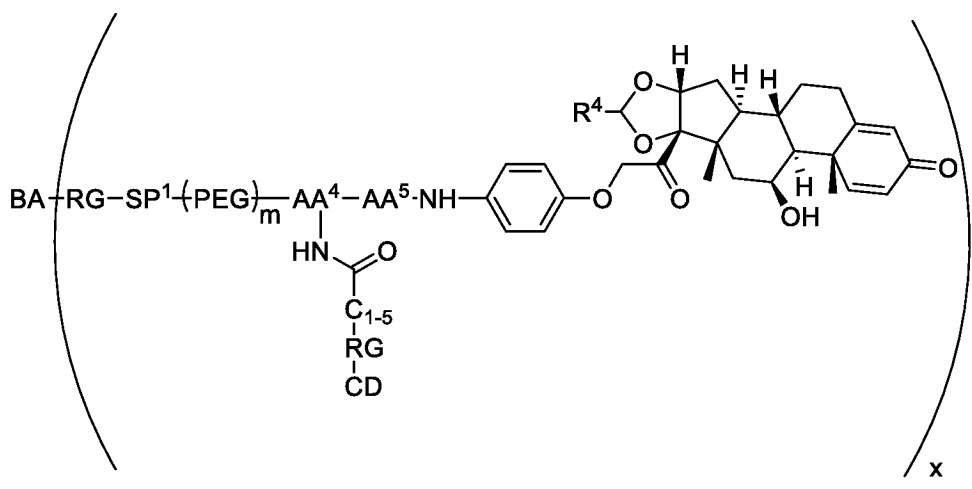
R² означает метил;

R^{5a} и R^{5b} в каждом случае независимо означают –F или H;

BL означает линкер связующего агента;

x означает целое число от 0 до 30.

[0269] В некоторых вариантах осуществления соединение по Формуле (IIIc) имеет следующую структуру:



ВА означает связующий агент;

RG означает остаток реакционноспособной группы;

CD означает циклодекстрин;

SP¹ означает спейсерную группу;

AA⁴ означает аминокислотный остаток;

AA⁵ означает дипептидный остаток;

PEG означает полиэтиленгликоль;

m означает целое число от 0 до 4;


x означает целое число от 0 до 30;

R⁴ означает алкил, арил, арилалкил, или N-содержащий гетероциклоалкил; при этом алкил, арил, арилалкил, и N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещены –NR^aR^b;

R^a и R^b в каждом случае независимо означают –H или алкил;

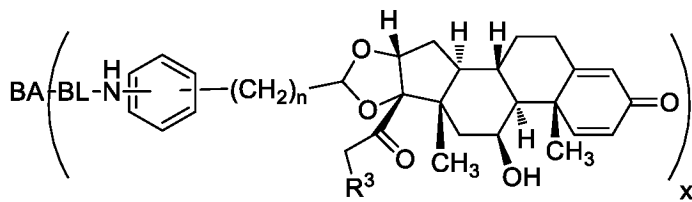
BA означает связующий агент, связанный с $-BL-$;

SP^1 и SP^2 в каждом случае независимо означают отсутствие или остаток спейсерной группы, где SP^1 включает тривалентный линкер; AA^4 означает тривалентный линкер, включающий аминокислотный остаток; AA^5 означает дипептидный остаток; PEG означает

полиэтиленгликолевый остаток; где  указывает атом, через который указанная химическая группа связывается с ближайшей группой в Формуле, CD в каждом случае независимо отсутствует или означает циклодекстриновый остаток, при этом как минимум CD присутствует, нижний индекс m означает целое число от 0 до 5; В этих примерах нижний индекс m означает 0, 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых примерах нижний индекс m означает 0. В некоторых примерах нижний индекс m означает 1. В некоторых примерах нижний индекс m означает 2. В некоторых примерах нижний индекс m означает 3. В некоторых примерах нижний индекс m означает 4. В некоторых примерах нижний индекс m означает 5. В некоторых примерах любой из AA^4 или AA^5 включает в каждом случае независимо аминокислоту, выбранную из группы аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, лизин, аргинин, гистидин или цитруллин, его производное или их комбинация. В определенных вариантах осуществления AA^4 означает аминокислоту, выбранную из группы аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, глицин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аминокислоту, выбранную из группы, лизин, аргинин, гистидин или цитруллин, его производное или их комбинация. В определенных вариантах осуществления AA^4 означает лизин. В определенных вариантах осуществления AA^4 означает лизин или производное лизина. В определенных вариантах осуществления AA^5 означает валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления AA^5 означает цитруллин-валин. В некоторых вариантах осуществления AA^5 означает валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления AA^5 означает аланин-валин. В некоторых вариантах осуществления AA^5 означает валин-глицин. В некоторых вариантах осуществления AA^5 означает глицин-валин. В некоторых вариантах осуществления AA^5 означает глутамат-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления AA^5 означает глутамин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления AA^5 означает лизин-валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления AA^5 означает лизин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления AA^5 означает глутамат-валин-цитруллин. В некоторых примерах SP^1 в каждом случае независимо выбран из группы, включающей C_{1-6} алкилен, $-NH-$, $-C(O)-$, $(-CH_2-CH_2-O)_e$, $-NH-CH_2-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$, $-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$, $-C(O)-NH-(CH_2)_v-$ и

их комбинации, где нижний индекс e означает целое число от 0 до 4, нижний индекс u означает целое число от 1 до 8, нижний индекс v означает целое число от 1 до 8. В некоторых примерах SP^2 в каждом случае независимо выбран из группы, включающей C_{1-6} алкилен, $-NH-$, $-C(O)-$, $(-CH_2-CH_2-O)_e$, $-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$, $-C(O)-(CH_2)_u-$, $-C(O)-NH-(CH_2)_v-$ и их комбинации, где нижний индекс e означает целое число от 0 до 4, нижний индекс u означает целое число от 1 до 8, нижний индекс v означает целое число от 1 до 8.

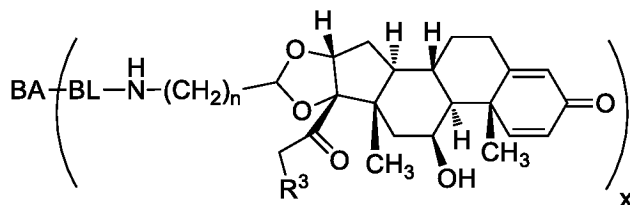
[0270] Ниже также приведены соединения по Формуле (B^2):



(B^2)

где n означает целое число от 0 до 4, R^3 означает $-OH$ или $R^Z-C(O)-O-$; где R^Z означает алкил, BL означает линкер связующего агента, BA означает связующий агент, x означает целое число от 1 до 30. В определенных вариантах осуществления n означает 0 или 1, x означает целое число от 1 до 6. В определенных вариантах осуществления x означает 4.

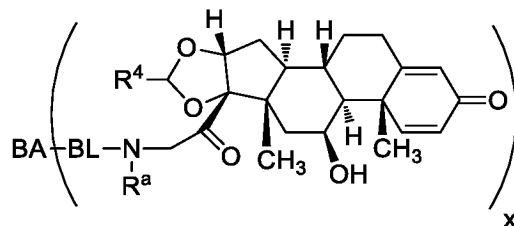
[0271] Ниже также приведены соединения по Формуле (B^3):



(B^3)

где n означает целое число от 1 до 4, R^3 означает $-OH$ или $R^Z-C(O)-O-$; где R^Z означает алкил, BL означает линкер связующего агента, BA означает связующий агент, x означает целое число от 1 до 30. В определенных вариантах осуществления n означает 2, x означает целое число от 1 до 6. В определенных вариантах осуществления x означает 4.

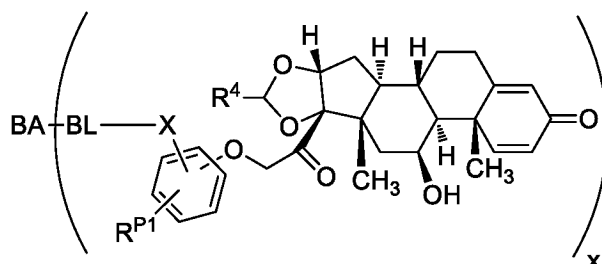
[0272] Ниже также приведены соединения по Формуле (B^4):



(B^4)

где R^4 означает алкил, R^a означает атом водорода или алкил, BL означает линкер связующего агента, и BA означает связующий агент. В определенных вариантах осуществления R^4 означает C_{1-4} алкил. В некоторых вариантах осуществления R^4 означает пропил. В определенных вариантах осуществления R^3 означает $-NH_2$, $-NHCH_3$ или $-N(CH_3)_2$. В определенных вариантах осуществления x означает целое число от 1 до 6. В определенных вариантах осуществления x означает 4.

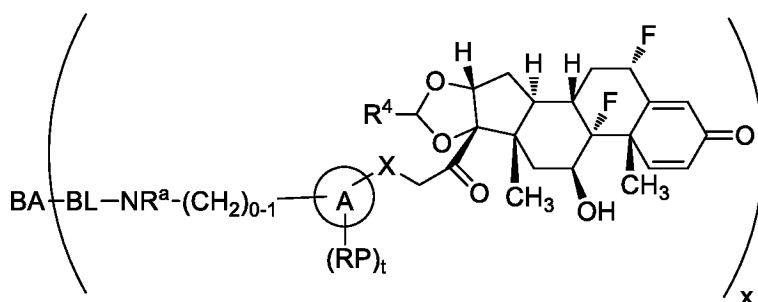
[0273] Ниже также приведены соединения по Формуле (B⁵):



(B⁵)

где R^4 означает алкил, R^{P1} означает гало или атом водорода, X означает NR^a или O, где R^a означает атом водорода или алкил, BL означает линкер связующего агента, BA означает связующий агент, x означает целое число от 1 до 30. В некоторых вариантах осуществления R^4 означает C_{1-4} алкил, X означает NH, x означает целое число от 1 до 6. В определенных вариантах осуществления x означает 4.

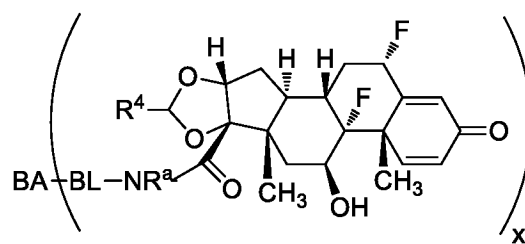
[0274] Ниже также приведены соединения по Формуле (B^{6A}):



(B^{6A})

где X означает O или NR^a , A означает арил или гетероарил, R^P означает гало, t означает целое число от 0 до 2, R^a означает атом водорода или алкил, BL означает линкер связующего агента, BA означает связующий агент, x означает целое число от 1 до 30, R^4 означает алкил. В некоторых вариантах осуществления X означает O, R^4 означает алкил, x означает целое число от 1 до 6. В определенных вариантах осуществления x означает 4.

[0275] Ниже также приведены соединения по Формуле (B^{6B})

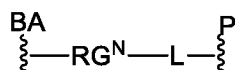


(B^{6B})

где Ra означает атом водорода или алкил, BL означает линкер связывающего агента, BA означает связывающий агент, x означает целое число от 1 до 30. В некоторых вариантах осуществления x означает целое число от 1 до 6. В некоторых вариантах осуществления x означает 4.

[0276] Используемое здесь выражение «линкер связывающего агента» или «BL» относится к любой двухвалентной группе или фрагменту, который связывает или соединяет связывающий агент (например, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент) с описанным здесь соединением, содержащим полезную нагрузку (например, стероид). Как правило, подходящие линкеры связывающего агента для описанных здесь конъюгатов антител представляют собой линкеры, которые являются достаточно стабильными, чтобы использовать период полужизни антитела в кровотоке, и в то же время способны высвободить его полезную нагрузку после антиген-опосредованной интернализации конъюгата. Линкеры могут быть расщепляемыми или нерасщепляемыми. Расщепляемые линкеры представляют собой линкеры, которые расщепляются посредством внутриклеточного метаболизма после интернализации, например, посредством гидролиза, восстановления или ферментативной реакции. Нерасщепляемые линкеры представляют собой линкеры, которые высвобождают присоединенную полезную нагрузку посредством лизосомальной деградации антитела после интернализации. Подходящие линкеры включают, в том числе, кислотно-лабильные линкеры, гидролизно-лабильные линкеры, ферментативно расщепляемые линкеры, восстанавливающие лабильные линкеры, самовоспламеняющиеся линкеры и нерасщепляемые линкеры. Подходящие линкеры также включают, в том числе линкеры, которые включают глюкурониды, сукцинимид-тиоэфиры, полиэтиленгликолевые (ПЭГ) звенья, карбаматы, гидразоны, маль-капроильные звенья, дисульфидные звенья (например, -SS-, -SS-C(R¹)(R²)-, где R¹ и R² независимо представляют собой водород или гидрокарбил), пара-амино-бензил (РАВ) звенья, фосфатные звенья, например, моно-, бис- и трисфосфатные звенья, пептиды, например пептидные единицы, содержащие две, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь или более аминокислотных единиц, включая в том числе, единицы валин-цитруллин, единицы валин-аланин, единицы валин-аргинин, единицы валин-лизин, единицы лизин-валин-цитруллин, единицы лизин-валин-

аланин. В некоторых вариантах осуществления линкерная группа связующего агента описанных здесь конъюгатов получена в результате реакции группы «реакционноспособный линкер» описанного здесь линкера, содержащего полезную нагрузку, с реакционноспособной частью антитела. Группа реакционноспособных линкеров (RL) относится к одновалентной группе, которая включает в себя реакционноспособную группу и связующую группу, изображенную как, где RG представляет собой реакционноспособную группу, обозначенную как $RG-L-\zeta$, где RG означает реакционноспособную группу, L означает связующую группу, волнистая линия означает связь с полезной нагрузкой. Связующая группа представляет собой любой двухвалентный фрагмент, который соединяет реакционноспособную группу с полезной нагрузкой. Связующей группой также может быть любой трехвалентный фрагмент, который связывает реакционноспособную группу, полезную нагрузку и циклодекстриновый фрагмент. В некоторых примерах связующая группа является трехвалентной и включает циклодекстриновую группу, связанную с трехвалентной группой (например, лизиновый остаток) в связующей группе. Реакционноспособные линкеры (RL) вместе с полезными нагрузками, с которыми они связаны, содержат промежуточные соединения («линкеры с полезными нагрузками»), используемые в качестве синтетических предшественников для получения описанных здесь стероидных конъюгатов антител. Реакционноспособный линкер содержит реакционноспособную группу (RG), которая представляет собой функциональную группу или фрагмент, который реагирует с реакционноспособной частью антитела, модифицированного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. Часть, полученная в результате реакции реакционноспособной группы (RG) с антителом, модифицированным антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, вместе со связующей группой (L), содержит часть «линкера связующего агента» (BL) описанного здесь конъюгата. Таким образом, BL имеет следующую структуру:

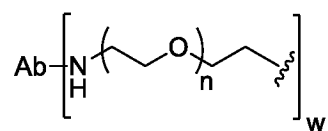


где $\begin{array}{c} \text{BA} \\ \zeta \end{array}$ означает связь со связующим агентом, RG^N означает фрагмент, полученный в результате реакции реакционноспособной группы линкера с полезной нагрузкой с реакционноспособной частью связующего агента, L означает связующую группу, $\begin{array}{c} \text{P} \\ \zeta \end{array}$ означает связь с полезной нагрузкой.

[0277] В определенных вариантах осуществления фрагмент RG^N получают из реакции RG с остатком цистеина или лизина антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В

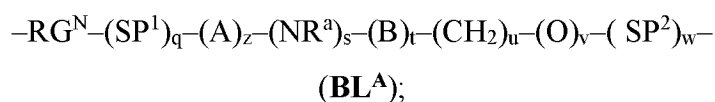
определенных разрешениях RG^N получен из клик-химической реакции. В некоторых вариантах осуществления указанной клик-химической реакции RG^N получают из реакции 1,3-циклоприсоединения между алкином и азидом. Неограничивающие примеры таких RG^N включают те, которые получены из напряженных алкинов, например, подходящих для облегченных напряжением азид-алкиновых циклоприсоединений (SPAAC), циклоалкинов, например, циклооктинов, бензанулированных алкинов и алкинов, способных подвергаться реакциям 1,3-циклоприсоединения с азидами в отсутствие медных катализаторов. Подходящие RG^N также включают, в том числе, RG^N полученные из DIBAC, DIBO, BARAC, замещенных, например, фторированных алкинов, азациклоалкинов, BCN и их производных. Конъюгаты, содержащие такие группы RG^N , могут быть получены из антител, которые были функционализированы азидо группами. Такие функционализированные антитела включают антитела, функционализированные азидо-полиэтиленгликолевыми группами. В определенных вариантах осуществления такое функционализированное антитело получают путем взаимодействия антитела, содержащего как минимум один глутаминовый остаток, с соединением по Формуле $H_2N-LL-N_3$, где LL означает группу двухвалентного полиэтиленгликоля в присутствии фермента трансглутаминазы, например микробной трансглутаминазы. Подходящие глутаминовые остатки антитела включают Q295 или остатки, которые получены путем вставки или мутации, например, мутации N297Q.

[0278] В некоторых вариантах осуществления связующий агент описанных здесь конъюгатов, представляет собой антитело или его антигенсвязующий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления описанные здесь конъюгаты получены из азидо-функционализированных антител. В определенных вариантах осуществления связующий агент описанных здесь конъюгатов представляет собой



где Ab означает антитело или его антигенсвязующий фрагмент, n означает целое число от 1 до 10, w означает количество фрагментов полезной нагрузки линкера, ζ означает связь с одним линкером связующего агента (BL), например связь с фрагментом, полученным в результате реакции 1,3-циклоприсоединения между алкином и азидом. Конъюгат содержит 2 или 4 фрагмента полезной нагрузки линкера.

[0279] В некоторых вариантах осуществления линкер связующего агента означает двухвалентный фрагмент по Формуле (BL^A);



где RG^N определен выше;

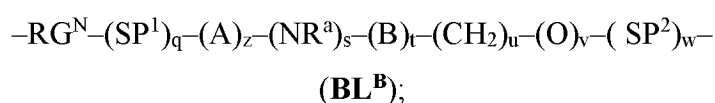
A означает аминокислоту или пептид;

R^a означает H или алкил;

B означает арил, гетероарил или гетероциклоалкил, при этом арил, гетероарил или гетероциклоалкил необязательно замещен алкилом, -OH или $-NR^aR^b$;

SP^1 и SP^2 независимо означают спейсерные группы; q, z, s, t, u, v и w в каждом случае независимо означают 0 или 1.

[0280] В некоторых других вариантах осуществления линкер связующего агента означает трехвалентный фрагмент **(BL^B);**



где RG^N определен выше;

A означает трипептид, при этом как минимум одна из аминокислот в трипептиде связана напрямую или опосредованно с фрагментом циклодекстрина;

R^a означает H или алкил;

B означает арил, гетероарил или гетероциклоалкил, при этом арил, гетероарил или гетероциклоалкил необязательно замещены алкилом, -OH или $-NR^aR^b$;

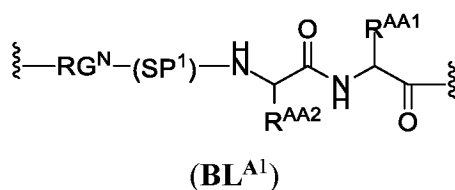
SP^1 и SP^2 независимо означают спейсерные группы; q, z, s, t, u, v и w в каждом случае независимо означают 0 или 1.

[0281] В некоторых примерах циклодекстрин (ЦД) напрямую связан с аминокислотным остатком, таким как лизиновый кислотный остаток. Это означает, что ЦД находится на расстоянии одной позиции связи от ковалентного линкера аминокислоты лизин. В некоторых из этих примеров ковалентный линкер также связан напрямую с фрагментом полезной нагрузки. Это означает, что ковалентный линкер находится на расстоянии одной позиции связи от полезной нагрузки, такой как, например, описанная здесь стероидная полезная нагрузка. В некоторых из этих примеров ковалентный линкер также связан напрямую с ЦД-фрагментом. Это означает, что ковалентный линкер находится на расстоянии одной позиции связи от ЦД, такого как описанный здесь ЦД. В некоторых из этих примеров ковалентный линкер представляет собой лизиновую кислоту или ее производное.

[0282] В некоторых примерах ЦД связан опосредованно с ковалентным линкером в связующей группе (например, BL). Это означает, что ЦД находится на расстоянии более одной позиции связи от ковалентного линкера. Это также означает, что ЦД связан через

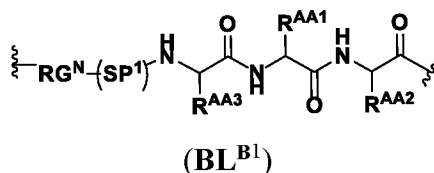
другой фрагмент с ковалентным линкером. Например, ЦД может быть связан с малеимидной группой, которая связана с группой полиэтиленгликоля, которая связана с ковалентным линкером. В некоторых из этих примеров ковалентный линкер также опосредованно связан с фрагментом полезной нагрузки. Это означает, что ковалентный линкер находится более чем в одной позиции связи от полезной нагрузки, такой как, например, описанная здесь стероидная полезная нагрузка. Это также означает, что ковалентный линкер связан через другую группу с полезной нагрузкой. Например, ковалентный линкер может быть связан с дипептидом, в том числе Val-Ala или Val-Cit, который может быть связан с пара-амино бензоилом, который может быть связан с полезной нагрузкой. В некоторых из этих примеров ковалентный линкер также опосредованно связан с циклодекстриновым фрагментом. Это означает, что ковалентный линкер находится более чем в одной позиции связи от циклодекстрина, такого как описанные здесь циклодекстрины. Это также означает, что ковалентный линкер связан через другой фрагмент с циклодекстрином. Например, ковалентный линкер может быть связан с группой полиэтиленгликоля, которая может быть связана с реакционноспособной группой, которая может быть связана с циклодекстрином. В некоторых из этих примеров ковалентный линкер представляет собой лизиновую кислоту или ее производное.

[0283] В некоторых вариантах осуществления линкер связующего агента означает $-RG^N-(SP^1)_q-(A)_z-$. В некоторых вариантах осуществления линкер связующего агента означает $-RG^N-(SP^1)_q-(A)_2-$. В некоторых вариантах осуществления линкер связующего агента означает фрагмент по Формуле (BL^{A1})



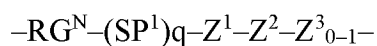
где R^{AA1} и R^{AA2} в каждом случае независимо означают аминокислотные боковые цепи. В некоторых примерах по Формуле RL^{A1} SP¹ означает группу двухвалентного полиэтиленгликоля, RG^N означает а 1,3-циклоприсоединенный аддукт реакции между алкином и азидом.

[0284] В некоторых вариантах осуществления линкер связующего агента означает $-RG^N-(SP^1)_q-(A)_z-$. В некоторых вариантах осуществления линкер связующего агента означает $-RG^N-(SP^1)_q-(A)_2-$. В некоторых вариантах осуществления линкер связующего агента означает фрагмент по Формуле (BL^{B1})



[0285] где R^{AA1} и R^{AA2} в каждом случае независимо означают аминокислотные боковые цепи. R^{AA3} означает аминокислотную боковую цепь, которая связана напрямую или опосредованно с фрагмент циклодекстрина. В некоторых примерах по Формуле RL^{B1}, SP¹ означает группу двухвалентного полиэтиленгликоля, RG^N означает а 1,3-циклоприсоединенный аддукт реакции между алкином и азидом.

[0286] В некоторых вариантах осуществления линкер связующего агента имеет следующую структуру:



где:

RG^N, SP¹ определены выше;

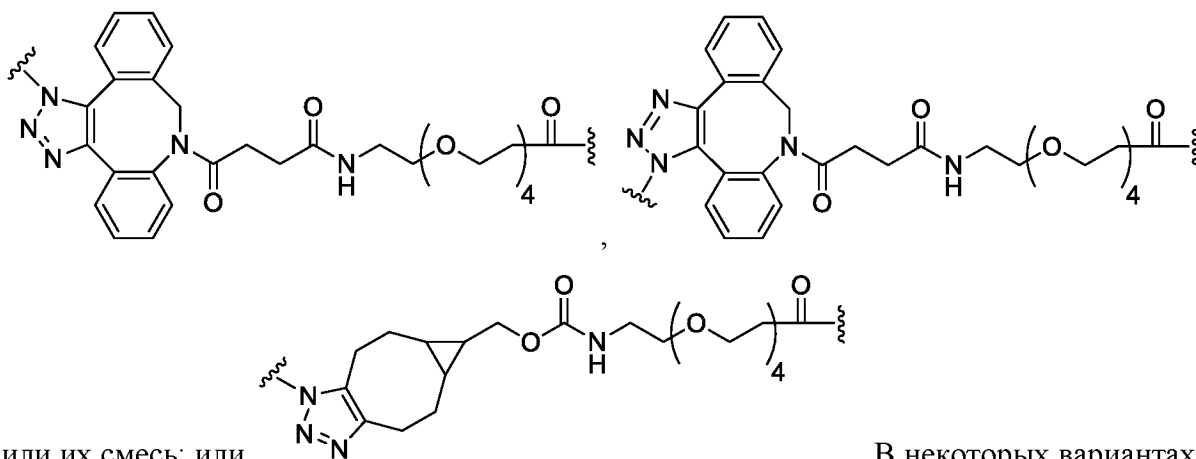
q означает 0 или 1;

Z¹ означает группу полиэтиленгликоля или капроила;

Z² означает дипептид или трипептид;

Z³ означает группу пара-аминобензилового спирта.

В определенных вариантах осуществления RG^N означает производное от клик-химической реакционноспособной группы, Z¹ означает а группу полиэтиленгликоля. В определенных вариантах осуществления RGN-(SP1)q-Z1- означает:

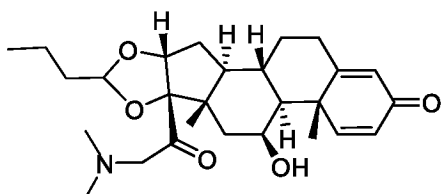


или их смесь; или

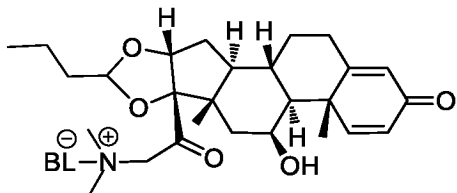
. В некоторых вариантах

осуществления дипептид означает валин-цитруллин или валин аланин.

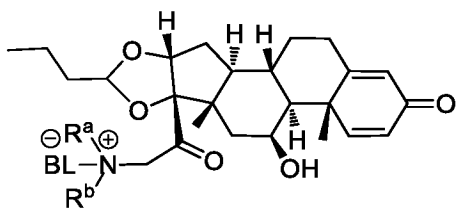
[0287] В некоторых вариантах осуществления линкер связующего агента присоединен к полезной нагрузке через третичный амин. Например, если стероид представляет собой



следующее соединение, , реакционноспособный линкер может связываться с третичным амином следующим образом:



[0288] В некоторых примерах приведено следующее соединение:

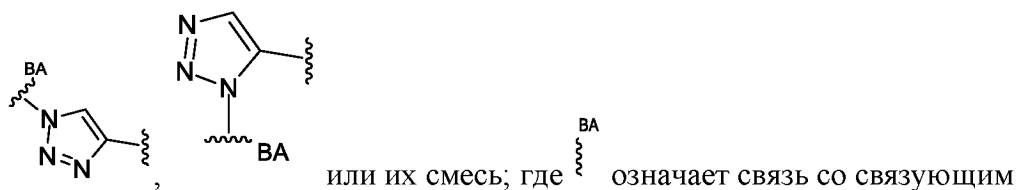
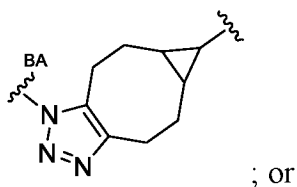
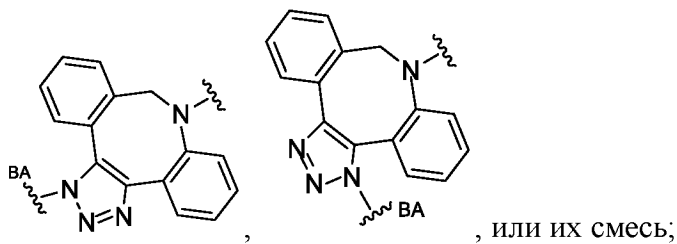


где:

BL означает линкер связующего агента как определено выше;

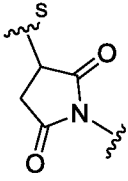

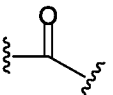
R^a и R^b в каждом случае независимо означают -H или алкил.

[0289] В некоторых примерах в настоящем документе RG^N означает производное от клик-химической реакционноспособной группы. В некоторых примерах RG^N означает:

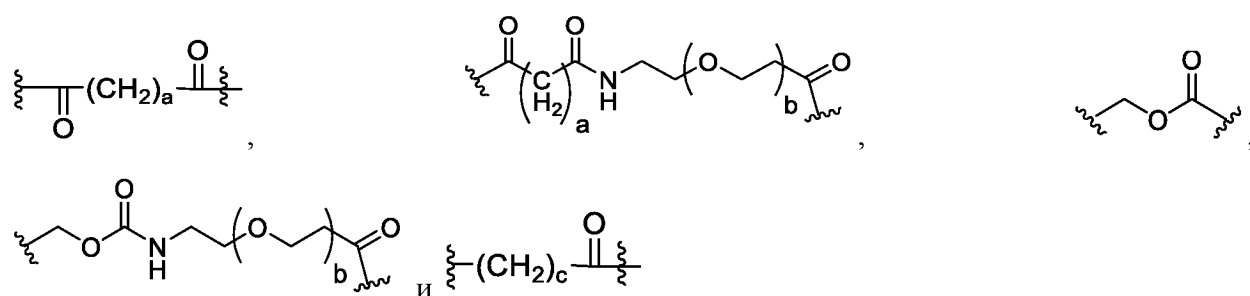


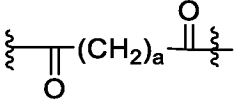
агентом.

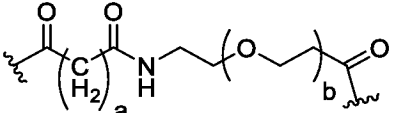
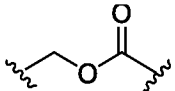
[0290] В других примерах в настоящем документе RG^N выбран из группы, которая реагирует с цистеиновым или лизиновым остатком на антителе или его антигенсвязующем

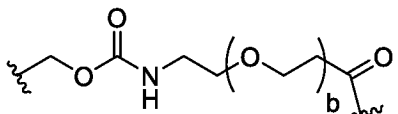
фрагменте. В некоторых примерах RG^N означает ; где  означает связь с цистеином связующего агента, например, антитела. В некоторых примерах RG^N означает .

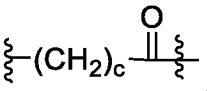
[0291] В некоторых вариантах осуществления SP^1 выбран из:

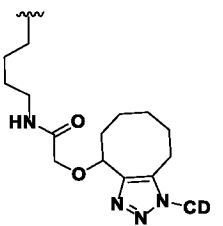


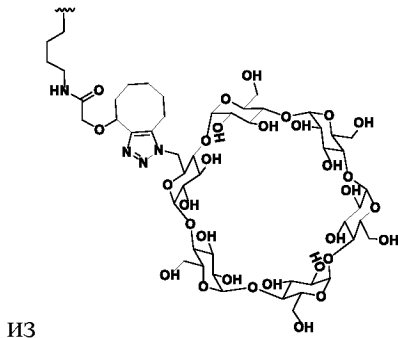
В некоторых примерах SP^1 означает . В других примерах SP^1 означает

. В других примерах SP^1 означает . В других

примерах SP^1 означает . В других примерах SP^1 означает

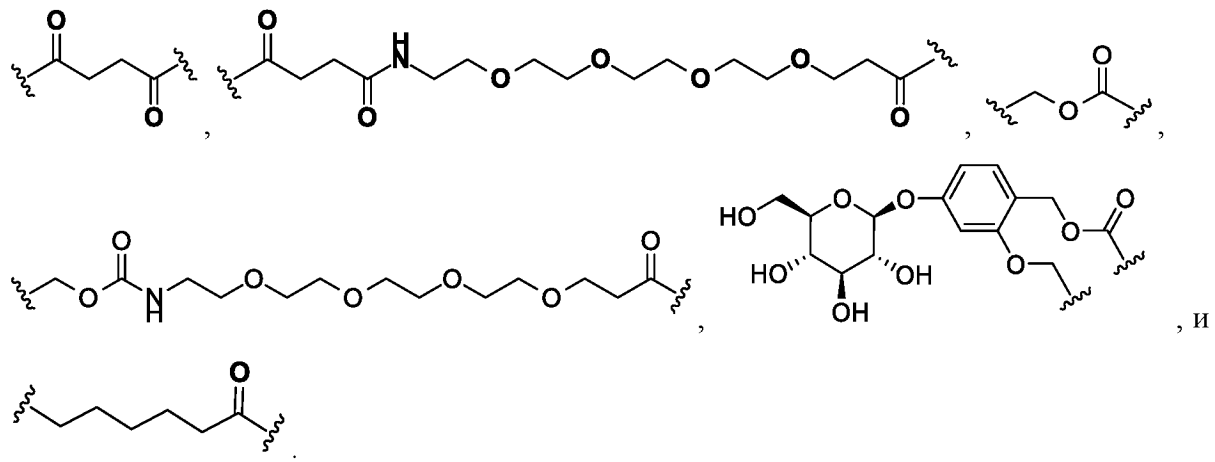
. В любом из указанных выше примеров нижние индексы a, b, и c в каждом случае независимо означают целое число от 1 до 20.

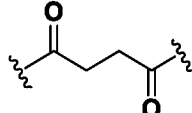
[0292] В некоторых вариантах осуществления R^{AA3} выбран из , где CD означает фрагмент циклодекстрина. В некоторых вариантах осуществления R^{AA3} выбран

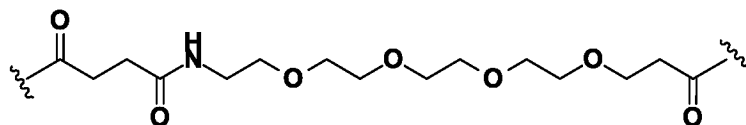


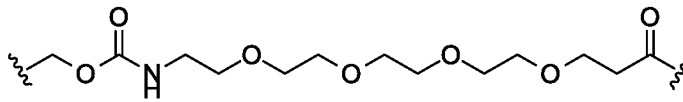
из

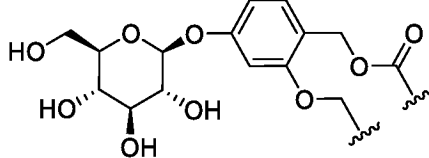
[0293] В любом из соединений по Формуле (II), (IIa), (IIb) или (IIc) SP¹ выбран из:

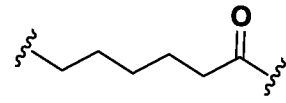


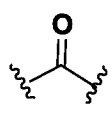
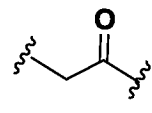
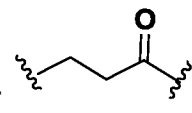
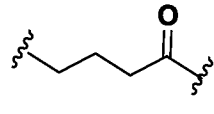
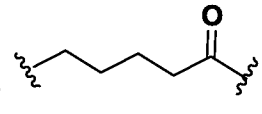
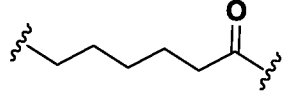
[0294] В некоторых примерах SP¹ означает  . В некоторых примерах SP¹

означает  . В

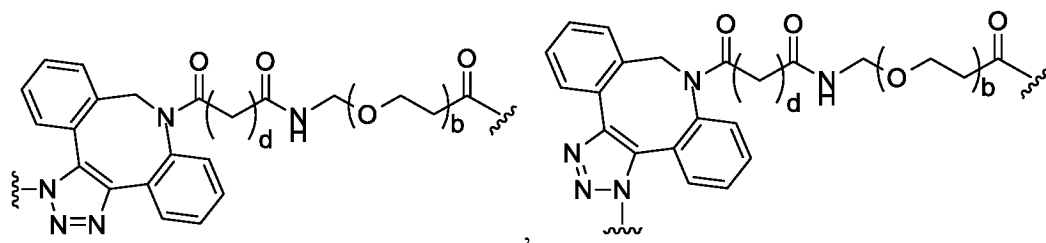
некоторых примерах SP¹ означает  . В

некоторых примерах SP¹ означает  . В некоторых

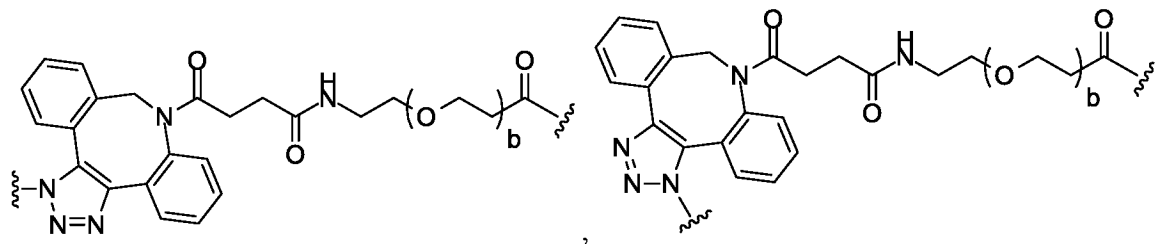
примерах SP¹ означает  .

[0295] В некоторых примерах SP¹ означает . В некоторых примерах SP¹ означает . В некоторых примерах SP¹ означает . В некоторых примерах SP¹ означает . В некоторых примерах SP¹ означает . В некоторых примерах SP¹ означает .

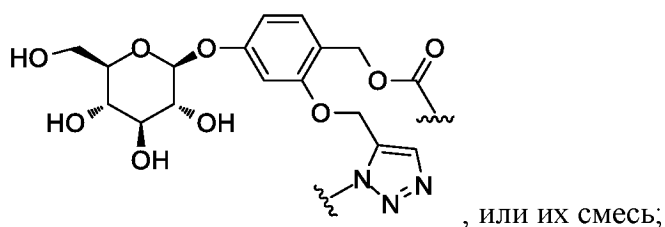
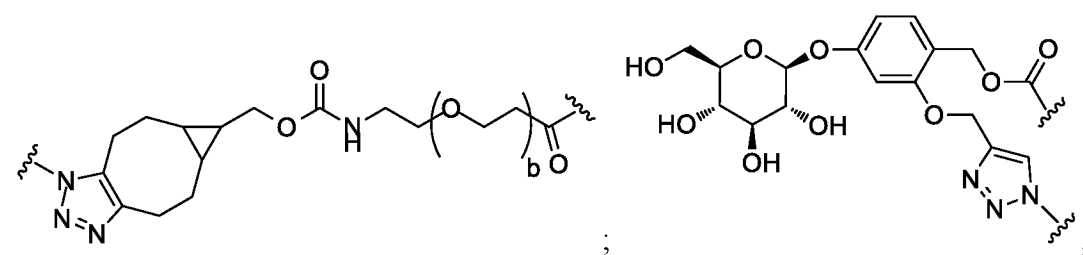
[0296] В некоторых вариантах осуществления BL-SP¹ означает:

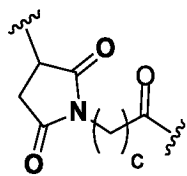


или или их смесь;



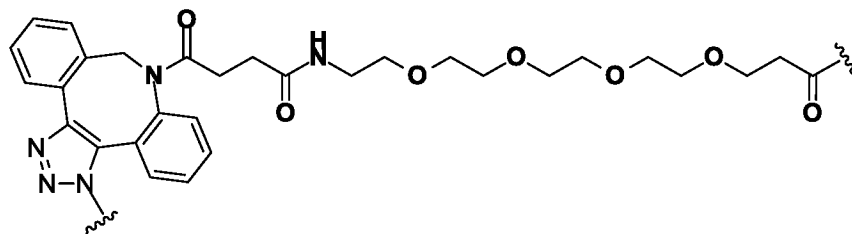
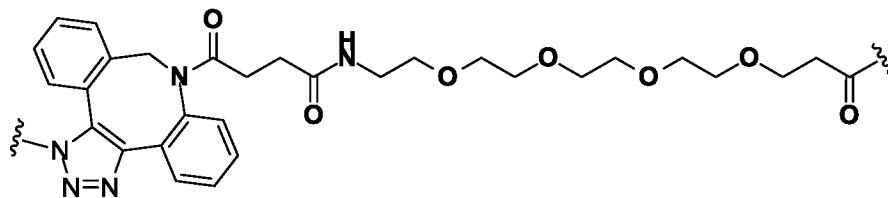
или или их смесь;



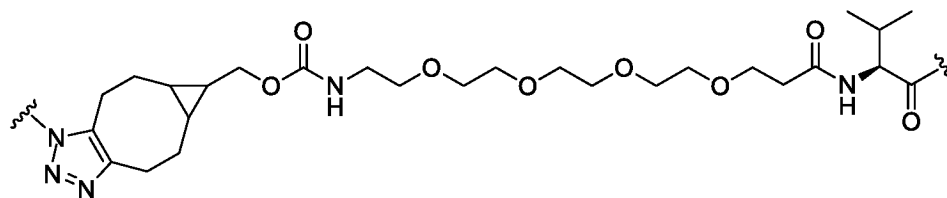
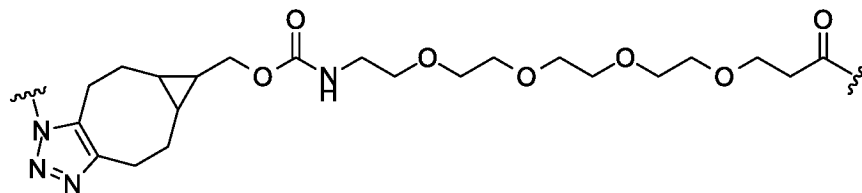


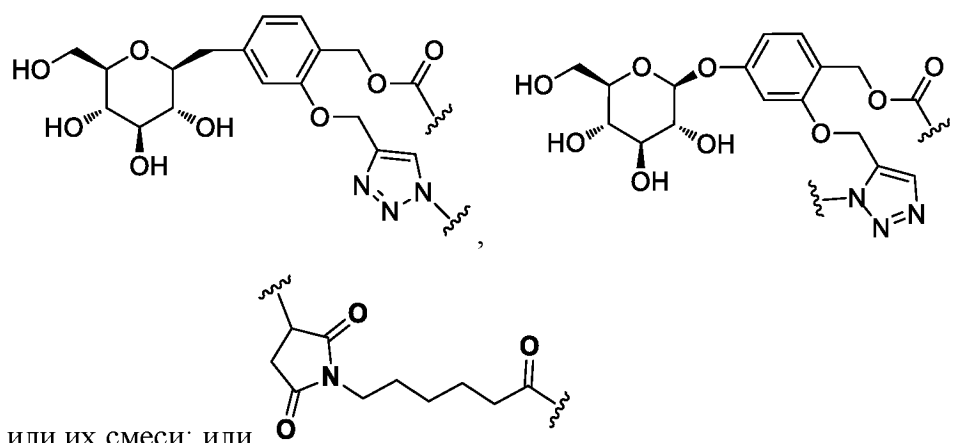
или . В некоторых из этих примеров нижние индексы b, c, и d в каждом случае независимо означают целое число от 1 до 20.

[0297] В любом из соединений по Формуле (II), (IIa), (IIb) или (IIc) BL-SP¹ выбран из:



или их смеси;





или их смеси; или

[0298] В некоторых вариантах осуществления А означает пептид, выбранный из группы валин–цитруллин, цитруллин–валин, лизин–фенилаланин, фенилаланин–лизин, валин–аспарагин, аспарагин–валин, треонин–аспарагин, аспарагин–треонин, серин–аспарагин, аспарагин–серин, фенилаланин–аспарагин, аспарагин–фенилаланин, лейцин–аспарагин, аспарагин–лейцин, изолейцин–аспарагин, аспарагин–изолейцин, глицин–аспарагин, аспарагин–глицин, глутаминовая кислота–аспарагин, аспарагин– глутаминовая кислота, цитруллин–аспарагин, аспарагин–цитруллин, аланин–аспарагин, или аспарагин–аланин.

[0299] В некоторых примерах А означает валин–цитруллин или цитруллин–валин.

[0300] В некоторых примерах А означает валин–аланин или аланин–валин.

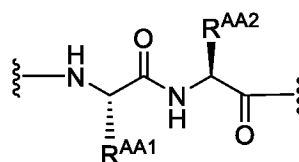
[0301] В некоторых примерах А означает лизин-валин–аланин или аланин–валин-лизин.

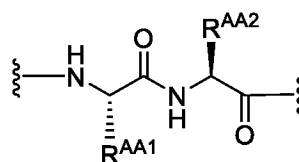
[0302] В некоторых примерах А означает лизин-валин–цитруллин или цитруллин–валин-лизин.

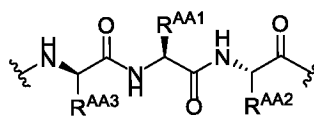
[0303] В некоторых примерах А означает валин.

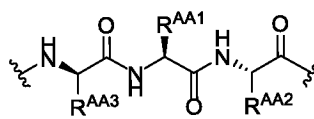
[0304] В некоторых примерах А означает аланин.

[0305] В некоторых примерах А означает цитруллин.

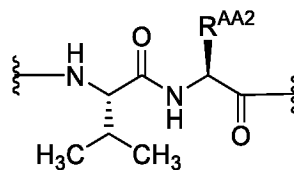


[0306] В некоторых примерах А означает . В некоторых из этих примеров R^{AA1} означает боковую аминокислотную цепь, R^{AA2} означает боковую аминокислотную цепь.

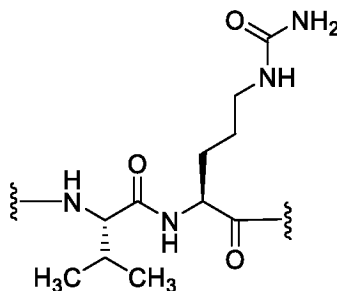


[0307] В некоторых примерах А означает . В некоторых из этих примеров R^{AA1} означает боковую аминокислотную цепь, R^{AA2} означает боковую

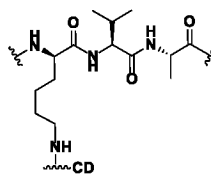
аминокислотную цепь, и R^{AA3} означает боковую аминокислотную цепь, которая связана напрямую или опосредованно с циклодекстриновым фрагментом.



[0308] В некоторых примерах А означает

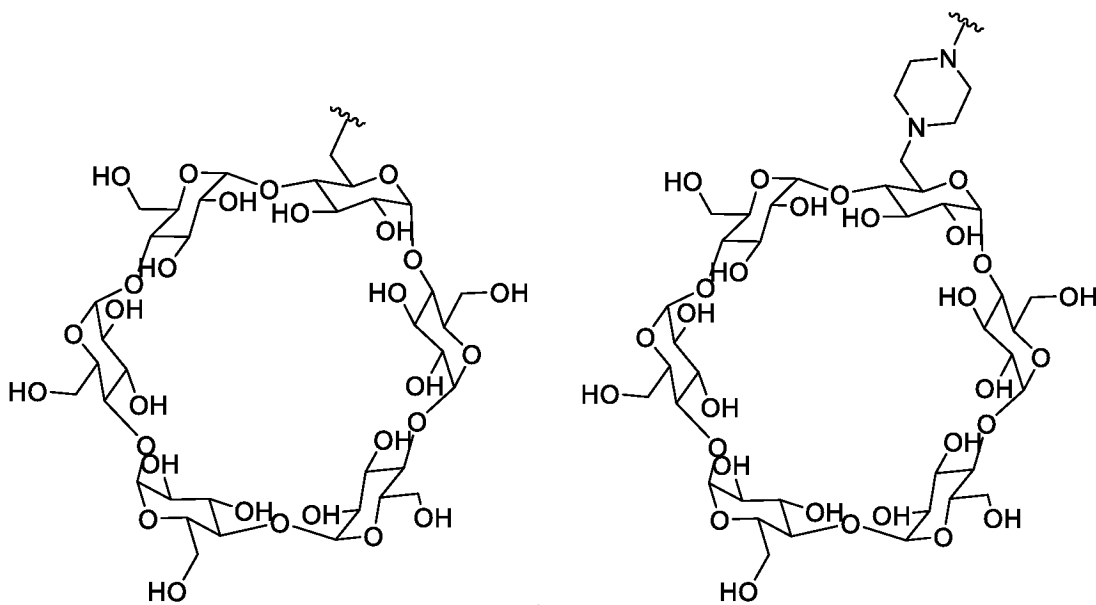


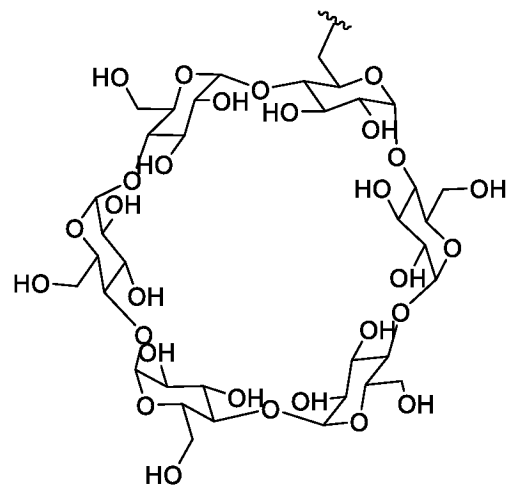
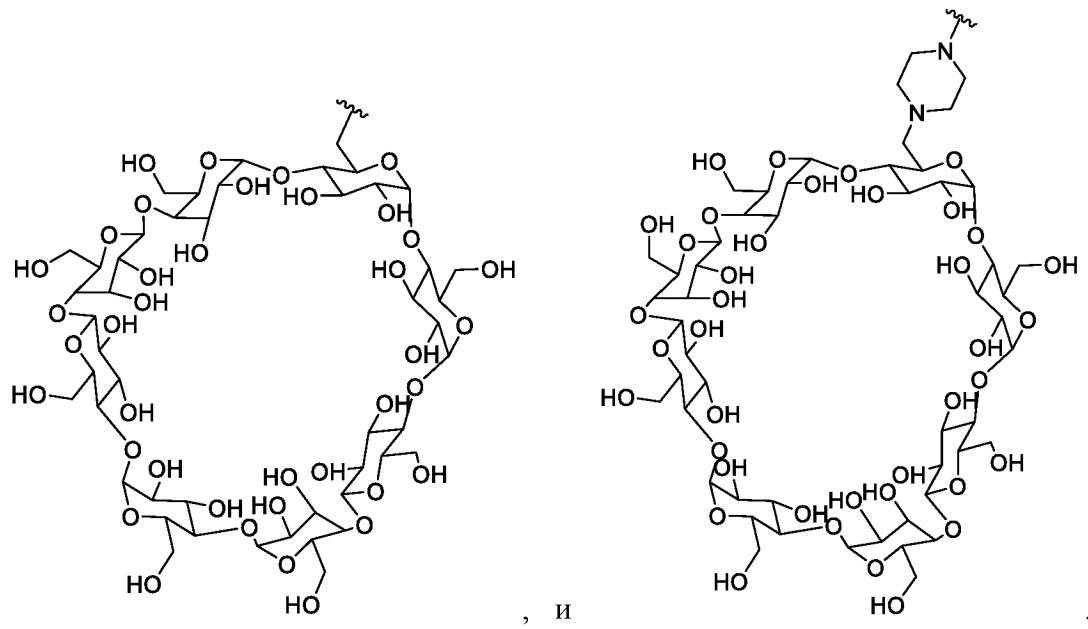
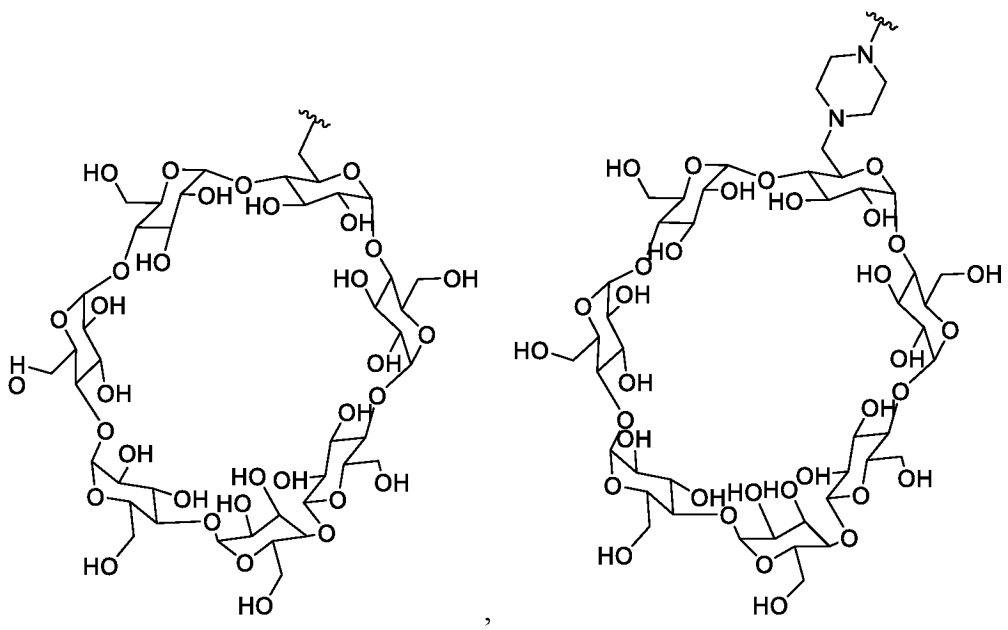
[0309] В некоторых примерах А означает



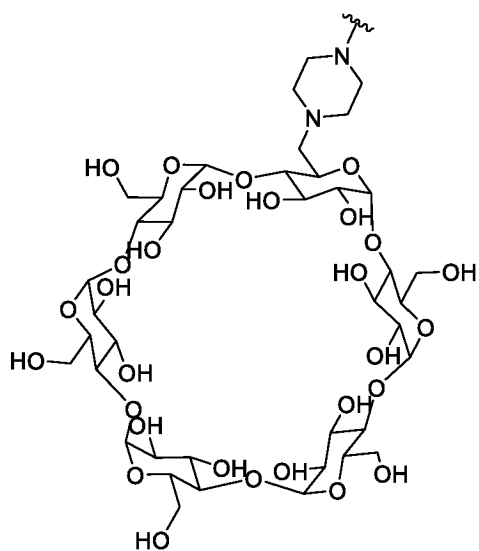
[0310] В некоторых примерах А означает , где ---CD представляет прямую или опосредованную связь с циклодекстриновым фрагментом.

[0311] В некоторых примерах, включая любой из приведенных ниже, CD в каждом случае независимо выбран из

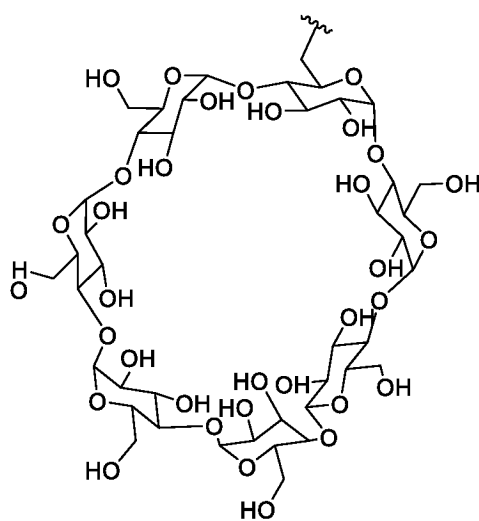




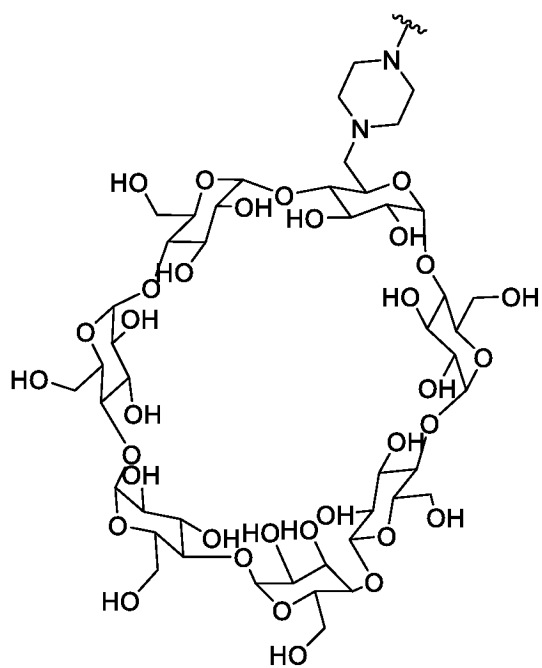
В некоторых примерах ЦД означает



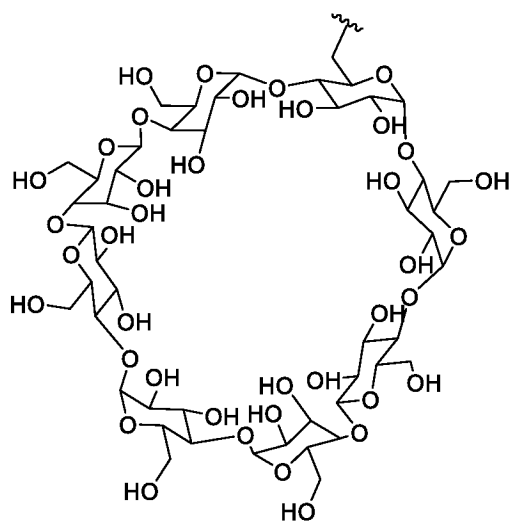
В некоторых примерах ЦД означает



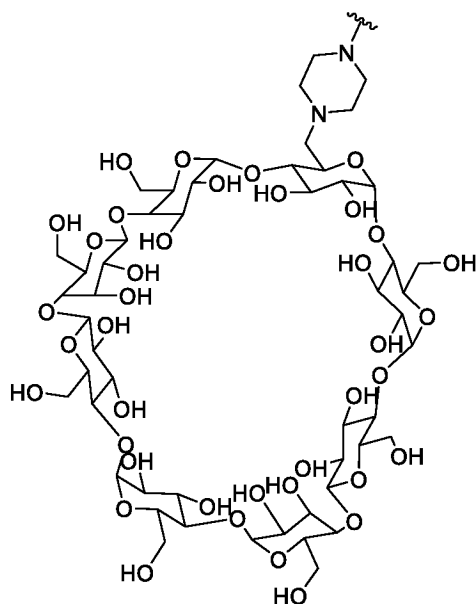
В некоторых примерах ЦД означает



В некоторых примерах ЦД означает

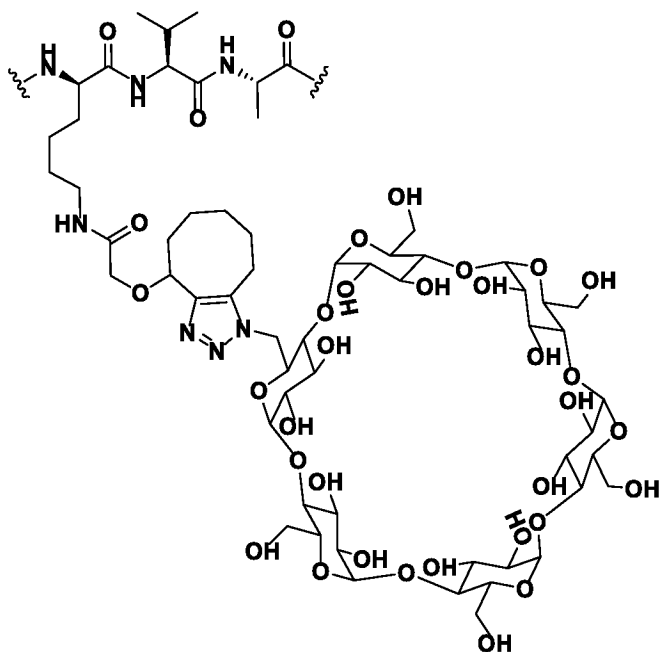


В некоторых примерах ЦД означает



В некоторых примерах ЦД означает

[0312] В некоторых примерах А означает



[0313] В некоторых примерах R^a означает Н

[0314] В некоторых примерах R^a означает алкил

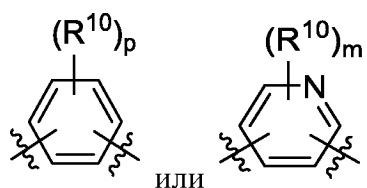
[0315] В некоторых примерах R^a означает метил, этил, n-пропил, i-пропил, n-бутил, t-бутил, i-бутил, или пентил.

[0316] В некоторых вариантах осуществления В означает арил.

[0317] В некоторых примерах В означает фенил.

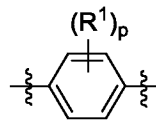
[0318] В некоторых примерах соединений по Формуле (II), (IIa), (IIb) или (IIc) В означает фенил или пиридинил.

[0319] В некоторых приведенных здесь примерах В означает:



В этих примерах R^{10} означает алкил, алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкиларил, арилалкил, гало, галоалкил, галоалкокси, гетероарил, гетероциклоалкил, гидроксил,ом,

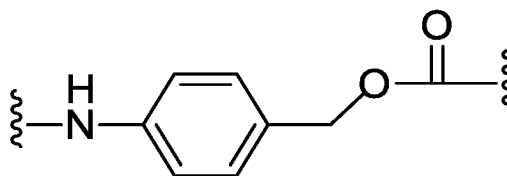
суано, нитро, $-\xi-OR^A$, $-\xi-SO_2R^A$, $-\xi-C(=O)R^A$, NR^aR^b или азидо. В этих примерах нижние индексы p и m в каждом случае независимо выбраны из целого числа от 0 до 4.



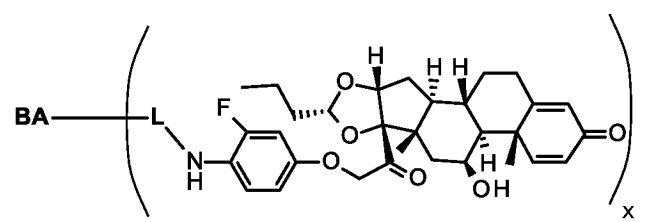
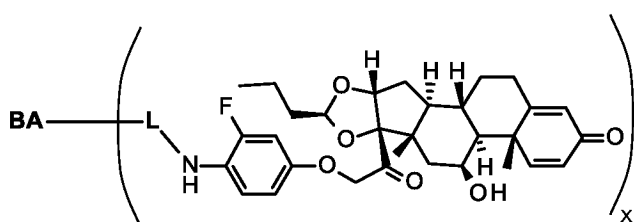
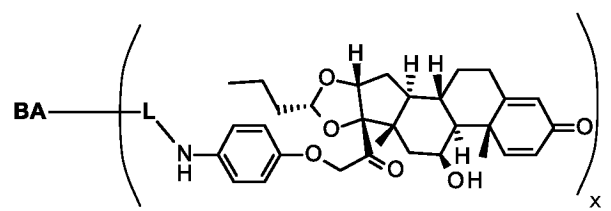
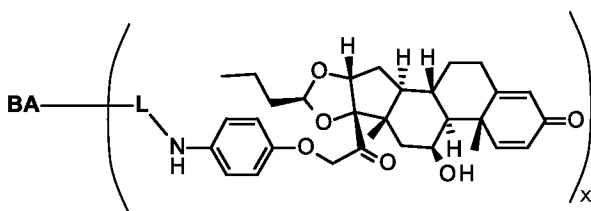
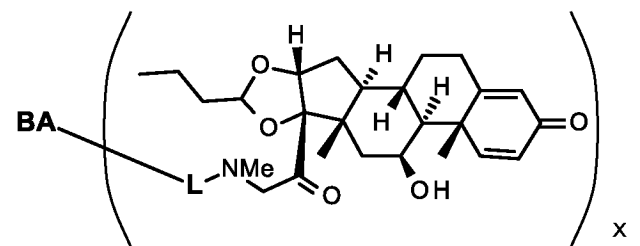
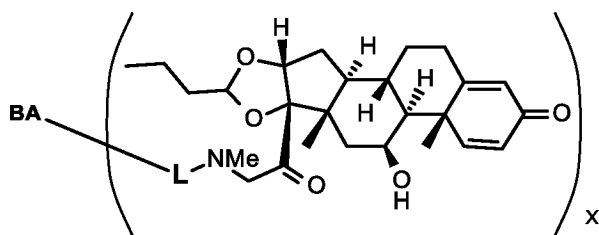
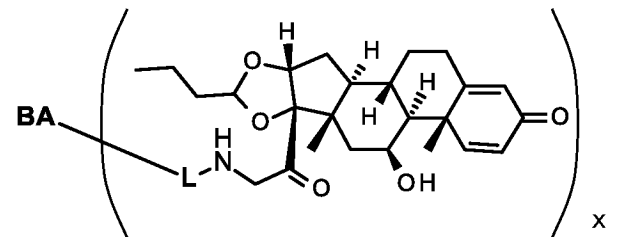
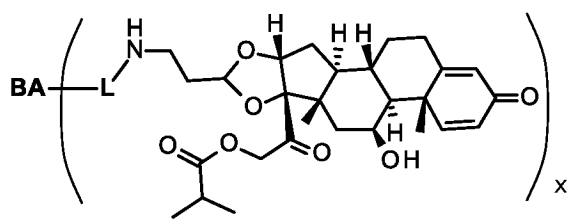
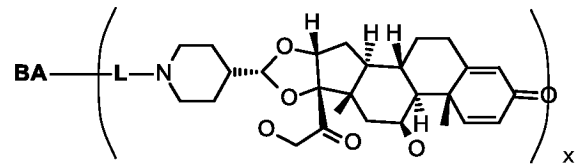
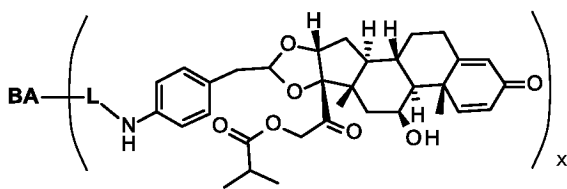
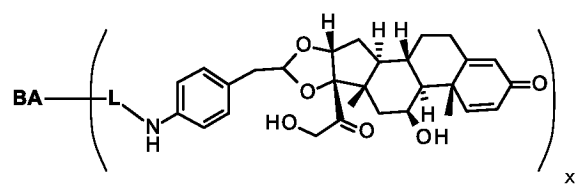
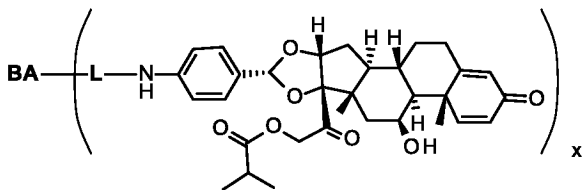
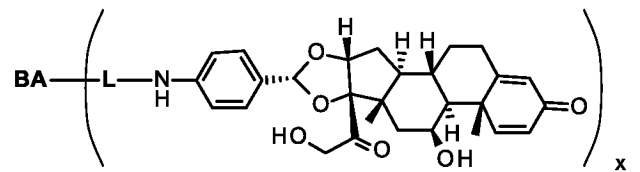
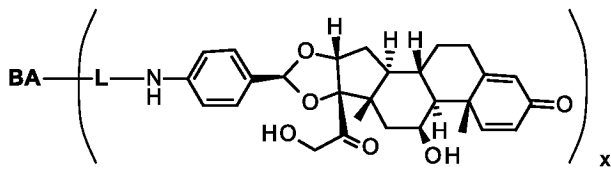
[0320] В некоторых приведенных здесь примерах В означает:

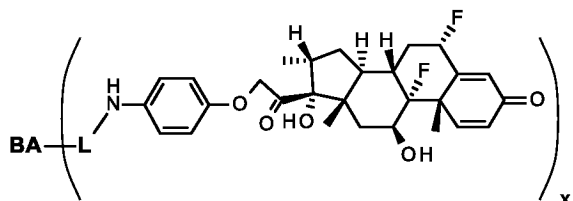
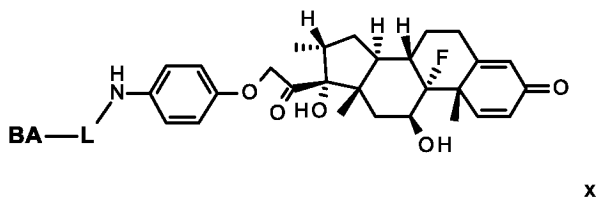
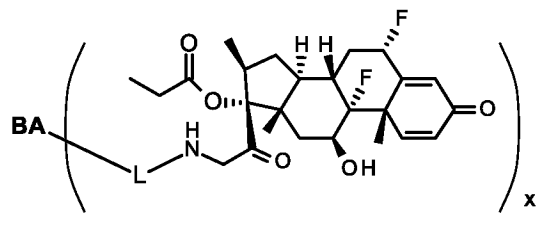
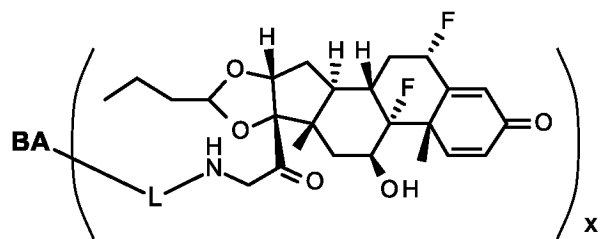
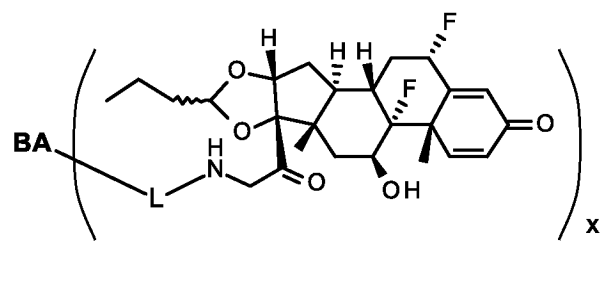
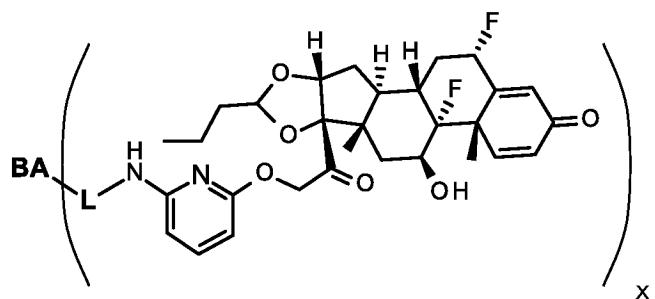
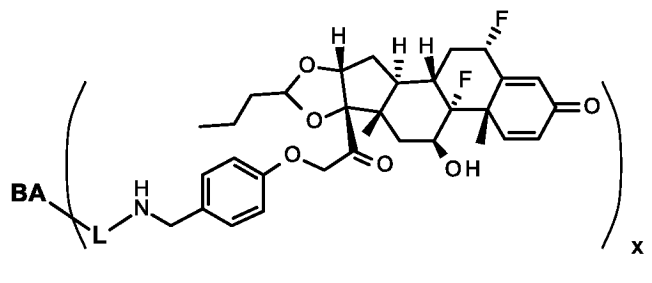
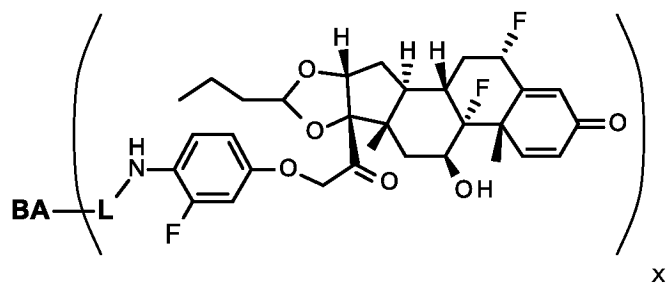
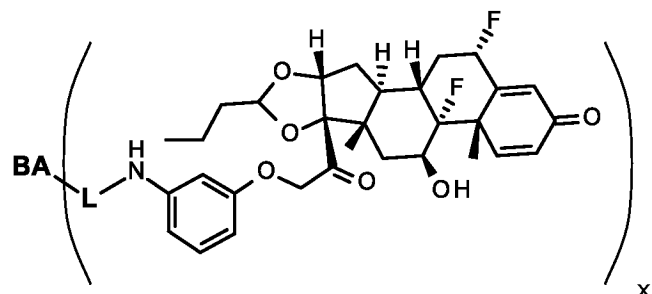
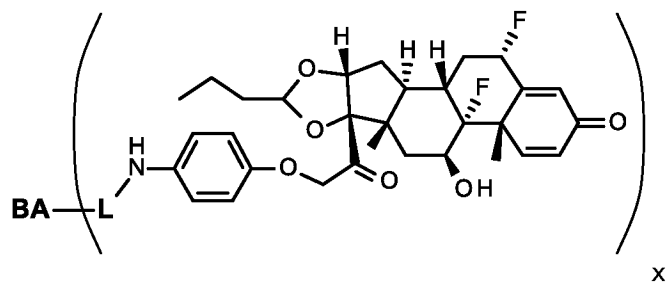
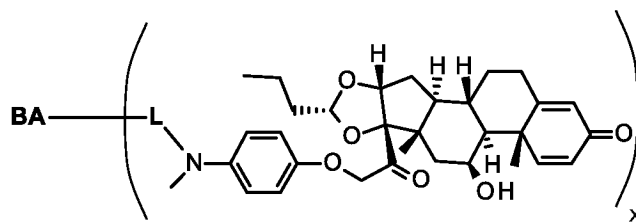
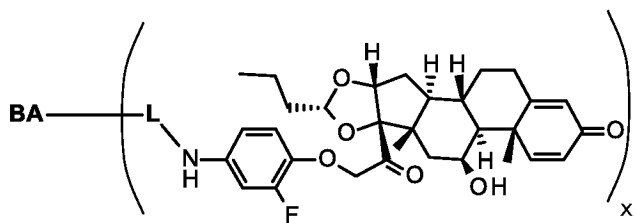
В этих примерах p означает 0, 1, 2, 3 или 4. В некоторых из этих примеров R^1 означает в каждом случае независимо алкил, алкокси, галоалкил, или гало. В некоторых примерах R^1 означает алкил. В некоторых примерах R^1 означает алкокси. В некоторых примерах R^1 означает галоалкил. В некоторых примерах R^1 означает гало.

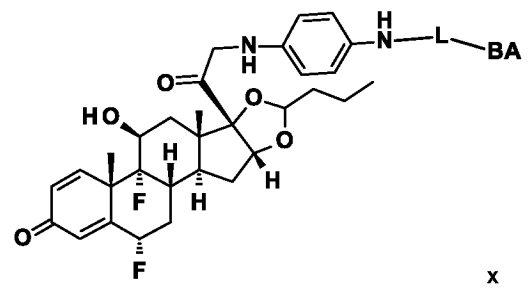
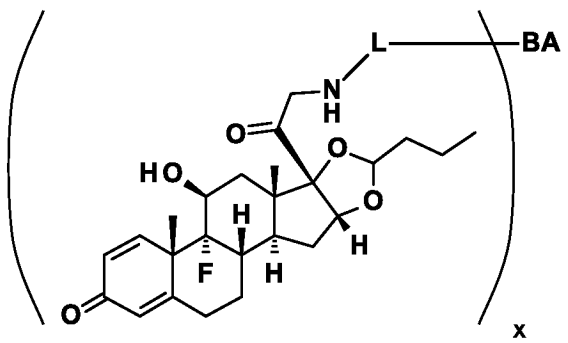
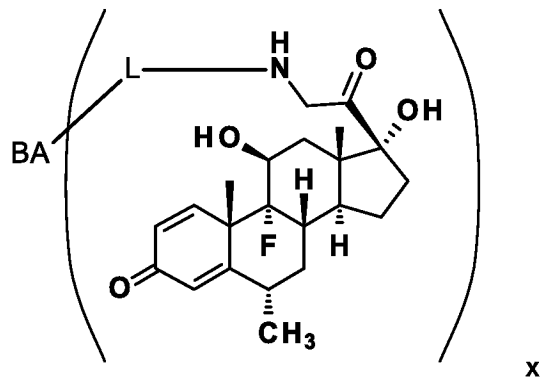
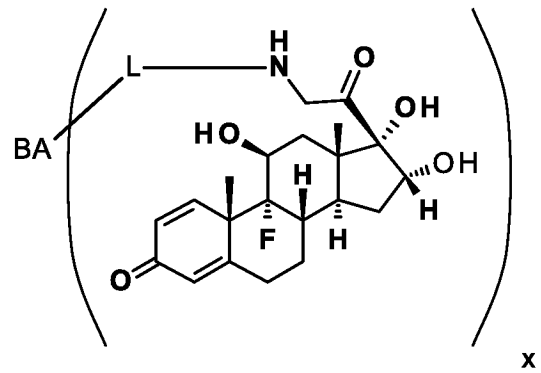
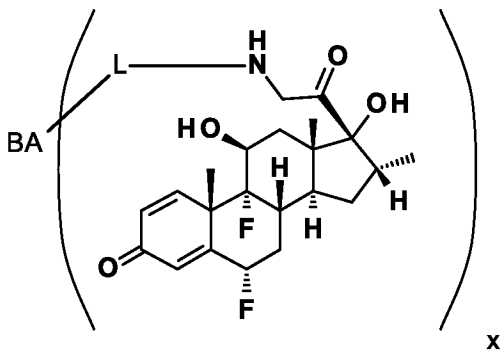
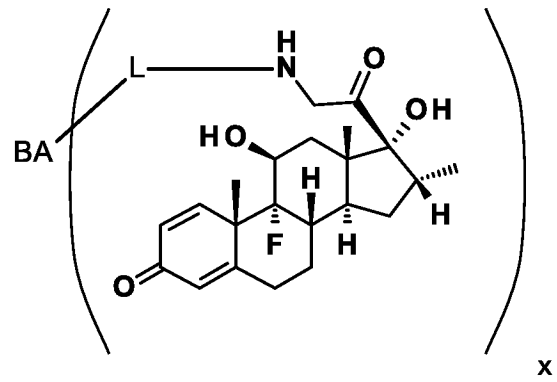
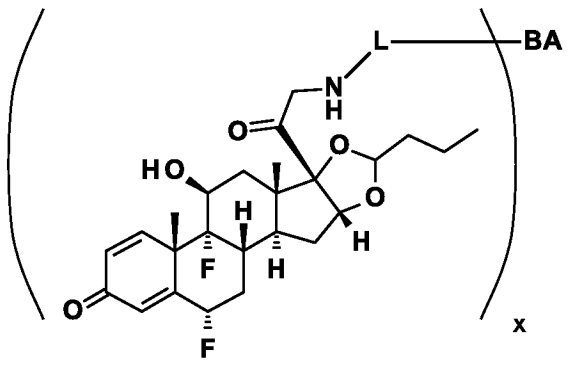
[0321] В некоторых вариантах осуществления по Формуле (BL^A), $-(NR^a)_s-(B)_t-(CH_2)_u-(O)_v-(SP^2)_w$ означает:

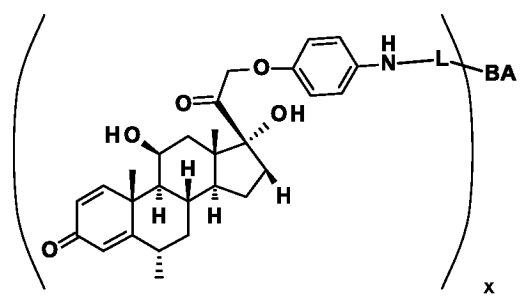
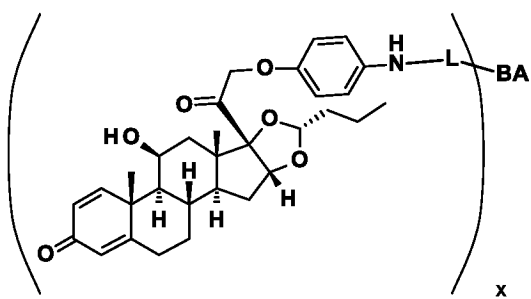
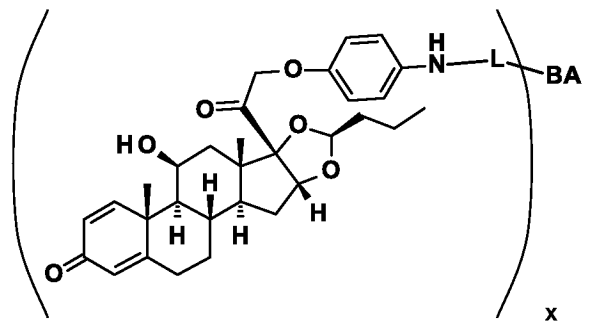
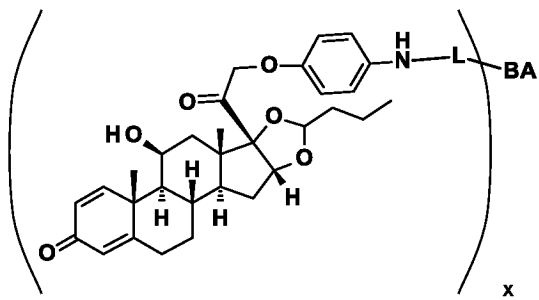
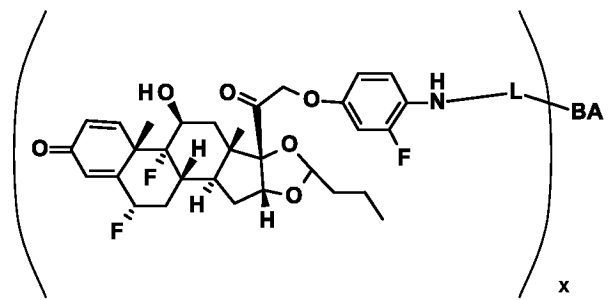
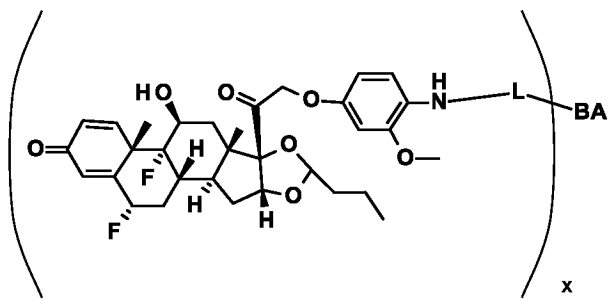
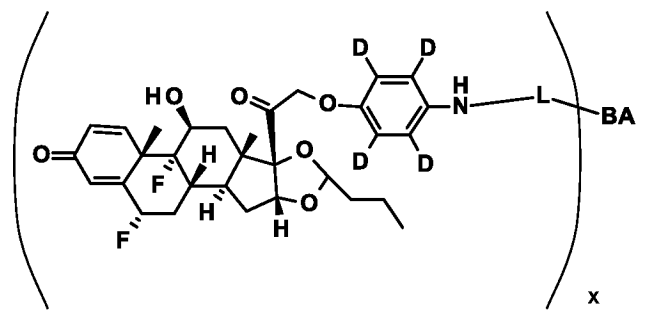
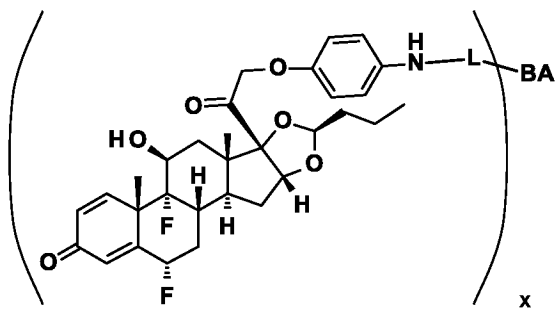
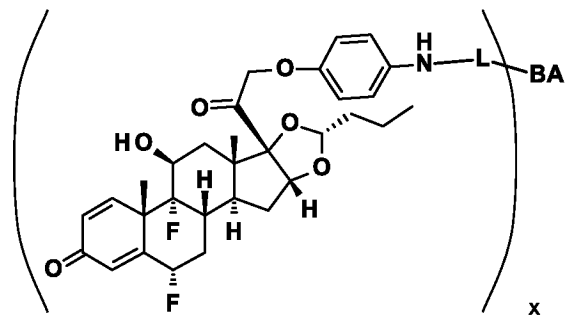
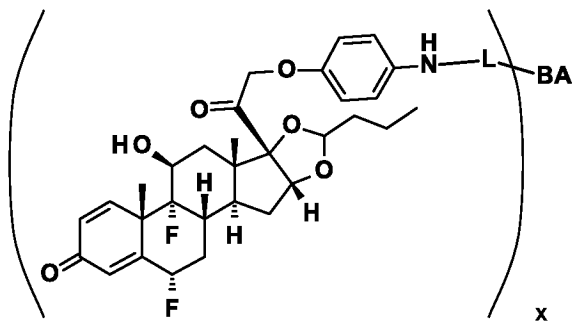


[0322] Ниже приведены конъюгаты антитело-стероид, имеющие следующие Формулы:





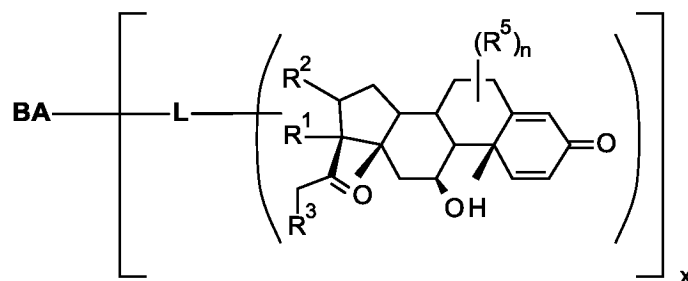




или их фармацевтически приемлемая соль или сольват;

где ВА означает связующее, x означает целое число от 1 до 30. В частных вариантах осуществления ВА означает антитело. В некоторых вариантах осуществления x означает целое число от 1 до 4. В некоторых вариантах осуществления x означает 4. В некоторых вариантах осуществления x означает 2.

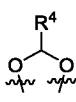
[0323] Ниже приведены конъюгаты антитело-стероид, имеющие Формулу 1200:



1200

или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизомер, где: ВА означает связующее; каждый L означает необязательный линкер; ВА или L ковалентно связан с R³ или R⁴; x означает целое число от 1 до 30. Опытный читатель поймет, что если L присутствует, то L связан к R³ или R⁴; если L отсутствует, ВА связан с R³ или R⁴. Группы R³ или R⁴ подробно описаны ниже. В частных вариантах осуществления ВА означает антитело. В некоторых вариантах осуществления x означает целое число от 1 до 4. В некоторых вариантах осуществления x означает 4. В некоторых вариантах осуществления x означает 2.

[0324] В определенных вариантах осуществления по Формуле 1200 R¹ и R² независимо выбраны из группы, включающей -H, -OH, алкил, -O-C(O)-алкил и гало; или R¹ и R² вместе

образуют . В определенных вариантах осуществления R³ выбран из группы, включающей -алкилен-NR^aR^b, -X-арил-ен-Y-NR^aR^b, -X-гетероарил-ен-Y-NR^aR^b и N-содержащий гетероциклоалкил; где X отсутствует или означает -N-, -CH₂- или -O-; Y отсутствует или означает отсутствует или означает -CH₂-; R⁴ выбран из группы, включающей алкил, арил, алкиларил, арилалкил, гетероарил, -алкилен-NR^aR^b, -X-арил-ен-Y-NR^aR^b, -X-гетероарил-ен-Y-NR^aR^b и N-содержащий гетероциклоалкил; где X отсутствует или означает -N-, -CH₂- или -O-; Y отсутствует или означает -CH₂-.

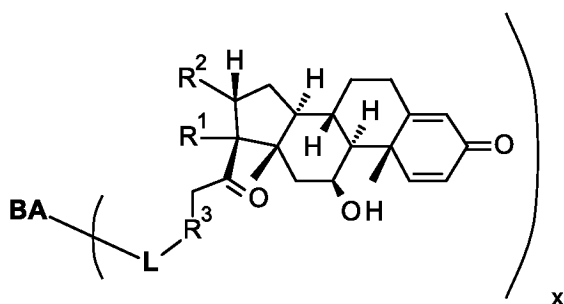
[0325] В определенных вариантах осуществления по Формуле 1200 R³ выбран из группы, включающей -OH, -O-C(O)-алкил, -O-арил, -NR^aR^b, -алкилен-NR^aR^b, -X-арил-ен-Y-NR^aR^b, -X-гетероарил-ен-Y-NR^aR^b и N-содержащий гетероциклоалкил; где X отсутствует или означает -N-, -CH₂- или -O-; Y отсутствует или означает отсутствует или означает -CH₂-; R⁴

выбран из группы, включающей -алкилен-NR^aR^b, -X-ариллен-Y-NR^aR^b, -X-гетероариллен-Y-NR^aR^b и N-содержащий гетероциклоалкил; где X отсутствует или означает -N-, -CH₂-, или -O-; где Y отсутствует или означает отсутствует или означает-CH₂-.

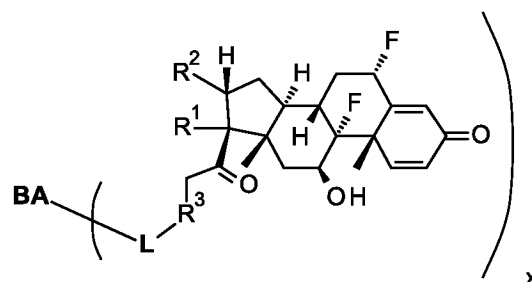
[0326] В определенных вариантах осуществления по Формуле 1200 R³ означает -NR^aR^b; и R⁴ означает алкил.

[0327] В каждом варианте осуществления по Формуле 1200, ВА или L связан с функциональной группой в R³ или R⁴. Например, если R³ или R⁴ включает аминную группу, ВА или L может быть связан с аминной группой, замещающей атом водорода. В каждом варианте осуществления R⁵ в каждом случае независимо выбран из заместителя в группе, включающей -ОН, гало и алкил; n означает целое число от 0 до 19; каждый R⁵ расположен на любом атоме кольца. В каждом варианте осуществления R^a и R^b в каждом случае независимо выбраны из группы, включающей -Н и алкил; или R^a и R^b циклизируют, образуя циклогетероалкил с 3-6 кольцевыми атомами, включая один ео атом, который представляет собой N, к которому они прикреплены. В частных вариантах осуществления ВА означает антителио. В некоторых вариантах осуществления x означает целое число от 1 до 4. В некоторых вариантах осуществления x означает 4. В некоторых вариантах осуществления x означает 2.

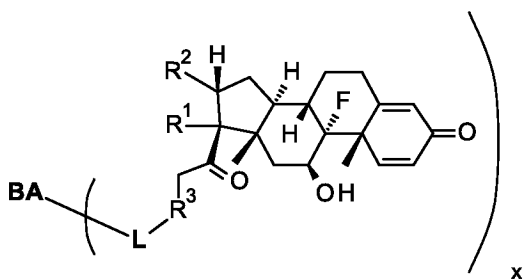
[0328] Ниже приведены конъюгаты антителио-стероид, имеющие Формулу 1210, 1220, 1230 или 1240:



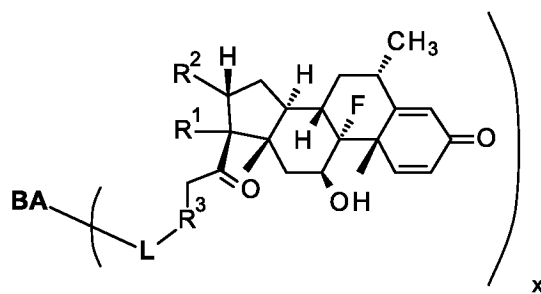
1210



1220



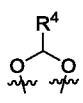
1230



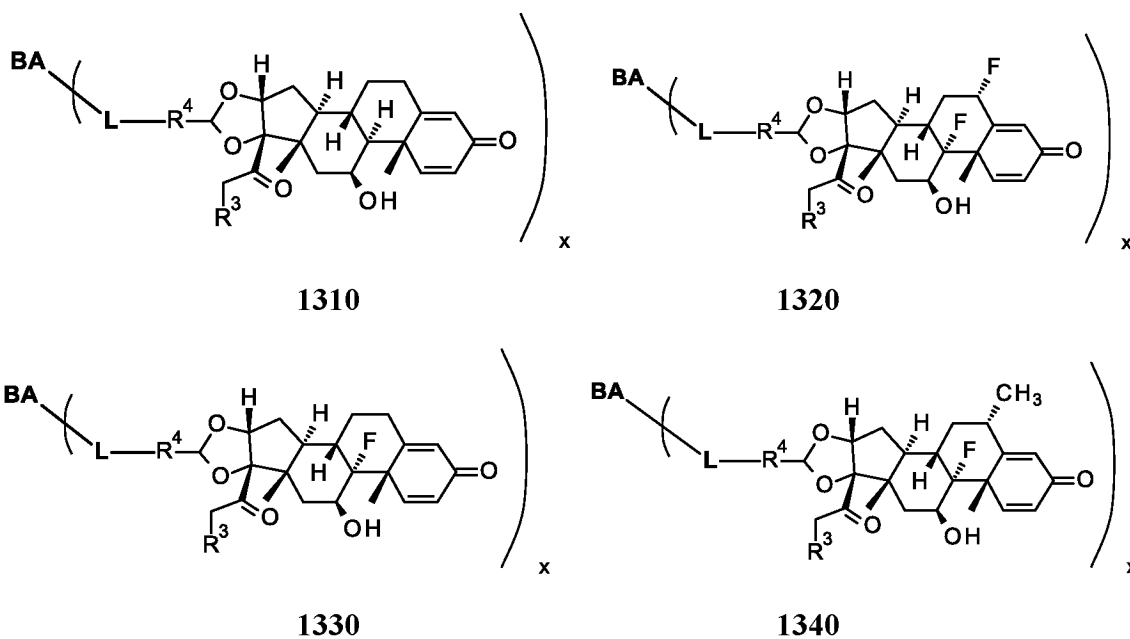
1240

или их фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизомер; где R³ ковалентно связан с L или ВА.

[0329] В определенных вариантах осуществления по Формуле 1210, 1220, 1230 или 1240 R¹ и R² независимо выбраны из группы, включающей -H, -OH, алкил, -O-C(O)-алкил и гало;

или R¹ и R² вместе образуют . В определенных вариантах осуществления R³ выбран из группы, включающей -алкилен-NR^aR^b, -X-арилен-Y-NR^aR^b, -X-гетероарилен-Y-NR^aR^b и N-содержащий гетероциклоалкил; где X отсутствует или означает -N-, -CH₂- или -O-; Y отсутствует или означает -CH₂-; R⁴ выбран из группы, включающей алкил, арил, алкиларил, арилалкил, гетероарил, -алкилен-NR^aR^b, -X-арилен-Y-NR^aR^b, -X-гетероарилен-Y-NR^aR^b и N-содержащий гетероциклоалкил; где X отсутствует или означает -N-, -CH₂- или -O-; Y отсутствует или означает отсутствует или означает -CH₂-. В определенных вариантах осуществления R³ означает -NR^aR^b; R⁴ означает алкил. В каждом варианте осуществления ВА или L связан с аминной группой в R³, например, замещающей атом водорода. В каждом варианте осуществления R^a и R^b в каждом случае независимо выбраны из группы, включающей -H и алкил; или R^a и R^b циклизируют, образуя циклогетероалкил с 3-6 кольцевыми атомами, включая один ео атом, который представляет собой N, к которому они прикреплены. В частных вариантах осуществления ВА означает антителио. В некоторых вариантах осуществления x означает целое число от 1 до 4. В некоторых вариантах осуществления x означает 4. В некоторых вариантах осуществления x означает 2.

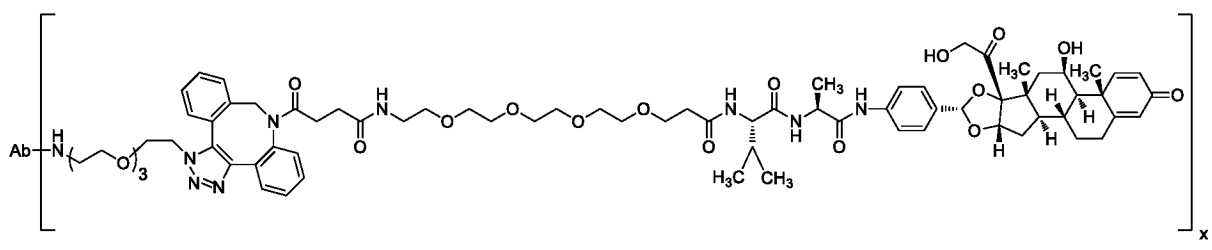
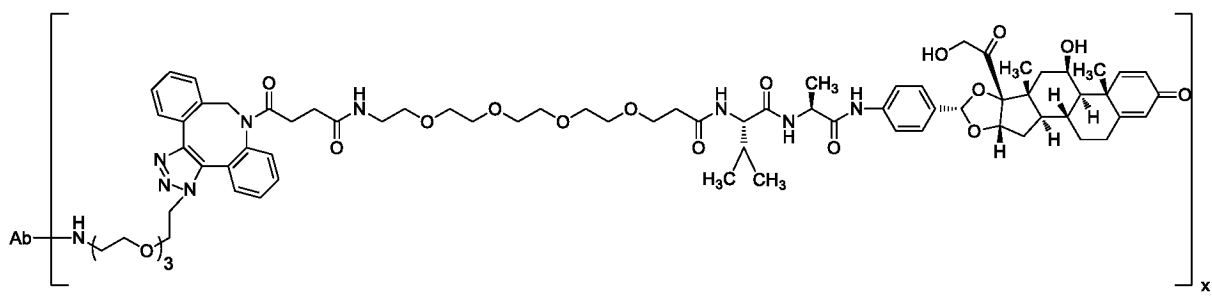
[0330] Ниже приведены конъюгаты антителио-стероид, имеющие Формулу 1310, 1320, 1330 или 1340:



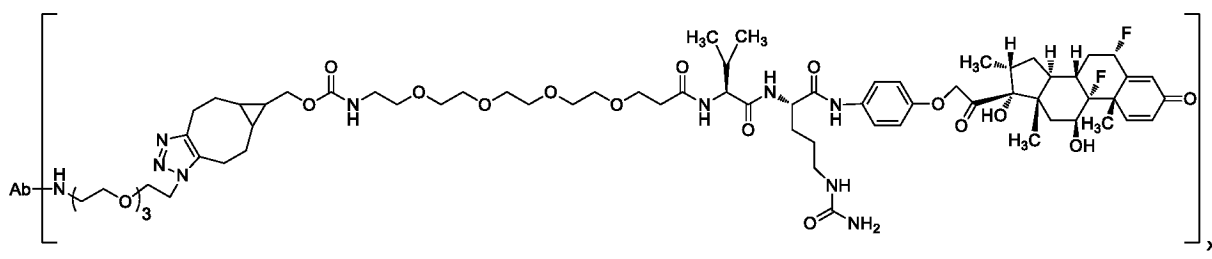
или их фармацевтически приемлемая соль, сольват или стереоизомер; где R⁴ ковалентно связан с L или ВА.

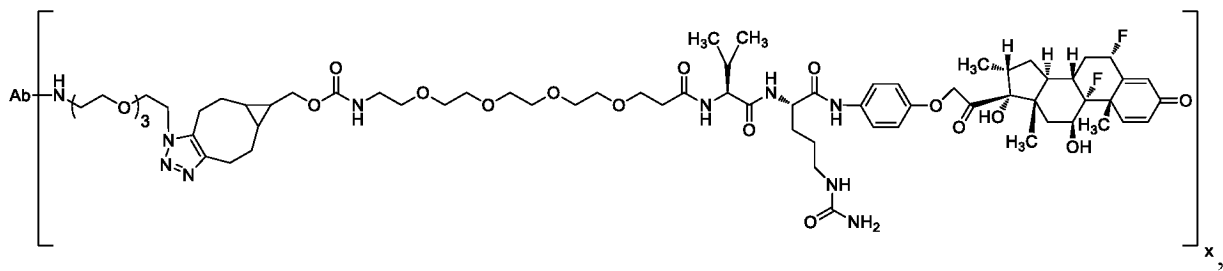
[0331] В определенных вариантах осуществления по Формуле 1310, 1320, 1330 или 1340, R³ выбран из группы, включающей -OH, -O-C(O)-алкил, -O-арил, -NR^aR^b, -алкилен-NR^aR^b, -X-арилен-Y-NR^aR^b, -X-гетероарилен-Y-NR^aR^b и N-содержащий гетероциклоалкил; где X отсутствует или означает -N-, -CH₂- или -O-; где Y отсутствует или означает отсутствует или означает -CH₂-; R⁴ выбран из группы, включающей -алкилен-NR^aR^b, -X-арилен-Y-NR^aR^b, -X-гетероарилен-Y-NR^aR^b и N-содержащий гетероциклоалкил; где X отсутствует или означает -N-, -CH₂- или -O-; Y отсутствует или означает или -CH₂-. В каждом варианте осуществления ВА или L связан с аминной группой в R⁴, например, замещающей атом водорода. В каждом варианте осуществления R^a и R^b в каждом случае независимо выбраны из группы, включающей -H и алкил; или R^a и R^b циклизируют, образуя циклогетероалкил с 3-6 кольцевыми атомами, включая один его атом, который представляет собой N, к которому они прикреплены. В частных вариантах осуществления ВА означает антитело. В некоторых вариантах осуществления x означает целое число от 1 до 4. В некоторых вариантах осуществления x означает 4. В некоторых вариантах осуществления x означает 2.

[0332] Ниже приведены конъюгаты антитело-стероид, имеющие следующие Формулы:

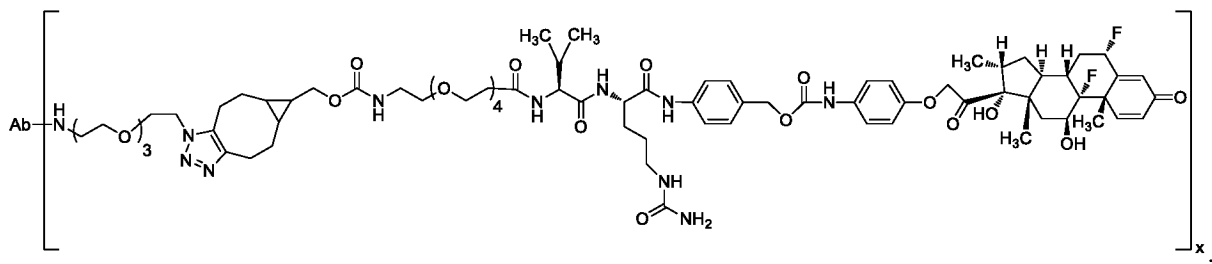


или их смесь;

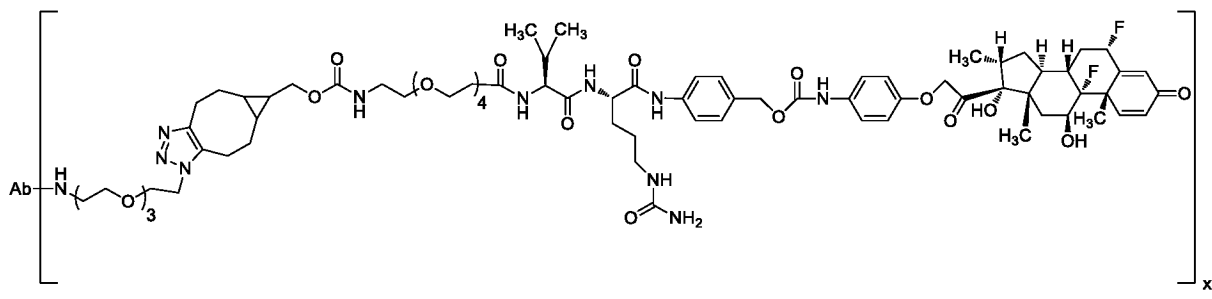




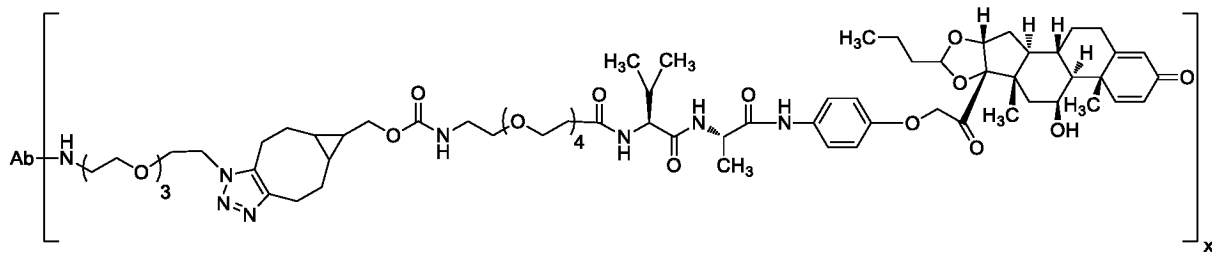
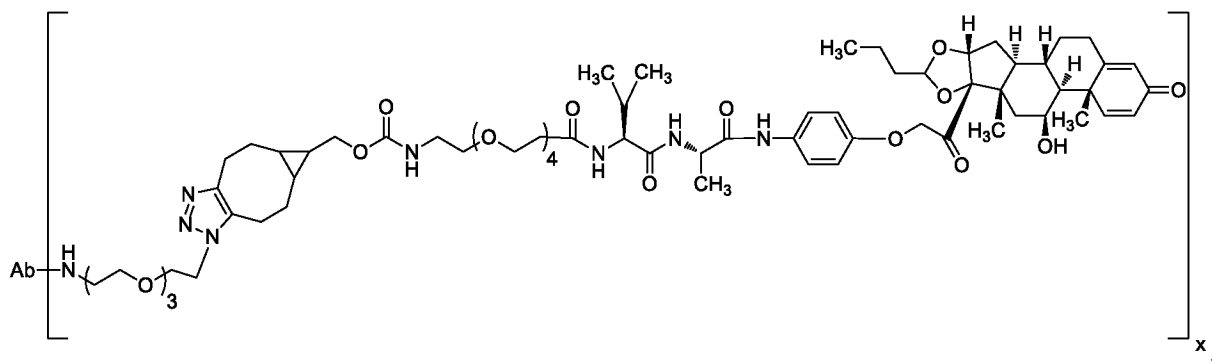
ИЛИ ИХ СМЕСЬ;

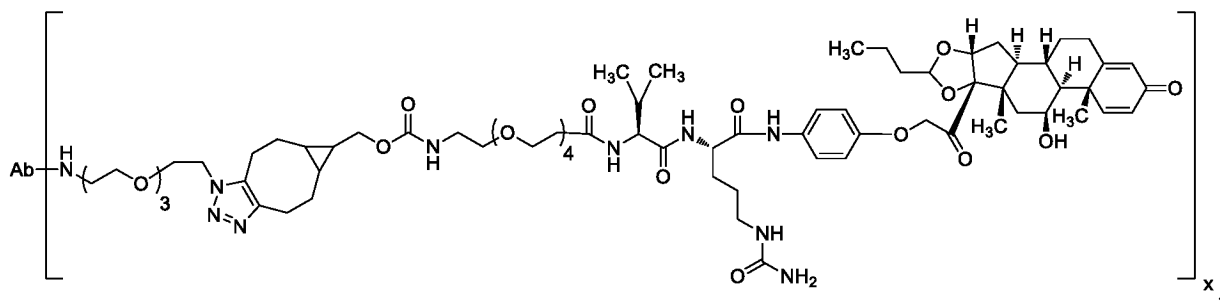
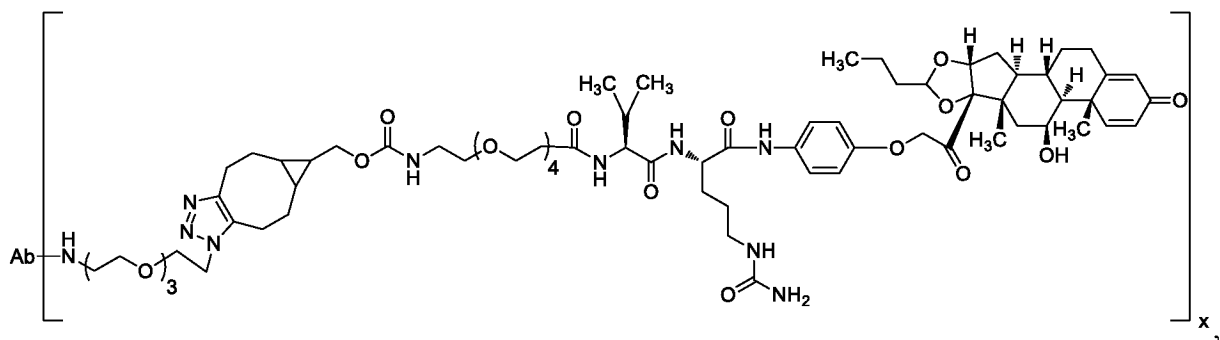


ИЛИ ИХ СМЕСЬ;

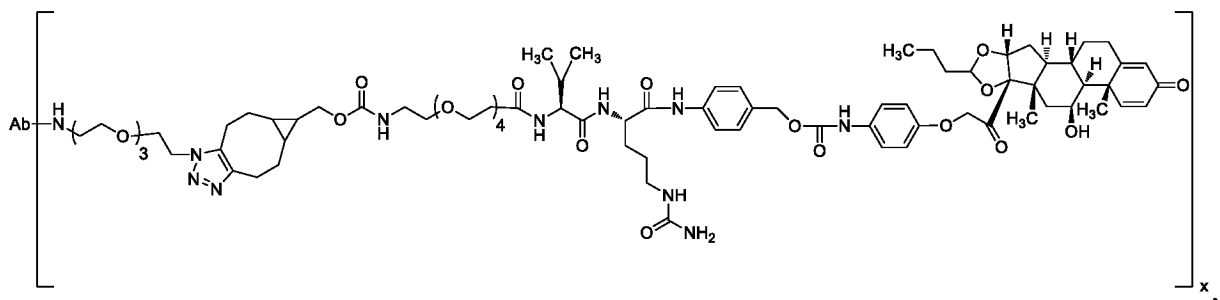
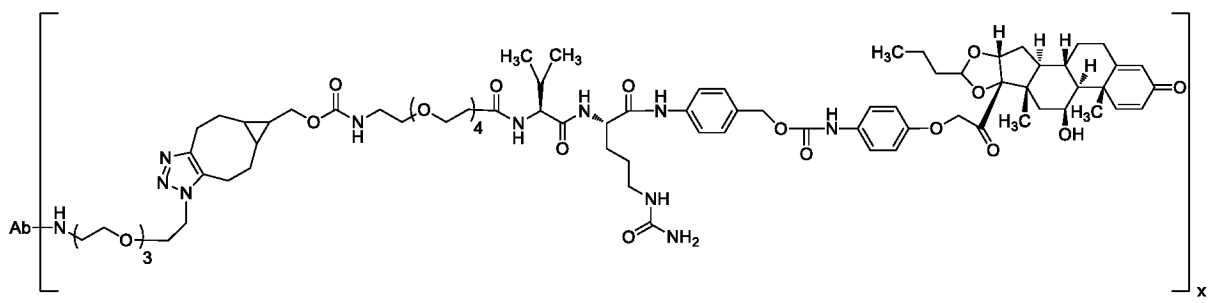


ИЛИ ИХ СМЕСЬ;

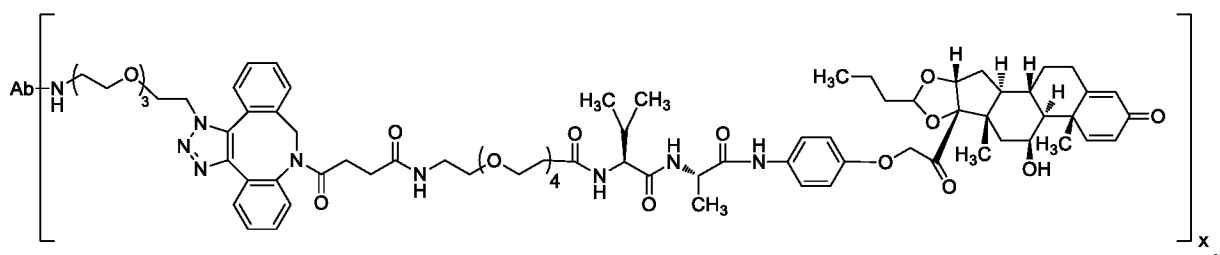


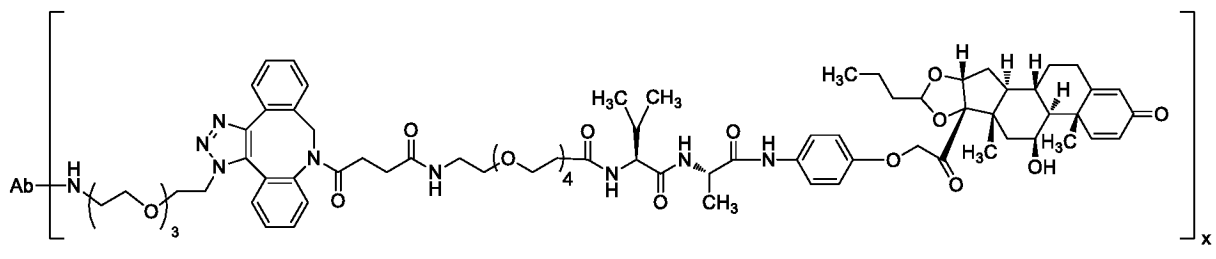


или их смесь;

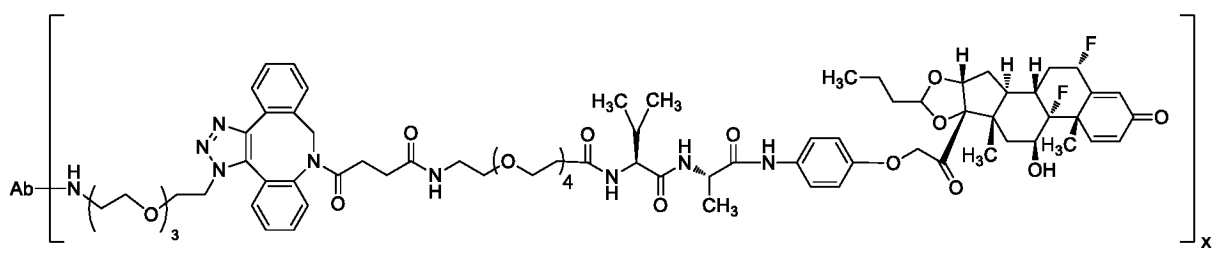
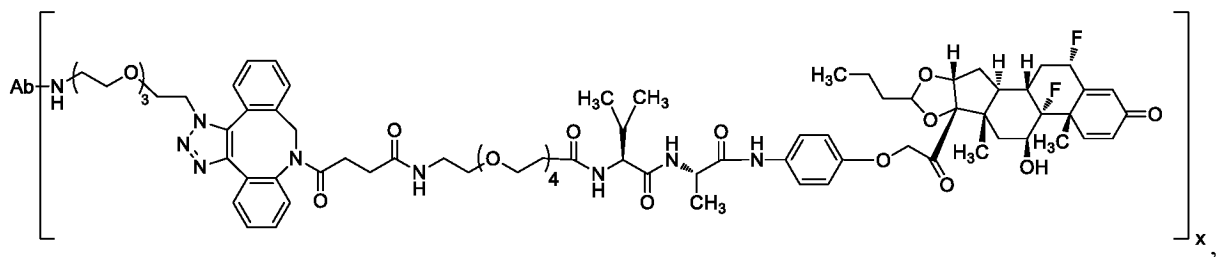


или их смесь;

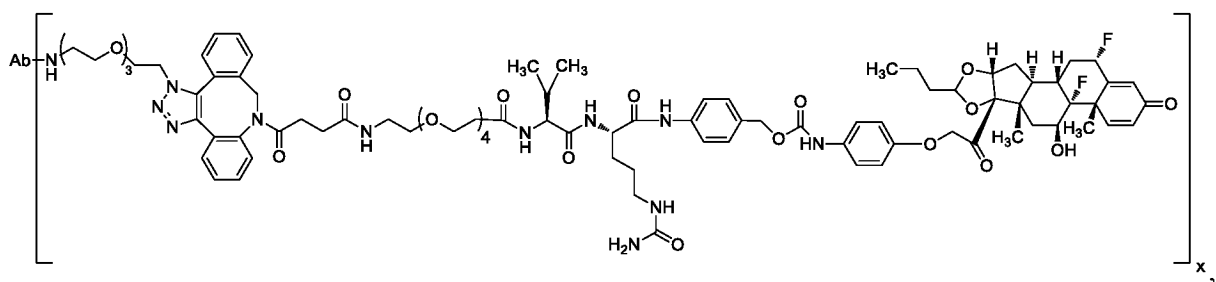
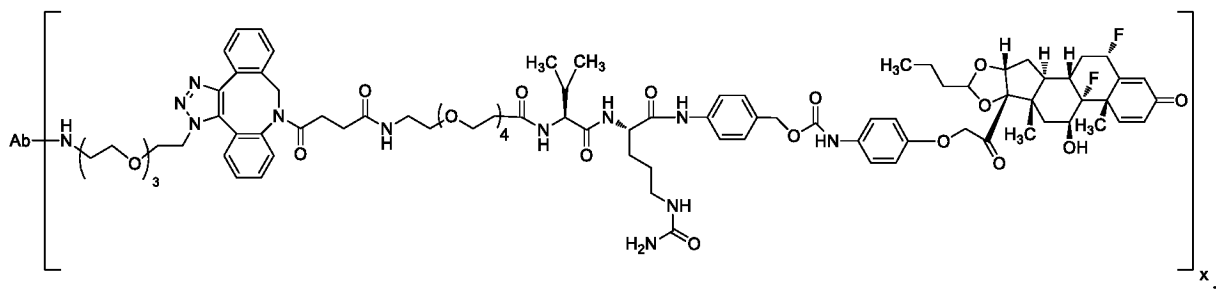




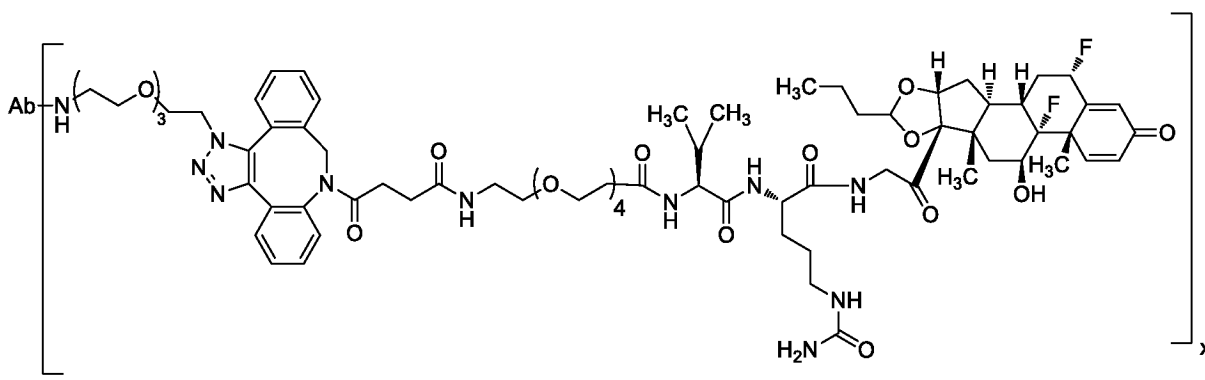
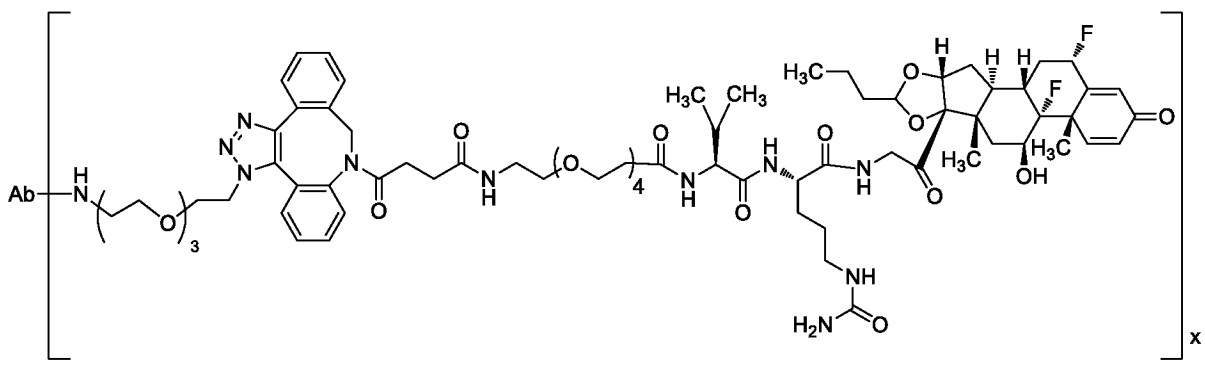
или их смесь;



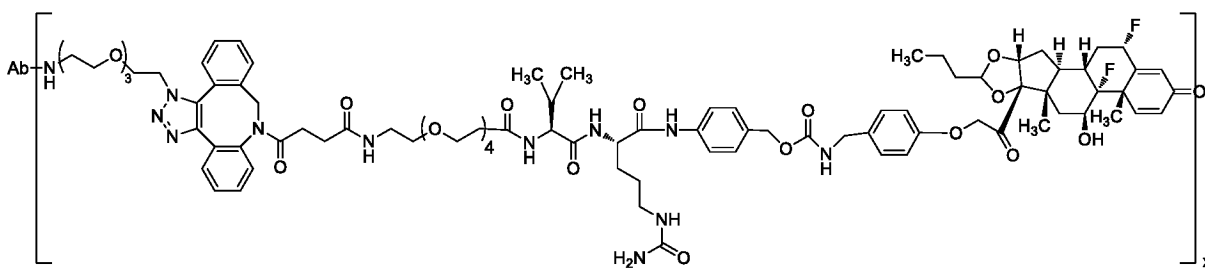
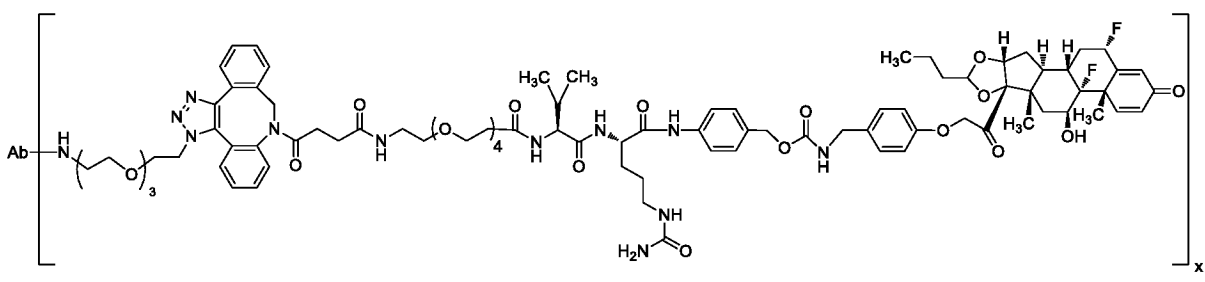
или их смесь;



или их смесь;

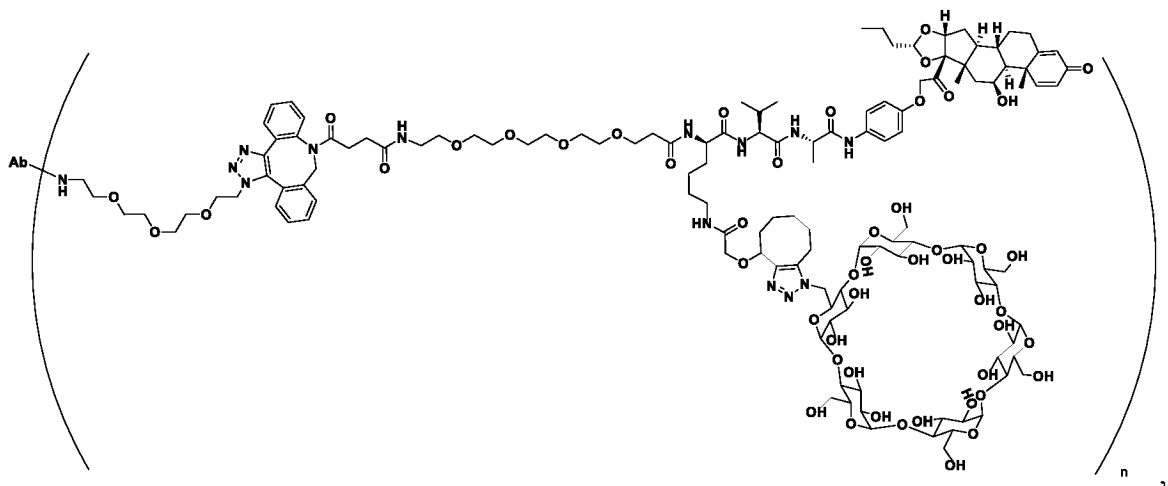
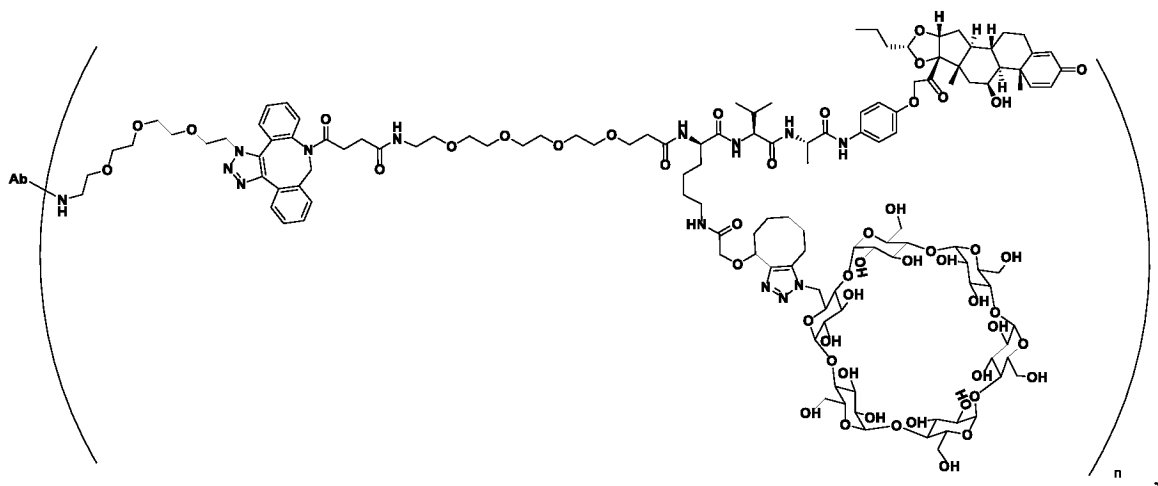


или их смесь;



где Ab означает антитело и x означает целое число от 1 до 30. В некоторых вариантах осуществления x означает целое число от 1 до 4. В некоторых вариантах осуществления x означает 4. В некоторых вариантах осуществления x означает 2.

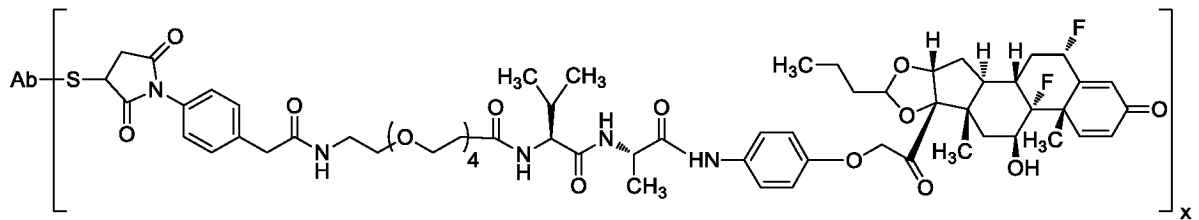
[0333] Ниже также приведены конъюгаты антитело-стероид, имеющие следующие Формулы:



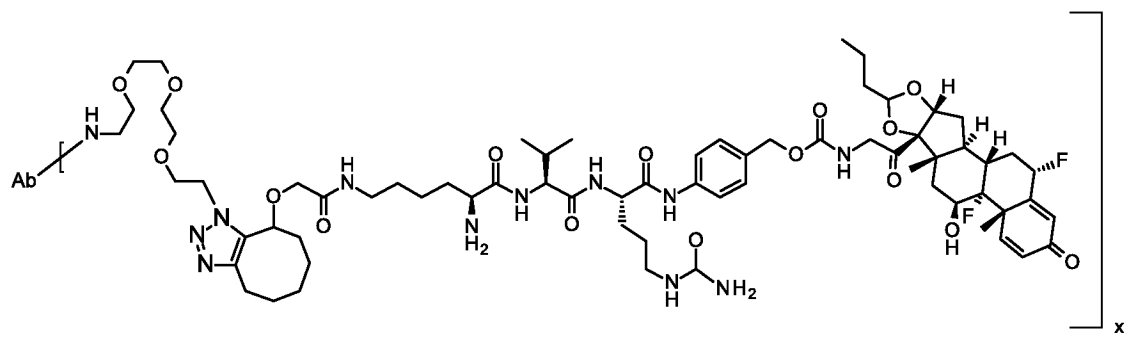
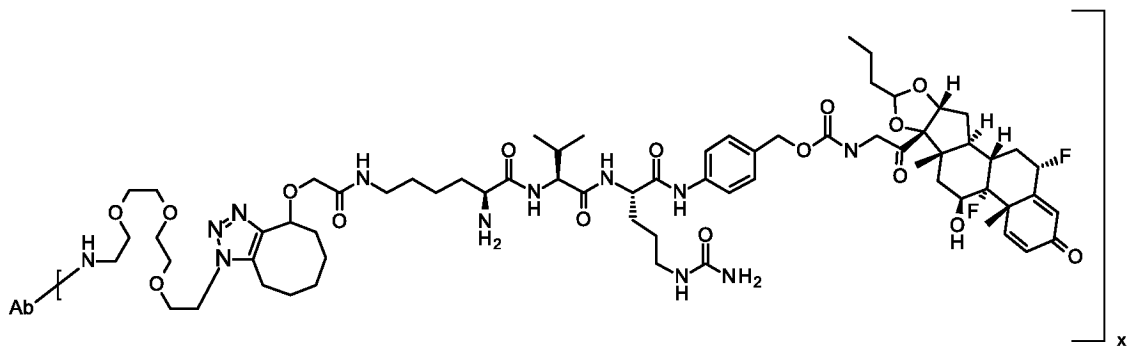
или их смесь.

В частных вариантах осуществления Ab означает антитело, x означает целое число от 1 до 30. В некоторых вариантах осуществления x означает целое число от 1 до 4. В некоторых вариантах осуществления x означает 4. В некоторых вариантах осуществления x означает 2.

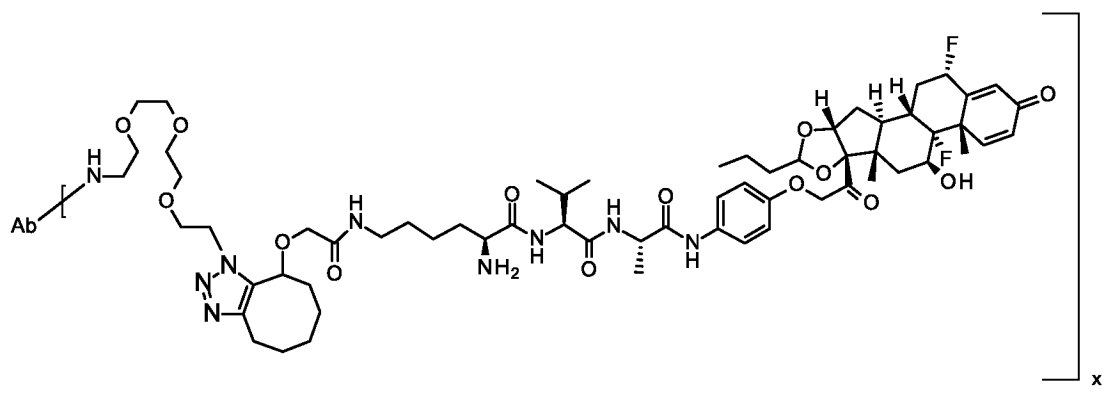
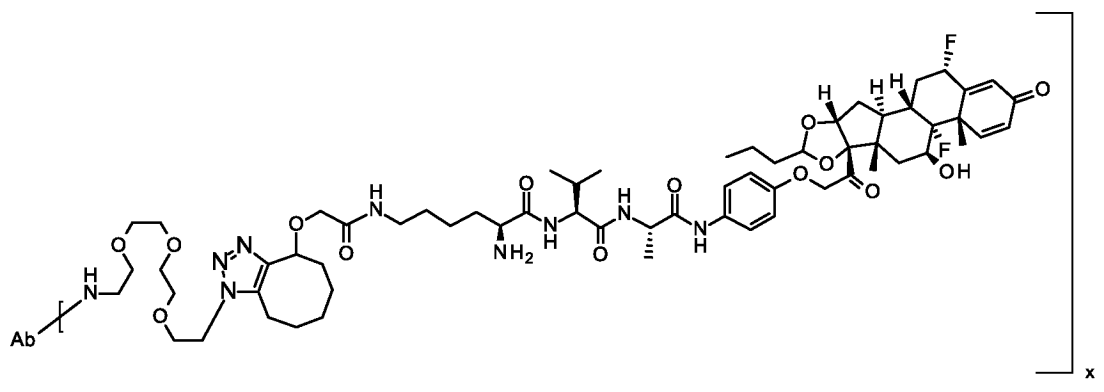
[0334] Ниже также приведены конъюгаты антитело-стероид, имеющие следующие Формулу:



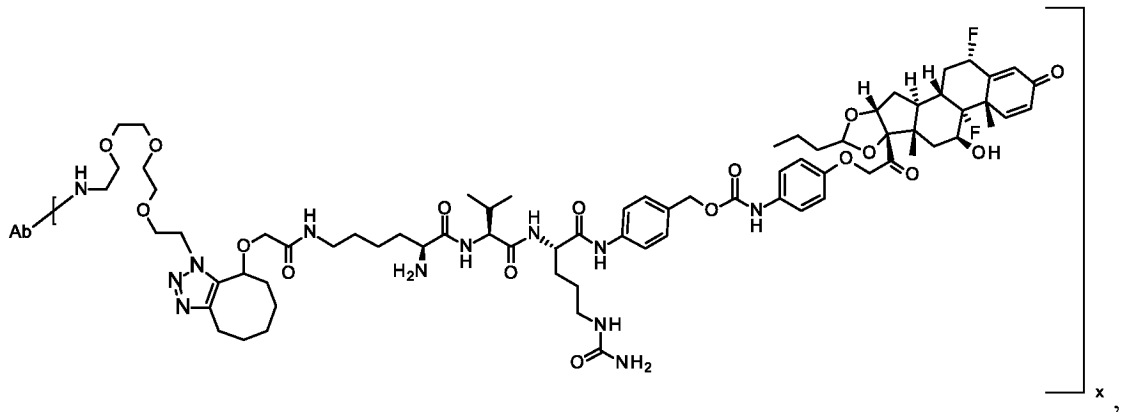
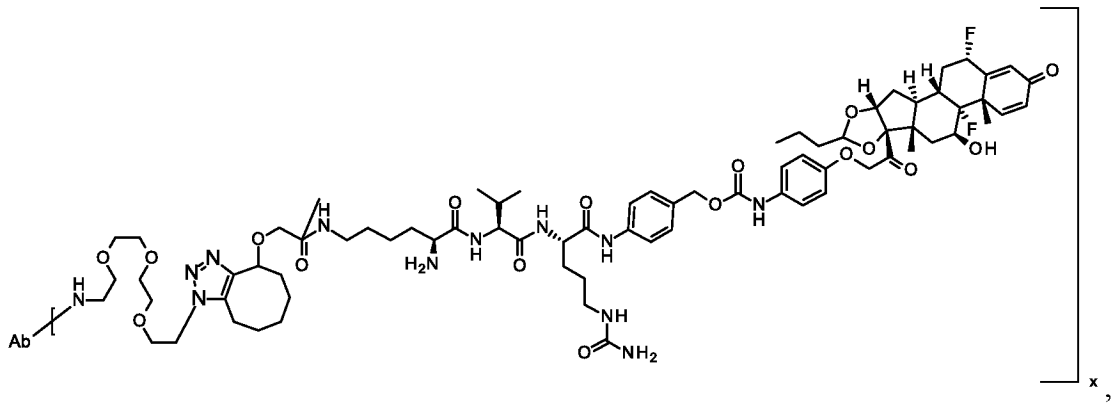
[0335] Ниже также приведены конъюгаты антитело-стероид, имеющие следующие Формулы:



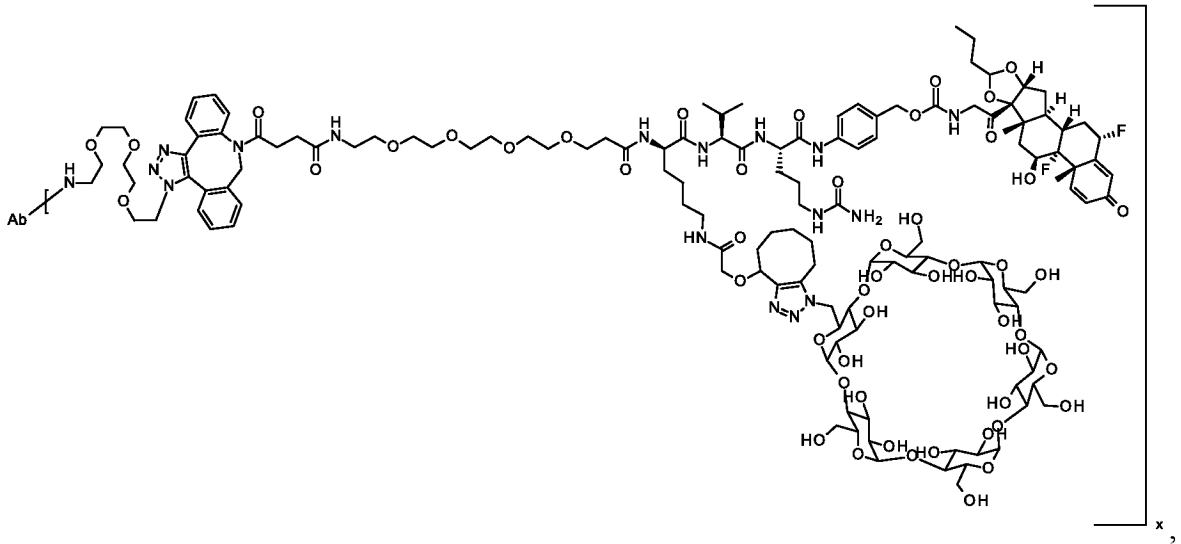
ИЛИ ИХ СМЕСЬ;

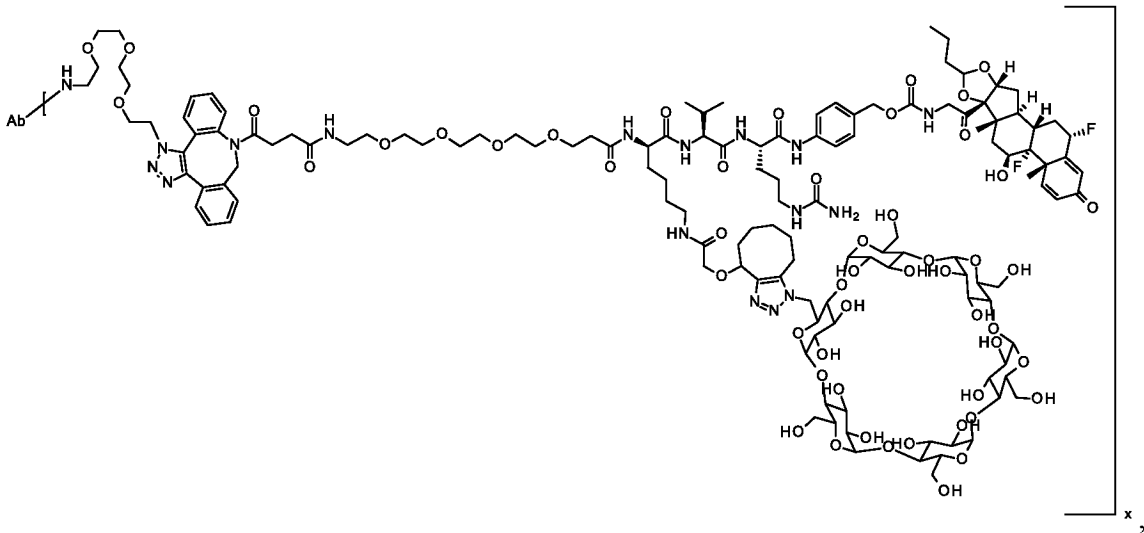


ИЛИ ИХ СМЕСЬ;

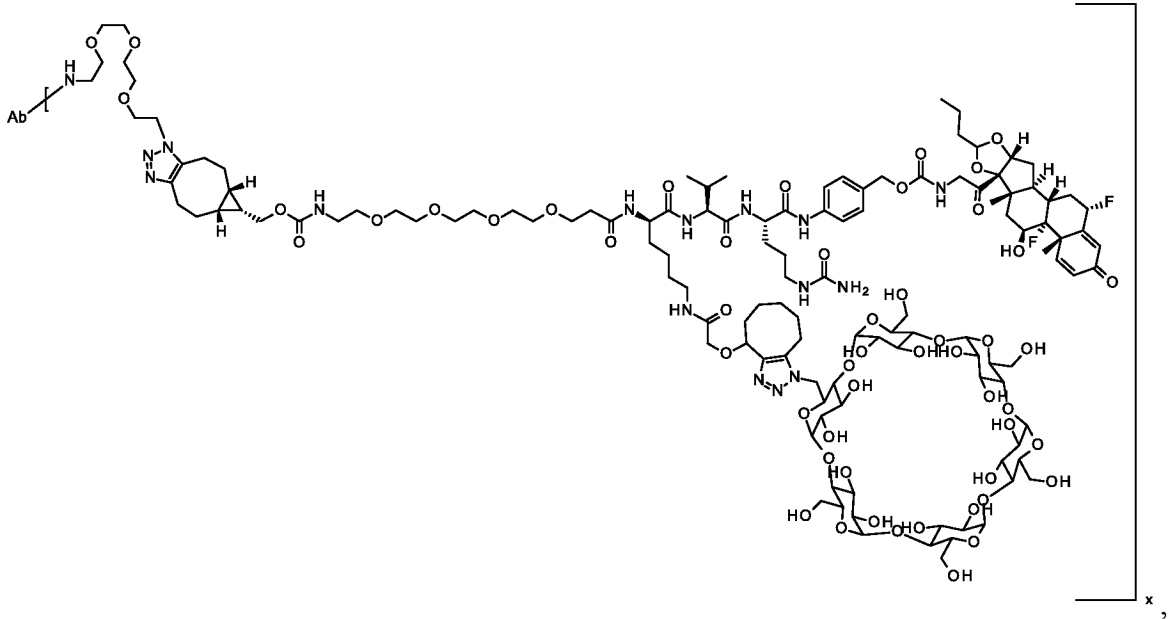
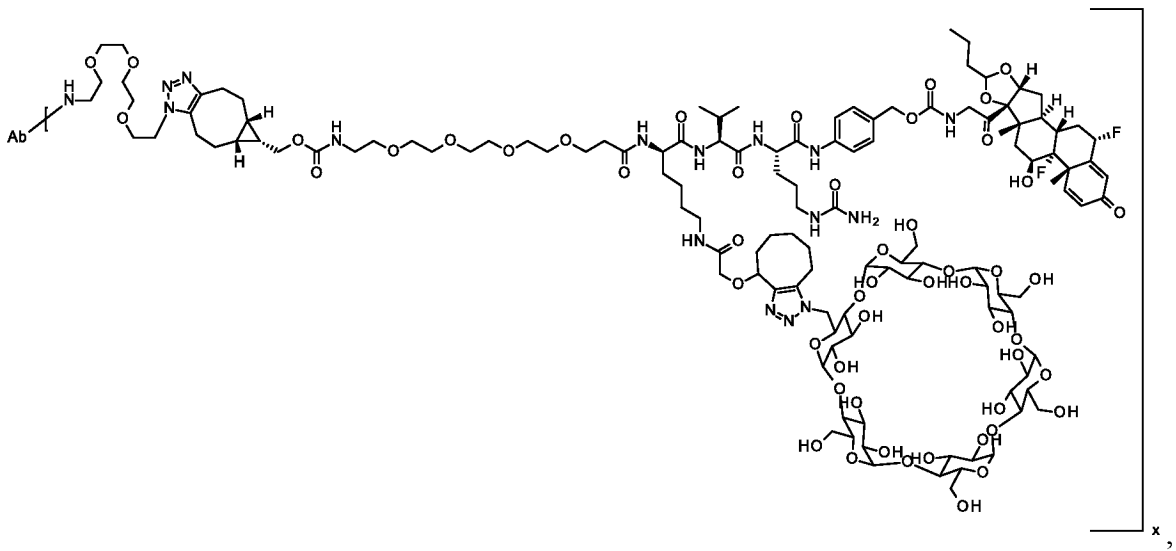


ИЛИ ИХ СМЕСЬ;

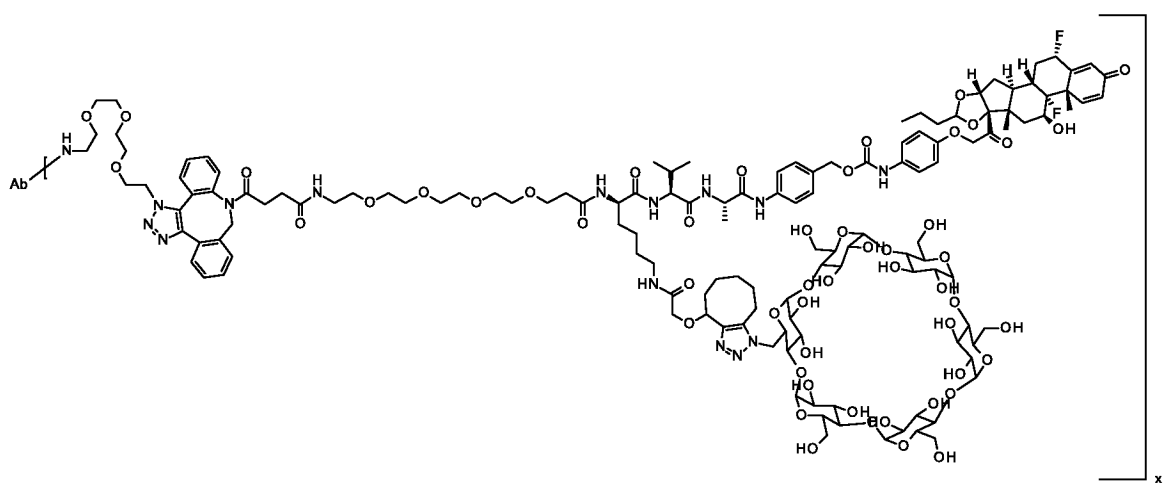
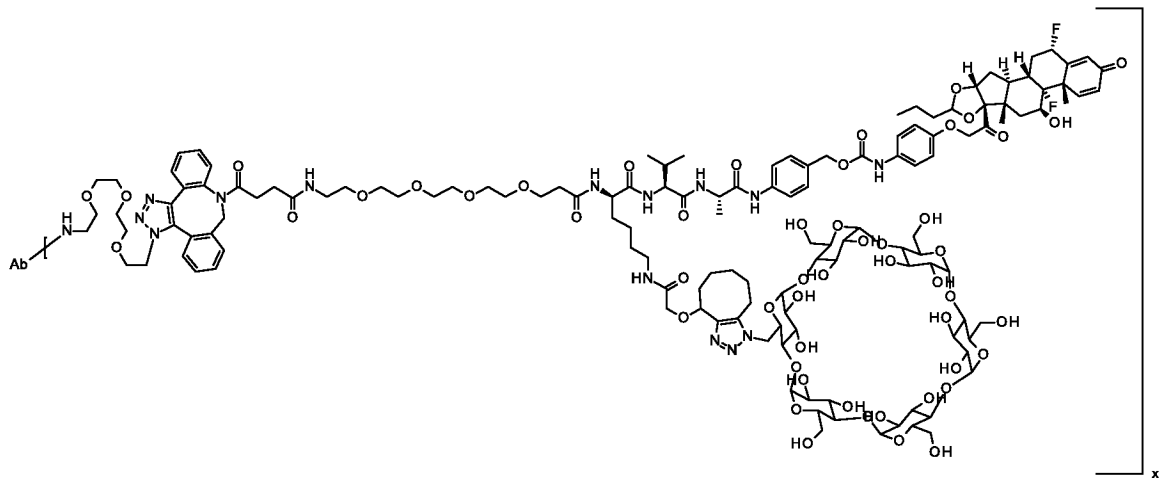




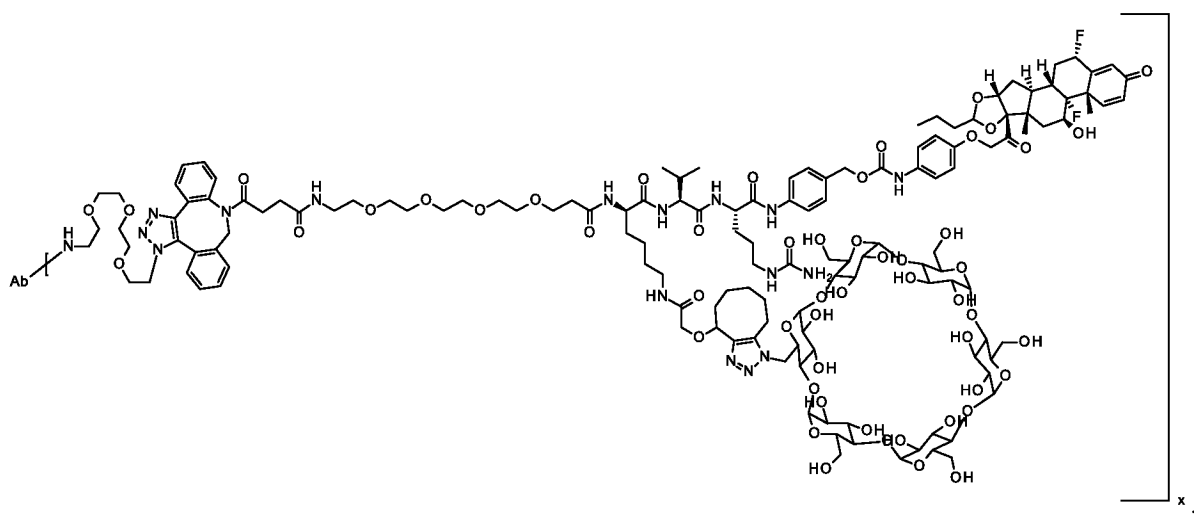
или их смесь;

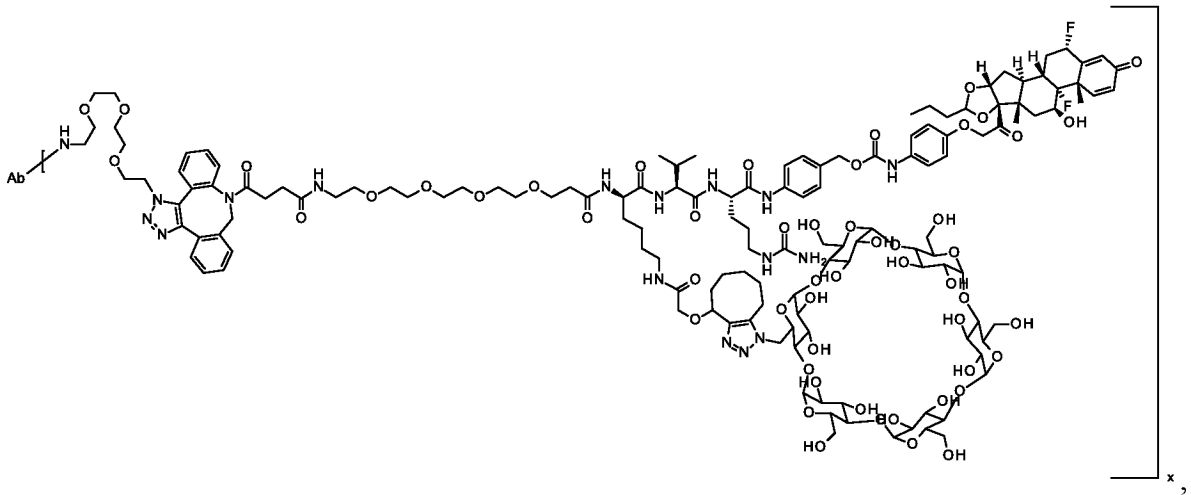


или их смесь;

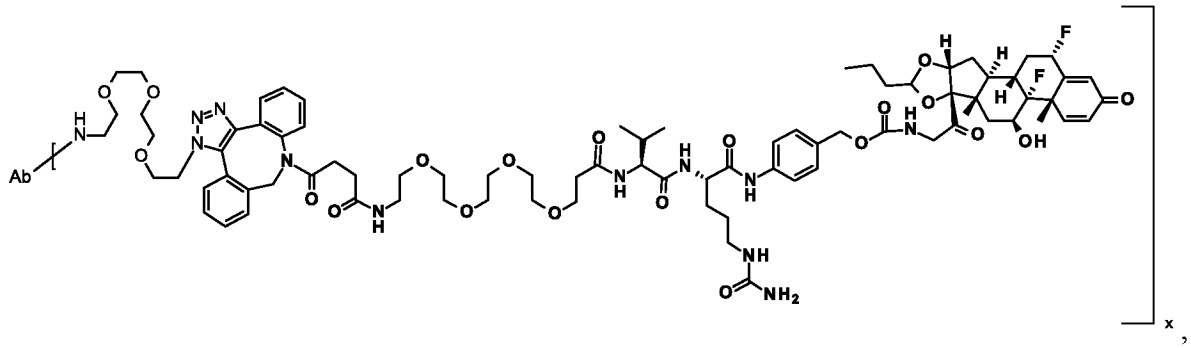


или их смесь;

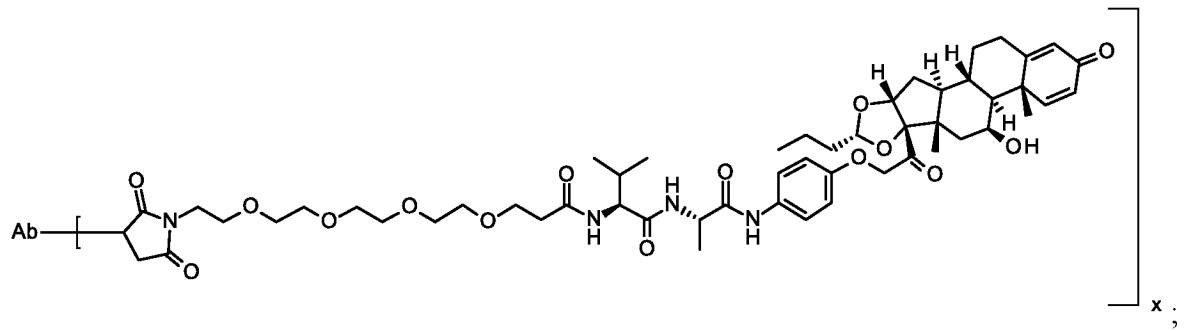


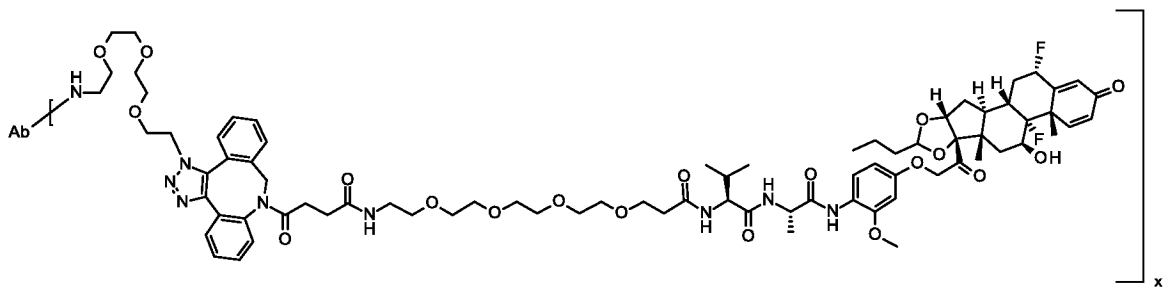
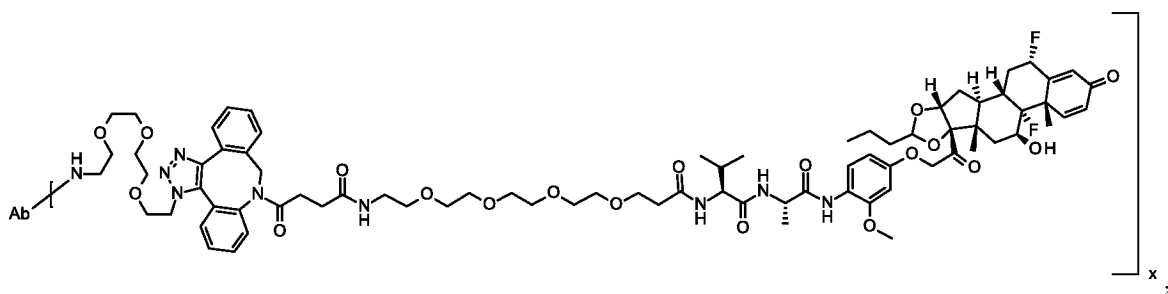


или их смесь;

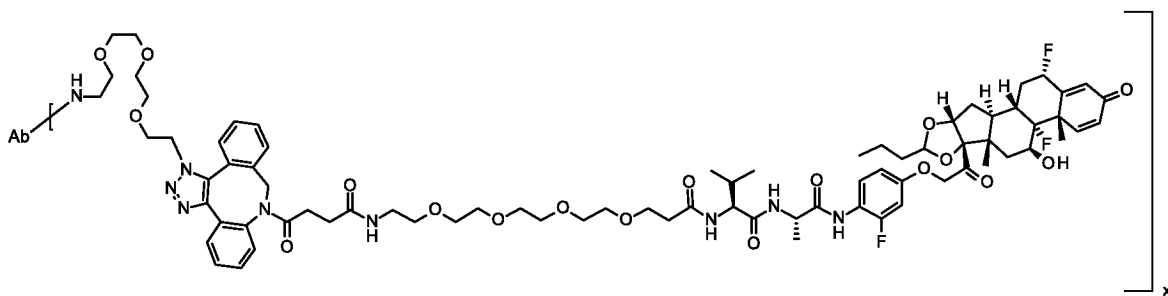
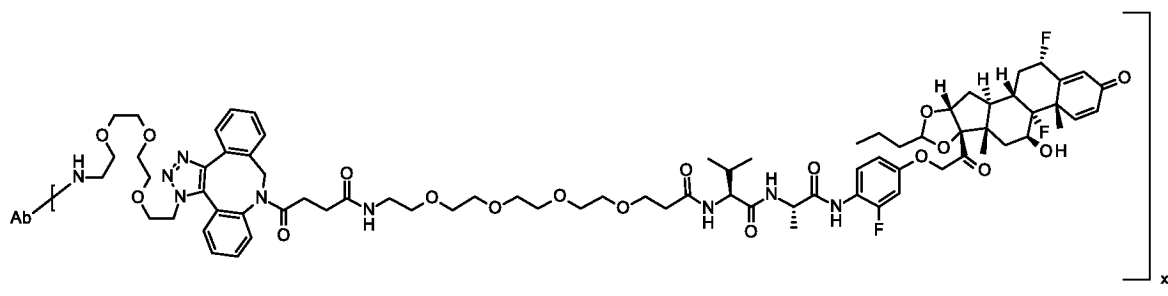


или их смесь;

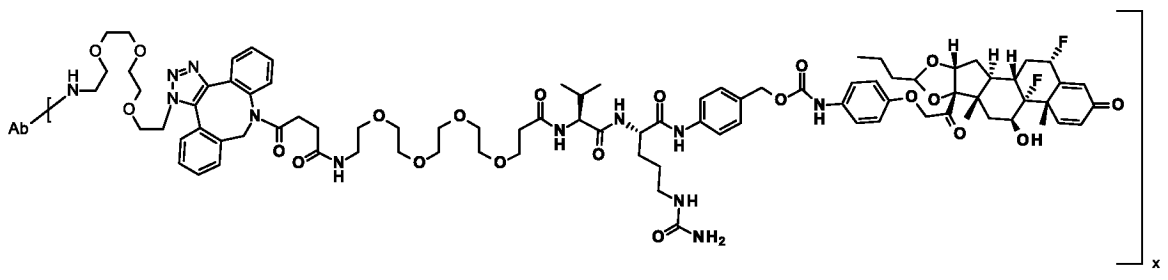


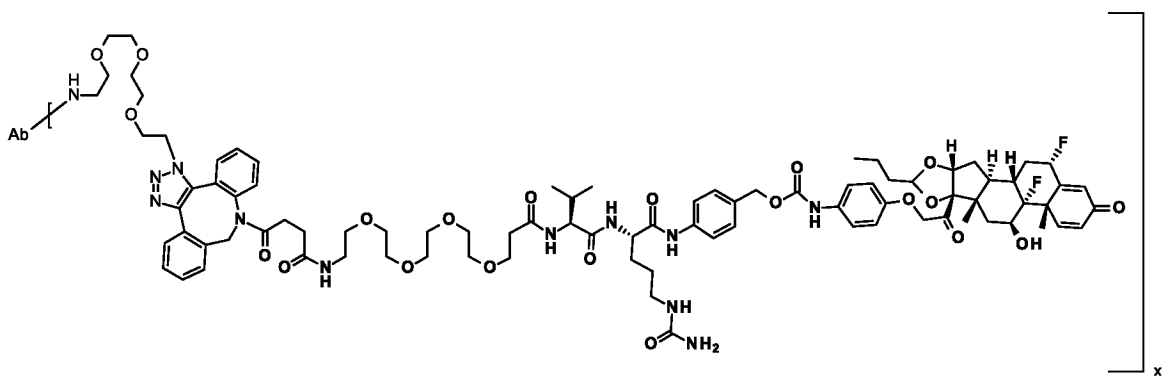


ИЛИ ИХ СМЕСЬ;



ИЛИ ИХ СМЕСЬ;





или их смесь.

В частных вариантах осуществления Ab означает антитело, x означает целое число от 1 до 30. В некоторых вариантах осуществления x означает целое число от 1 до 4. В некоторых вариантах осуществления x означает 4. В некоторых вариантах осуществления x означает 2.

[0336] Здесь также представлены конъюгаты связующих агентов будесонида или дифлоразона.

[0337] Подходящие связующие агенты для любого из конъюгатов, представленных в настоящем описании, включают, в том числе, антитела, лимфокины, гормоны, факторы роста, вирусные рецепторы, интерлейкины или любые другие клеточно-связующие или пептидсвязующие молекулы или вещества.

[0338] В некоторых вариантах осуществления связующий агент означает антитело. Используемый здесь термин «антитело» означает любую антигенсвязующую молекулу или молекулярный комплекс, включающий как минимум одну область, определяющую комплементарность (CDR), которая специфически связывается или взаимодействует с конкретным антигеном. Термин «антитело» включает молекулы иммуноглобулина, содержащие четыре полипептидные цепи, две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, связанные дисульфидными связями, а также их мультимеры (например, IgM). Каждая тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (сокращенно обозначаемую здесь как HCVR или V_H) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи включает три домена, C_{H1} , C_{H2} и C_{H3} . Каждая легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (сокращенно обозначаемую здесь как LCVR или V_L) и константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи содержит один домен (CL1). Области V_H и V_L могут быть далее подразделены на области гипервариабельности, называемые областями, определяющими комплементарность (CDR), с вкраплениями областей, которые являются более консервативными, называемыми каркасными областями (FR). Каждый V_H и V_L состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от amino-конца

к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В некоторых вариантах осуществления каркасные области антитела (или его антигенсвязывающей части) могут быть идентичны человеческой последовательности зародышевого типа, или могут быть модифицированы естественным или искусственным путем. Аминокислотная консенсусная последовательность может быть определена на основе параллельного анализа двух или более областей, определяющих комплементарность.

[0339] Термин «антитело», используемый в данном документе, также включает антигенсвязывающие фрагменты молекулы полного антитела. Термины «антигенсвязывающая часть» антитела, «антигенсвязывающий фрагмент» антитела и т.п., используемые в данном документе, включают любой встречающийся в природе, ферментативно полученный, синтетический или генно-инженерный полипептид или гликопротеин, который специфически связывает антиген для образования комплекса. Антигенсвязывающие фрагменты антитела могут быть получены, например, из молекул полного антитела, используя любые подходящие стандартные методы, такие как протеолитическое расщепление или методы рекомбинантной генной инженерии, включающие манипулирование и экспрессию ДНК, кодирующей антитела, переменными и необязательно константными доменами. Такая ДНК известна и/или легко доступна, например, из коммерческих источников, библиотек ДНК (включая, например, библиотеки фаговых антител) или может быть синтезирована. ДНК можно секвенировать и манипулировать химически или с помощью методов молекулярной биологии, например, для организации одного или нескольких переменных и/или константных доменов в подходящей конфигурации, или для введения кодонов, создания остатков цистеина, модификации, добавления или удаления аминокислот и т.д.

[0340] Неограничивающие примеры антигенсвязывающих фрагментов включают: (i) Fab фрагменты; (ii) F(ab')₂ фрагменты; (iii) Fd фрагменты; (iv) Fv фрагменты; (v) одноцепочечные молекулы Fv (scFv); (vi) фрагменты dAb; и (vii) минимальные единицы распознавания, состоящие из аминокислотных остатков, которые имитируют гипервариабельную область антитела (например, изолированную область, определяющую комплементарность (CDR), такую как пептид CDR3), или пептид с ограниченной конформационной свободой FR3-CDR3-FR4. Другие сконструированные молекулы, такие как доменно-специфические антитела, однодоменные антитела, доменно-делеционные антитела, химерные антитела, CDR-привитые антитела, диатела, триатела, тетратела, минитела, нанотела (например, моновалентные нанотела, двухвалентные нанотела и т.д.),

иммунофармацевтические средства на основе модульного белка малого размера (SMIP) и переменные домены IgNAR акул также включены в используемое здесь понятие «антигенсвязывающий фрагмент».

[0341] Антигенсвязывающий фрагмент антитела обычно будет содержать как минимум один переменный домен. Переменный домен может быть любого размера или аминокислотного состава и обычно будет содержать как минимум одну область, определяющую комплементарность, которая находится рядом или в каркасе с одной или несколькими каркасными последовательностями. В антигенсвязывающих фрагментах, имеющих домен V_H , связанный с доменом V_L , домены V_H и V_L могут располагаться относительно друг друга в любом подходящем расположении. Например, переменная область может быть димерной и содержать димеры V_H-V_H , V_H-V_L или V_L-V_L . Альтернативно, антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать мономерный домен V_H или V_L .

[0342] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать как минимум один переменный домен, ковалентно связанный с как минимум одним константным доменом. Неограничивающие примерные конфигурации переменных и константных доменов, которые могут быть обнаружены в антигенсвязывающем фрагменте антитела по настоящему изобретению, включают (i) V_H-C_{H1} ; (ii) V_H-C_{H2} ; (iii) V_H-C_{H3} ; (iv) $V_H-C_{H1}-C_{H2}$; (v) $V_H-C_{H1}-C_{H2}-C_{H3}$; (vi) $V_H-C_{H2}-C_{H3}$; (vii) V_H-C_L ; (viii) V_L-C_{H1} ; (ix) V_L-C_{H2} ; (x) V_L-C_{H3} ; (xi) $V_L-C_{H1}-C_{H2}$; (xii) $V_L-C_{H1}-C_{H2}-C_{H3}$; (xiii) $V_L-C_{H2}-C_{H3}$; и (xiv) V_L-C_L . В любой конфигурации переменных и константных доменов, включая любую из примерных конфигураций, перечисленных выше, переменные и константные домены могут быть либо напрямую связаны друг с другом, либо могут быть связаны полной или частичной шарнирной или линкерной областью. Шарнирная область может состоять из как минимум 2 (например, 5, 10, 15, 20, 40, 60 или более) аминокислот, которые приводят к гибкой или полугибкой связи между соседними переменными и/или константными доменами в одном полипептиде молекулы. Кроме того, антигенсвязывающий фрагмент антитела по настоящему изобретению может содержать гомодимер или гетеродимер (или другой мультимер) любой из конфигураций переменного и константного доменов, перечисленных выше, в нековалентной ассоциации друг с другом и/или с одним или несколькими мономерными доменами V_H или V_L (например, дисульфидной связью (связями)).

[0343] Как и в случае молекул полных антител, антигенсвязывающие фрагменты могут быть моноспецифичными или мультиспецифичными (например, биспецифичными).

Полиспецифический антигенсвязующий фрагмент антитела обычно будет содержать как минимум два разных переменных домена, при этом каждый переменный домен способен специфически связываться с отдельным антигеном или с другим эпитопом на одном и том же антигене. Любой формат мультиспецифических антител, включая примеры форматов биспецифических антител, раскрытых в данном документе, может быть адаптирован для использования в контексте антигенсвязующего фрагмента антитела по настоящему изобретению с использованием рутинных методик, доступных в данной области техники.

[0344] Антитела по настоящему изобретению могут функционировать через комплементзависимую цитотоксичность (CDC) или антителозависимую клеточноопосредованную цитотоксичность (ADCC). Понятие «комплементзависимая цитотоксичность» (CDC) относится к лизису антиген-экспрессирующих клеток антителом по настоящему изобретению в присутствии комплемента. Понятие «антителозависимая клеточноопосредованная цитотоксичность» (ADCC) относится к клеточно-опосредованной реакции, в которой неспецифические цитотоксические клетки, которые экспрессируют Fc-рецепторы (FcRs) (например, клетки-природные киллеры (NK), нейтрофилы и макрофаги) распознают связанное антитело на клетке-мишени и тем самым приводят к лизису клетки-мишени. CDC и ADCC могут быть измерены с использованием анализов, которые хорошо известны и доступны в данной области (См., например, патенты США № 5,500,362 и 5,821,337, и Clynes *et al.* (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 95:652-656). Константная область антитела важна для способности антитела фиксировать комплемент и опосредовать клеточно-зависимую цитотоксичность. Таким образом, изотип антитела может быть выбран на основании того, желательно ли, чтобы антитело опосредовало цитотоксичность.

[0345] Антитела, полезные для соединений по настоящему изобретению, включают антитела человека. Термин «антитело человека», как он использован здесь, предназначен для включения антител, имеющих переменные и константные области, полученные из человеческих иммуноглобулиновых последовательностей зародышевого типа. Антитела человека могут включать аминокислотные остатки, не кодируемые человеческими иммуноглобулиновыми последовательностями зародышевого типа (например, мутации, введенные случайным или сайт-специфическим мутагенезом *in vitro* или соматической мутацией *in vivo*), например, в определяющей комплементарности области и, в частности, в CDR3. Однако используемый в данном документе термин «антитело человека» не предназначен для включения антител, в которых последовательности определяющей комплементарности области, полученные из последовательностей зародышевого типа

другого вида млекопитающих, таких как мышь, были привиты на каркасные последовательности человека. Термин «антитело человека» не включает встречающиеся в природе молекулы, которые обычно существуют без модификации или вмешательства человека / манипуляции в естественном, неизменном живом организме.

[0346] В некоторых вариантах осуществления антитела могут быть рекомбинантными антителами человека. Используемый в настоящем документе термин «рекомбинантное антитело человека» предназначен для включения всех антител человека, которые получают, экспрессируют, создают или выделяют рекомбинантными способами, такие как антитела, экспрессируемые с использованием рекомбинантного вектора экспрессии, трансфицированного в клетку-хозяина (описано далее), антитела, выделенные из библиотеки рекомбинантных комбинаторных антител человека (описано далее), антитела, выделенные от животного (например, мыши), которое трансгенно для генов человеческого иммуноглобулина (см., например, Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20: 6287-6295), или антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные любым другим способом, который включает сплайсинг последовательностей гена иммуноглобулина человека с другими последовательностями ДНК. Такие рекомбинантные антитела человека имеют переменные и константные области, полученные из человеческих иммуноглобулиновых последовательностей зародышевого типа. Однако при определенных обстоятельствах такие рекомбинантные человеческие антитела подвергаются мутагенезу *in vitro* (или, когда используется трансгенное по человеческим Ig-последовательностям животное, соматическому мутагенезу *in vivo*) и, таким образом, аминокислотные последовательности областей V_H и V_L рекомбинантного антитела представляют собой последовательности, которые, хотя и получены из и связаны с последовательностями V_H и V_L зародышевого типа, в естественных условиях не могут существовать в спектре антител человека зародышевого типа *in vivo*.

[0347] Человеческие антитела могут существовать в двух формах, которые связаны с гетерогенностью шарнира. В одной форме молекула иммуноглобулина содержит стабильную четырехцепочечную конструкцию с массой приблизительно 150-160 кДа, в которой димеры удерживаются вместе дисульфидной связью тяжелой цепи между цепями. Во второй форме димеры не связаны межцепочечными дисульфидными связями, и образуется молекула около 75-80 кДа, состоящая из ковалентно связанных легкой и тяжелой цепи (полуантитела). Эти формы чрезвычайно трудно разделить, даже после аффинной очистки.

[0348] Частота появления второй формы в различных интактных изотипах IgG обусловлена, но не ограничивается структурными различиями, связанными с изотипом шарнирной области антитела. Одна замена аминокислоты в шарнирной области петли IgG4 человека может значительно уменьшить появление второй формы (Angal et al. (1993) *Molecular Immunology* 30: 105) до уровней, обычно наблюдаемых с использованием шарнира IgG1 человека. Настоящее раскрытие охватывает антитела, имеющие одну или несколько мутаций в шарнире, области C_H2 или C_H3, которые могут быть желательны, например, при производстве, для улучшения выхода желаемой формы антитела.

[0349] Антитела, полезные для соединений по настоящему изобретению, могут быть выделенными антителами. Термин «выделенное антитело», как он используется в данном документе, означает антитело, которое было идентифицировано и отделено и/или извлечено из как минимум одного компонента его естественной среды. Например, антитело, которое было выделено или отделено как минимум из одного компонента организма или из ткани или клетки, в которой антитело существует в природе или продуцируется естественным путем, является «выделенным антителом» для целей настоящего раскрытия. Выделенное антитело также включает антитело *in situ* в рекомбинантной клетке. Выделенные антитела представляют собой антитела, которые были подвергнуты как минимум одной стадии очистки или выделения. Согласно определенным вариантам осуществления выделенное антитело может быть по существу не содержащим другого клеточного материала и/или химических веществ.

[0350] Антитела, полезные для соединений, раскрытых в данном документе, могут включать одну или несколько аминокислотных замен, вставок и/или делеций в каркасных и/или CDR-областях переменных доменов тяжелой и легкой цепей по сравнению с соответствующими последовательностями зародышевого типа линии, из которых были получены антитела. Такие мутации могут быть легко установлены путем сравнения описанных здесь аминокислотных последовательностей с последовательностями зародышевого типа, доступными, например, из открытых баз данных последовательностей антител. Настоящее изобретение включает антитела и их антигенсвязующие фрагменты, которые получены из любой аминокислотной последовательности, описанной в данном документе, где одна или несколько аминокислот в одной или нескольких каркасных и/или CDR-областях мутированы в соответствующий остаток (остатки) последовательности зародышевого типа, из которой было получено антитело, или в соответствующий остаток (остатки) другой последовательности человека зародышевого типа, или в консервативную аминокислотную замену соответствующего остатка (остатков) зародышевого типа (такие

изменения последовательности упоминаются в настоящем документе совместно как «мутации зародышевого типа»). Специалист в данной области, начиная с описанных здесь последовательностей переменных областей тяжелой и легкой цепей, может легко продуцировать многочисленные антитела и антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат одну или несколько индивидуальных мутаций зародышевого типа или их комбинации. В определенных вариантах осуществления все остатки каркаса и/или области, определяющей комплементарность, в доменах V_H и/или V_L мутируют обратно в остатки, обнаруженные в исходной последовательности зародышевого типа, из которой было получено антитело. В других вариантах осуществления только определенные остатки мутируют обратно в исходную последовательность зародышевого типа, например, только мутированные остатки, обнаруженные в первых 8 аминокислотах FR1 или в последних 8 аминокислотах FR4, или только мутированные остатки, обнаруженные в CDR1, CDR2 или CDR3. В других вариантах осуществления один или несколько остатков каркаса и/или CDR мутируют в соответствующий остаток (остатки) другой последовательности зародышевого типа (то есть последовательности зародышевого типа, которая отличается от последовательности зародышевого типа, из которой изначально было получено антитело). Кроме того, антитела по настоящему изобретению могут содержать любую комбинацию двух или более мутаций зародышевого типа в пределах каркасных областей и/или областей, определяющих комплементарность, например, когда определенные отдельные остатки мутируют в соответствующий остаток конкретной последовательности зародышевого типа, тогда как некоторые другие остатки, которые отличаются из исходной последовательности зародышевого типа сохраняются или мутируют в соответствующий остаток другой последовательности зародышевого типа. После получения антитела и антигенсвязывающих фрагментов, которые содержат одну или несколько мутаций зародышевого типа, можно легко проверить на одно или несколько желаемых свойств, таких как улучшенная специфичность связывания, повышенная аффинность связывания, улучшенные или усиленные антагонистические или агонистические биологические свойства (в зависимости от обстоятельств), сниженная иммуногенность и др.

[0351] В некоторых вариантах осуществления антитело означает моноклональное антитело, поликлональное антитело, фрагмент антитела (Fab, Fab 'и F(ab)2, миниантитело, диатело, триотело и т.п.) или биспецифичное антитело. Антитела в данном документе могут быть гуманизированы с использованием способов, описанных в патенте США № 6,596,541 и публикации США № 2012/0096572, каждое из которых включено в качестве ссылки в полном объеме.

[0352] Когда связующий агент означает антитело, он связывается с антигенсвязующим партнером, который представляет собой полипептид, и может представлять собой трансмембранную молекулу (например, рецептор) или фактор роста, который может быть гликозилирован или фосфорилирован.

[0353] Подходящие мишени, с которыми связывается связующий агент, включают любую мишень, к которой желательна доставка стероидов. В некоторых случаях связующим агентом является антитело, модифицированное антитело или антигенсвязующий фрагмент, который связывает мишень, выбранную из следующего: AXL, BAFFR, BCMA, компонентов перечня BCR, BDCA2, BDCA4, BTLA, BTNL2, BTNL3, BTNL8, BTNL9, C10orf54, CCR1, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR9, CCR10, CD11c, CD137, CD138, CD14, CD168, CD177, CD19, CD20, CD209, CD209L, CD22, CD226, CD248, CD25, CD27, CD274, CD276, CD28, CD30, CD300A, CD33, CD37, CD38, CD4, CD40, CD44, CD45, CD46, CD47, CD48, CD5, CD52, CD55, CD56, CD59, CD62E, CD68, CD69, CD70, CD74, CD79a, CD79b, CD8, CD80, CD86, CD90.2, CD96, CLEC12A, CLEC12B, CLEC7A, CLEC9A, CR1, CR3, CRTAM, CSF1R, CTLA4, CXCR1/2, CXCR4, CXCR5, DDR1, DDR2, DEC-205, DLL4, DR6, FAP, FCamR, FCMR, FcR's, Fire, GITR, HHLA2, HLA class II, HVEM, ICOSLG, IFNLR1, IL10R1, IL10R2, IL12R, IL13RA1, IL13RA2, IL15R, IL17RA, IL17RB, IL17RC, IL17RE, IL20R1, IL20R2, IL21R, IL22R1, IL22RA, IL23R, IL27R, IL29R, IL2Rg, IL31R, IL36R, IL3RA, IL4R, IL6R, IL5R, IL7R, IL9R, Integrins, LAG3, LIFR, MAG/Siglec-4, MMR, MSR1, NCR3LG1, NKG2D, NKp30, NKp46, PDCD1, PROKR1, PVR, PVRIG, PVRL2, PVRL3, RELT, SIGIRR, Siglec-1, Siglec-10, Siglec-5, Siglec-6, Siglec-7, Siglec-8, Siglec-9, SIRPA, SLAMF7, TACI, компонентов/помощников перечня TCR, PTCRA, TCRb, CD3z, CD3, TEK, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, TIGIT, TLR2, TLR4, TROY, TSLPR, TYRO, VLDLR, VSIG4, и VTCN1.

[0354] Линкеры связующего агента могут быть связаны со связующим агентом, например антителом или антигенсвязующей молекулой, посредством присоединения к определенной аминокислоте в антителе или антигенсвязующей молекуле. Типичные аминокислотные связывания, которые можно использовать в контексте этого аспекта раскрытия, включают, например, лизин (см., например, US 5,208,020; US 2010/0129314; Hollander *et al.*, *Bioconjugate Chem.*, 2008, 19:358–361; WO 2005/089808; US 5,714,586; US 2013/0101546; и US 2012/0585592), цистеин (см., например, US 2007/0258987; WO 2013/055993; WO 2013/055990; WO 2013/053873; WO 2013/053872; WO 2011/130598; US 2013/0101546; и US 7,750,116), селеноцистеин (см., например, WO 2008/122039; и Hofer *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 2008, 105:12451–12456), формил-глицин (см., например, Carrico *et al.*, *Nat. Chem.*

Biol., 2007, 3:321–322; Agarwal *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 2013, 110:46–51, и Rabuka *et al.*, *Nat. Protocols*, 2012, 10:1052–1067), ненатуральные аминокислоты (см., например, WO 2013/068874, и WO 2012/166559), и кислые аминокислоты (см., например, WO 2012/05982). Линкеры могут конъюгировать через глутамин посредством химиотерапевтической конъюгации на основе трансглутаминазы (см., например, *Dennler et al.*, *Bioconjugate Chem.* 2014, 25, 569–578). Линкеры также могут конъюгировать с антигенсвязующим белком посредством присоединения к углеводам (см., например, US 2008/0305497, WO 2014/065661, и Ryan *et al.*, *Food & Agriculture Immunol.*, 2001, 13:127–130) и дисульфидным линкерам (см., например, WO 2013/085925, WO 2010/010324, WO 2011/018611, WO 2014/197854, и Shaunak *et al.*, *Nat. Chem. Biol.*, 2006, 2:312–313). В некоторых примерах связующий агент означает антитело, и это антитело связано с линкером через лизиновый остаток. В некоторых вариантах осуществления антитело связано с линкером через цистеиновый остаток.

D. СПОСОБЫ ПРИГОТОВЛЕНИЯ СОЕДИНЕНИЙ

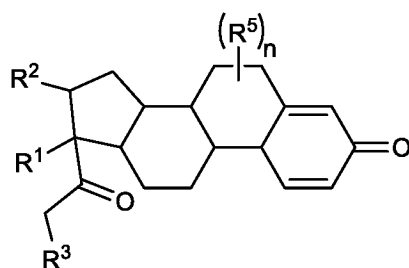
[0355] Описанные здесь конъюгаты могут быть синтезированы путем сочетания описанных здесь линкеров с полезной нагрузкой со связующим агентом, например антителом, в стандартных условиях конъюгации (см., например, *Drug Deliv.* 2016 Jun;23(5):1662-6; *AAPS Journal*, Vol. 17, No. 2, March 2015; и *Int. J. Mol. Sci.* 2016, 17, 561, включенные сюда в полном объеме в качестве ссылки). Линкеры с полезной нагрузкой представляют собой синтетические промежуточные соединения, включающие исследуемую полезную нагрузку и связующую составляющую, которая в конечном счете служит в качестве составляющей (или ее части), которая связывает связующий агент с полезной нагрузкой. Линкеры с полезной нагрузкой содержат реакционноспособную группу, которая реагирует со связующим агентом с образованием описанных здесь конъюгатов. Когда связующим агентом является антитело, антитело может быть связано с полезной нагрузкой линкера через один или несколько цистеиновых, лизиновых или других остатков антитела. Полезные нагрузки линкера могут быть связаны с остатками цистеина, например, путем воздействия на антитело восстанавливающего агента, например дитиотерита, для расщепления дисульфидных связей антитела, очистки восстановленного антитела, например, гель-фильтрацией, и последующей реакции антитела с линкером-полезной нагрузкой, содержащей реакционноспособный фрагмент, например, группу малеимида. Подходящие растворители включают, в том числе, воду, DMA, DMF и DMSO. Полезные нагрузки линкера, содержащие реакционноспособную группу, например, активированный эфир или галогенангидридную группу, могут быть связаны с остатками лизина. Подходящие растворители включают, в том числе, воду, DMA, DMF и DMSO.

Конъюгаты могут быть очищены с использованием известных белковых технологий, включая, например, эксклюзионную хроматографию, диализ и ультрафильтрацию/диафильтрацию.

[0356] Связующие агенты, например антитела, также могут быть конъюгированы посредством химической клик-реакции. В некоторых вариантах осуществления указанной химической клик-реакции линкер с полезной нагрузкой содержит реакционноспособную группу, например, алкин, который способен подвергаться реакции 1,3-циклоприсоединения с азидом. Такие подходящие реакционноспособные группы включают, в том числе, напряженные алкины, например, алкины, которые подходят для облегченных напряжением азид-алкиновых циклоприсоединений (SPAAC), циклоалкины, например, циклооктины, бензанулированные алкины и алкины, способные подвергаться реакциям 1,3-циклоприсоединения с азидами в отсутствие медных катализаторов. Подходящие алкины также включают, в том числе, DIBAC, DIBO, BARAC, DIFO, замещенные, например, фторированные алкины, азацicloалкины, BCN и их производные. Линкеры с полезной нагрузкой, содержащие такие реакционноспособные группы, полезны для конъюгирования антител, которые были функционализированы азидо группами. Такие функционализированные антитела включают антитела, функционализированные азидо-полиэтиленгликолевыми группами. В определенных вариантах осуществления такое функционализированное антитело получают путем взаимодействия антитела, содержащего как минимум один остаток глутамина, например тяжелой цепи Q295, с соединением по Формуле $H_2N-LL-N_3$, где LL представляет собой двухвалентную группу полиэтиленгликоля в присутствии фермента трансглутаминазы. Для удобства в некоторых приведенных здесь формулах антитело Ab представляет собой модифицированное антитело с одной или несколькими ковалентно связанными группами $-LL-N_3$ или их остатками. Предпочтительно каждая $-LL-N_3$ ковалентно связана с аминокислотной боковой цепью остатка глутамина антитела. Также предпочтительно, $-LL-N_3$ представляет собой или может реагировать с реакционноспособной группой RG с образованием ковалентной связи с линкером-полезной нагрузкой. Опять же, для удобства, в некоторых приведенных здесь формулах группы $-LL-N_3$ четко обозначены.

[0357] Ниже изложены способы синтеза описанных здесь конъюгатов, включающие контактирование связующего агента, например антитела, с описанным здесь линкером-полезной нагрузкой. В определенных вариантах осуществления линкер с полезной нагрузкой включает циклодекстриновый фрагмент.

[0358] В некоторых вариантах осуществления линкер с полезной нагрузкой означает соединение по Формуле (II):



(II)

- (a) R^3 означает $RL-$, $RL-X-$, или $RL-X-(CH_2)_{0-2}-\textcircled{A}-X-$; R^1 и R^2 в каждом случае независимо означают $-H$, алкил, алкил- $C(O)-$ $O-$, $-OH$ или гало; или R^1 и R^2 вместе образуют , где R^4 означает алкил, арил, арилалкил или N-содержащий гетероциклоалкил; при этом алкил, арил, арилалкил, и N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещены $-NR^aR^b$; или

- (b) R^3 означает $-OH$, алкил- $C(O)-O-$, гетероалкил, $-NR^aR^b$ или арилокси, где при этом алкил- $C(O)-O-$, гетероалкил или арилокси необязательно

замещены $-NR^aR^b$ или гало, и R^1 и R^2 вместе образуют , где R^4

означает $-RL-$, $RL-X-\textcircled{A}-(CH_2)_{0-2}-$, $BL-X-(CH_2)_{1-4}-$ или $RL-Y$, Y означает N-содержащий двухвалентный гетероцикл;

RL означает реакционноспособный линкер;

R^5 в каждом случае независимо означает $-OH$, гало, алкил или арилалкил;

R^a и R^b в каждом случае независимо означают $-H$ или алкил;

R^p в каждом случае независимо означает гало;

X в каждом случае независимо означает NR^a или O ;

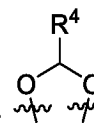
\textcircled{A} означает арил или гетероарил;

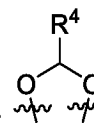
n означает целое число от 0 до 19.

[0359] Соединения по Формуле (II) являются линкер-полезными нагрузками, которые полезны в качестве синтетических промежуточных соединений при синтезе описанных

здесь конъюгатов. Эти линкеры с полезной нагрузкой включают реакционноспособную группу, которая может реагировать с антителом с образованием описанных здесь конъюгатов.

[0360] В некоторых примерах по Формуле (II) R^1 и R^2 в каждом случае независимо означают $-H$, алкил, или $-OH$. В некоторых примерах по Формуле (II) один из R^1 или R^2 означает $-H$, алкил или $-OH$. В некоторых примерах по Формуле (II) R^1 и R^2 означают или $-H$, алкил, или $-OH$.

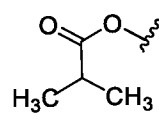


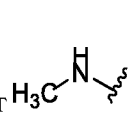
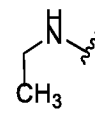
[0361] В некоторых примерах по Формуле (II) R^1 и R^2 вместе образуют . В некоторых примерах R^4 означает $-RL$. В некоторых примерах R^4 означает $RL-NR^a$ -арил. В других примерах R^4 означает алкил. В определенных примерах R^4 означает арилалкил, В некоторых примерах R^4 означает арил. В других примерах R^4 означает N-содержащий гетероциклоалкил. В некоторых из этих примеров алкил, арил, арилалкил, или N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещены.

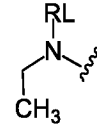

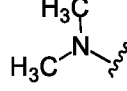
[0362] В некоторых примерах по Формуле (II) R^5 означает гало. В некоторых примерах по Формуле (II) R^5 означает фтор. В некоторых примерах по Формуле (II) один из R^5 означает гало. В некоторых примерах по Формуле (II) R^5 означает гало, n означает 2. В некоторых примерах по Формуле (II) R^5 означает $-F$, n означает 1. В некоторых примерах по Формуле (II), R^5 означает $-F$, n означает 2.

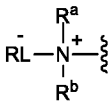
[0363] В некоторых примерах по Формуле (II) R^3 означает RL . В некоторых примерах по Формуле (II) R^3 означает $RL-NR^a$ -арилокси-. В некоторых других примерах по Формуле (II) R^3 означает $-OH$. В некоторых других примерах по Формуле (II) R^3 означает алкил- $C(O)-O-$. В некоторых других примерах по Формуле (II) R^3 означает гетероалкил. В некоторых других примерах по Формуле (II) R^3 означает $-N-R^aR^b$. В некоторых других примерах по Формуле (II) R^3 означает арил. В некоторых других примерах по Формуле (II) R^3 означает арилокси. В некоторых других примерах по Формуле (II) алкил- $C(O)-O-$, гетероалкил или арилокси необязательно замещены $-NR^aR^b$ или гало.

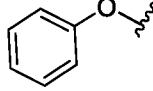
[0364] В некоторых примерах по Формуле (II) R^3 означает $-OH$. В некоторых примерах по Формуле (II) R^3 означает алкил- $C(O)-O-$. В некоторых примерах по Формуле (II) R^3

означает . В некоторых примерах по Формуле (II) R^3 означает гетероалкил. В

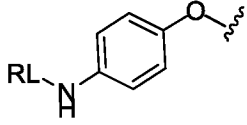
некоторых примерах по Формуле (II) R^3 означает  или . В некоторых

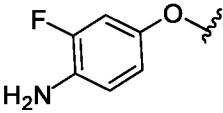
примерах по Формуле (II) R^3 означает  или . В некоторых примерах по Формуле (II) R^3 означает $-NR^aR^b$. В некоторых примерах по Формуле (II) R^3 означает . В некоторых примерах по Формуле (II), R^3 означает . В некоторых

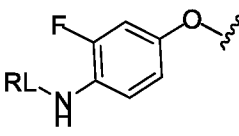
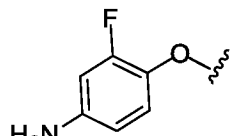
примерах по Формуле (II) R^3 означает . В некоторых примерах по Формуле (II) R^3

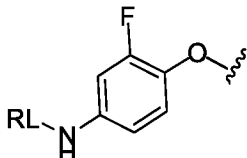
означает арилокси. В некоторых примерах по Формуле (II) R^3 означает . В

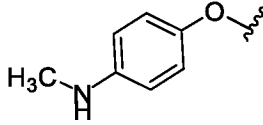
некоторых примерах по Формуле (II) R^3 означает . В некоторых примерах

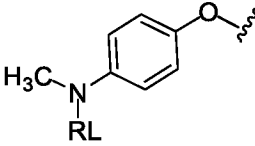
по Формуле (II) R^3 означает . В некоторых примерах по Формуле (II) R^3

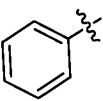
означает . В некоторых примерах по Формуле (II) R^3 означает

. В некоторых примерах по Формуле (II) R^3 означает .

В некоторых примерах по Формуле (II) R^3 означает . В некоторых

примерах по Формуле (II) R^3 означает . В некоторых примерах по

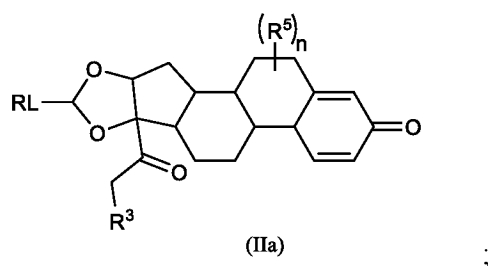
Формуле (II), R^3 означает . В некоторых примерах по Формуле (II) R^3

означает .

[0365] По Формуле (II) нижний индекс n означает целое число от 0 до 19. В некоторых примерах n означает 0. В других примерах n означает 1. В определенных примерах n

означает 2. В других примерах n означает 3. В определенных примерах n означает 4. В некоторых примерах n означает 5. В других примерах n означает 6. В определенных примерах n означает 7. В других примерах n означает 8. В определенных примерах n означает 9. В некоторых примерах n означает 10. В других примерах n означает 11. В определенных примерах n означает 12. В других примерах n означает 13. В определенных примерах n означает 14. В некоторых примерах n означает 15. В других примерах n означает 16. В определенных примерах n означает 17. В других примерах n означает 18. В определенных примерах n означает 19.

[0366] В некоторых примерах здесь приведено соединение, имеющее структуру по Формуле (IIa):



где:

R^5 в каждом случае независимо означает –ОН, гало или алкил;

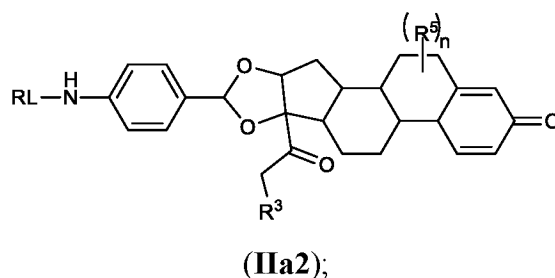
R^3 выбран из –ОН, алкил–C(O)–O–, гетероалкил, –NR^aR^b или арилокси, где алкил–C(O)–O–, гетероалкил или арилокси необязательно замещены –NR^aR^b или гало;

RL означает реакционноспособный линкер;

R^a и R^b в каждом случае независимо выбраны из H, алкил и алкил–C(O);

n означает целое число от 0 до 19.

[0367] В некоторых примерах здесь приведено соединение, имеющее структуру по Формуле (IIa2):



где:

R^5 в каждом случае независимо означает –ОН, гало или алкил;

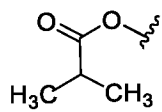
R^3 означает –ОН, алкил–C(O)–O–, гетероалкил, –NR^aR^b или арилокси, где алкил–C(O)–O–, гетероалкил или арилокси необязательно замещены –NR^aR^b или гало;

RL означает реакционноспособный линкер;

R^a и R^b в каждом случае независимо выбраны из H, алкил, или алкил–C(O);

n означает целое число от 0 до 19.

В некоторых примерах по Формуле (IIa2) R³ означает –ОН. В некоторых примерах по Формуле (IIa2) R³ означает алкил–C(O)–O–. В некоторых примерах R³ означает

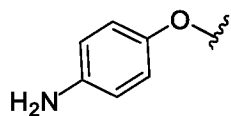


В некоторых примерах по Формуле (IIa2) R³ означает гетероалкил. В

некоторых примерах R³ означает . В некоторых примерах по Формуле (IIa2) R³

означает –NR^aR^b. В некоторых примерах R³ означает . В некоторых примерах по Формуле (IIa2) R³ означает арилокси. В некоторых примерах по Формуле (IIa2) R³

означает . В некоторых примерах по Формуле (IIa2) R³ означает

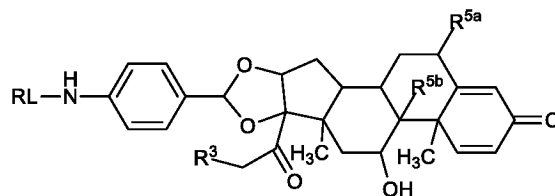


В некоторых примерах по Формуле (IIa2) R³ означает .

В некоторых примерах по Формуле (IIa2) R³ означает . В некоторых

примерах по Формуле (IIa2) R³ означает .

[0368] В некоторых примерах соединение по Формуле (IIa2) имеет следующую структуру:



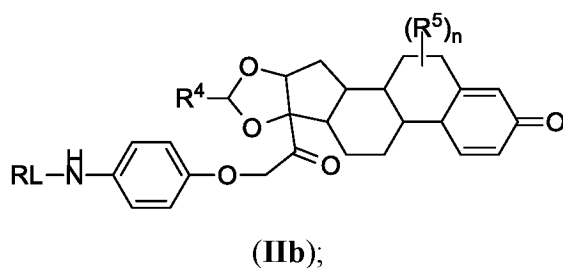
где:

R³ означает –ОН или алкил–C(O)–O–;

R^{5a} и R^{5b} в каждом случае независимо означают –F или H;

RL означает реакционноспособный линкер.

[0369] В некоторых примерах здесь приведено соединение, имеющее структуру по Формуле (IIb):



где

R^5 в каждом случае независимо означает –ОН, гало или алкил;

R^4 выбран из алкил, арил, арилалкил, или N-содержащий гетероциклоалкил, при этом алкил, арил, арилалкил или N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещены $-NR^aR^b$;

RL означает реакционноспособный линкер;

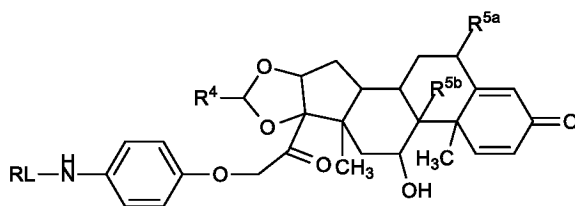
R^a и R^b в каждом случае независимо выбраны из H, алкил и алкил–C(O);

n означает целое число от 0 до 19.

[0370] В некоторых примерах по Формуле **(IIb)** R^5 означает гало. В некоторых примерах по Формуле **(IIb)** R^5 означает фтор. В некоторых примерах по Формуле **(IIb)** n означает как минимум 2, и два R^5 означает гало. В некоторых примерах по Формуле **(IIb)** R^5 означает F, n означает 1. В некоторых примерах по Формуле **(IIb)** R^5 означает –F.

[0371] В некоторых примерах по Формуле **(IIb)** R^4 означает алкил. В некоторых примерах по Формуле **(IIb)** R^4 означает метил, этил, *n*-пропил, *i*-пропил, *n*-бутил, *s*-бутил, *t*-бутил, *i*-бутил, пентилловый фрагмент, гексильный фрагмент, циклопропил, циклобутил, циклопентил или циклогексил. В некоторых примерах по Формуле **(IIb)** R^4 означает *n*-пропил.

[0372] В некоторых примерах соединение по Формуле **(IIb)** имеет следующую структуру:



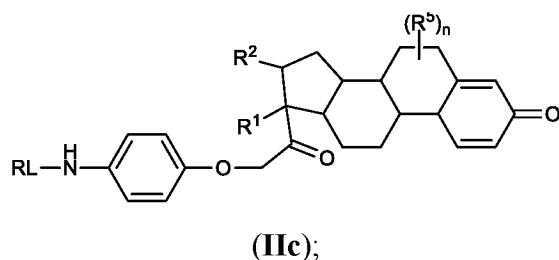
где:

R^4 означает алкил;

R^{5a} и R^{5b} в каждом случае независимо означают –F или H;

RL означает реакционноспособный линкер.

[0373] В некоторых примерах здесь приведено соединение, имеющее структуру по Формуле **(IIc)**:



где

R^1 и R^2 независимо означают $-H$, алкил, алкил- $C(O)-O-$, $-OH$ или гало;

R^5 в каждом случае независимо выбран из $-OH$, гало или алкил;

RL означает реакционноспособный линкер;

n означает целое число от 0 до 19.

[0374] В некоторых примерах по Формуле **(IIc)** R^5 означает $-$ гало. В некоторых примерах по Формуле **(IIc)** R^5 означает фтор. В некоторых примерах по Формуле **(IIc)** один из R^5 означает гало. В некоторых примерах по Формуле **(IIc)** два R^5 означает гало. В некоторых примерах по Формуле **(IIc)** R^5 означает $-F$, n означает 2.

[0375] В некоторых примерах по Формуле **(IIc)** R^1 означает CH_3 .

[0376] В других примерах по Формуле **(IIc)** R^1 означает OH .

[0377] В некоторых других примерах по Формуле **(IIc)** R^1 означает H .

[0378] В некоторых примерах по Формуле **(IIc)** R^2 означает CH_3 .

[0379] В других примерах по Формуле **(IIc)** R^2 означает OH .

[0380] В некоторых других примерах по Формуле **(IIc)** R^2 означает H .

[0381] В некоторых примерах по Формуле **(IIc)** R^1 означает CH_3 , R^2 означает CH_3 .

[0382] В других примерах по Формуле **(IIc)** R^1 означает CH_3 , R^2 означает OH .

[0383] В некоторых примерах по Формуле **(IIc)** R^1 означает CH_3 , R^2 означает H .

[0384] В некоторых других примерах по Формуле **(IIc)** R^1 означает OH , R^2 означает CH_3 .

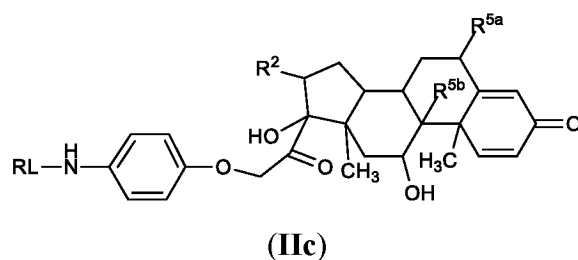
[0385] В других примерах по Формуле **(IIc)** R^1 означает OH , R^2 означает OH .

[0386] В некоторых примерах по Формуле **(IIc)** R^1 означает H , R^2 означает H .

[0387] В некоторых других примерах по Формуле **(IIc)** R^1 означает H , R^2 означает OH .

[0388] В других примерах по Формуле **(IIc)**, R^1 означает H , R^2 означает H .

[0389] В некоторых вариантах осуществления соединение по Формуле **(IIc)** имеет следующую структуру:



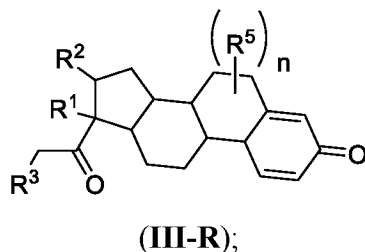
где:

R^2 означает метил;

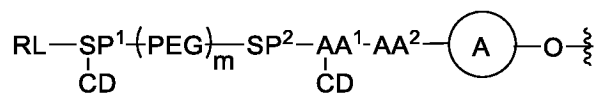
R^{5a} и R^{5b} в каждом случае независимо означают $-F$ или H ; и

RL означает реакционноспособный линкер.

[0390] В определенных вариантах осуществления здесь приведено соединение, имеющее структуру по Формуле (III-R):

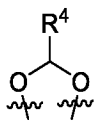


где:



R^3 означает

R^1 и R^2 в каждом случае независимо означают $-H$, алкил, алкил- $C(O)-O-$, $-OH$ или

гало; или R^1 и R^2 вместе образуют , где R^4 означает алкил, арил, арилалкил, или N-содержащий гетероциклоалкил; при этом алкил, арил, арилалкил и N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещены $-NR^aR^b$;

R^5 в каждом случае независимо означает $-OH$, гало, алкил или арилалкил;

R^a и R^b в каждом случае независимо означают $-H$ или алкил;

R^p в каждом случае независимо означает гало;

\textcircled{A} означает арил или гетероарил;

t означает целое число от 0 до 2;

x означает целое число от 1 до 30; при этом

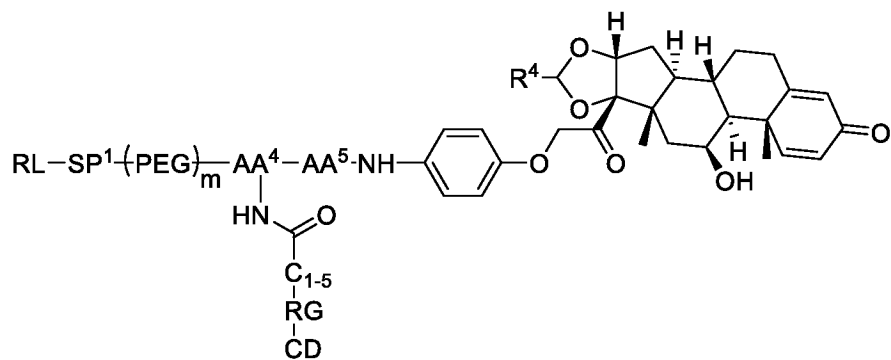
RL означает реакционноспособный линкер, определенный ниже; SP^1 и SP^2 в каждом случае независимо означают отсутствие или остаток спейсерной группы, где SP^1 включает трехвалентный линкер; AA^1 означает трехвалентный линкер, включающий аминокислотный остаток; AA^2 означает ди-пептидный остаток; PEG означает

полиэтиленгликолевый остаток;  указывает на атом, через который указанная

химическая группа связана с ближайшей группой в Формуле, **CD** в каждом случае независимо отсутствует или означает циклодекстриновый остаток, в котором присутствует как минимум один **CD**, нижний индекс **m** означает целое число от 0 до 5; В этих примерах нижний индекс **m** означает 0, 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых примерах нижний индекс **m** означает 0. В некоторых примерах нижний индекс **m** означает 1. В некоторых примерах нижний индекс **m** означает 2. В некоторых примерах нижний индекс **m** означает 3. В некоторых примерах нижний индекс **m** означает 4. В некоторых примерах нижний индекс **m** означает 5. В некоторых примерах любой из **AA¹** или **AA²** включает в каждом случае независимо аминокислоту, выбранную из аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспаргиновая кислота, глутаминовая кислота, лизин, аргинин, гистидин или цитруллиналин, валин, лейцин триптофан, фенилаланин, пролин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспаргиновая кислота, глутаминовая кислота, лизин, аргинин, гистидин или цитруллин, их производное или их комбинация. В определенных вариантах осуществления **AA¹** означает аминокислоту, выбранную из аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, глицин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспаргиновая кислота, глутаминовая кислота, лизин, аргинин, гистидин, или цитруллин, их производное или их комбинация. В определенных вариантах осуществления **AA¹** означает лизин. В определенных вариантах осуществления **AA¹** означает лизин или производное лизин. В определенных вариантах осуществления **AA²** означает валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления **AA²** означает цитруллин-валин. В некоторых вариантах осуществления **AA²** означает валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления **AA²** is аланин-валин. В некоторых вариантах осуществления **AA²** означает валин-глицин. В некоторых вариантах осуществления **AA²** означает глицин-валин. В некоторых вариантах осуществления **AA²** глутамат-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления **AA²** означает глутамин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления **AA²** означает лизин-валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления **AA²** означает лизин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления **AA²** означает глутамат-валин-цитруллин. В некоторых примерах **SP¹** в каждом случае независимо выбран из группы, включающей C₁₋₆ алкилен, -NH-, -C(O)-, (-CH₂-CH₂-O)_e, -NH-CH₂-CH₂-(-O-CH₂-CH₂)_e-C(O)-, -C(O)-(CH₂)_u-C(O)-, -C(O)-NH-(CH₂)_v- и их комбинации, где нижний индекс **e** означает целое число от 0 до 4, нижний индекс **u** означает целое число от 1 до 8, и

нижний индекс v означает целое число от 1 до 8. В некоторых примерах SP^2 в каждом случае независимо выбран из группы, включающей C_{1-6} алкилен, $-NH-$, $-C(O)-$, $(-CH_2-CH_2-O)_e$, $-NH-CH_2-CH_2-(O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$, $-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$, $-C(O)-NH-(CH_2)_v-$ и их комбинации, где нижний индекс e означает целое число от 0 до 4, нижний индекс u означает целое число от 1 to 8, и нижний индекс v означает целое число от 1 до 8.

[0391] В определенных вариантах осуществления здесь приведено соединение, имеющее структуру по Формуле (IIIc-R):



Формула (IIIc-R)

RL означает реакционноспособный линкер;

CD означает циклодекстрин;

SP^1 означает спейсерную группу;

AA^4 означает аминокислотный остаток;

AA^5 означает дипептидный остаток;

PEG означает полиэтиленгликоль;


m означает целое число от 0 до 4;

x означает целое число от 0 до 30;

R^4 означает алкил, арил, арилалкил или N-содержащий гетероциклоалкил; где the алкил, арил, арилалкил, и N-содержащий гетероциклоалкил необязательно замещены $-NR^aR^b$;

R^a и R^b в каждом случае независимо означают $-H$ или алкил;

SP^1 и SP^2 в каждом случае независимо означают отсутствие или остаток спейсерной группы, где SP^1 включает трехвалентный линкер; AA^4 означает трехвалентный линкер, включающий аминокислотный остаток; AA^5 означает дипептидный остаток; PEG означает

полиэтиленгликолевый остаток;  указывает на атом, через который указанная химическая группа связана с ближайшей группой в Формуле, CD в каждом случае независимо отсутствует или означает циклодекстриновый остаток, в котором присутствует как минимум один CD, нижний индекс m означает целое число от 0 до 5. В этих примерах нижний индекс m означает 0, 1, 2, 3, 4, или 5. В некоторых примерах нижний индекс m

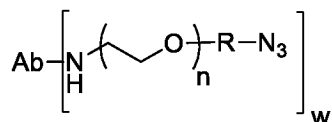
означает 0. В некоторых примерах нижний индекс **m** означает 1. В некоторых примерах нижний индекс **m** означает 2. В некоторых примерах нижний индекс **m** означает 3. В некоторых примерах нижний индекс **m** означает 4. В некоторых примерах нижний индекс **m** означает 5. В некоторых примерах **any** один из **AA⁴** или **AA⁵** в каждом случае независимо включает аминокислоту, выбранную из аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспаргиновая кислота, глутаминовая кислота, лизин, аргинин, гистидин, или цитруллин, их производное или их комбинация. В определенных вариантах осуществления **AA⁴** означает аминокислоту, выбранную из аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин, пролин, глицин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспаргиновая кислота, глутаминовая кислота, лизин, аргинин, гистидин, или цитруллин, их производное или их комбинация. В определенных вариантах осуществления **AA⁴** означает лизин. В определенных вариантах осуществления **AA⁴** означает лизин или производное лизина. В определенных вариантах осуществления **AA⁵** означает валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления **AA⁵** означает цитруллин-валин. В некоторых вариантах осуществления **AA⁵** означает валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления **AA⁵** означает аланин-валин. В некоторых вариантах осуществления **AA⁵** означает валин-глицин. В некоторых вариантах осуществления **AA⁵** означает глицин-валин. В некоторых вариантах осуществления **AA⁵** означает глутамат-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления **AA⁵** означает глутамин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления **AA⁵** означает лизин-валин-аланин. В некоторых вариантах осуществления **AA⁵** означает лизин-валин-цитруллин. В некоторых вариантах осуществления **AA⁵** означает глутамат-валин-цитруллин. В некоторых примерах **SP¹** в каждом случае независимо выбран из группы, включающей C₁₋₆ алкилен, -NH-, -C(O)-, (-CH₂-CH₂-O)_e, -NH-CH₂-CH₂-(-O-CH₂-CH₂)_e-C(O)-, -C(O)-(CH₂)_u-C(O)-, -C(O)-NH-(CH₂)_v- и их комбинации, где нижний индекс **e** означает целое число от 0 до 4, нижний индекс **u** означает целое число от 1 до 8, нижний индекс **v** означает целое число от 1 до 8. В некоторых примерах **SP²** в каждом случае независимо выбран из группы, включающей C₁₋₆ алкилен, -NH-, -C(O)-, (-CH₂-CH₂-O)_e, -NH-CH₂-CH₂-(-O-CH₂-CH₂)_e-C(O)-, -C(O)-(CH₂)_u-C(O)-, -C(O)-NH-(CH₂)_v- и их комбинации, где нижний индекс **e** означает целое число от 0 до 4, нижний индекс **u** означает целое число от 1 до 8, и нижний индекс **v** означает целое число от 1 до 8.

[0392] Используемая здесь фраза «реакционноспособный линкер» или аббревиатура «RL» относится к одновалентной группе, которая включает реакционноспособную группу и

связующую группу, изображенную как $RG-L-\xi$,

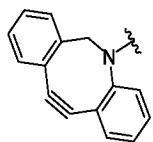
где RG означает реакционноспособную группу, а L означает связующую группу. Связующая группа представляет собой любой двухвалентный фрагмент, который соединяет реакционноспособную группу с полезной нагрузкой. Связующая группа также включает любую трехвалентную группу, которая связывает реакционноспособную группу, группу циклодекстрина и полезную нагрузку. Реакционноспособные линкеры (RL) вместе с полезными нагрузками, с которыми они связаны, содержат промежуточные соединения («линкеры с полезной нагрузкой»), используемые в качестве синтетических предшественников для получения описанных здесь стероидных конъюгатов антител. Реакционноспособный линкер содержит реакционноспособную группу (RG), которая представляет собой функциональную группу или фрагмент, который реагирует с реакционноспособной частью антитела, модифицированного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. Фрагмент, полученный в результате реакции реакционноспособной группы с антителом, модифицированным антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, вместе со связующей группой, содержит фрагмент описанного здесь конъюгата «линкер связывающего агента» (BL). В определенных вариантах осуществления «реакционноспособной группой» является функциональная группа или фрагмент (например, малеимид или сложный эфир NHS), который реагирует с остатком цистеина или лизина антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В определенных вариантах осуществления «реакционноспособная группа» означает функциональную группу или группу, которая способна подвергаться химической клик-реакции. В некоторых вариантах осуществления указанной химической клик-реакции, реакционноспособная группа означает алкин, который способен подвергаться реакции 1,3-циклоприсоединения с азидом. Такие подходящие реакционноспособные группы включают, в том числе, напряженные алкины, например, алкины, которые подходят для облегченных напряжением азид-алкиновых циклоприсоединений (SPAAC), циклоалкины, например, циклооктины, бензанулированные алкины и алкины, способные подвергаться реакциям 1,3-циклоприсоединения с алкинами в отсутствие медных катализаторов. Подходящие алкины также включают, в том числе, DIBAC, DIBO, BARAC, замещенные, например, фторированные алкины, азициклоалкины, BCN и их производные. Линкеры с полезной нагрузкой, содержащие такие реакционноспособные группы, полезны для конъюгирования антител, которые были функционализированы азидо группами. Такие функционализированные антитела включают антитела, функционализированные азидо-полиэтиленгликолевыми группами. В определенных вариантах осуществления такое функционализированное антитело получают путем взаимодействия антитела, содержащего как минимум один остаток глутамина, например тяжелой цепи Q295, с соединением по

Формуле $H_2N-LL-N_3$, где LL означает, например, группу двухвалентного полиэтиленгликоля, или где LL означает трехвалентную группу, которая включает полиэтиленгликоль и циклодекстриновую группу, в присутствии фермента трансглутаминазы. В некоторых исследованиях антитело означает функционализированное антитело, имеющее следующую структуру:

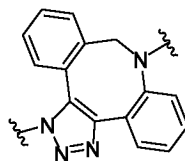


где Ab означает антитело, R означает углеводородный радикал, n означает целое число от 1 до 10, w означает целое число от 1 до 10. В определенных вариантах осуществления R означает этилен. В определенных вариантах осуществления n означает 3. В определенных вариантах осуществления w означает 2 или 4.

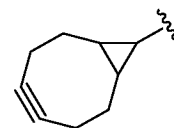
В некоторых примерах реакционноспособная группа означает алкин, например,



, который может вступать в клик-реакцию с азидом, например, $N=N=N$,

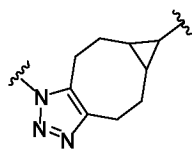


образуя продукт клик-реакции, например, , его региоизомер или их смесь. В

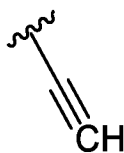


некоторых примерах реакционноспособная группа означает алкин, например,

, который может вступать в клик-реакцию с азидом, например, $N=N=N$, образуя продукт

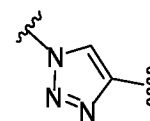


клик-реакции, например, . В некоторых примерах реакционноспособная



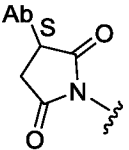
группа означает алкин, например, , который может вступать в клик-реакцию с

азидом, например, $N=N=N$, образуя продукт клик-реакции, например, , его

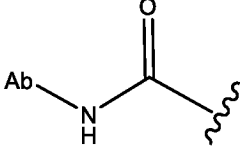


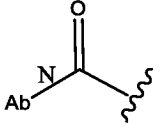
региоизомер или их смесь. В некоторых примерах реакционноспособная группа означает

функциональную группу, например, , которая вступает в реакцию с цистеиновым остатком на антители или его антигенсвязывающем фрагменте, образуя связь между ними,

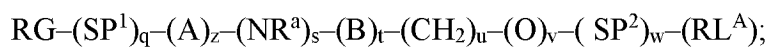
например, , где Ab относится к антители или его антигенсвязывающему фрагменту, а S относится к атому S в остатке цистеина, через который функциональная группа связывается с Ab. В некоторых примерах реакционноспособная группа означает

функциональную группу, например, , которая вступает в реакцию с цистеиновым остатком на антители или его антигенсвязывающем фрагменте, образуя связь

между ними, например, , где Ab относится к антители или его антигенсвязывающему фрагменту, и -NH- относится к концу остатка лизина, через который функциональная группа связывается с Ab. В некоторых примерах этот атом N находится в остатке лизина, через который связи функциональной группы обозначены здесь буквой N

над связью, например, .

[0393] В некоторых вариантах осуществления RL означает одновалентный фрагмент по Формуле (RL^A);



где RG означает реакционноспособную группу;

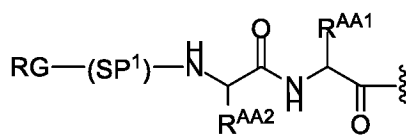
A означает аминокислоту или а пептид;

R^a означает H или алкил;

B означает арил, гетероарил, или гетероциклоалкил, при этом арил, гетероарил или гетероциклоалкил необязательно замещены алкилом, -OH, или -N-R^aR^b;

SP¹ и SP² независимо означают спкйсерные группы; и q, z, s, t, u, v и w в каждом случае независимо означают 0 или 1.

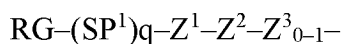
[0394] В некоторых вариантах осуществления RL означает RG-(SP¹)_q-(A)_z-. В некоторых вариантах осуществления RL означает RG-(SP¹)_q-(A)₂-. В некоторых вариантах осуществления RL означает фрагмент по Формуле (RL^{A1})



(RL^{A1})

где R^{AA1} и R^{AA2} в каждом случае независимо означают боковые аминокислотные цепи. В некоторых примерах по Формуле RL^{A1} SP^1 означает группу двухвалентного полиэтиленгликоля, RG означает группу, включающую алкин, способный к реакции 1,3-циклоприсоединения с азидом.

[0395] В некоторых вариантах осуществления RL имеет следующую структуру:



где:

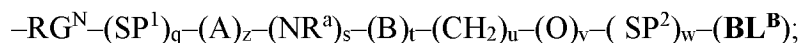
RG , SP^1 и q соответствуют приведенному здесь определению;

Z^1 означает группу полиэтиленгликоля или капроила;

Z^2 означает дипептид; и

Z^3 означает группу пара-амино-бензилового спирта.

[0396] В некоторых других вариантах осуществления BL трехвалентный фрагмент по Формуле (BL^B);



где RG^N соответствует приведенному здесь определению;

A означает трипептид, в котором как минимум одна из аминокислот в трипептиде связана напрямую или опосредованно с циклодекстриновым фрагментом;

R^a означает H или алкил;

B означает арил, гетероарил, или гетероциклоалкил, при этом арил, гетероарил, или гетероциклоалкил необязательно замещены алкилом, $-OH$ или $-NR^aR^b$;

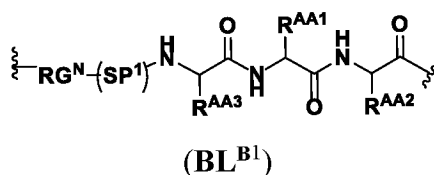
SP^1 и SP^2 независимо означают спейсерные группы; и q , z , s , t , u , v и w в каждом случае независимо означают 0 или 1.

[0397] В некоторых примерах циклодекстрин (ЦД) связан напрямую с аминокислотным остатком, таким как лизиновый кислотный остаток. Это означает, что ЦД находится на расстоянии одной позиции связи от ковалентного линкера аминокислоты лизин. В некоторых из этих примеров ковалентный линкер также связан напрямую с фрагментом полезной нагрузки. Это означает, что ковалентный линкер находится на расстоянии одной позиции связи от полезной нагрузки, в том числе такой как описанная здесь полезная нагрузка стероида. В некоторых из этих примеров ковалентный линкер также связан напрямую с ЦД-фрагментом. Это означает, что ковалентный линкер находится на расстоянии одной позиции связи от ЦД, такого как описанный здесь ЦД. В некоторых из

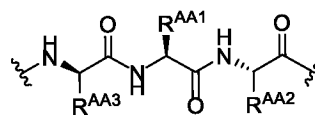
этих примеров ковалентный линкер представляет собой лизиновую кислоту или ее производное.

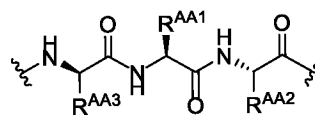
[0398] В некоторых примерах ЦД связан опосредованно с ковалентным линкером в группе связывания (например, BL). Это означает, что ЦД находится на расстоянии более одной позиции связи от ковалентного линкера. Это также означает, что ЦД связан через другой фрагмент с ковалентным линкером. Например, ЦД может быть связан с малеимидной группой, которая связана с группой полиэтиленгликоля, которая связана с ковалентным линкером. В некоторых из этих примеров ковалентный линкер также опосредованно связан с фрагментом полезной нагрузки. Это означает, что ковалентный линкер находится на расстоянии более одной позиции связи от полезной нагрузки, в том числе такой как описанная здесь полезная нагрузка стероида. Это также означает, что ковалентный линкер связан через другую группу с полезной нагрузкой. Например, ковалентный линкер может быть связан с дипептидом, в том числе Val-Ala или Val-Cit, который может быть связан с пара-амино бензоилом, который может быть связан с полезной нагрузкой. В некоторых из этих примеров ковалентный линкер также опосредованно связан с циклодекстриновым фрагментом. Это означает, что ковалентный линкер находится на расстоянии более одной позиции связи от циклодекстрина, такого как описанные здесь циклодекстрины. Это также означает, что ковалентный линкер связан через другой фрагмент с циклодекстрином. Например, ковалентный линкер может быть связан с группой полиэтиленгликоля, которая может быть связана с реакционноспособной группой, которая может быть связана с циклодекстрином. В некоторых из этих примеров ковалентный линкер представляет собой лизиновую кислоту или ее производное.

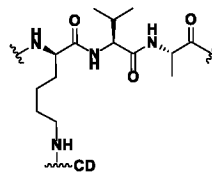
[0399] В некоторых вариантах осуществления BL означает $-RG^N-(SP^1)_q-(A)_z-$. В некоторых вариантах осуществления BL означает $-RG^N-(SP^1)_q-(A)_2-$. В некоторых вариантах осуществления BL означает группу по Формуле (BL^{B1})

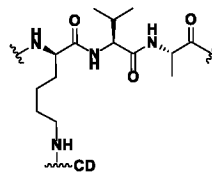


где R^{AA1} и R^{AA2} в каждом случае независимо означают боковые аминокислотные цепи. R^{AA3} означает боковую аминокислотную цепь, которая связана напрямую или опосредованно с циклодекстриновым фрагментом. В некоторых примерах по Формуле RL^{B1} SP¹ означает группу двухвалентного полиэтиленгликоля, RG^N означает а 1,3–1,3–циклоприсоединенный аддукт реакции между алкином и азидом.

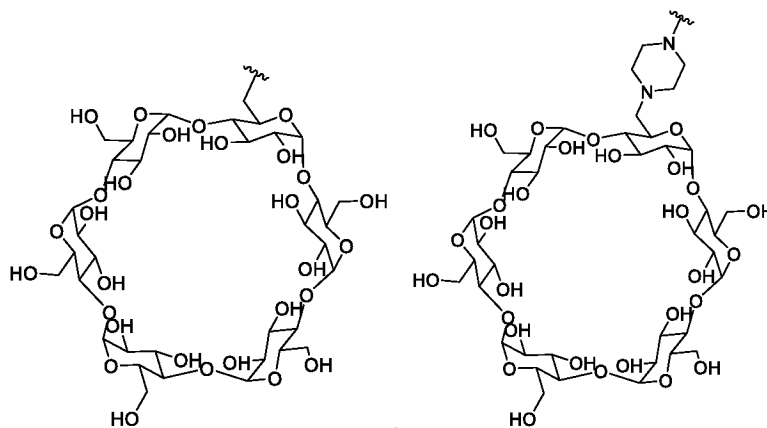


[0400] В некоторых примерах А означает . В некоторых из этих примеров R^{AA1} означает боковую аминокислотную цепь, R^{AA2} означает боковую аминокислотную цепь, и R^{AA3} означает боковую аминокислотную цепь, которая связана напрямую или опосредованно с циклодекстриновым фрагментом.

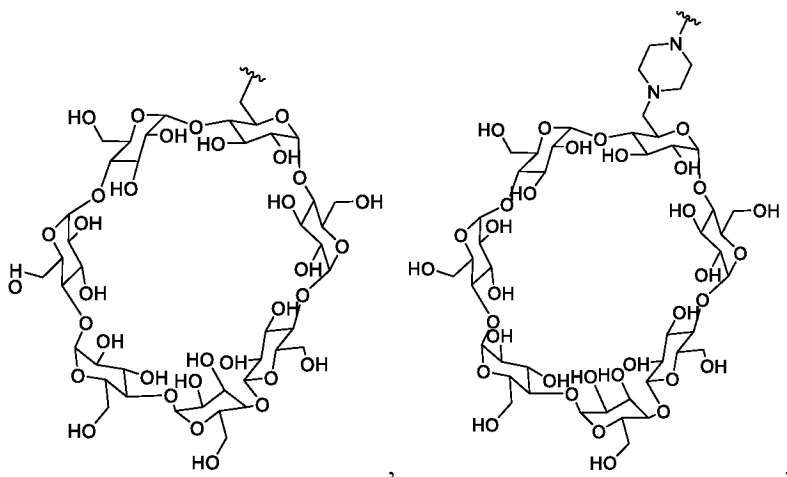


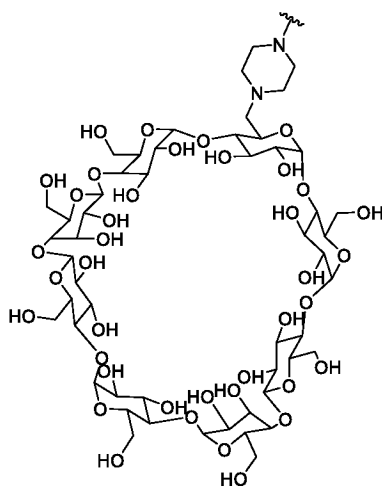
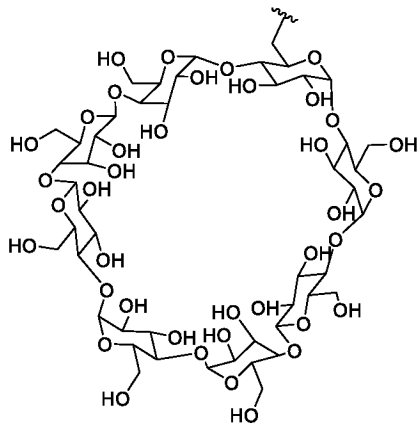
[0401] В некоторых примерах А означает , где **CD** представляет собой прямую или опосредованную связь с циклодекстриновым фрагментом.

[0402] В некоторых примерах, включая любой из вышеперечисленных, ЦД в каждом

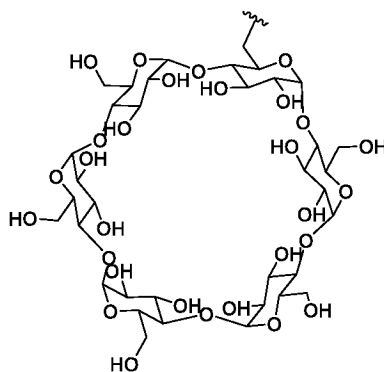


случае независимо выбран из

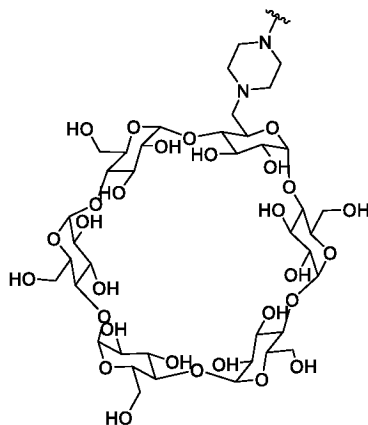




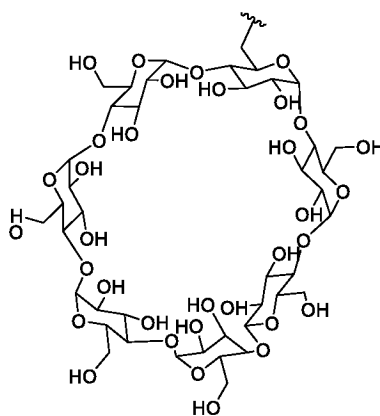
, И



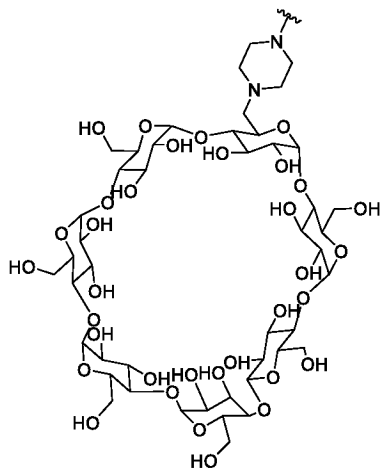
В некоторых примерах ЦД означает



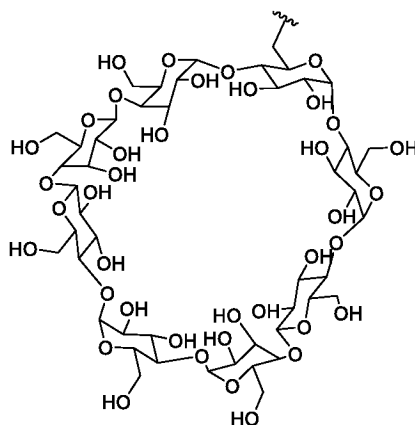
В некоторых примерах ЦД означает



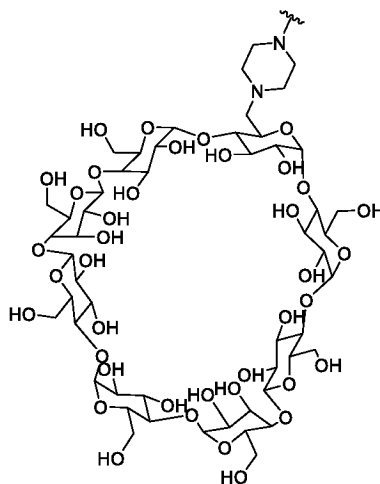
В некоторых примерах ЦД означает



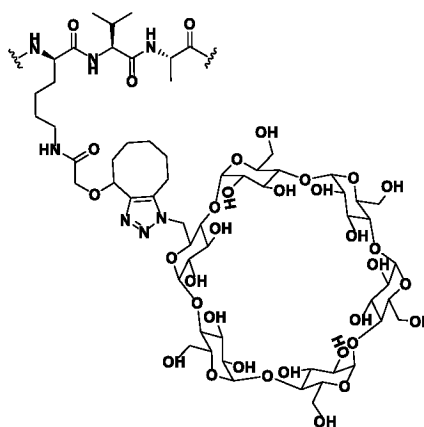
В некоторых примерах ЦД означает



В некоторых примерах ЦД означает

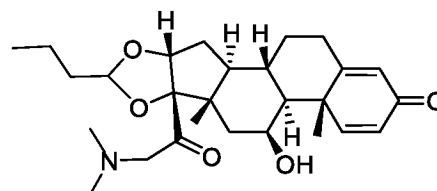


В некоторых примерах ЦД означает



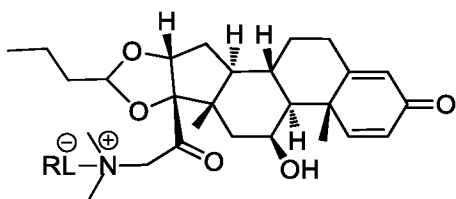
[0403] В некоторых примерах А означает

[0404] В некоторых вариантах осуществления RL соединяется с третичным амином.

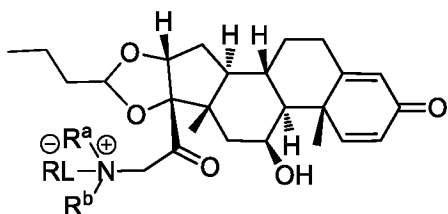


Например, если стероид означает следующее соединение,

, RL может связываться с третичным амином следующим образом:



[0405] В некоторых примерах здесь приведено следующее соединение:



где:

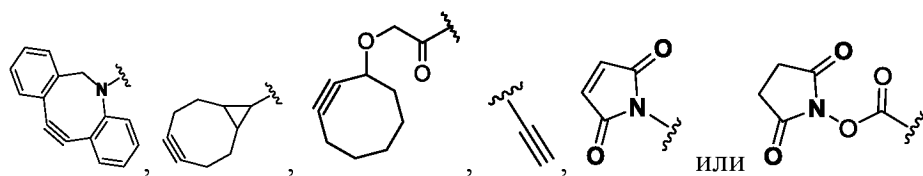
RL означает реакционноспособный линкер в соответствии с приведенным здесь определением;

R^a и R^b в каждом случае независимо означают -H или алкил.

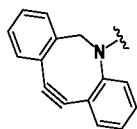
[0406] В некоторых приведенных здесь примерах RG выбран из группы химической клик-реакции.

[0407] В других примерах приведенных здесь примерах RG выбран из группы, которая вступает в реакцию с цистеиновым или лизиновым остатком на антителе или его антигенсвязывающем фрагменте.

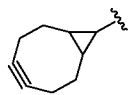
[0408] В некоторых вариантах осуществления RG означает



В некоторых примерах RG означает



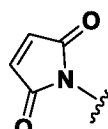
В других примерах RG означает



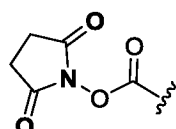
В других примерах RG означает



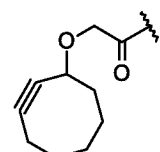
В некоторых примерах RG означает



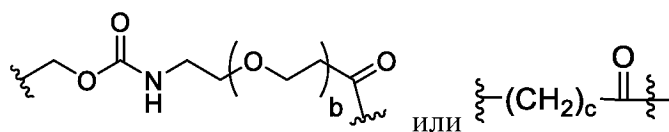
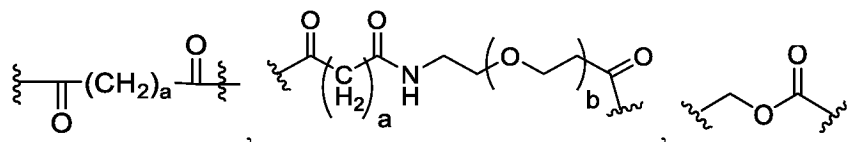
В других примерах RG означает



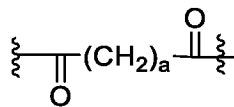
В других примерах RG означает



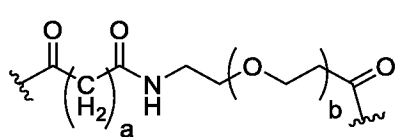
[0409] В некоторых вариантах осуществления SP^1 может быть выбран из:



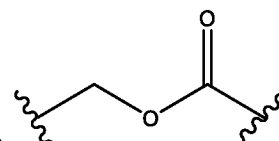
В некоторых примерах SP^1 означает



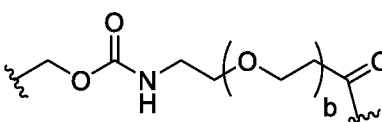
В других примерах SP^1 означает

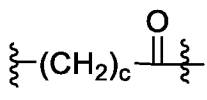


В других примерах SP^1 означает



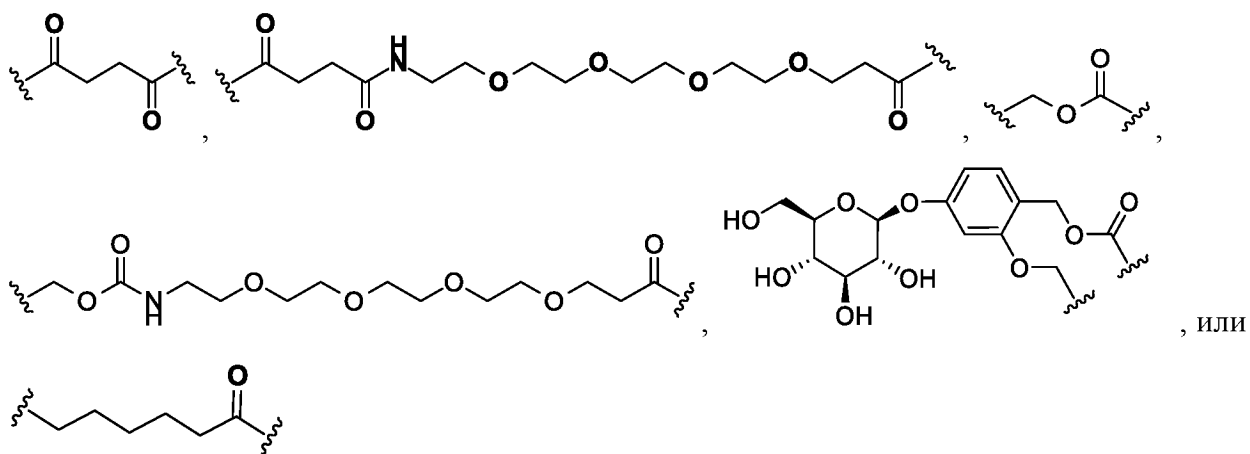
В

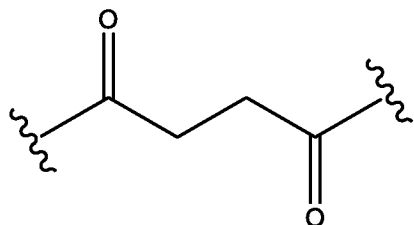
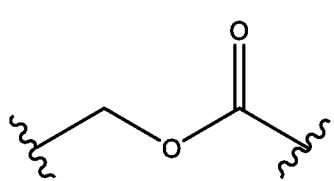
других примерах SP^1 означает . В других примерах

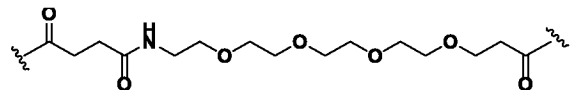
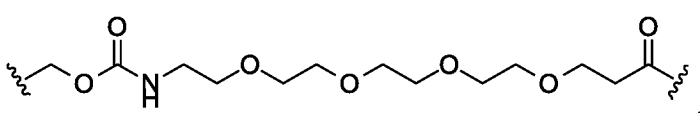
SP^1 означает .

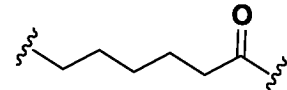
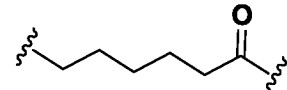
[0410] В любых из приведенных выше примеров нижние индексы a, b и c в каждом случае независимо означают целое число от 1 до 20.

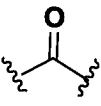
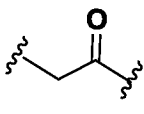
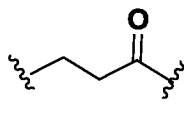
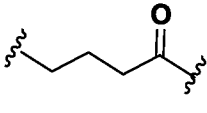
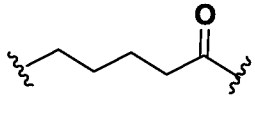
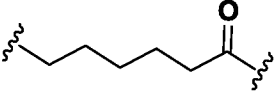
[0411] В любом из соединений по Формуле (II), (IIa), (IIb), или (IIc) SP^1 может быть выбран из:



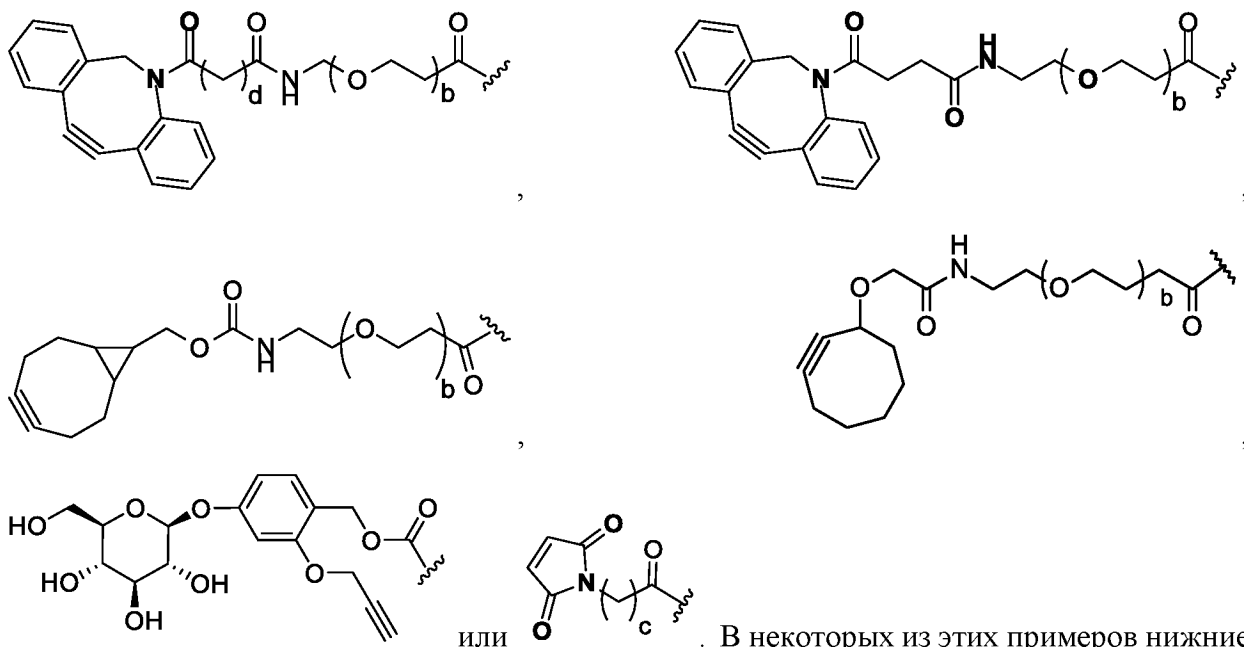
[0412] В некоторых примерах SP^1 означает . В некоторых примерах SP^1 означает .

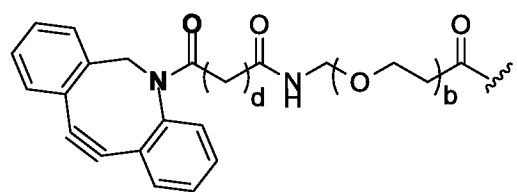
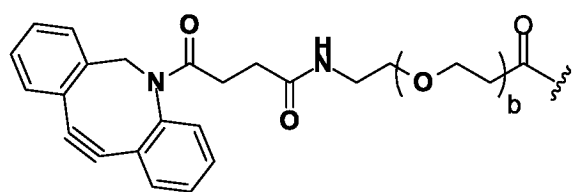
В некоторых примерах SP^1 означает . В некоторых примерах SP^1 означает .

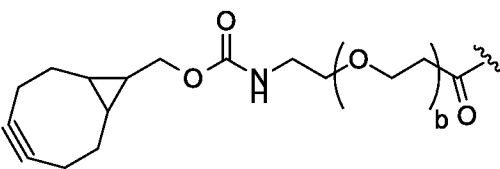
В некоторых примерах SP^1 означает . В некоторых примерах SP^1 означает .

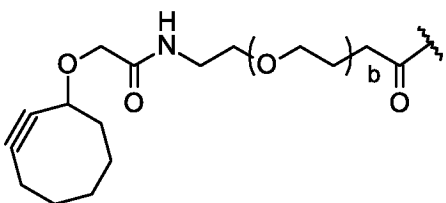
[0413] В некоторых примерах SP^1 означает . В некоторых примерах SP^1 означает . В некоторых примерах SP^1 означает . В некоторых примерах SP^1 означает . В некоторых примерах SP^1 означает . В некоторых примерах SP^1 означает .

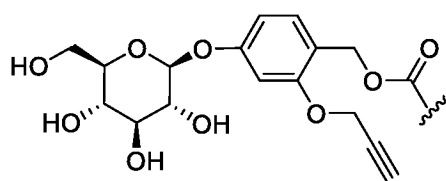
[0414] В некоторых вариантах осуществления $RL-SP^1$ может быть выбран из группы, включающей:

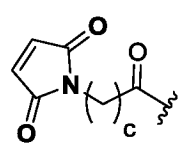


[0415] В некоторых примерах $RL-SP^1$ означает . В некоторых примерах $RL-SP^1$ означает . В

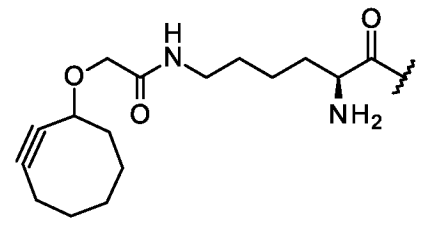
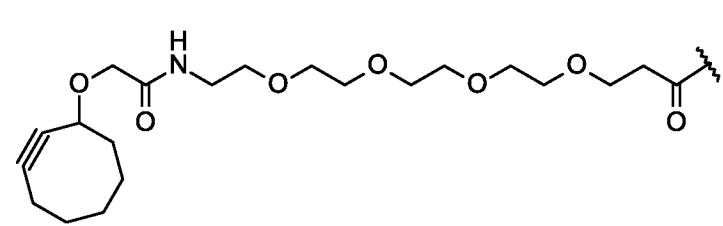
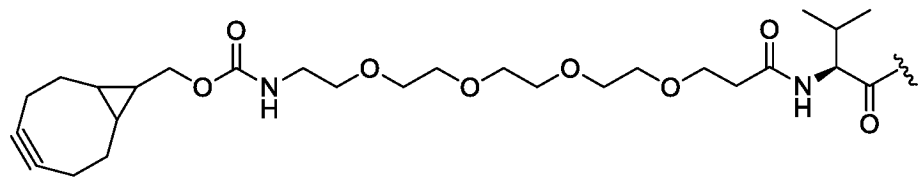
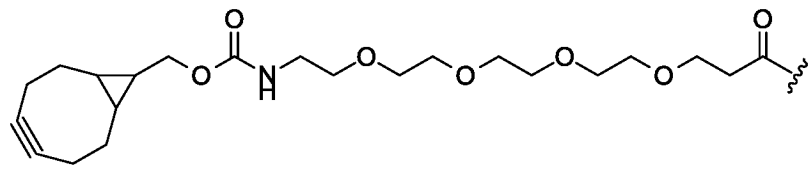
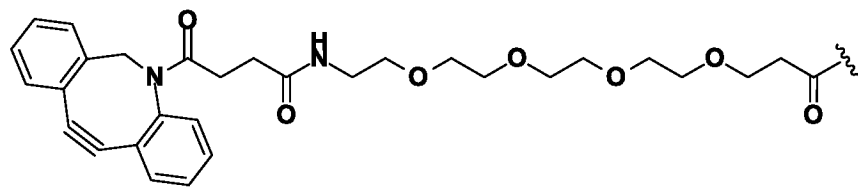
некоторых примерах RL-SP¹ означает  . В некоторых

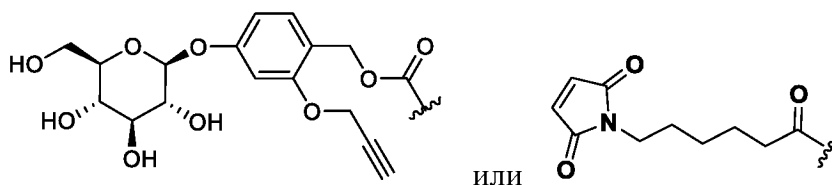
примерах RL-SP¹ означает  . В некоторых примерах RL-

SP¹ означает  . В некоторых примерах RL-SP¹ означает



[0416] В любом из соединений по Формуле (II), (IIa), (IIb) или (IIc), RL-SP¹ выбран из:





[0417] В некоторых вариантах осуществления А означает пептид, выбранный из валин–цитруллин, цитруллин–валин, лизин–фенилаланин, фенилаланин–лизин, валин–аспарагин, аспарагин–валин, треонин–аспарагин, аспарагин–треонин, серин–аспарагин, аспарагин–серин, фенилаланин–аспарагин, аспарагин–фенилаланин, лейцин–аспарагин, аспарагин–лейцин, изолейцин–аспарагин, аспарагин–изолейцин, глицин–аспарагин, аспарагин–глицин, глутаминовая кислота–аспарагин, аспарагин–глутаминовая кислота, цитруллин–аспарагин, аспарагин–цитруллин, аланин–аспарагин или аспарагин–аланин.

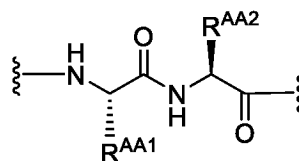
[0418] В некоторых примерах А означает валин–цитруллин или цитруллин–валин.

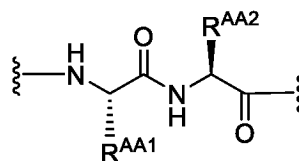
[0419] В некоторых примерах А означает валин–аланин или аланин–валин.

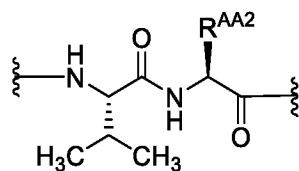
[0420] В некоторых примерах А означает валин.

[0421] В некоторых примерах А означает аланин.

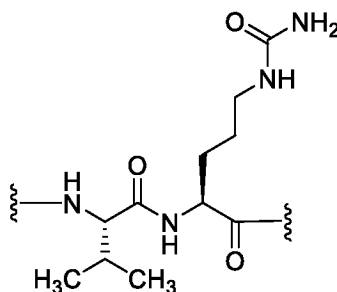
[0422] В некоторых примерах А означает цитруллин.



[0423] В некоторых примерах А означает . В некоторых из этих примеров R^{AA1} означает боковую аминокислотную цепь, R^{AA2} означает боковую аминокислотную цепь.



[0424] В некоторых примерах А означает .



[0425] В некоторых примерах А означает .

[0426] В некоторых примерах R^a означает H

[0427] В некоторых примерах R^a означает алкил

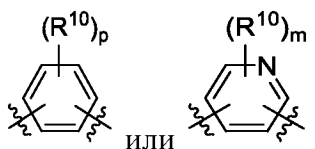
[0428] В некоторых примерах R^a означает метил, этил, n–пропил, i–пропил, n–бутил, t–бутил, i–бутил или пентил.

[0429] В некоторых вариантах осуществления В означает арил.

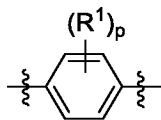
[0430] В некоторых примерах В означает фенил.

[0431] В некоторых примерах соединений по Формуле (II), (IIa), (IIb) или (IIc), В означает фенил или пиридинил.

[0432] В некоторых приведенных здесь примерах В означает:



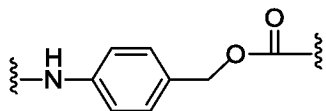
[0433] В этих примерах R^{10} означает алкил, алкенил, алкинил, алкокси, арил, алкиларил, арилалкил, гало, галоалкил, галоалкокси, гетероарил, гетероциклоалкил, гидроксил, циано, нитро, $-\xi-OR^A$, $-\xi-SO_2R^A$, $-\xi-C(=O)R^A$, NR^aR^b или азидо. В этих примерах нижние индексы p и m в каждом случае независимо выбраны из целого числа от 0 до 4. В некоторых



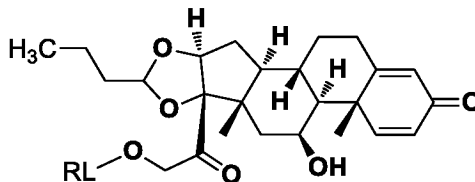
приведенных здесь примерах В означает:

В этих примерах p означает 0, 1, 2, 3 или 4. В некоторых из этих примеров R^1 означает в каждом случае независимо алкил, алкокси, галоалкил или гало. В некоторых примерах R^1 означает алкил. В некоторых примерах R^1 означает алкокси. В некоторых примерах R^1 означает галоалкил. В некоторых примерах R^1 означает гало.

[0434] В некоторых вариантах осуществления по Формуле $(RL^A)_s-(B)_t-(CH_2)_u-(O)_v-(SP^2)_w$ означает:

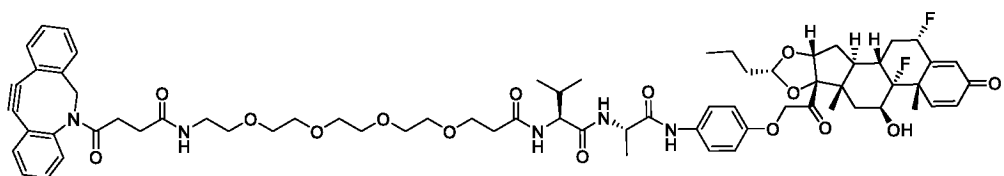
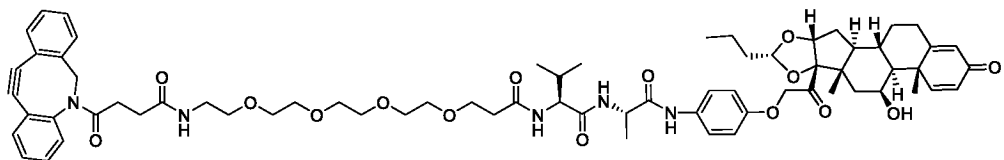
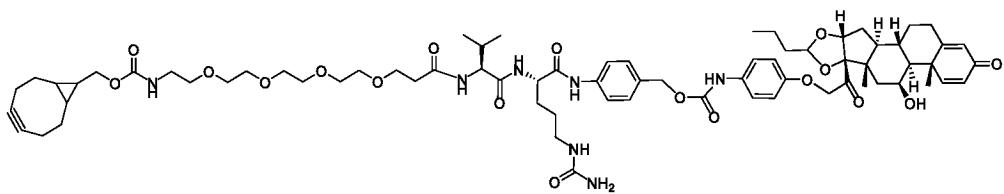
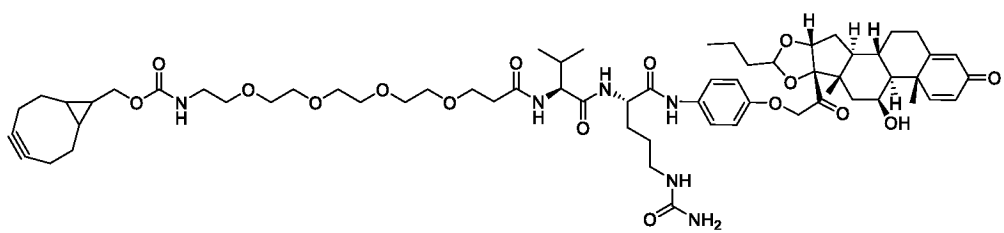
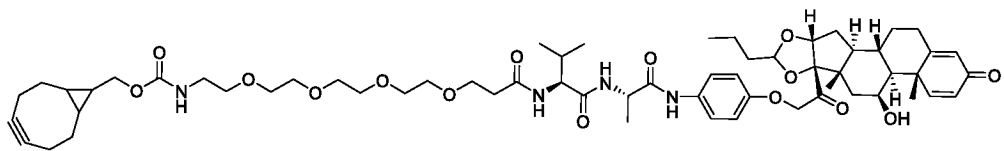
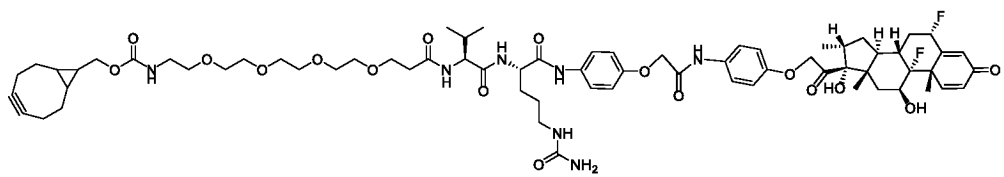
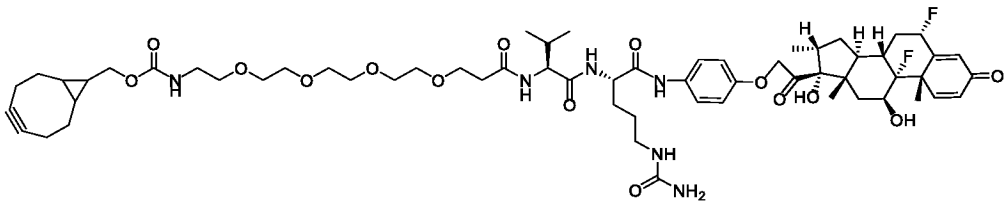
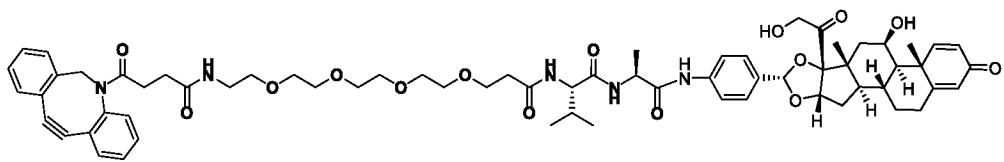


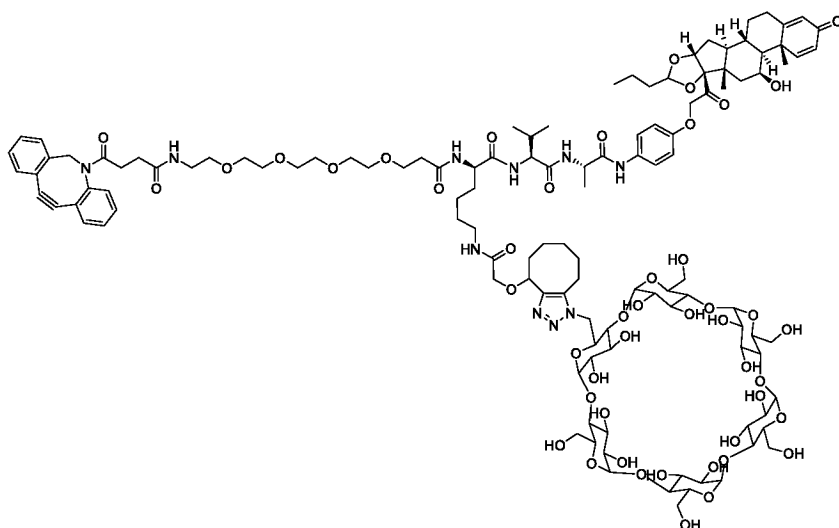
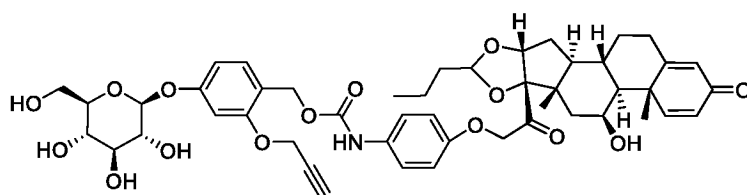
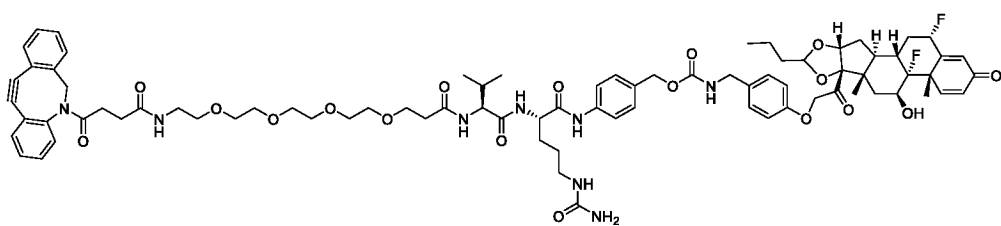
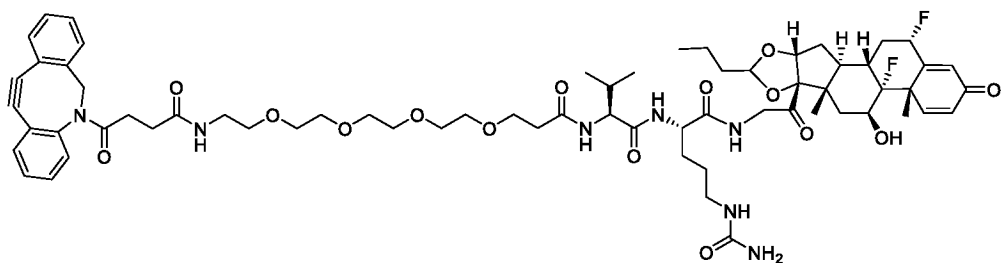
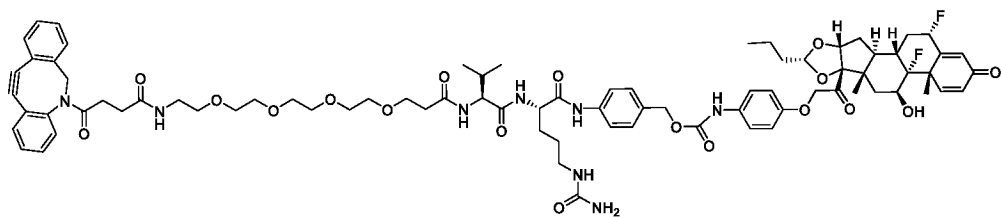
[0435] Здесь также приведены линкеры, содержащие полезные нагрузки будесонида и дифлоразона. В некоторых вариантах осуществления здесь приведен линкер с полезной нагрузкой, имеющая следующую структуру:

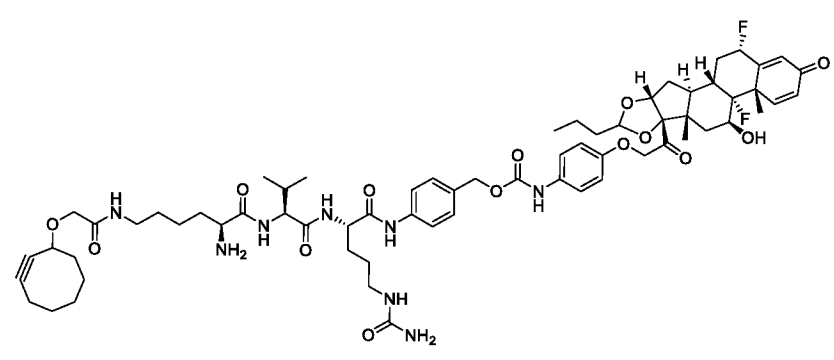
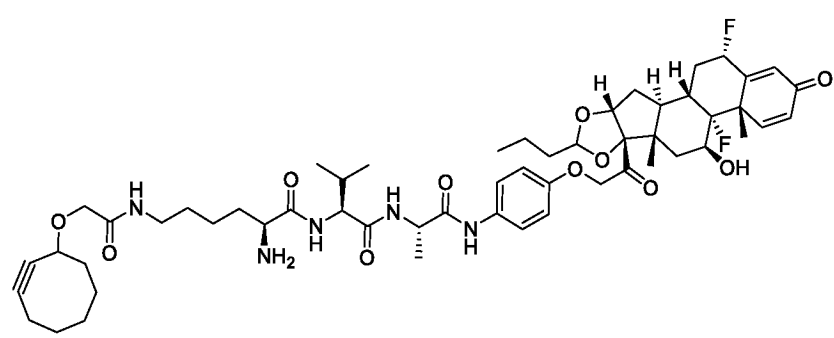
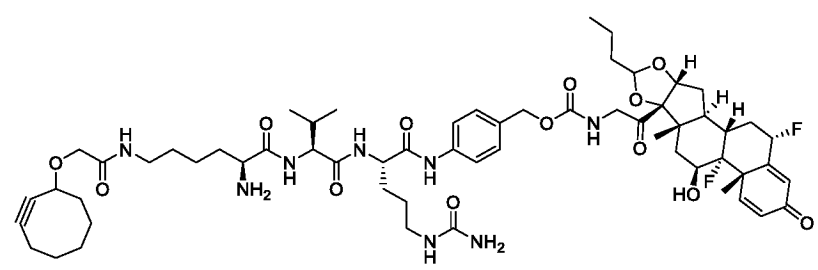
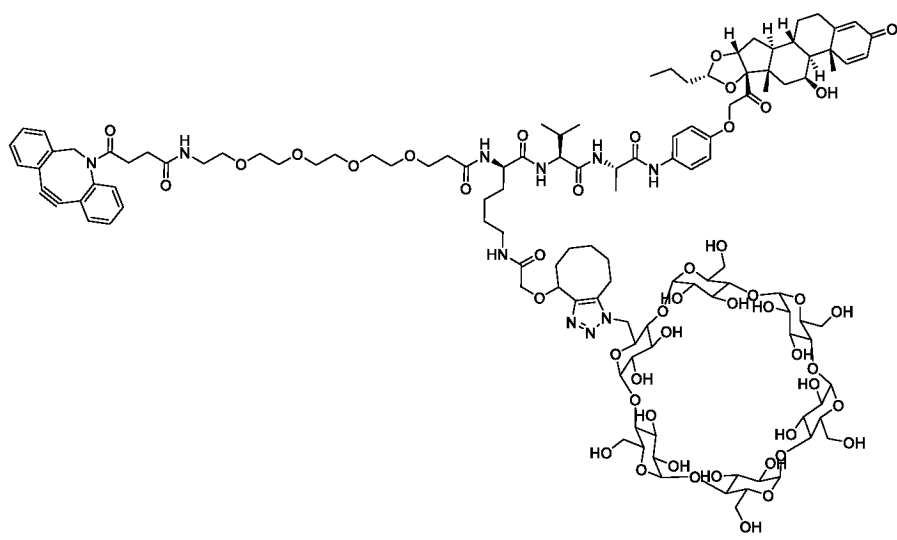


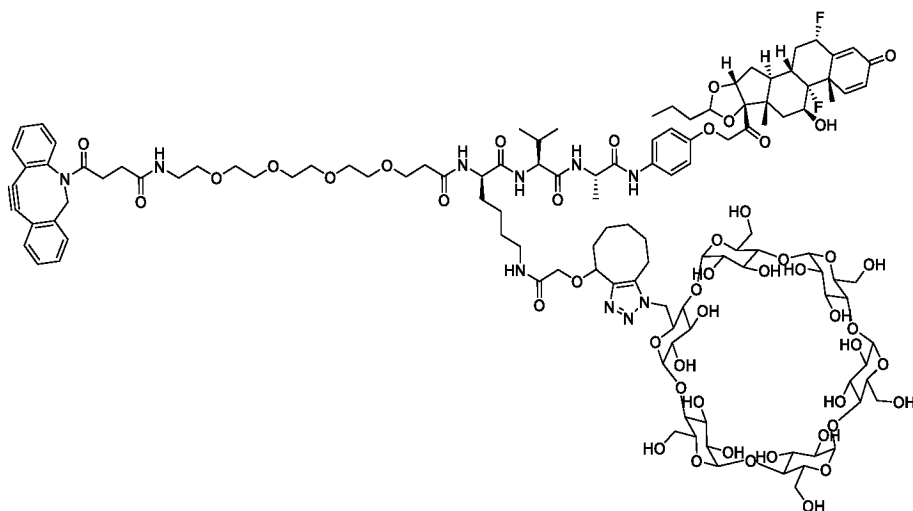
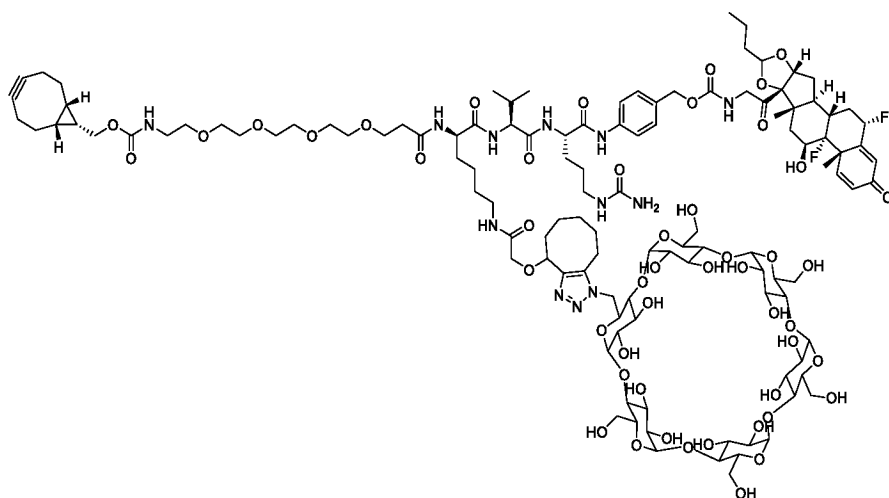
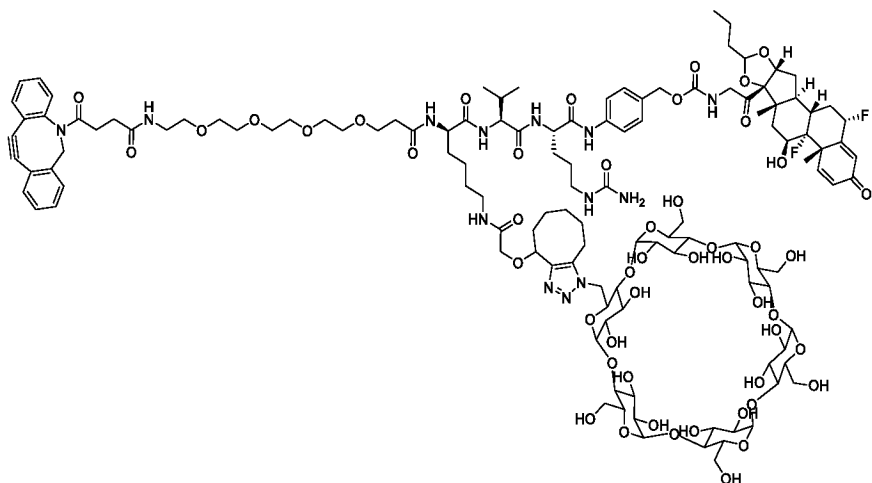
где RL означает реакционноспособный линкер.

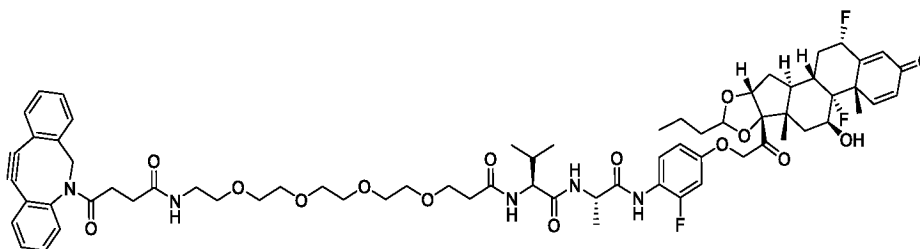
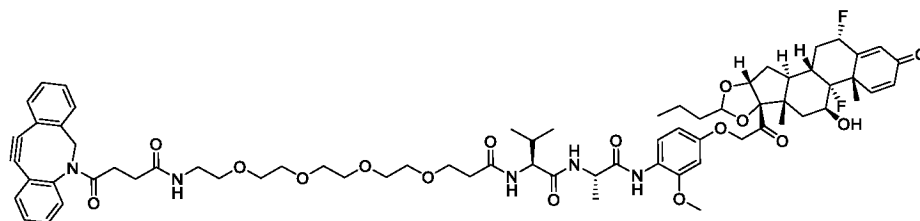
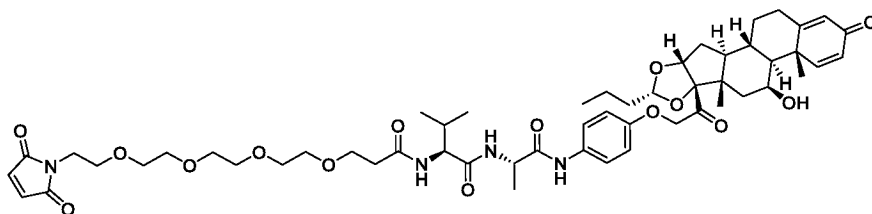
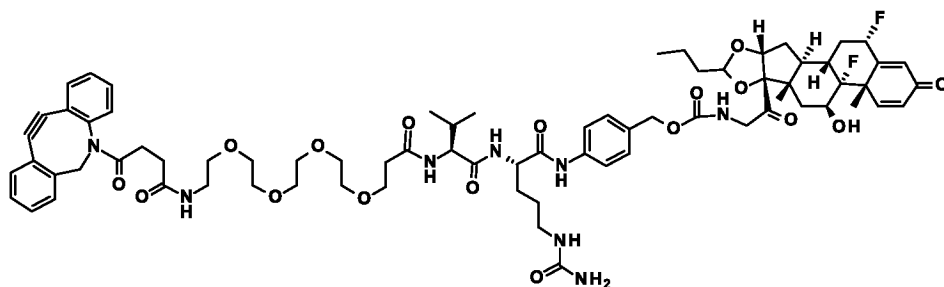
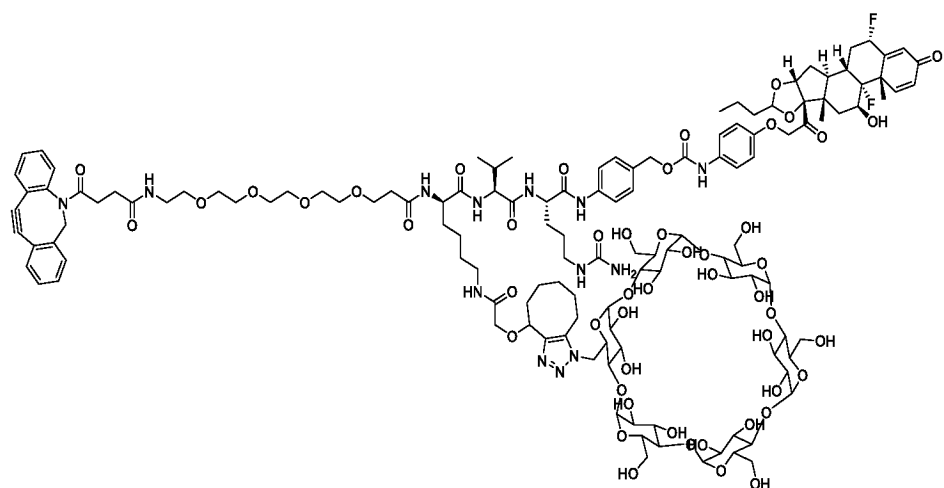
[0436] Примеры линкеров с полезной нагрузкой в том числе включают:

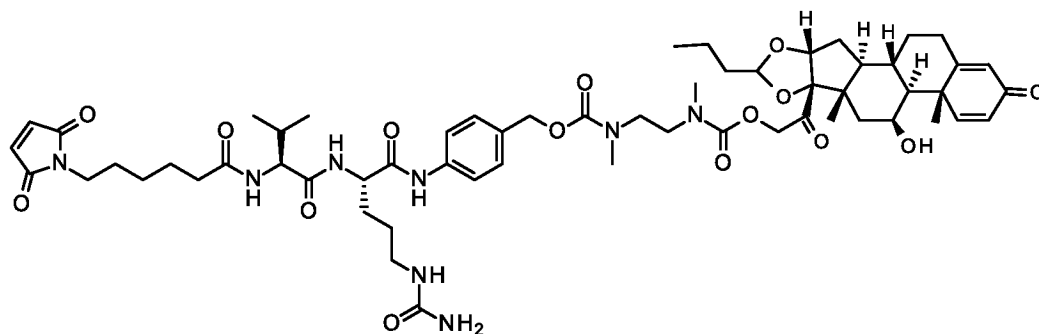
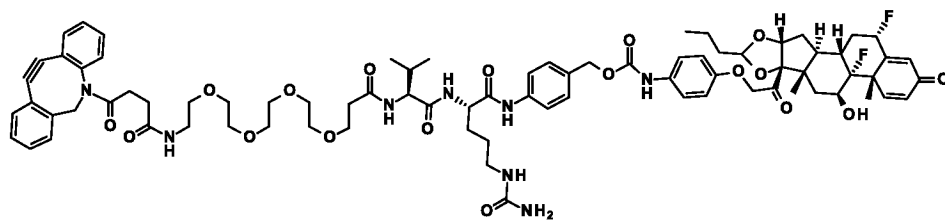




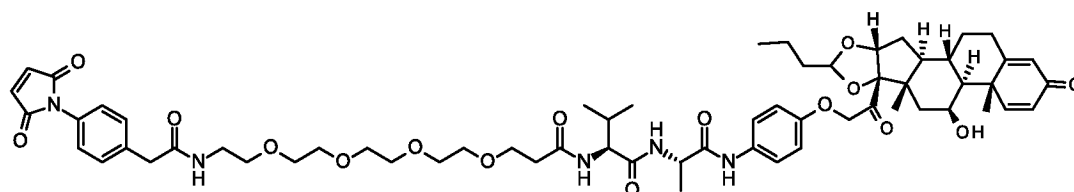








И



и их соли.

Е. ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ И МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ

[0437] Настоящее раскрытие включает способы лечения заболеваний, состояний или расстройств, например, воспалительных заболеваний и аутоиммунных расстройств, или лечения их симптомов, включающие введение терапевтически эффективного количества одного или нескольких раскрытых здесь соединений. Включены любые заболевания, расстройства или состояния, связанные с рецептором глюкокортикоидов, связыванием глюкокортикоидов и/или передачей сигналов глюкокортикоидными рецепторами. Такие способы включают введение пациенту стероидной полезной нагрузки или ее белкового конъюгата, описанного здесь. Таким образом, в данное раскрытие включены способы лечения заболевания, расстройства или состояния, связанного с глюкокортикоидным рецептором, включающие введение соединения по Формуле (I), (I)¹ или его белкового конъюгата, например, соединения по Формуле (III) пациенту, имеющему указанное заболевание, расстройство или состояние. В настоящем документе изложены способы лечения заболевания, расстройства или состояния, связанного с глюкокортикоидным рецептором, включающие введение белкового конъюгата соединения по Формуле,

выбранной из группы, состоящей из (A), (A¹), (A²), (A³), (A⁴), (A⁵), (A⁶), (A⁷), (I), (I¹), (PIa), (PIb-1), (PIb-2), (PIc-1), (PIc-2), (PId-1), (PId-2), (PIe-1), (PIe-2), (PII), (PIIa), (PIIb), (PIII), (PIIIa), (PIIIb), (PIV), (PV), (PVa), (PVb), (PVI), (PVII), (PVIIa), (PVIIb), (PVIII-1), (PVIII-2), (PVIII) и их комбинаций.

[0438] В некоторых вариантах осуществления расстройство или состояние означает аллергическое состояние, включая, помимо прочего, астму, atopический дерматит, контактный дерматит, реакции гиперчувствительности к лекарственным препаратам, многолетний или сезонный аллергический ринит и сывороточную болезнь; дерматологические заболевания, включая герпетиформный буллезный дерматит, эксфолиативную эритродермию, грибovidный микоз, пузырьчатку и мультиформную тяжелую эритему (синдром Стивенса-Джонсона); эндокринные расстройства, включая, в том числе, первичную или вторичную надпочечниковую недостаточность, врожденную гиперплазию надпочечников, гиперкальциемию, связанную с раком, и не суппуративный тиреоидит; желудочно-кишечные заболевания; гематологические расстройства, включая, в том числе, приобретенную (аутоиммунную) гемолитическую анемию, врожденную (эритроидную) гипопластическую анемию (алмазно-блэкфановая анемия), идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру у взрослых, истинную эритроцитарную аплазию и вторичную тромбоцитопению; трихинеллез; туберкулезный менингит с субарахноидальным блоком или развивающимся блоком; опухолевые заболевания, включая лейкемии и лимфомы, но не ограничиваясь ими; расстройства нервной системы, включая, помимо прочего, острые приступы рассеянного склероза, отек головного мозга, связанный с первичной или метастатической опухолью головного мозга, краниотомию или травму головы; офтальмологические заболевания, включая, в том числе, симпатическую офтальмию, височный артериит, увеит и воспалительные заболевания глаз, не поддающиеся лечению топическими кортикостероидами; заболевания почек, включая, в том числе, для индуцирования диуреза или ремиссии протеинурии при идиопатическом нефротическом синдроме или вследствие красной волчанки; респираторные заболевания, включая, в том числе, бериллиоз, молниеносный или диссеминированный туберкулез легких при одновременном применении с соответствующей противотуберкулезной химиотерапией, идиопатическая эозинофильная пневмония, симптоматический саркоидоз; и ревматические расстройства, включая, в том числе, использование в качестве дополнительной терапии для кратковременного введения (в помощь пациенту при острых эпизодах или обострении) при остром подагрическом артрите, остром ревматическом кардите, анкилозирующем спондилите, псориатическом артрите, ревматоидном артрите,

включая ювенильный ревматоидный артрит и для использования при дерматомиозите, полимиозите и системной красной волчанке.

[0439] В некоторых примерах, изложенных в настоящем документе, представлен способ лечения заболевания, расстройства или состояния, выбранного из следующих: аутоиммунное заболевание, аллергии, артрит, астма, расстройства дыхания, заболевания крови, рак, коллагеновая болезнь, заболевания соединительной ткани, дерматологические заболевания, заболевания глаз, эндокринные проблемы, иммунологические заболевания, воспалительные заболевания, кишечные расстройства, желудочно-кишечные заболевания, неврологические расстройства, состояние после пересадки органов, ревматоидные расстройства, кожные расстройства, состояние отека, состояние заживления раны и их комбинация, включающая введение полезной нагрузки стероида или его конъюгата, описанного здесь.

[0440] В некоторых случаях аутоиммунное заболевание выбрано из следующих: рассеянный склероз, аутоиммунный гепатит, опоясывающий лишай, системная красная волчанка (то есть волчанки), миастения, мышечная дистрофия Дюшенна и саркоидоз. В некоторых примерах расстройство дыхания выбрано из следующих: астма, хроническая обструктивная болезнь легких, воспаление бронхов и острый бронхит. В некоторых примерах рак выбран из следующего: лейкемия, лимфобластный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, хронический лимфобластный лейкоз, лимфом Ходжкина, неходжкинской лимфомы (НХЛ) и множественная миелома. В некоторых примерах коллагеновая болезнь представляет собой системную красную волчанку. В некоторых примерах заболеванием глаз является кератит. В некоторых примерах эндокринная проблема выбрана из болезни Аддисона, надпочечниковой недостаточности, аденокортикальной и врожденной гиперплазии надпочечников. В некоторых примерах воспалительное заболевание выбрано из воспаления суставов, воспаления сухожилий, бурсита, эпикондилита, болезни Крона, воспалительного заболевания кишечника, липидного пневмонита, тиреоидита, уртикарии (крапивницы), перикардита, нефротического синдрома и увеита. В некоторых примерах кишечные расстройства выбраны из язвенного колита, болезни Крона и воспалительного заболевания кишечника. В некоторых случаях ревматоидное заболевание выбраны из ревматоидного артрита, ревматической полимиалгии, псориатического артрита, анкилозирующего спондилита и системной красной волчанки. В некоторых примерах кожное заболевание выбрано из псориаза, экземы и дерматита. В некоторых примерах неврологическим расстройством является хроническая воспалительная демиелинизирующая полирадикулоневропатия.

[0441] В некоторых случаях предоставленные соединения, описанные здесь, вводят пациенту для лечения острого воспалительного явления, включая, в том числе, шок, отек головного мозга и болезнь трансплантат против хозяина. В некоторых способах лечения соединения, описанные в настоящем документе, вводят для лечения лимфолитических эффектов, включая, в том числе, эффекты, связанные с гематологическими злокачественными новообразованиями, например лейкомиями, лимфомами и миеломами.

[0442] В некоторых примерах, изложенных в настоящем документе, представлен способ уменьшения воспаления у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества стероида или его описанного здесь конъюгата. В некоторых примерах, изложенных в настоящем документе, представлен способ модуляции иммунной системы у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества стероида или его конъюгата, описанного в настоящем документе. В некоторых примерах, изложенных в настоящем документе, представлен способ модуляции уровней кортизола у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту, терапевтически эффективного количества стероида или его конъюгата, описанного в настоящем документе. В некоторых примерах, изложенных в настоящем документе, представлен способ уменьшения миграции лимфоцитов у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту, терапевтически эффективного количества стероида или его конъюгата, описанного в настоящем документе. В некоторых примерах, изложенных здесь, описан способ лечения гиперкальциемии, вызванной раком, болезнью Меньера, мигренью, кластерной головной болью, тяжелой афтозной язвой, ларингитом, тяжелым туберкулезом, реакцией Герксгеймера на сифилис, декомпенсированной сердечной недостаточностью, аллергическим ринитом или назальными полипами, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту полезной нагрузки стероида или его конъюгата, описанного здесь. В некоторых примерах раскрытые здесь соединения могут быть использованы для лечения воспалительных заболеваний кишечника, болезни Крона или язвенного колита. В некоторых примерах заболевание, расстройство или состояние представляет собой хроническое воспалительное состояние, включая, помимо прочего, астму, кожные инфекции и глазные инфекции. В некоторых примерах описанные здесь соединения используются для иммуносупрессии у пациентов, перенесших трансплантацию органов.

[0443] В некоторых вариантах осуществления полезная нагрузка стероидов и их конъюгаты, описанные здесь, вводятся пациенту для лечения нервного расстройства,

связанного с передачей сигналов GR, включая, в том числе, такие психические расстройства как шизофрения, наркомания, посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) и расстройства настроения, токсикомания, стресс и тревожность. В некоторых вариантах осуществления полезные нагрузки стероидов и их конъюгаты, описанные здесь, вводят пациенту для лечения расстройства зрительной системы, включая, в том числе, воспаление глаз (например, конъюнктивит, кератит, увеит), отек желтого пятна и дегенерацию желтого пятна. В некоторых исследованиях описываются полезные нагрузки стероидов и их конъюгаты, описанные здесь, для лечения сердечно-сосудистых заболеваний. В некоторых вариантах осуществления описанные здесь полезные нагрузки стероидов и их конъюгаты вводят пациенту для лечения нарушения метаболизма глюкозы и/или печени. В некоторых вариантах осуществления стероидные полезные нагрузки и их конъюгаты, описанные здесь, вводят пациенту для лечения расстройства опорно-двигательного системы. В некоторых случаях описанные здесь полезные нагрузки стероидов и их конъюгаты вводят пациенту для лечения кожных воспалительных состояний, таких как экзема и псориаз.

[0444] Белковые конъюгаты, описанные в настоящем документе, обеспечивают средство для адресной доставки его полезной нагрузки стероидов к конкретным клеткам или системам органов, тем самым уменьшая или предотвращая побочные эффекты, которые возникают в результате введения полезной нагрузки свободных неконъюгированных стероидов. Таким образом, в настоящем документе предлагаются способы лечения заболевания, расстройства или состояния, связанного с глюкокортикоидным рецептором, включающие введение конъюгата по Формуле (I) или (I)¹ пациенту, имеющему указанное заболевание, расстройство или состояние, при этом побочные эффекты, связанные с введением полезной нагрузки свободных стероидов указанного конъюгата, уменьшаются. Кроме того, в настоящем документе предлагаются способы доставки соединения по Формуле (I) или (I)¹ в клетку, включающие контактирование указанной клетки с соединением белкового конъюгата по Формуле (I) или (I)¹, при этом белковый конъюгат содержит антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывает поверхностный антиген указанной клетки.

[0445] Соединения, описанные в настоящем документе, можно вводить отдельно или вместе с одним или несколькими дополнительными терапевтическими агентами. Один или несколько дополнительных терапевтических агентов могут быть введены напрямую перед, одновременно или вскоре после введения описанных здесь соединений. Настоящее раскрытие также включает фармацевтические композиции, содержащие любое из соединений, описанных в настоящем документе, в сочетании с одним или несколькими

дополнительными терапевтическими агентами, и способы лечения, включающие введение таких комбинаций нуждающимся в этом субъектам.

[0446] Подходящие дополнительные терапевтические агенты включают, в том числе, второй глюкокортикоид, аутоиммунное терапевтическое средство, гормон, биологическое или моноклональное антитело. Подходящие терапевтические агенты также включают, в том числе, любые фармацевтически приемлемые соли, кислоты или производные соединения, изложенного в настоящем документе.

[0447] Описанные здесь соединения могут также вводиться и/или сочетаться в комбинациях с противовирусными препаратами, антибиотиками, анальгетиками, кортикостероидами, стероидами, кислородом, антиоксидантами, ингибиторами ЦОГ, кардиопротекторами, хелаторами металлов, ИФН-гамма и / или НПВП.

[0448] В некоторых вариантах осуществления способов, описанных в настоящем документе, множественные дозы соединения, описанного в настоящем документе (или фармацевтической композиции, содержащей комбинацию соединения, описанного в настоящем документе, и любого из дополнительных терапевтических агентов, упомянутых в настоящем документе), можно вводить субъекту через определенный период времени. Способы в соответствии с этим аспектом раскрытия включают последовательное введение субъекту множества доз описанного здесь соединения. Используемый здесь термин «последовательное введение» означает, что каждая доза соединения вводится субъекту в разные моменты времени, например, в разные дни, разделенные заданным интервалом (например, часы, дни, недели или месяцы). Настоящее раскрытие включает способы, которые включают последовательное введение пациенту одной начальной дозы соединения, описанного в настоящем документе, с последующим введением одной или нескольких вторичных доз соединения и, необязательно, с последующей одной или несколькими третичными дозами соединения.

[0449] Термины «начальная доза», «вторичные дозы» и «третичные дозы» относятся к временной последовательности введения соединений, описанных в настоящем документе. Таким образом, «начальная доза» представляет собой дозу, которая вводится в начале схемы лечения (также называемая «базовой дозой»); «вторичные дозы» представляют собой дозы, которые вводят после начальной дозы; и «третичные дозы» - это дозы, которые вводят после вторичных доз. Начальная, вторичная и третичная дозы могут содержать одинаковое количество описанного здесь соединения, но, как правило, могут отличаться друг от друга с точки зрения частоты введения. В определенных случаях количество соединения, содержащегося в начальной, вторичной и/или третичной дозах, варьируется в

зависимости друг от друга (например, корректируется в зависимости от ситуации) в течение курса лечения. В определенных условиях предоставляется две или более (например, 2, 3, 4 или 5) дозы в начале схемы лечения в виде «нагрузочных доз», за которыми следуют последующие дозы, которые вводятся реже (например, «поддерживающие дозы»).

[0450] В некоторых примерных вариантах осуществления настоящего раскрытия каждая вторичная и/или третичная доза вводится от 1 до 26 (например, 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½, 15, 15½, 16, 16½, 17, 17½, 18, 18½, 19, 19½, 20, 20½, 21, 21½, 22, 22½, 23, 23½, 24, 24½, 25, 25½, 26, 26½ или более) недель после напрямую предшествующей дозы. Фраза «напрямую предшествующая доза», используемая в настоящем документе, означает последовательность из нескольких введений доз соединения, которое вводят пациенту до введения самой следующей дозы в последовательности без промежуточных доз.

[0451] Способы согласно этому аспекту раскрытия могут включать введение пациенту любого количества вторичных и/или третичных доз соединения. Например, в некоторых вариантах осуществления пациенту назначается только одна вторичная доза. В других вариантах осуществления пациенту вводят две или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) вторичных доз. Аналогичным образом, пациенту назначают только одну третичную дозу. В других вариантах осуществления пациенту вводят две или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) третичных доз. Схема введения может проводиться в течение неопределенного времени в течение жизни конкретного субъекта или до тех пор, пока такое лечение не перестанет быть терапевтически необходимым или выгодным.

[0452] В вариантах осуществления, включающих множество вторичных доз, каждую вторичную дозу можно вводить с той же частотой, что и другие вторичные дозы. Например, каждая вторичная доза может вводиться пациенту через 1-2 недели или через 1-2 месяца после напрямую предшествующей дозы. Аналогично, в вариантах осуществления, включающих множественные третичные дозы, каждую третичную дозу можно вводить с той же частотой, что и другие третичные дозы. Например, каждая третичная доза может вводиться пациенту через 2-12 недель после напрямую предшествующей дозы. В определенных аспектах раскрытия изобретения частота, с которой вторичные и/или третичные дозы вводят пациенту, может варьироваться в течение курса лечения. Частота введения может также регулироваться врачом в течение курса лечения в зависимости от потребностей конкретного пациента после клинического обследования.

[0453] Настоящее раскрытие включает схемы введения, в которых от 2 до 6 нагрузочных доз вводят пациенту с первой частотой (например, один раз в неделю, один раз каждые две

недели, один раз каждые три недели, один раз в месяц, один раз каждые два месяца и т. д.) с последующим введением пациенту двух или более поддерживающих доз реже. Например, согласно этому аспекту раскрытия, если нагрузочные дозы вводят с частотой один раз в месяц, то поддерживающие дозы могут вводиться пациенту один раз каждые шесть недель, один раз каждые два месяца, один раз каждые три месяца, так далее.

[0454] Настоящее раскрытие включает фармацевтические композиции описанных здесь соединений и/или конъюгатов, например, соединения по Формуле (I) и (II), например, композиции, содержащие описанное здесь соединение, его соль, стереоизомер, полиморф и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель и/или вспомогательное вещество. Примеры подходящих носителей, разбавителей и вспомогательных веществ включают, в том числе, буферы для поддержания pH соответствующей композиции (например, цитратные буферы, сукцинатные буферы, ацетатные буферы, фосфатные буферы, лактатные буферы, оксалатные буферы и т.п.), белки-носители (например, сывороточный альбумин человека), наночастицы, физиологический раствор, полиолы (например, трегалоза, сахароза, ксилит, сорбит и т.п.), поверхностно-активные вещества (например, полисорбат 20, полисорбат 80, полиоксолат и т.п.), противомикробные препараты и антиоксиданты.

[0455] В некоторых примерах, изложенных в настоящем документе, представлен способ лечения заболевания, расстройства или состояния, включающий введение пациенту с указанным расстройством терапевтически эффективного количества соединения по Формуле I, III или его фармацевтической композиции.

[0456] В некоторых примерах, изложенных в настоящем документе, представлен способ лечения заболевания, расстройства или состояния, включающий введение пациенту, имеющему указанное расстройство, терапевтически эффективного количества соединения, представленного здесь, или его фармацевтической композиции

[0457] В некоторых примерах, изложенных в настоящем документе, представлен способ лечения заболевания, расстройства или состояния, выбранного из группы, состоящей из иммунологического заболевания, аутоиммунного заболевания, воспаления, астмы или воспалительного заболевания кишечника, болезни Крона, язвенного колита.

[0458] В некоторых примерах, изложенных в настоящем документе, представлен способ лечения заболевания, расстройства или состояния путем направленного воздействия на антиген, например, экспрессирующий клеточную поверхность антиген, для которого доставка стероидов может достигать терапевтического эффекта, включающая введение описанных здесь конъюгатов. В некоторых вариантах осуществления антиген означает

[0464] В некоторых примерах, изложенных в настоящем документе, представлен способ уменьшения или ослабления побочных эффектов иммуносупрессивной терапии, который включает введение пациенту, имеющему указанное расстройство, терапевтически эффективного количества соединения или композиции, описанной в настоящем документе.

[0465] В некоторых примерах, изложенных в настоящем документе, представлен способ лечения рака, при этом указанный способ включает введение пациенту, имеющему указанное расстройство, терапевтически эффективного количества соединения или композиции, описанной в данном документе. В некоторых примерах рак выбран из острого лимфобластного лейкоза, хронического лимфобластного лейкоза, лимфомы Ходжкина, неходжкинской лимфомы (НХЛ) или множественной миеломы, а также других.

F. ПРИМЕРЫ

[0466] Некоторые варианты осуществления иллюстрируются следующими неограничивающими примерами.

[0467] Реагенты и растворители были получены из коммерческих источников, таких как Sinopharm Chemical Reagent Co. (SCRC), Sigma-Aldrich, Alfa или от других поставщиков, если явно не указано иное.

[0468] Спектр ^1H ЯМР и другие спектры ЯМР были записаны на Bruker AVIII 400 или Bruker AVIII 500. Данные обрабатывались с помощью программного обеспечения Nuts или программного обеспечения MestReNova, измеряющего сдвиги протонов по частям на миллион (чнм) от внутреннего стандарта тетраметилсилана.

[0469] Измерения ВЭЖХ-МС проводились в системе Agilent 1200 ВЭЖХ / 6100 SQ с использованием следующих условий:

[0470] Метод А для измерения ВЭЖХ-МС включал в качестве подвижной фазы: А: вода (0,01% трифторуксусной кислоты, трифторуксусная кислота) и В: ацетонитрил (0,01% трифторуксусной кислоты). Фаза градиента составляла 5% от В и увеличивалась до 95% от В за период времени 15 минут (мин.) при скорости потока 1,0 мл/мин. Использовалась колонка SunFire C18, 4,6x50 мм, 3,5 мкм. Температура колонки составляла 50°C. Детекторы включали аналого-цифровой преобразователь ELSD (испарительный светорассеивающий детектор, далее «ADC ELSD»), DAD (детектор с диодной матрицей, 214 нм и 254 нм) и электрораспылительную ионизацию-ионизация атмосферным давлением (ES-API).

[0471] Метод В для измерений ВЭЖХ-МС включал в качестве подвижной фазы: А: вода (10 мМ NH_4HCO_3) и В: ацетонитрил. Фаза градиента составляла 5% от В и увеличивалась до 95% от В в течение периода времени 15 минут при скорости потока 1,0 мл/мин.

Использовалась колонка XBridge C18, 4,6 × 50 мм, 3,5 мкм. Температура колонки составляла 50°C. Детекторы включали в себя ФВС ELSD, DAD (214 нм и 254 нм) и масс-чувствительный детектор (MSD ES-API).

[0472] Измерение ЖХ-МС проводилось в системе Agilent 1200 ВЭЖХ / 6100 SQ с использованием следующих условий:

[0473] Метод А для измерения ЖХ-МС выполняли на приборе WATERS 2767. Колонка представляла собой Shimadzu Shim-Pack, PRC-ODS, 20x250 мм, 15 мкм, два соединенных последовательно. Подвижной фазой была А: вода (0,01% TFA) и В: ацетонитрил. Фаза градиента составляла 5% от В и увеличивалась до 95% от В за период времени 3 минуты при скорости потока 1,8-2,3 мл/мин. Использовалась колонка SunFire C18, 4,6x50 мм, 3,5 мкм. Температура колонки составляла 50°C. Детекторы включали аналого-цифровой преобразователь ELSD (детектор испарительного рассеяния света), DAD (диодно-матричный детектор) (214 нм и 254 нм) и ES-API.

[0474] Метод В для измерения ЖХ-МС выполняли на приборе Gilson GX-281. Колонка представляла собой Xbridge Prep C18 10 мкм OBD, 19 × 250 мм. Подвижная фаза была А: Вода (10 ммоль NH₄HCO₃) и В: Ацетонитрил. Фаза градиента составляла 5% от В и увеличивалась до 95% от В в течение периода времени 3 минуты при скорости потока 1,8-2,3 мл/мин. Использовалась колонка XBridge C18, 4,6x50 мм, 3,5 мкм. Температура колонки составляла 50°C. Детекторы включали ADC ELSD, DAD (214 нм и 254 нм) и масс-селективный детектор (MSD) (ES-API).

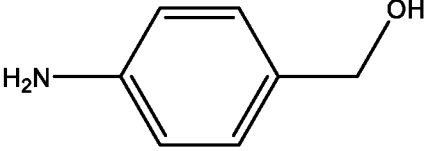
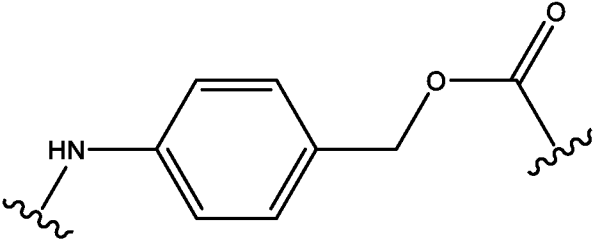
[0475] Препаративную жидкостную хроматографию высокого давления (Prep-ВЭЖХ) проводили на приборе Gilson GX-281. Использовались две системы растворителей: одна кислотная и одна основная. Система кислых растворителей включала в себя колонку Waters SunFire 10 мкм C18 (100 Å, 250 × 19 мм). Растворитель А для препаративной ВЭЖХ содержал 0,05% TFA в воде, а растворитель В - ацетонитрил. Условия элюирования представляли собой линейный градиент, который увеличивал содержание растворителя В с 5% до 100% в течение периода времени 20 минут при скорости потока 30 мл/мин. Основная система растворителей включала колонку Waters Xbridge 10 мкм C18 (100 Å, 250x 19 мм). Растворитель А для препаративной ВЭЖХ представлял собой 10 ммоль бикарбоната аммония (NH₄HCO₃) в воде, а растворитель В - ацетонитрил. Условием элюирования был линейный градиент, который увеличивал содержание растворителя В с 5% до 100% в течение периода времени 20 минут при скорости потока 30 мл /мин.

[0476] Флэш-хроматографию выполняли на приборе Biotage с колонкой Agela Flash Column silica-CS. Флэш-хроматографию с обращенной фазой проводили на приборе Biotage с использованием Boston ODS или Agela C18, если явно не указано иное.

[0477] В Примерах и во всем описании используются следующие сокращения:

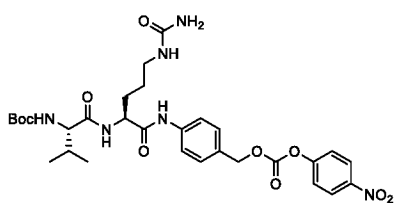
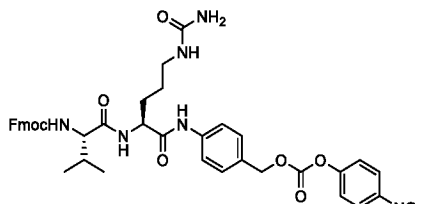
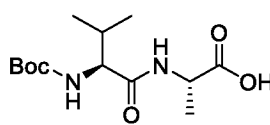
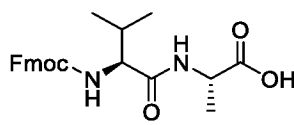
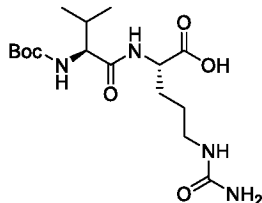
Аббревиатура	Значение
ADC (конъюгат АЛС)	Конъюгат антитело-лекарственное средство
Aglycosylated antibody	Антитело, не имеющее гликановых остатков
API	Ионизация при атмосферном давлении
aq	Водный
Boc	N-трет-бутоксикарбонил
BupH™	Thermo Scientific Prod # 28372, содержащий 100 мМ фосфата натрия и 150 мМ хлорида натрия, без калия, рН довели до 7,2-7,6-7,8 MQ, если не указано иное.
CD (ЦД)	Циклодекстрин
COT	Циклооктинол
Da (Да)	Дальтон
DAD	Диодно-матричный детектор
DAR	Соотношение лекарства и антитела
DCM	Дихлорметан
DIBAC	Дибензоциклооктин или 11,12-дидегидро-5,6-дигидро-дибенз [b,f]азоцин; или Дибенз[b,f]азоцин-5(6H)-бутановая кислота, 11,12-дидегидро
DIBAC-Suc	11,12-дидегидро-5,6-дигидро-Дибенз[b,f]азоцин янтарной кислоты
DIBAC-Suc-PEG ₄ -VC- pAB-PNP	{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0 ^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксбутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутан амидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил} метил 4-нитрофенил карбонат
DIBACT	3H-Бензо[c]-1,2,3-триазоло[4,5-e][1]бензазоцин, 8,9-дигидро-; или Дибензоциклооктин триазол

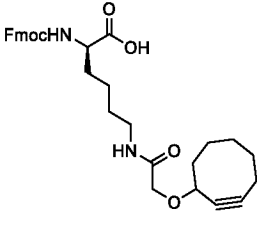
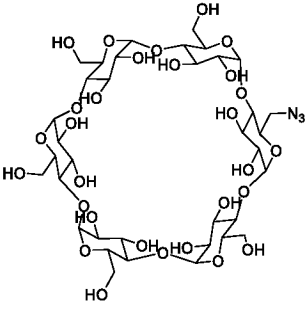
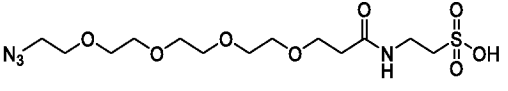
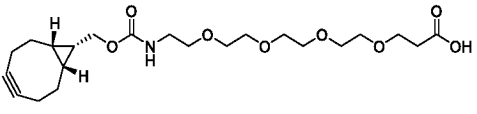
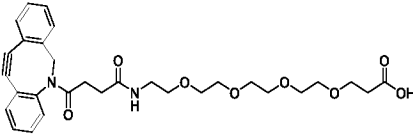
Аббревиатура	Значение
DIPEA	Диизопропилэтиламин
DMF	N,N-диметилформамид
DMSO	Диметилсульфоксид
EC	Комиссия по ферментам
ELSD	Испарительный детектор светорассеяния
ESI	Ионизация электрораспылением
Fmoc	Флуоренилметилоксикарбонил хлорид
Fmoc-vcPAB-PNP	N-Fmoc-L-валин-L-цитруллин-p-аминобензилового спирта p-нитрофенил карбонат
G (г)	Грамм
HATU	2-(7-Аза-1Н-бензтриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурионий гексафторфосфат
HC	Тяжелая цепь иммуноглобулина
HEK	Человеческие эмбриональные клетки почек
ВЭЖХ (ВЭЖХ)	Высокоэффективная жидкостная хроматография
hr или hrs (ч)	часы
LC	Жидкостная хроматография
ВЭЖХ	Жидкостная хроматография высокого давления
MALDI	Матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация
MC	Малеимидокапроил
mg (мг)	миллиграммы
min (мин.)	минуты
mL (мл)	миллилитры
mmh	<i>тус-тус-гексагистидин (маркер)</i>
μL (мкл)	микролитры
mM (ммоль)	миллимолярный
μM (мкмоль)	микромольный

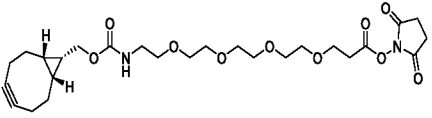
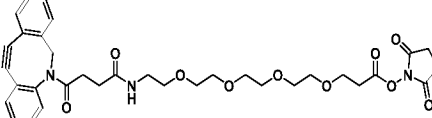
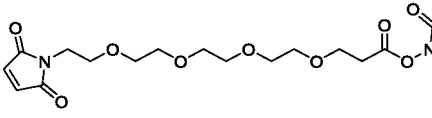
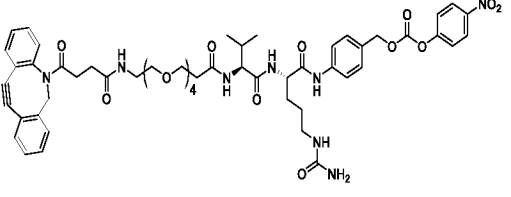
Аббревиатура	Значение
MMAE	Монометил ауристатин Е
MS (МС)	Масс-спектрометрия
MsCl	Метансульфохлорид
MSD	Масс-селективный детектор
MTG	Микробная трансглутаминаза (MTG EC 2.3.2.13, Zedira, Дармштадт, Германия)
MW	Молекулярная масса
ncADC	Нецитотоксичный конъюгат антитело-лекарственное средство
NHS	N-гидрокси сукцинимид
nM (нмоль)	наномолярный
NMR (ЯМР)	Ядерно-магнитный резонанс
NOESY	Спектроскопия ядерного эффекта Оверхаузера
PAB	Пара-амино-бензиловый спирт 
PABC	Пара-аминобензилокси(карбонил) 
PBS	10 ммоль натрий-фосфатный буфер и 150 ммоль натрия хлорид
PBSg	10 ммоль фосфат, 150 ммоль натрия хлорид, 5% глицерол
PEG	Полиэтиленгликоль
PNP	p-нитрофенил

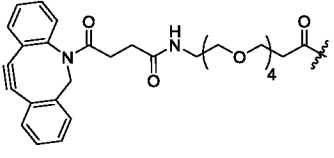
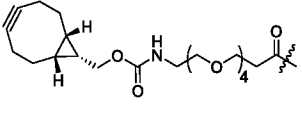
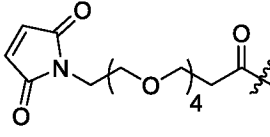
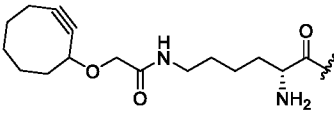
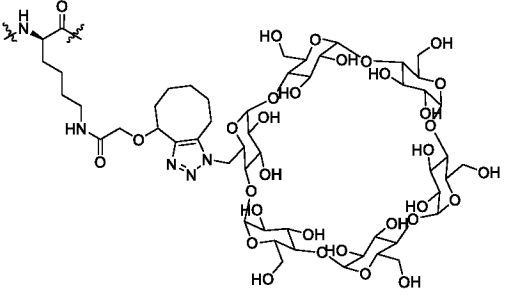
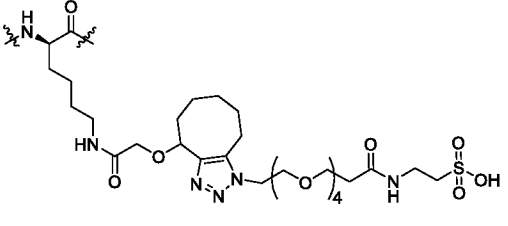
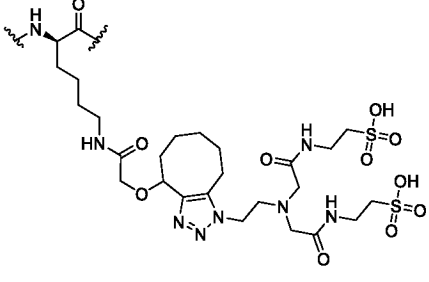
Аббревиатура	Значение
MC-VC-PAB-PNP	
ppm	Частей на миллион (химический сдвиг)
RP	Обращенная фаза
RT	Комнатная температура
SDS-PAGE (ДНС-ПААГ)	Электрофорез в полиакриламидном геле
SEC	Эксклюзионная хроматография
Suc	Янтарная кислота
TCEP	Трис(2-карбохэтил)фосфин гидрохлорид
TEA	Триэтиламин
TFA	Трифторуксусная кислота
TG	Трансглутаминаза
THF	Тetraгидрофуран
TOF	Время пролета
UPLC	Сверхвысокоэффективная жидкостная хроматография
UV	Ультрафиолет
VA	Валин-аланин
VC	Валин-цитруллин
VC-PABC	Валин-цитруллин-пара-аминобензилокси(карбонил)
CD	Циклодекстрин
HATU	2-(7-Аза-1Н-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурионий гексафторфосфат
MC	Малеимидокапроил
COT	Циклооктинол

Аббревиатура	Значение
СКЖХ	Суперкритическая жидкостная хроматография

Аббревиатура	Наименование по классификации Международного союза фундаментальной и прикладной химии	Структура
Вос-vcPAB-PNP (L2a)	<i>трет</i> -бутил (<i>S</i>)-3-метил-1-((<i>S</i>)-1-(4-(((4-нитрофенокси) карбонилокси) метил) фениламино)-1-оксо-5-уреидопентан-2-иламино)-1-оксобутан-2-илкарбамат	
Fmoc-vcPAB-PNP (L2b)	(9 <i>H</i> -флуорен-9-ил)метил (<i>S</i>)-3-метил-1-((<i>S</i>)-1-(4-(((4-нитрофенокси) карбонилокси) метил)фениламино)-1-оксо-5-уреидопентан -2-иламино)-1-оксобутан -2-илкарбамат	
Вос-Val-Ala-OH (L3a)	(<i>S</i>)-2-((<i>S</i>)-2-(<i>трет</i> -бутокси карбониламино)-3-метилбутан амидо)пропионовая кислота	
Fmoc-Val-Ala-OH (L3b)	(<i>S</i>)-2-((<i>S</i>)-2-(((9 <i>H</i> -флуорен-9-ил)метокси)карбониламино)-3-метилбутанамидо) пропионовая кислота	
Вос-Val-Cit-OH (L3c)	(6 <i>S</i> ,9 <i>S</i>)-1-амино-9-изопропил-13,13-диметил-1,8,11-триоксо-12-окса-2,7,10-триазатетрадекан-6-карбоновая кислота	

Аббревиатура	Наименование по классификации Международного союза фундаментальной и прикладной химии	Структура
Fmoc-D-Lys-COT (L5)	(2 <i>R</i>)-2-(((9 <i>H</i> -флуорен-9-ил)метокси) карбониламино)-6-(2-(циклоокт-2-инилокси) ацетамидо) гексановая кислота	
CD-N ₃ (L7a)	5-(азидометил)-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12, 14,17,19,22,24,27,29-додекаоксигепта цикло[26.2.2.2 ^{3,6} .2 ^{8,11} .2 ^{13,16} .2 ^{18,21} .2 ^{23,26}] дотетраконтан-31,32,33,34,35,36,37, 38,39,40,41,42-додекол	
N ₃ -PEG ₄ -CONHCH ₂ CH ₂ SO ₃ H (L7b)	1-азидо-15-оксо-3,6,9,12-тетраокса-16-азаоктадекан-18-сульфоновая кислота	
BCN-PEG ₄ -acid (L9a)	(Эндо)-1-(бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-ил)-3-оксо-2,7,10,13,16-пентаокса-4-азанонадекан-19-овая кислота	
DIBAC-PEG ₄ -acid (L9b)	1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0 ^{4,9}]гекадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапептадекан-15-овая кислота	

Аббревиатура	Наименование по классификации Международного союза фундаментальной и прикладной химии	Структура
BCN-PEG ₄ -NHS (L10a)	(Эндо)-2,5-диоксопирролидин-1-ил 1-(бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-ил)-3-оксо-2,7,10,13,16-пентаокса-4-азанонадекан-19-оат	
DIBAC-PEG ₄ -NHS (L10b)	2,5- диоксопирролидин -1-ил 1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0 ^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-оат	
MAL-PEG ₄ -NHS (L10c)	2,5- диоксопирролидин -1-ил 1-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-оат	
DIBAC-PEG ₄ -vcPAB-PNP (L11)	{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0 ^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан -15-тетраоксапентадекан]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоил амино)амидо]фенил} метил 4-нитрофенил карбонат	

Аббревиатура	Наименование по классификации Международного союза фундаментальной и прикладной химии	Структура
Lk-DIBAC	-	
Lk-BCN	-	
Lk-MAL	-	
Lk-CCK	-	
aCDCCK	-	
SulCCK	-	
dualSulCCK	-	

СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ

ПРИМЕР 1

[0478] Этот пример демонстрирует один способ получения химических производных дезонида со стереохимическим контролем в положении C²². На ФИГ. 1 и 2, позиция C²² обозначена для соединений **7**, **8** и **11** звездочкой, т.е. *. Синтез стероидов со стереохимическим контролем в положении C²² проводили по пути синтеза, изображенному на ФИГ. 1 и 2.

[0479] Дезонид (**1**), который является общим названием для (1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-8-(2-гидроксиацетил)-6,6,9,13-тетраметил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}] икоса-14,17-диен-16-он реагировал с изомасляным ангидридом (соединение **2**) с образованием промежуточного соединения **3** путем этерификации на первичной спиртовой позиции соединения **1**. Соединение **3** подвергали взаимодействию с рядом альдегидов (**4-1**; **4-2**; **4-3**; и **4-4**, каждый из которых отличается по отношению к группе R-CHO, показанной справа от этих числовых значений) путем трансацеталирования в условиях сильной кислоты HClO₄ для получения спиртов **5** и сложных эфиров **6**. Как показано на ФИГ. 1, эти альдегиды отличались друг от друга относительно группы R, указанной на ФИГ. 1.

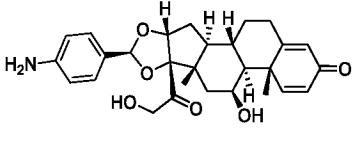
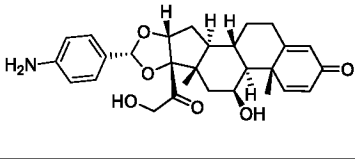
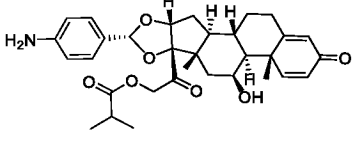
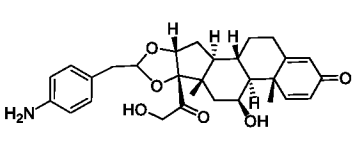
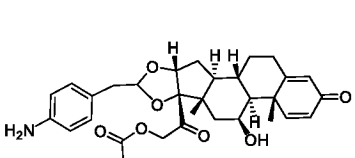
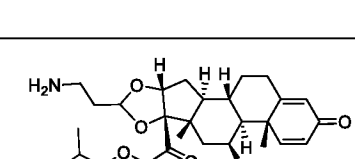
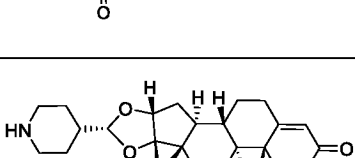
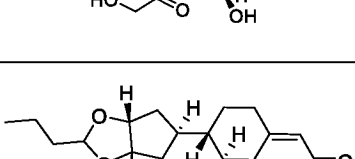
[0480] Спирты **5** и сложный эфир **6** разделяли колоночной хроматографией.

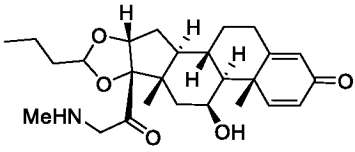
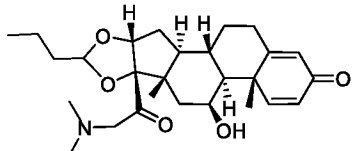
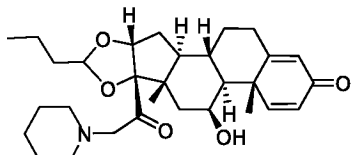
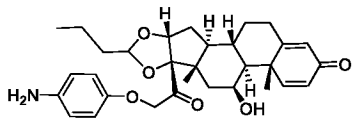
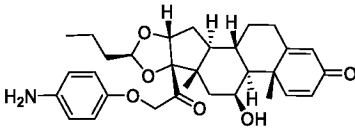
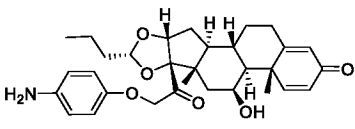
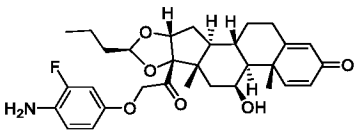
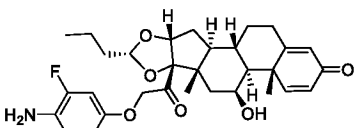
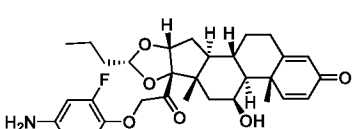
[0481] Каждый спирт **5** или сложный эфир **6** индивидуально взаимодействовал с диэтиламиноом для удаления Fmoc-группы или с Fe/NH₄Cl для восстановления нитро с получением эпимерных соединений **7** и **8**, имеющих R/S-стереохимию при C²², соответственно.

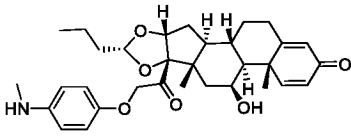
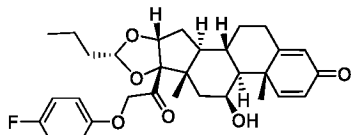
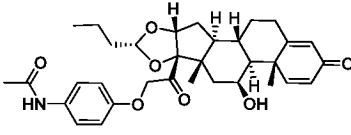
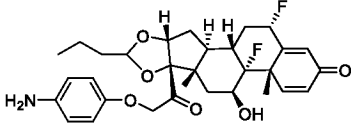
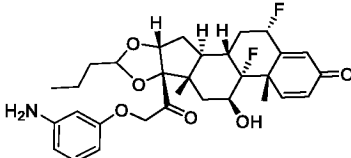
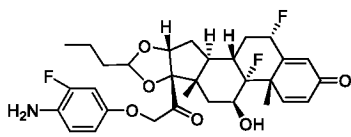
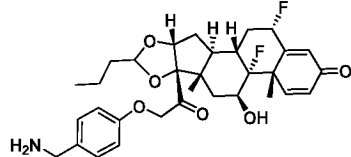
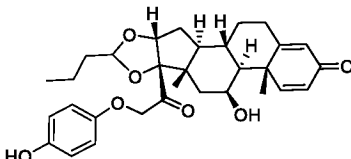
[0482] Как подробно описано ниже, эпимеры R и S разделяли и идентифицировали их R- и S-конфигурации. Например, R-эпимеры соединений **7** и **8** на ФИГ. 1 были изолированы и подтверждены в качестве преобладающего стереоизомера более чем на 90% по ¹H ЯМР. Конфигурацию C²² каждого эпимера определяли с помощью спектроскопических исследований 2D-NOESY.

[0483] В Таблице 1 ниже представлены стероиды, полученные с использованием способов, описанных в настоящем документе.

ТАБЛИЦА 1. СТРУКТУРА И ХИМИКО-ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СОЕДИНЕНИЙ

№ соед.	C ²²	Структура	Молекул. формула	Мол. масса (расчет.)	МС (М+Н)	Чистота по ВЭЖХ (%)	cLog P
7-1	<i>S</i>		C ₂₈ H ₃₃ NO ₆	479,6	480,2	96	2,53
7-1	<i>R</i>		C ₂₈ H ₃₃ NO ₆	479,6	480,3	100	2,53
8-1	<i>R</i>		C ₃₂ H ₃₉ NO ₇	549,7	550,3	96	4,22
7-2	<i>R/S</i>		C ₂₉ H ₃₅ NO ₆	493,6	494,3	98	2,59
8-2	<i>R/S</i>		C ₃₃ H ₄₁ NO ₇	563,7	564,3	98	4,28
8-3	<i>R/S</i>		C ₂₇ H ₃₇ NO ₆	471,6	472,2	96	1,63
7-4	<i>R</i>		C ₂₇ H ₃₇ NO ₆	471,6	472,2	96	1,63
11-1	<i>R/S</i>		C ₂₅ H ₃₅ NO ₅	429,6	429,9	100	2,63

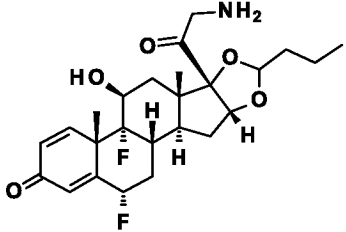
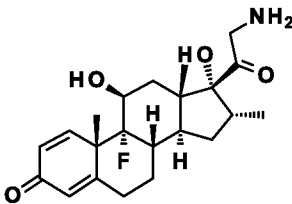
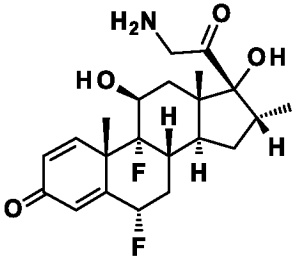
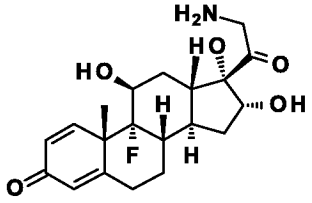
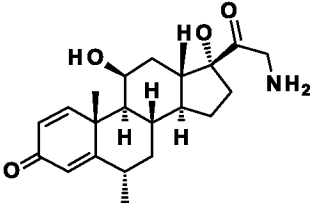
№ соед.	C ²²	Структура	Молекул. формула	Мол. масса (расчет.)	МС (М+Н)	Чистота по ВЭЖХ (%)	cLog P
11-2	<i>R/S</i>		C ₂₆ H ₃₇ NO ₅	443,6	444,2	96	3,06
11-3	<i>R/S</i>		C ₂₇ H ₃₉ NO ₅	457,6	458,2	100	3,44
11-4	<i>R/S</i>		C ₃₀ H ₄₃ NO ₅	497,3	498,2	94	4,29
11-5	<i>R/S</i>		C ₃₁ H ₃₉ NO ₆	521,6	522,3	100	4,24
11-5	<i>S</i>		C ₃₁ H ₃₉ NO ₆	521,6	522,2	99,8	4,24
11-5	<i>R</i>		C ₃₁ H ₃₉ NO ₆	521,6	522,2	99,1	4,24
11-6	<i>S</i>		C ₃₁ H ₃₈ FNO ₆	539,6	540,3	98	4,38
11-6	<i>R</i>		C ₃₁ H ₃₈ FNO ₆	539,6	540,3	100	4,38
11-7	<i>R</i>		C ₃₁ H ₃₈ FNO ₆	539,6	540,2	100	4,38

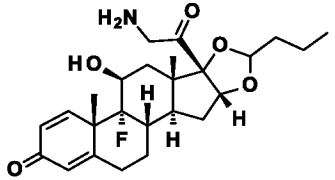
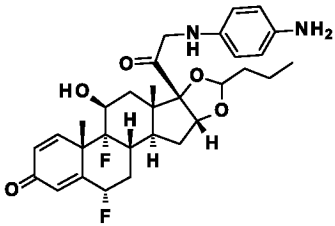
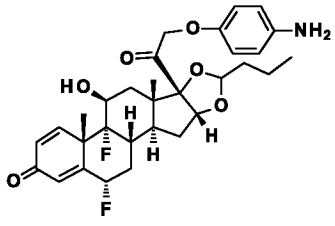
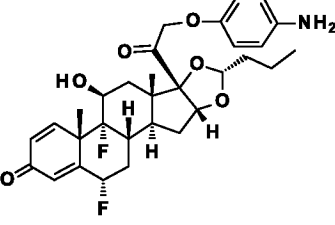
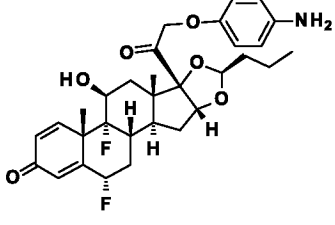
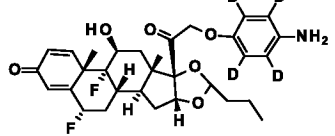
№ соед.	C ²²	Структура	Молекул. формула	Мол. масса (расчет.)	МС (M+H)	Чистота по ВЭЖХ (%)	cLog P
11-8	<i>R</i>		C ₃₂ H ₄₁ NO ₆	535,7	518,2 (M+H -H ₂ O)	100	4,54
11-10	<i>R/S</i>		C ₃₁ H ₃₇ FO ₆	524,3	525,3	100	5,21
11-11	<i>R/S</i>		C ₃₃ H ₄₁ NO ₇	563,7	564,4	100	4,31
11-12	<i>R/S</i>		C ₃₁ H ₃₇ F ₂ NO ₆	557,6	558,3	97	3,94
11-12	<i>R</i>		C ₃₁ H ₃₇ F ₂ NO ₆	557,6	558,2	100	
11-13	<i>R</i>		C ₃₁ H ₃₇ F ₂ NO ₆	557,6	558,2	100	3,94
11-14	<i>R/S</i>		C ₃₁ H ₃₆ F ₃ NO ₆	575,6	576,2	100	4,09
11-15	<i>R/S</i>		C ₃₂ H ₃₉ F ₂ NO ₆	554,2	555,2	100	3,90
11-16	<i>R/S</i>		C ₃₁ H ₃₈ O ₇	522,3	523,5	100	4,76

№ соед.	C ²²	Структура	Молекул. формула	Мол. масса (расчет.)	МС (М+Н)	Чистота по ВЭЖХ (%)	cLog P
11-17	R/S		C ₃₀ H ₃₆ F ₂ N ₂ O 6	558,6	559,2	100	3,91
11-19	R/S		C ₂₅ H ₃₃ F ₂ NO ₅	465,2	466,2	98,5	2,33
11-19	R					100	
11-20	R/S		C ₃₄ H ₄₃ F ₂ NO ₆	599,2	600,3	100	4,71
11-21	R/S		C ₂₆ H ₃₅ F ₂ NO ₅	479,3	480,2	100	2,76
14-2			C ₂₆ H ₃₅ F ₂ NO ₅	479,6	480,2	98	2,81
15-5			C ₂₆ H ₃₅ F ₂ NO ₅	479,6	480,2	98	2,81
16-5			C ₂₈ H ₃₃ F ₂ NO ₅	483,6	484	98	2,85

[0484] В Таблице 2 ниже представлены стероиды, полученные с использованием способов, описанных в настоящем документе.

ТАБЛИЦА 2. СТРУКТУРА И ХИМИКО-ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СОЕДИНЕНИЙ

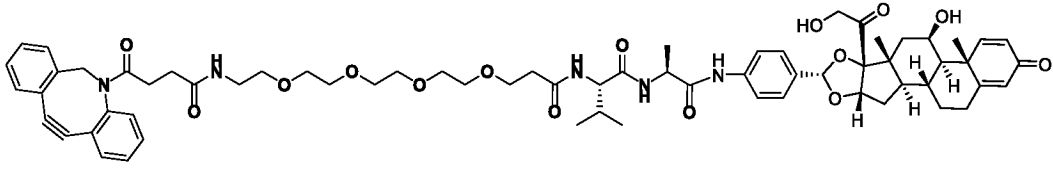
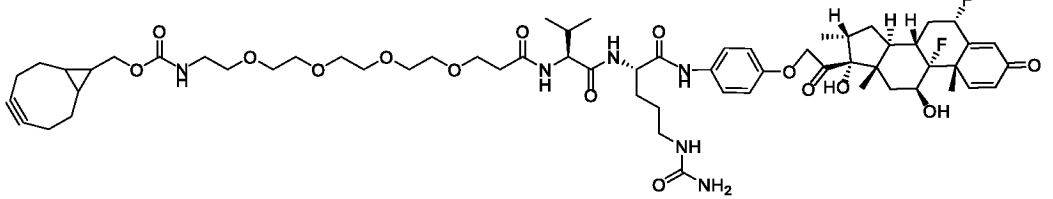
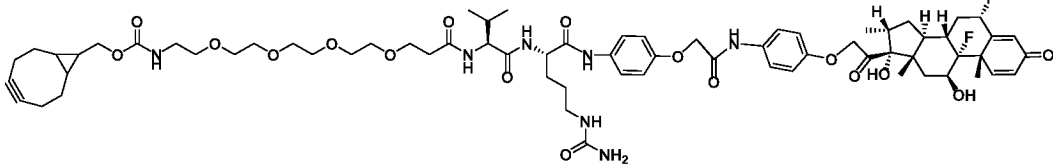
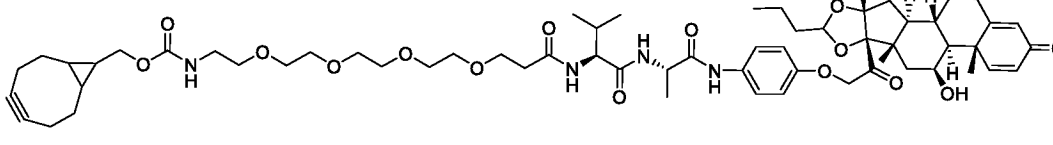
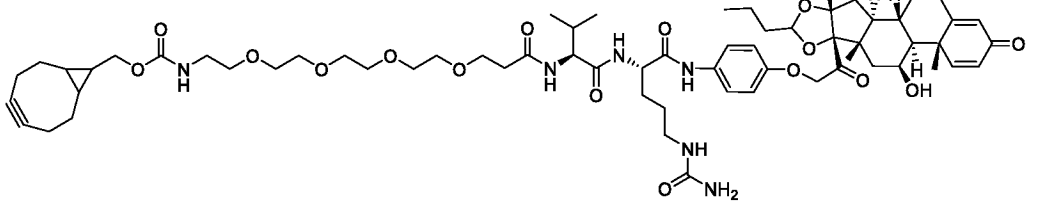
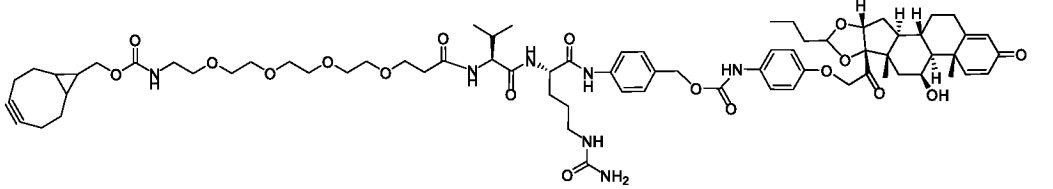
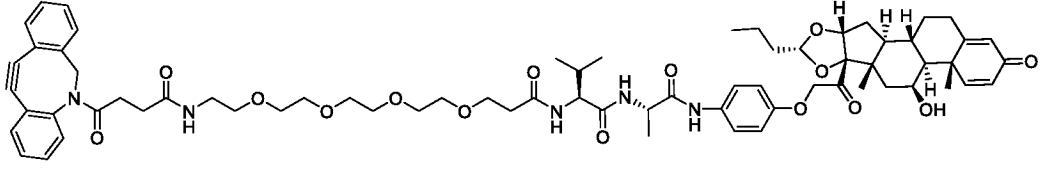
№ соед.	Структура	Молекул. формула	МС (масса/ заряд) 100%	Наив. пик масса/ заряд	Чистота по ВЭЖХ (%)
4b		$C_{25}H_{33}F_2NO_5$ $C_2HF_3O_2$	466,2 (M+H)	466,2 (M+H)	98,5
4c		$C_{24}H_{31}F_4NO_6$	392,2 (M+H)	392,2 (M+H)	> 99
4d		$C_{24}H_{30}F_5NO_6$	410,2 (M+H)	410,2 (M+H)	98
4e		$C_{21}H_{28}FNO_5 \cdot C_2$ HF_3O_2	394,2 (M+H)	394,2 (M+H)	> 99
4f		$C_{22}H_{31}NO_4$	374,3 (M+H)	374,3 (M+H)	> 99

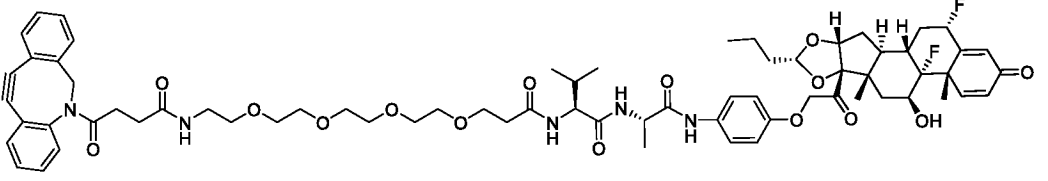
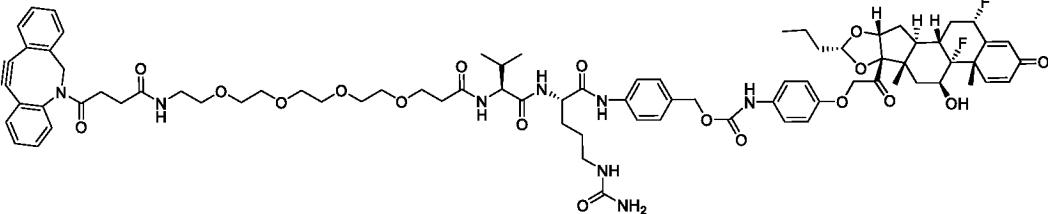
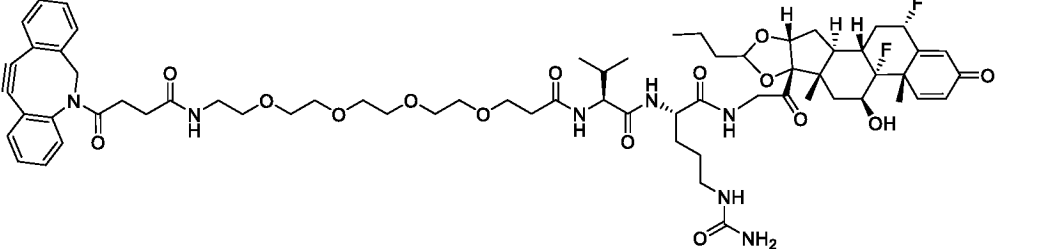
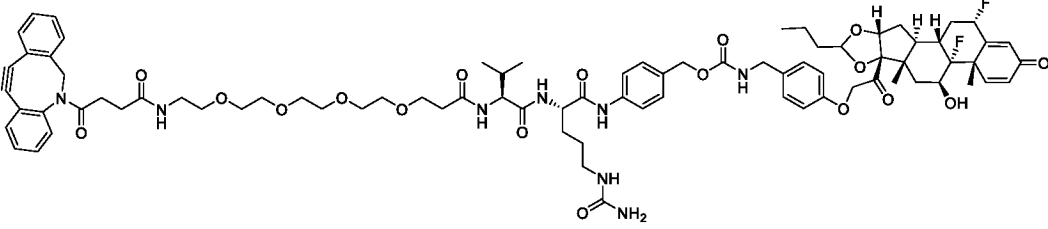
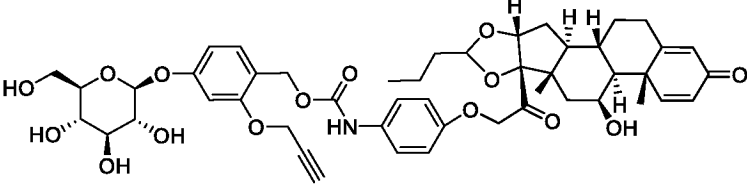
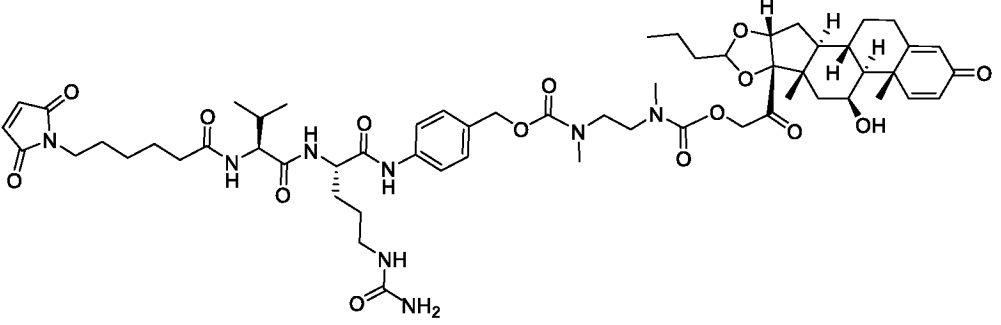
№ соед.	Структура	Молекул. формула	МС (масса/ заряд) 100%	Наив. пик масса/ заряд	Чистота по ВЭЖХ (%)
4h		$C_{25}H_{34}FNO_5 \cdot C_2$ HF_3O_2	448,2 (M+H)	448,2 (M+H)	> 99
5-I		$C_{31}H_{38}F_2N_2O_5 \cdot$ $C_2HF_3O_2$	557,1 (M+H)	557,1 (M+H)	> 99
6-I		$C_{31}H_{37}F_2NO_6$	522,3 (M+H)	522,3 (M+H)	97
R-6-I		$C_{31}H_{37}F_2NO_6$	522,2 (M+H)	522,2 (M+H)	> 99
S-6-I		$C_{31}H_{37}F_2NO_6$	522,2 (M+H)	522,2 (M+H)	97
6-I D		$C_{31}H_{37}F_2NO_6$	297,6 (M/2+H)	558,2 (M+H) (10%)	98,4

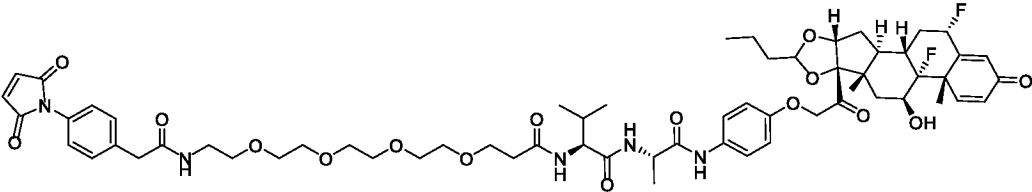
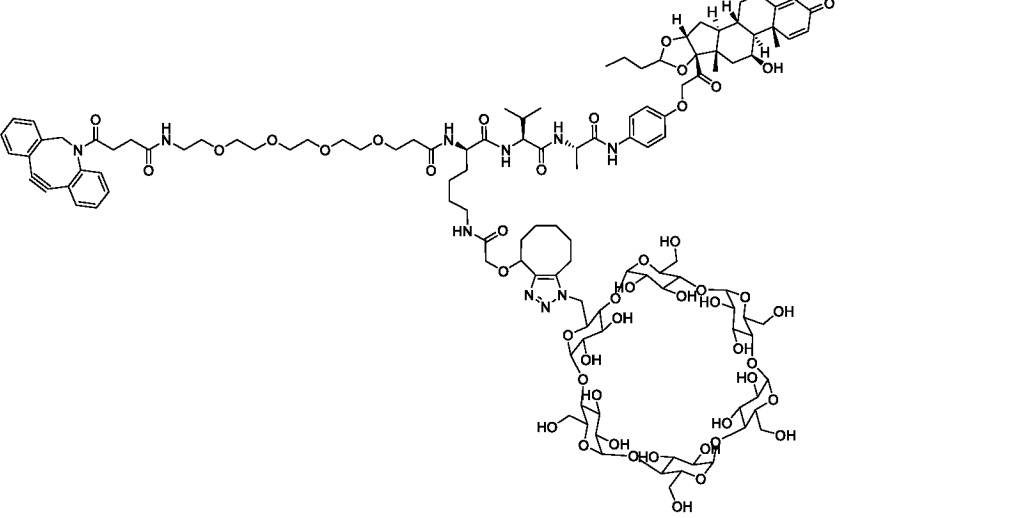
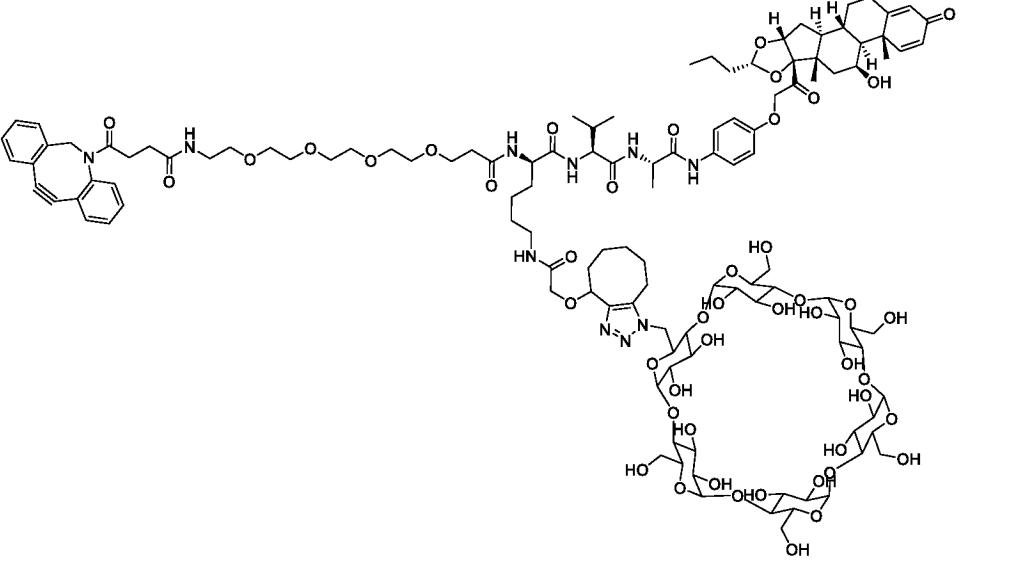
№ соед.	Структура	Молекул. формула	МС (масса/ заряд) 100%	Наив. пик масса/ заряд	Чистота по ВЭЖХ (%)
6-II		$C_{32}H_{39}F_2NO_7 \cdot C_2HF_3O_2$	558,3 (M+H)	558,3 (M+H)	> 99
6-III		$C_{31}H_{36}F_3NO_6$	558,3 (M+H)	558,3 (M+H)	> 99
6-VI		$C_{31}H_{39}NO_6$	576,2 (M+H)	576,2 (M+H)	> 99
R-6-VI		$C_{31}H_{39}NO_6$	588,3 (M+H)	588,3 (M+H)	> 99
S-6-VI		$C_{31}H_{39}NO_6$	587,2 (M-55)	665,2 (M+Na) (25%)	> 99
6-VII		$C_{28}H_{35}NO_5$	587,3 (M+H)	587,3 (M+H)	> 99

[0485] В Таблице 3 ниже представлены полезные нагрузки линкера, выполненные с использованием способов, описанных в данном документе.

ТАБЛИЦА 3. ПРИМЕРЫ ЛИНКЕРОВ С ПОЛЕЗНОЙ НАГРУЗКОЙ

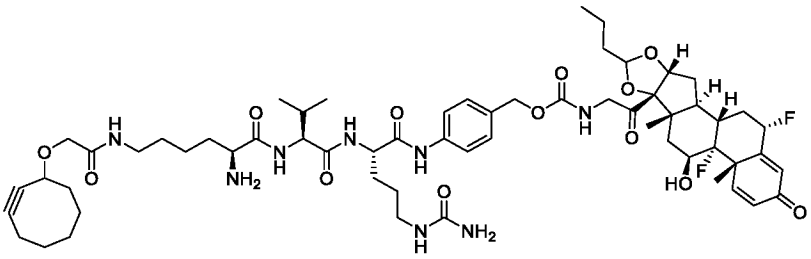
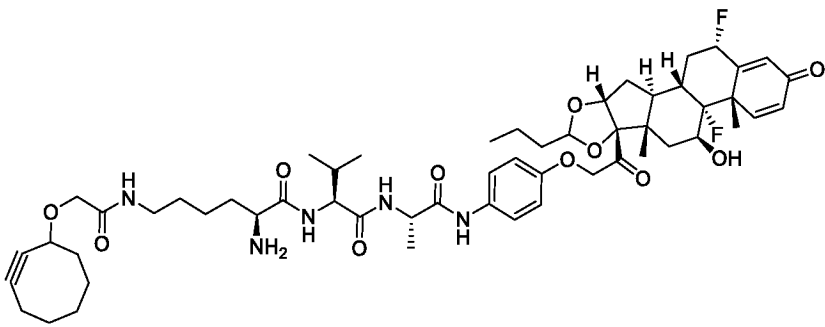
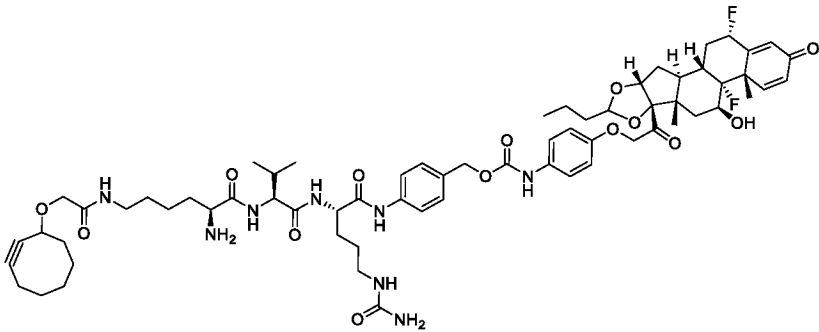
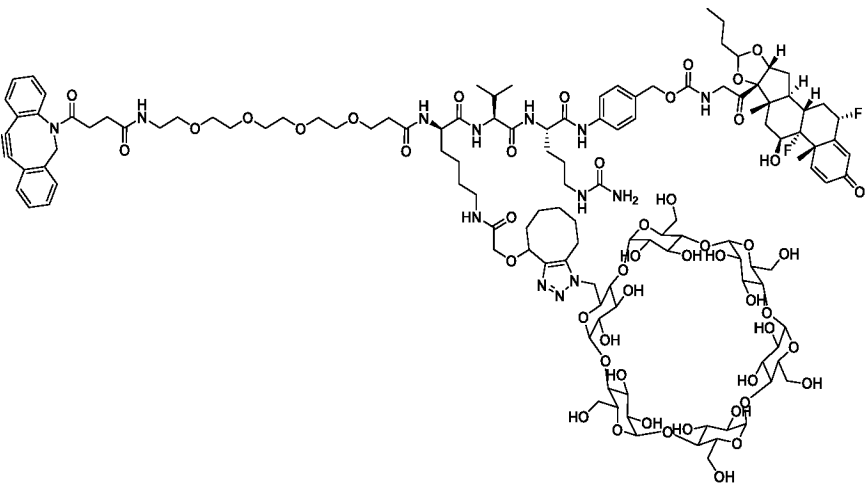
№ LP	Структуры линкеров с полезной нагрузкой
LP1	
LP2	
LP3	
LP4	
LP5	
LP6	
LP7	

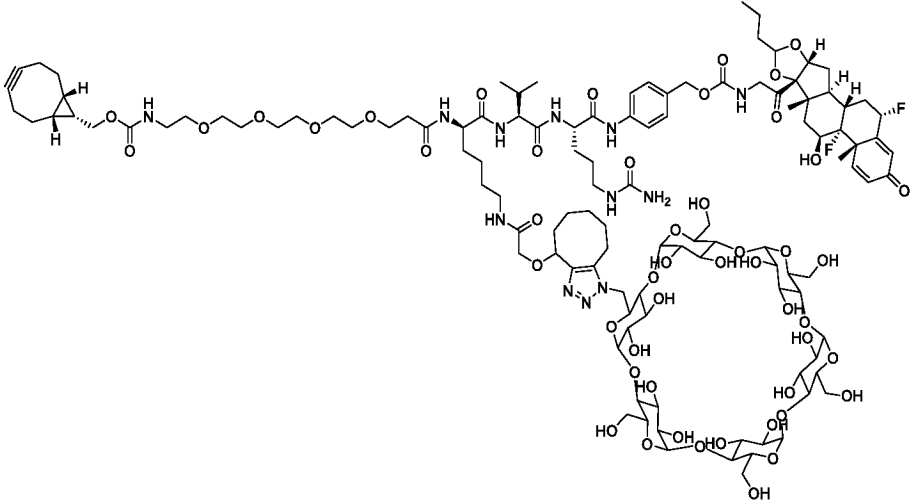
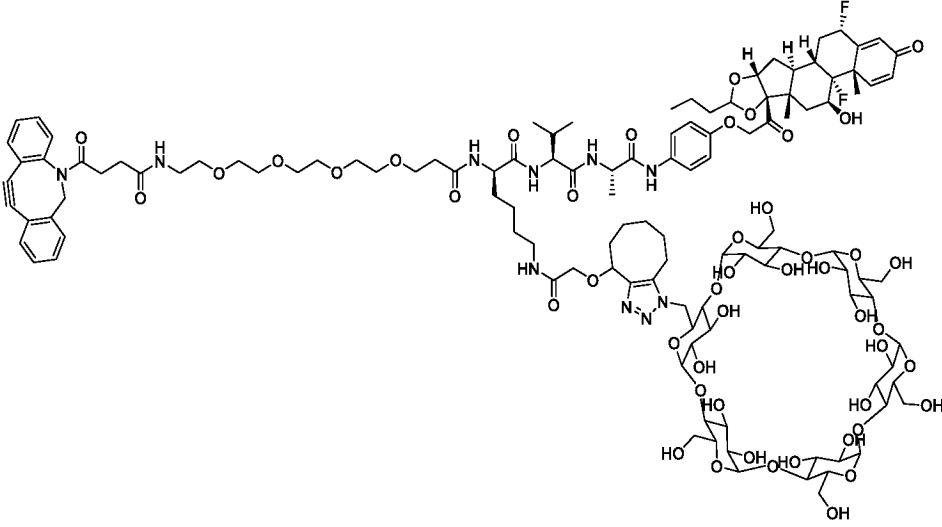
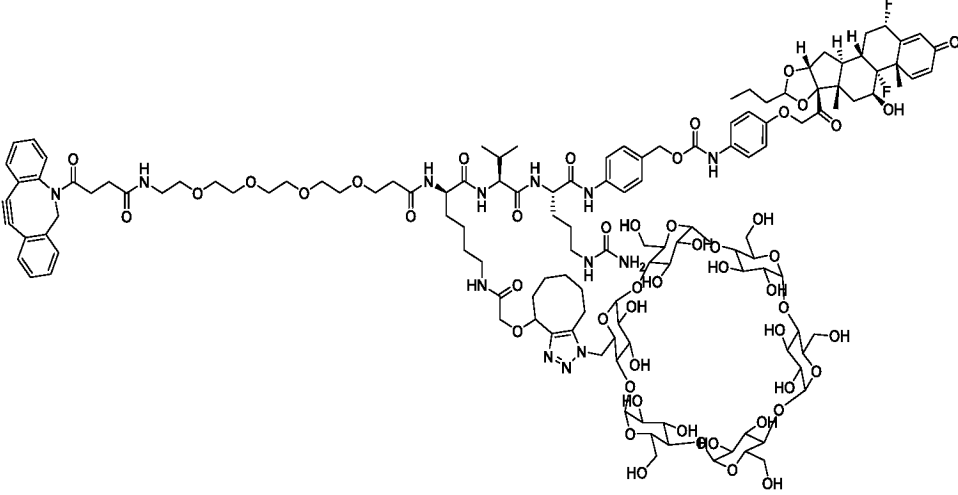
№ LP	Структуры линкеров с полезной нагрузкой
LP8	
LP9	
LP10	
LP11	
LP12	
LP13	

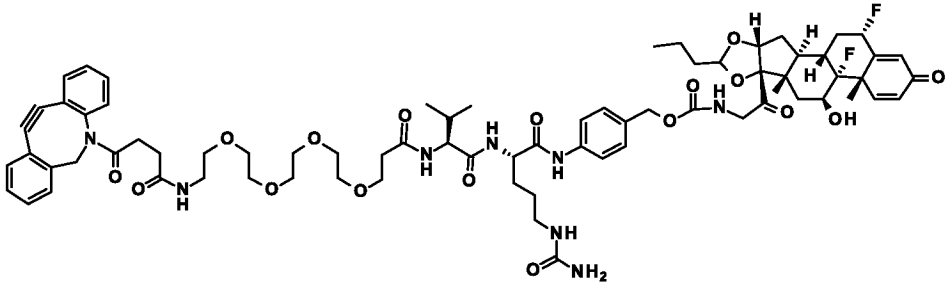
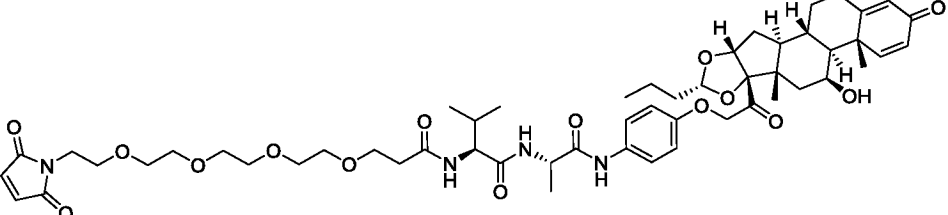
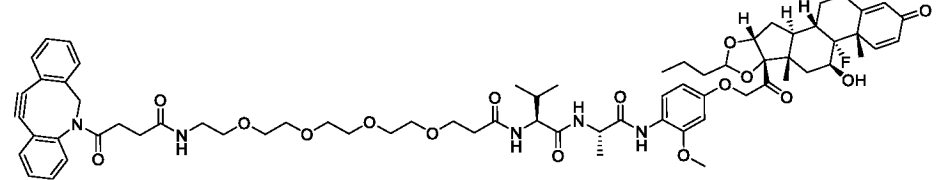
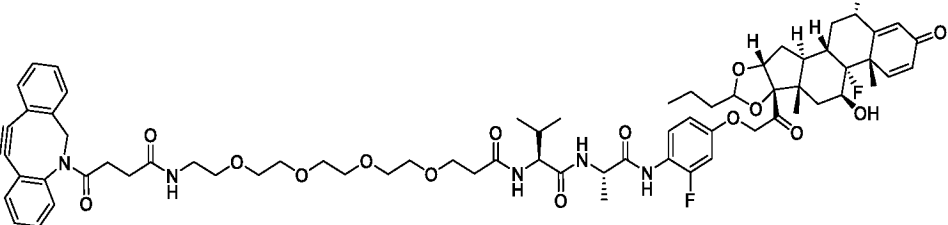
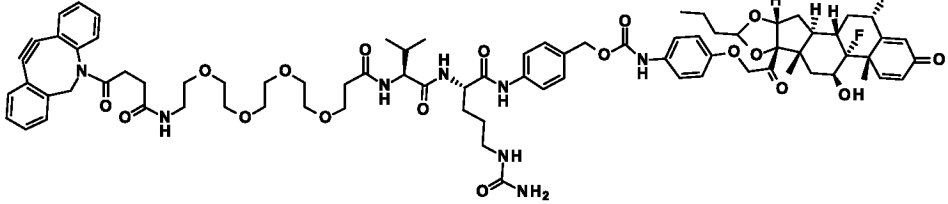
№ LP	Структуры линкеров с полезной нагрузкой
LP14	 <p>The structure of LP14 consists of a 5-membered imidazole-like ring with a carbonyl group, attached to a para-substituted benzene ring. This benzene ring is connected via a methylene group to an amide linkage. The amide nitrogen is part of a poly(ethylene glycol) (PEG) chain, which is further connected to another amide linkage. This second amide is attached to a chiral auxiliary (a 2-amino-3-methylbutanoate derivative), which is in turn connected to a third amide linkage. The final amide is attached to a para-substituted benzene ring, which is linked to a complex steroid-like molecule with multiple hydroxyl and fluorine substituents.</p>
LP15	 <p>The structure of LP15 is similar to LP14 but includes an additional component: a large, multi-hydroxylated cyclic molecule, likely a cyclodextrin derivative, which is attached to the PEG chain via an amide linkage. The steroid-like molecule is also present at the end of the chain.</p>
LP16	 <p>The structure of LP16 is identical to LP15, featuring the same PEG-based linker, chiral auxiliary, steroid-like molecule, and cyclodextrin derivative.</p>

[0486] В Таблице 4 ниже представлены линкеры с полезной нагрузкой, полученные с использованием способов, описанных в данном документе.

ТАБЛИЦА 4. ПРИМЕРЫ ЛИНКЕРОВ С ПОЛЕЗНОЙ НАГРУЗКОЙ

	Структура
LP101	
LP102	
LP103	
LP104	

	Структура
LP105	 <p>The chemical structure of LP105 is a complex molecule. It features a bicyclic bicyclo[3.3.1]nonane core on the left, which is linked via an amide bond to a long, flexible polyether chain consisting of seven oxygen atoms. This chain is further connected to a peptide backbone with several side chains, including a methyl group, an isopropyl group, and a piperazine ring. The piperazine ring is substituted with a hydroxyl group and a hydroxylamine group. The entire molecule is terminated by a complex, multi-ring system on the right, which includes a fluorine atom and a carbonyl group.</p>
LP108	 <p>The chemical structure of LP108 is similar to LP105 but with a different starting group. It features a tricyclic indole-like core on the left, which is linked via an amide bond to a long, flexible polyether chain consisting of seven oxygen atoms. This chain is further connected to a peptide backbone with several side chains, including a methyl group, an isopropyl group, and a piperazine ring. The piperazine ring is substituted with a hydroxyl group and a hydroxylamine group. The entire molecule is terminated by a complex, multi-ring system on the right, which includes a fluorine atom and a carbonyl group.</p>
LP110	 <p>The chemical structure of LP110 is similar to LP108 but with a different side chain on the peptide backbone. It features a tricyclic indole-like core on the left, which is linked via an amide bond to a long, flexible polyether chain consisting of seven oxygen atoms. This chain is further connected to a peptide backbone with several side chains, including a methyl group, an isopropyl group, and a piperazine ring. The piperazine ring is substituted with a hydroxyl group and a hydroxylamine group. The entire molecule is terminated by a complex, multi-ring system on the right, which includes a fluorine atom and a carbonyl group.</p>

	Структура
LP112	
LP113	
LP114	
LP115	
LP116	

ПРИМЕР 2

[0487] Этот пример демонстрирует способы получения химических производных будесонида, дексаметазона и флуметазона. Эти способы иллюстрируются, как правило, как показано на ФИГ. 2, 3 и 4.

[0488] Как показано на ФИГ. 2, мезилатные аналоги будесонида (9) или его дифтор-аналога (9В) подвергали взаимодействию с алкиламинами или замещенными фенолами (10) с образованием анилин- или аминоксодержащих соединений (11), таких как соединения с 11-1 по 11-23 на ФИГ. 2.

[0489] Как показано на ФИГ. 3, мезилатные аналоги дексаметазона (12), реагировали с алкиламинами или замещенными фенолами (10) с образованием анилин- или аминоксодержащих соединений (14) или (15) на ФИГ. 3.

[0490] Как показано на ФИГ. 4, мезилатные аналоги флуметазона (13), подвергались взаимодействию с алкиламинами или замещенными фенолами (10) с образованием анилин- или аминоксодержащих соединений (16) на ФИГ. 4.

[0491] Как подробно описано ниже, стереохимически чистые эписмеры 11-5S и 11-5R в Таблице 1 были получены путем хирального отделения от смеси их соответствующих R/S изомеров. Абсолютную стереохимию для каждого соединения определял 2D-NOESY. Спектры 2D-NOESY показали, что H²² и H¹⁸ коррелировали в 11-5R, и что корреляция отсутствовала между H²² и H¹⁸ в 11-5S. Аналогичным образом, хиральные центры в позиции C²² идентифицировали для соединений 7-1S, 7-1R, 7-4R, 8-1R, 11-6S, 11-6R, 11-7R, 11-8R, 11-12R, 11-13R и 11-19R в Таблице 1 методом 2D-NOESY.

ПРИМЕР 3

[0492] Этот пример демонстрирует способ получения соединений 7-1S и 7-1R в Таблице 1. Этот пример относится к соединениям, пронумерованным на ФИГ. 1.

[0493] 2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-Гидрокси-9,13-диметил-6-(4-нитрофенил)-16-оксо-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил 2-метилпропаноат (5-1) и

[0494] (1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-Гидрокси-8-(2-гидроксиацетил)-9,13-диметил-6-(4-нитрофенил)-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (6-1).

[0495] **Шаг 1:** Соединение 3 было синтезировано в соответствии с методиками, описанными в US 2007/135398, полное содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылки, путем взаимодействия дезонида (1) с изомасляной кислотой в ацетоне.

[0496] **Шаг 2:** К раствору соединения 3 (320 мг, 0,657 ммоль) в нитропропане (20 мл) по каплям добавляли водную хлорную кислоту (70%, 1,90 г, 1,33 ммоль) при 0°C с

последующим добавлением 4-нитробензальдегида (**4-1**, 151 мг, 1,00 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи и затем разбавляли этилацетатом (80 мл). Полученную смесь промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (30 мл × 3), затем рассолом (30 мл × 2). Полученный раствор затем сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Затем остаток очищали флэш-хроматографией с элюированием 0–35% этилацетатом в петролейном эфире с получением соединения (**5-1**) в виде желтого твердого вещества (120 мг, выход 32%), которое представляло собой смесь эпимеров *5R/5S* в соотношении 3/1 на основе ¹H ЯМР, и далее с элюированием 60–70% этилацетатом в петролейном эфире с получением соединения (**6-1**) в виде желтого твердого вещества (150 мг, выход 36%), которое представляло собой смесь эпимеров *6R/6S* в соотношении 5/1 на основе ¹H ЯМР (*R/S* не определено).

[0497] Соединение (**5-1**): Масса/заряд при ЯМР: 580 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц, эпимеры А и В с соотношением = 3) δ 8,27 и 8,25 (d, *J* = 8,8 Гц, 2H), 7,62 и 7,55 (d, *J* = 8,8 Гц, 2H), 7,28–7,21 (m, 1H), 6,33–6,23 (m, 1H), 6,03 и 6,05 (s, 1H), 5,62 и 6,16 (s, 1H), 5,12 и 5,43 (d, *J* = 5,4 Гц, 1H), 4,97 и 4,77 (d, *J* = 17,6 Гц, 1H), 4,88 и 4,33 (d, *J* = 17,6 Гц, 1H), 4,52 (br s, 1H), 2,80–2,50 (m, 2H), 2,44–2,29 (m, 1H), 2,29–2,05 (m, 3H), 2,01–1,84 (m, 2H), 1,80–1,67 (m, 2H), 1,51 и 1,59 (br s, 1H), 1,46 и 1,48 (s, 3H), 1,29–1,07 (m, 7H), 1,03 и 1,05 (s, 3H) чнм.

[0498] Соединение **6-1**: Масса/заряд при ЯМР: 510 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (DMSO-*d*₆, 400 МГц, эпимеры А и В с соотношением = 5) δ 8,26 и 8,24 (d, *J* = 8,8 Гц, 2H), 7,77 и 7,57 (d, *J* = 8,8 Гц, 2H), 7,32 (d, *J* = 10,0 Гц, 1H), 6,17 и 6,18 (dd, *J* = 10,0 Гц, 1,8 Гц, 1H), 5,93 и 5,95 (s, 1H), 5,63 и 6,28 (s, 1H), 5,14 и 5,03 (t, *J* = 6,0 Гц, 1H), 4,99 и 5,35 (d, *J* = 6,3 Гц, 1H), 4,82 (d, *J* = 3,2 Гц, 1H), 4,64–4,13 (m, 3H), 2,64–2,51 (m, 1H), 2,37–2,24 (m, 1H), 2,20–1,99 (m, 2H), 1,94–1,57 (m, 5H), 1,40 (s, 3H), 1,14–0,98 (m, 2H), 0,88 (s, 3H) чнм.

[0499] Шаг 3: Получение (1*S*,2*S*,4*R*,6*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-6-(4-Аминофенил)-11-гидрокси-8-(2-гидроксиацетил)-9,13-диметил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}] икоса-14,17-диен-16-он (**7-1R**) в Таблице 1) и (1*S*,2*S*,4*R*,6*S*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-6-(4-Аминофенил)-11-гидрокси-8-(2-гидроксиацетил)-9,13-диметил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}] икоса-14,17-диен-16-он (**7-1S**) в Таблице 1).

[0500] Порошок железа (56,0 мг, 1,00 ммоль) и хлорид аммония (53,5 мг, 1,00 ммоль) одновременно добавляли к раствору соединения **5-1** (51,0 мг, 0,100 ммоль) в объединенном растворе этанола (3 мл) и воды (0,5 мл). Суспензию перемешивали при 80°C в течение часа и фильтровали через целит для удаления твердого вещества. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали препаративной ВЭЖХ (метод В) с получением соединения **7-**

1R (30 мг, выход 63%) в виде белого твердого вещества и соединения **7-1S** (8 мг, выход 17%) в виде белого твердого вещества.

[0501] 2D-NOESY-спектроскопия использовалась для определения стереохимических конфигураций хиральных центров соединения **7-1R** и соединения **7-1S**. Спектры 2D – NOESY подтвердили наличие корреляции между H^{22} и H^{21} в соединении **7-1R**, что указывает на то, что он имеет R-конфигурацию хирального центра. Корреляции между H^{22} и H^{21} в соединении **7-1S** не наблюдались, что указывает на то, что он имеет S-конфигурацию хирального центра. Исследование ЯМР также показало, что сдвиг H^{22} в соединении **7-1R** (5,33 чнм) был намного выше, чем сдвиг соединения **7-1S** (6,01 чнм), что указывает на то, что H^{22} соединения **7-1R** была более затруднена. Спектры 2D-NOESY соединения **7-1-22R** и соединения **7-1-22S** показаны на ФИГ. 5 и 6.

[0502] Соединение **7-1R** в Таблице 1: Масса/заряд при ЯМР: 480 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (MeOD_{d4}, 400 МГц) δ 7,46 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,17 (d, J = 8,4 Гц, 2H), 6,67 (d, J = 8,4 Гц, 2H), 6,27 (dd, J = 10,1, 1,8 Гц, 1H), 6,04 (s, 1H), 5,33 (s, 1H), 5,00 (d, J = 5,4 Гц, 1H), 4,61 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,50–4,39 (m, 1H), 4,31 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 2,78–2,61 (m, 1H), 2,47–2,35 (m, 1H), 2,35–2,22 (m, 1H), 2,22–2,10 (m, 1H), 2,04–1,94 (m, 1H), 1,91–1,66 (m, 4H), 1,51 (s, 3H), 1,25–1,11 (m, 1H), 1,07 (dd, J = 11,2 Гц, 3,5 Гц, 1H), 0,99 (s, 3H) чнм.

[0503] Соединение **7-1S** в Таблице 1: Масса/заряд при ЯМР: 480 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (MeOD_{d4}, 400 МГц) δ 7,47 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,02 (d, J = 8,4 Гц, 2H), 6,65 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 6,27 (dd, J = 10,1, 1,8 Гц, 1H), 6,03 (s, 1H), 6,01 (s, 1H), 5,36 (d, J = 6,2 Гц, 1H), 4,46–4,31 (m, 2H), 4,12 (d, J = 19,2 Гц, 1H), 2,75–2,61 (m, 1H), 2,47–2,35 (m, 1H), 2,27–2,11 (m, 2H), 2,08–1,97 (m, 1H), 1,96–1,73 (m, 4H), 1,51 (s, 3H), 1,33–1,17 (m, 2H), 1,17–1,09 (m, 1H), 1,01 (s, 3H) чнм.

ПРИМЕР 4

[0504] Данный пример демонстрирует метод получения соединения (**8-1R/S**) и соединения (**8-1R**) в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 1.

[0505] 2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-6-(4-Аминофенил)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил 2-метилпропаноат (**8-1R**).

[0506] Порошок железа (56,0 мг, 1,00 ммоль) и хлорид аммония (53,5 мг, 1,00 ммоль) одновременно добавляли к раствору соединения (**6-1**) (58,0 мг, 0,100 ммоль) в объединенном растворе этанола (3 мл) и воды (1 мл). Полученную суспензию

перемешивали при 80°C в течение часа и фильтровали через целит для удаления твердого вещества. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали препаративной ВЭЖХ (метод В) с получением соединения (**8-1R**) и его энантиомера (т.е. S-стереохимия при C²²) (26 мг, выход 45%) в виде белого твердого вещества. Отношение R-эпимера к S-эпимеру составляет 4:1 по данным ВЭЖХ и ¹H ЯМР. Масса/заряд при ЯМР: 550 (M+H)⁺.

[0507] Далее изолировали R-эпимер и определяли конфигурацию методом 2D ЯМР.

[0508] Соединение (**8-1R**): Масса/заряд при ЯМР: 550 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (MeOD_{d4}, 500 МГц) δ 7,46 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 7,19 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 6,69 (d, J = 8,4 Гц, 2H), 6,27 (dd, J = 10,0 Гц, 2,0 Гц, 1H), 6,05 (s, 1H), 5,44 (s, 1H), 5,07 (d, J = 17,5 Гц, 1H), 4,96 (d, J = 5,5 Гц, 1H), 4,88 (d, J = 17,5 Гц, 1H), 4,48–4,44 (m, 1H), 2,73–2,64 (m, 2H), 2,42–2,39 (m, 1H), 2,32–2,24 (m, 1H), 2,19–2,15 (m, 1H), 2,03–1,99 (m, 1H), 1,95–1,92 (m, 1H), 1,90–1,83 (m, 2H), 1,76–1,69 (m, 1H), 1,52 (s, 3H), 1,27–1,12 (m, 7H), 1,09–1,05 (m, 1H), 1,02 (s, 3H) чнм.

ПРИМЕР 5

[0509] Данный пример демонстрирует метод получения соединения (**7-2R/S**) в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 1.

[0510] Шаг 1: 1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-Гидрокси-8-(2-гидроксиацетил)-9,13-диметил-6-[(4-нитрофенил)метил]-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (**5-2**).

[0511] К раствору соединения (**3**) (226 мг, 0,464 ммоль) в нитропропане (10 мл) по каплям добавляли водную хлорную кислоту (70%, 985 мг, 6,90 ммоль) при 0°C с последующим добавлением 2-(4-нитрофенил)ацетальдегида (**4-2**, 115 мг, 0,696 ммоль) в соответствии с синтезом в источнике *Synthesis*, **2011**, 18, 2935–2940, полное содержание которого включено сюда в качестве ссылки для всех целей. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи и затем разбавляли этилацетатом (60 мл). Смесь промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (50 мл × 3), затем рассолом (50 мл × 3), и затем сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток очищали флэш-хроматографией с элюированием 0–35% этилацетатом в петролейном эфире с получением соединения (**6-2**) в виде коричневого твердого вещества (95 мг, выход 34%, включая эпимеры 2R/S в соотношении > 10/1) по данным ¹H ЯМР) и далее с элюированием 60–70% этилацетатом в петролейном эфире с получением соединения (**5-2**) (145 мг, выход 60%) в виде коричневого твердого вещества.

[0512] Соединение (**5-2**): Масса/заряд при ЯМР: 524 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ 8,09 (d, J = 8,7 Гц, 2H), 7,39 (d, J = 8,7 Гц, 2H), 7,17 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 6,31 (dd, J = 10,1 Гц,

1,8 Гц, 1H), 6,02 (s, 1H), 4,92 (d, $J = 5,3$ Гц, 1H), 4,86 (t, $J = 3,6$ Гц, 1H), 4,52–4,39 (m, 2H), 4,28–4,17 (m, 1H), 3,08 (d, $J = 3,5$ Гц, 2H), 2,96 (t, $J = 4,9$ Гц, 1H), 2,53–2,40 (m, 1H), 2,32–2,19 (m, 1H), 2,04–1,95 (m, 1H), 1,95–1,82 (m, 2H), 1,60–1,46 (m, 3H), 1,38 (s, 3H), 1,34 (br s, 1H), 0,91–0,77 (m, 4H), 0,76–0,62 (m, 2H) чнм.

[0513] Шаг 2: (1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-6-[(4-Аминофенил)метил]-11-гидрокси-8-(2-гидроксиацетил)-9,13-диметил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (**7-2*R/S***)

[0514] Порошок железа (78,0 мг, 1,40 ммоль) и хлорид аммония (75,0 мг, 1,40 ммоль) одновременно добавляли к раствору соединения (**5-2**) (75,0 мг, 0,143 ммоль) в объединенном растворе этанола (4 мл) и воды (0,5 мл). Суспензию перемешивали при 80°C в течение 1,5 часов и фильтровали через целит для удаления твердого вещества. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали препаративной ВЭЖХ (метод В), получая соединение (**7-2*R/S***) (26 мг, выход 37%) в виде белого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 494 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (MeOD_{d4}, 400 МГц) δ 7,44 (d, $J = 10,1$ Гц, 1H), 6,93 (d, $J = 8,3$ Гц, 2H), 6,48 (d, $J = 8,3$ Гц, 2H), 6,30 (dd, $J = 10,1$ Гц, 1,9 Гц, 1H), 6,07 (s, 1H), 4,85–4,77 (m, 2H), 4,51 (d, $J = 19,4$ Гц, 1H), 4,35–4,29 (m, 1H), 4,24 (d, $J = 19,4$ Гц, 1H), 2,87–2,72 (m, 2H), 2,62–2,47 (m, 1H), 2,38–2,28 (m, 1H), 2,08–1,93 (m, 1H), 1,90–1,78 (m, 2H), 1,67–1,58 (m, 1H), 1,53–1,37 (m, 5H), 0,91–0,77 (m, 5H), 0,74 (dd, $J = 11,2$ Гц, 3,4 Гц, 1H) чнм.

ПРИМЕР 6

[0515] Данный пример демонстрирует метод получения соединения (**8-2*R/S***) в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 1.

[0516] Шаг 1: 2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-Гидрокси-9,13-диметил-6-[(4-нитрофенил)метил]-16-оксо-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил 2-метилпропаноат (**6-2**)

[0517] Синтез соединения **6-2** был описан в ПРИМЕРЕ 5 выше. Соединения **6-2**: Масса/заряд при ЯМР: 594 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ 8,15 (d, $J = 8,7$ Гц, 0,1H) и 8,09 (d, $J = 8,7$ Гц, 1,9H), 7,40 (d, $J = 8,6$ Гц, 2H), 7,20 (d, $J = 10,1$ Гц, 1H), 6,31 (dd, $J = 10,1$ Гц, 1,8 Гц, 1H), 6,02 (s, 1H), 4,94 (t, $J = 3,6$ Гц, 1H), 4,87 (d, $J = 5,1$ Гц, 1H), 4,81 (d, $J = 17,6$ Гц, 1H), 4,71 (d, $J = 17,6$ Гц, 1H), 4,46 (s, 1H), 3,09 (d, $J = 3,5$ Гц, 2H), 2,73–2,61 (m, 1H), 2,53–2,41 (m, 1H), 2,31–2,21 (m, 1H), 2,07–1,96 (m, 1H), 1,94–1,84 (m, 2H), 1,84–1,76 (m, 1H), 1,63–1,43 (m, 3H), 1,39 (s, 3H), 1,22 (t, $J = 7,0$ Гц, 6H), 0,92–0,82 (m, 4H), 0,76–0,61 (m, 2H) чнм.

[0518] Шаг 2: 2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-6-[(4-Аминофенил)метил]-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил 2-метилпропаноат (**8-2*R/S***)

[0519] К раствору соединения **6–2** (65,0 мг, 0,109 ммоль) в объединенном растворе этанола (5 мл) и воды (1 мл) одновременно добавляли порошок железа (61,0 мг, 1,09 ммоль) и хлорид аммония (58,4 мг, 1,09 ммоль). Суспензию перемешивали при 80°C в течение часа и фильтровали через целит для удаления твердого вещества. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали препаративной ВЭЖХ (метод В), получая соединение (**8–2R/S**) (30 мг, выход 49%) в виде белого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 564 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ 7,25 (d, J = 10,2 Гц, 1H), 6,95 (d, J = 8,3 Гц, 2H), 6,44 (d, J = 8,3 Гц, 2H), 6,31 (dd, J = 10,1, 1,8 Гц, 1H), 6,05 (s, 1H), 4,92–4,84 (m, 2H), 4,80 (d, J = 5,2 Гц, 1H), 4,73 (d, J = 17,7 Гц, 1H), 4,41 (s, 1H), 3,48 (br s, 1H), 2,85 (d, J = 2,7 Гц, 2H), 2,75–2,62 (m, 1H), 2,56–2,41 (m, 1H), 2,31–2,19 (m, 1H), 2,05–1,91 (m, 2H), 1,88–1,80 (m, 1H), 1,77–1,70 (m, 1H), 1,55–1,41 (m, 3H), 1,39 (s, 3H), 1,29–1,18 (m, 8H), 0,91–0,74 (m, 5H) чнм.

ПРИМЕР 7

[0520] Данный пример демонстрирует метод получения соединения (**8–3R/S**) в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 1.

[0521] Шаг 1: 2–[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)–6–(2–{[(9H–Флуорен–9–илметокси)карбонил]амино}этил)–11–гидрокси–9,13–диметил–16–оксо–5,7–диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса–14,17–диен–8–ил]–2–оксоэтил 2–метилпропаноат (**6–3**)

[0522] К раствору соединения **3** (240 мг, 0,493 ммоль) в нитропропане (5 мл) по каплям добавляли водную хлорную кислоту (70%, 214 мг, 1,49 ммоль) при 0°C с последующим добавлением Fmoc–3–амино–1–пропанола (**4–3**, 236 мг, 0,799 ммоль) по данным синтеза в *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128 (12), 4023–4034, содержание которого полностью включено в настоящий документ посредством ссылки для всех целей. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи и затем разбавляли этилацетатом (80 мл). Смесь промывали насыщенным водным раствором бикарбоната натрия (50 мл × 3), затем водой (50 мл × 2), затем рассолом (50 мл) и затем сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток очищали препаративной ТСХ (силикагель, метанол / метилхлорид, об./об. = 1/25), получая соединение (**6–3**) (200 мг, выход 56%, 6R/6S эпимеры) в виде желтоватого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 724 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ 7,76 (d, J = 7,6 Гц, 2H), 7,56 (d, J = 7,2 Гц, 2H), 7,40 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 7,32–7,20 (m, 3H), 6,28–6,25 (m, 2H), 6,00 (s, 1H), 5,28–5,04 (m, 2H), 4,87–4,76 (m, 1H), 4,46–4,35 (m, 3H), 4,18 (t, J = 6,8 Гц, 1H), 3,49 (s, 1H), 3,39–3,24 (m, 2H), 2,77–2,49 (m, 2H), 2,37–2,26 (m, 1H), 2,23–1,96 (m, 3H), 1,96–1,47 (m, 6H), 1,45–1,41 (m, 3H), 1,28–1,06 (m, 10H), 1,02–0,94 (m, 3H) чнм.

[0523] Шаг 2: 2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-6-(2-Аминоэтил)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил 2-метилпропаноат (**8-3*R/S***)

[0524] Раствор соединений (**6-3**) (40,0 мг, 55,3 мкмоль) в диэтиламине (1 мл) и метиленхлориде (1 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Летучие вещества удаляли в вакууме и остаток очищали препаративной ВЭЖХ (метод В), а затем препаративной ТСХ (тонкослойная хроматография) (силикагель, метиленхлорид / метанол, об./об. = 75/10), получая соединение (**8-3*R/S***) (3 мг, выход 11%) в виде желтоватого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 502 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (MeOD_{d4}, 400 МГц) δ 7,36 (d, *J* = 10,1 Гц, 1H), 6,16 (dd, *J* = 10,1 Гц, 1,8 Гц, 1H), 5,91 (s, 1H), 5,23 (t, *J* = 4,4 Гц, 1H), 5,08–4,90 (m, 1H), 4,75–4,65 (m, 1H), 4,38–4,28 (m, 1H), 2,83–2,50 (m, 2H), 2,33–2,23 (m, 1H), 2,13–2,00 (m, 2H), 1,90–1,46 (m, 6H), 1,39 (s, 3H), 1,24–1,12 (m, 2H), 1,23–0,78 (m, 11H) чнм.

ПРИМЕР 8

[0525] Данный пример демонстрирует метод получения соединения **7-4*R*** в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 1.

[0526] (1*S*,2*S*,4*R*,6*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-Гидрокси-8-(2-гидроксиацетил)-9,13-диметил-6-(пиперидин-4-ил)-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.00^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]]икоса-14,17-диен-16-он (**7-4*R***).

[0527] К раствору дезонида (**1**, 0,10 г, 0,25 ммоль) в нитропропане (5 мл) по каплям добавляли водную хлорную кислоту (70%, 0,11 г, 0,75 ммоль) при 0°C с последующим добавлением 1-Вос-4-пиперидинкарбальдегида (**4-4**, 64 мг, 0,30 ммоль). После перемешивания при комнатной температуре в течение ночи суспензию концентрировали в вакууме. Остаток подщелачивали путем добавления раствора аммиака в метаноле (7 М, 10 мл). Полученную смесь концентрировали в вакууме и неочищенный продукт дважды очищали препаративной ВЭЖХ (метод В), получая соединение **7-4*R*** (15 мг, выход 13%) в виде белого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 472 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (MeOD_{d4}, 500 МГц) δ 7,47 (d, *J* = 10,0 Гц, 1H), 6,27 (dd, *J* = 10,0 Гц, 2,0 Гц, 1H), 6,03 (s, 1H), 4,90 (d, *J* = 4,0 Гц, 1H), 4,50 (d, *J* = 19,0 Гц, 1H), 4,46–4,43 (m, 1H), 4,41 (d, *J* = 4,0 Гц, 1H), 4,29 (d, *J* = 19,0 Гц, 1H), 3,13–3,09 (m, 2H), 2,71–2,60 (m, 3H), 2,42–2,38 (m, 1H), 2,27–2,13 (m, 2H), 1,99–1,96 (m, 1H), 1,85–1,64 (m, 7H), 1,52 (s, 3H), 1,51–1,38 (m, 2H), 1,14–0,99 (m, 2H), 0,96 (s, 3H) чнм. Стереометрическую *R*-конфигурацию для соединения **7-4*R*** определяли методом 2D ЯМР.

ПРИМЕР 9

[0528] Данный пример демонстрирует метод получения соединения (11-1*R/S*) в Таблице 1. Данный метод в целом иллюстрируется как показано на ФИГ. 2.

[0529] **Шаг 1:** 2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-Гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил метансульфонат (9).

[0530] **Общая процедура А** для синтеза мезилатов из его спирта. К раствору спирта (1,0 эквив.) в DCM (10 мл на грамм исходного материала) добавляли триэтиламин или 4-диметиламинопиридин (2 эквив.) и метансульфонилхлорид (1,2 эквив.). После перемешивания при 0°C в течение получаса или до тех пор, пока исходное вещество не было израсходовано в соответствии с ТСХ, к реакционноспособной смеси добавляли силикагель (100-200 меш) и концентрировали в вакууме. Остаток с силикагелем очищали колоночной хроматографией на силикагеле (0-50% этилацетат в петролейном эфире) с получением мезилатного продукта. Альтернативно, смесь промывали разбавленным водой гидрохлоридом (1 N) и рассолом, сушили над сульфатом натрия и концентрировали. Сырой продукт очищали флэш-хроматографией (0-2% MeOH в DCM), получая соответствующий мезилатный продукт.

[0531] Альтернативный способ получения соединения 9: к раствору будесонида (0,28 мг, 0,65 ммоль) в пиридине (5 мл) добавляли 4-диметиламинопиридин (0,16 г, 1,3 ммоль), затем по каплям добавляли метансульфонилхлорид (0,11 г, 0,97 ммоль) при 0°C. После перемешивания при комнатной температуре в течение 2 часов полученную смесь выливали в этилацетат (100 мл). Смесь промывали разбавленным водной гидрохлоридом (1 N), затем рассолом, сушили над сульфатом натрия и концентрировали. Сырой продукт очищали флэш-хроматографией (0-1% метанол в метиленхлориде) с получением соединения (9) (0,26 г, выход 85%) в вид твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 509 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) (эпимеры) δ 7,25 и 7,22 (d, J = 2,0 Гц, 1H), 6,30–6,27 (m, 1H), 6,03–6,02 (m, 1H), 5,17–5,11 (m, 1,5H), 5,06–4,96 (m, 1,5 H), 4,87–4,86 (m, 0,5 H), 4,59 (d, J = 4,5 Гц, 0,5 H), 4,52–4,50 (m, 1 H), 3,24 (s, 3H), 2,60–2,53 (m, 1H), 2,36–2,33 (m, 1H), 2,24–2,00 (m, 3H), 1,86–1,62 (m, 4H), 1,53–1,33 (m, 8H), 1,21–1,09 (m, 2 H), 1,02–0,96 (m, 3H), 0,94–0,91 (m, 3H) чнм.

[0532] **Шаг 2:** (1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-8-(2-Аминоацетил)-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (11-1*R/S*)

[0533] К раствору аммиака в MeOH (7 М, 15 мл) при комнатной температуре добавляли соединение **9** (0,10 г, 0,20 ммоль). Раствор герметизировали и перемешивали при 40°C в течение ночи. Летучие вещества удаляли в вакууме, неочищенный продукт очищали препаративной ВЭЖХ (метод В) с получением соединения (**11-1R/S**) (8,0 мг, выход 9%) в виде желтоватого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 429,9 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (MeOD_{d4}, 400 МГц) δ 7,46 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 6,26 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 6,02 (s, 1H), 5,22–5,15 (m, 1,5 H), 4,88 (m, 0,6H), 4,58 (m, 0,5H), 4,42 (m, 1H), 3,96–3,81 (m, 0,7H), 3,50–3,41 (m, 0,7H), 2,70–2,63 (m, 1H), 2,40–2,37 (m, 1H), 2,22–1,94 (m, 3H), 1,87–1,25 (m, 11H), 1,17–0,80 (8H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: > 95%, Время выдержки: 7.63 минут (метод Б).

ПРИМЕР 10

[0534] Данный пример демонстрирует метод получения соединения **11-2R/S** в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 2.

[0535] (1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)–11–гидрокси–9,13–диметил–8–[2–(метиламино)ацетил]–6–пропил–5,7–диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса–14,17–диен–16–он (**11-2R/S**)

[0536] Раствор соединения **9** (51 мг, 0,10 ммоль) в метиламине (2 М раствор в ТГФ, 0,5 мл) в запаянной пробирке перемешивали при 20-25°C в течение 4 часов, затем перемешивали при 40°C в течение ночи. Летучие вещества удаляли в вакууме и остаток очищали препаративной ВЭЖХ (метод А) и затем препаративной ВЭЖХ (метод В) с получением соединения (**11-2R/S**) (15 мг, выход 33%) в виде белого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 444,3 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ 7,26–7,23 (d, J = 10,8 Гц, 1H), 6,30–6,26 (m, 1H), 6,03–6,02 (m, 1H), 5,20–5,16 (m, 1H), 4,90–4,89 (d, J = 4,8 Гц, 0,5 H), 4,69–4,66 (t, J = 4,8 Гц, 0,5H), 4,49–4,51 (m, 1H), 3,50–3,29 (m, 2H), 2,61–2,52 (m, 1H), 2,37–2,32 (m, 1H), 2,17–2,16 (d, J = 3,6 Гц, 3H), 2,14–2,08 (m, 3H), 1,86–1,74 (m, 3H), 1,59–1,48 (m, 2H), 1,45 (s, 3H), 1,42–0,89 (m, 12H) чнм.

ПРИМЕР 11

[0537] Данный пример демонстрирует метод получения соединения **11-3R/S** в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 2.

[0538] (1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)–8–[2–(Диметиламино)ацетил]–11–гидрокси–9,13–диметил–6–пропил–5,7–диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса–14,17–диен–16–он (**11-3R/S**)

[0539] К раствору соединения **9** (51 мг, 0,10 ммоль) в ТГФ (3 мл) по каплям добавляли раствор диметиламина в ТГФ (2 М, 0,75 мл, 1,5 ммоль) при комнатной температуре.

Реакционную смесь перемешивали при 50°C в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали и неочищенный продукт очищали препаративной ВЭЖХ (метод В) с получением соединения **11-3R/S** (15 мг, выход 33%) в виде белого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 458,2 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (MeOD_{d4}, 400 МГц) δ 7,46 (d, J = 10,4 Гц, 1H), 6,26 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 6,02 (s, 1H), 5,21 (t, J = 4,8 Гц, 0,6H), 5,17 (d, J = 7,2 Гц, 0,6H), 4,58 (d, J = 4,4 Гц, 0,4H), 4,44–4,41 (m, 1H), 3,80–3,57 (m, 1H), 3,26 (d, J = 18,8 Гц, 0,7H), 3,08–2,91 (m, 0,7H), 2,70–2,61 (m, 1H), 2,49–2,33 (m, 7H), 2,26–2,11 (m, 2H), 2,02–1,95 (m, 1H), 1,85–1,55 (m, 5H), 1,49 (s, 3H), 1,49–1,30 (m, 3H), 1,09–1,00 (m, 2H), 0,98–0,90 (m, 6H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: > 95%, Время выдержки: 8,34 минуты (метод Б).

ПРИМЕР 12

[0540] Данный пример демонстрирует метод получения соединения **11-5R/S** в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 2.

[0541] (1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-8-[2-(4-Аминофеноксид)ацетил]-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (**11-5R/S**)

[0542] **Общая методика В** получения замещенного фенольного эфира из его предшественника мезилата. К горячему ацетонитрилу или ацетону (60-65°C) добавляли предшественник мезилата (1 экв.), замещенный фенол (2,0-2,5 экв.) и карбонат калия или карбонат цезия (2,0-3,0 экв.). Полученную суспензию кипятили с обратным холодильником в течение 2-3 часов, реакцию контролировали с помощью ЖХМС и/или ТСХ. После охлаждения реакционной смеси до комнатной температуры летучие вещества удаляли в вакууме и к остатку добавляли воду. Водную смесь экстрагировали этилацетатом. Объединенный органический раствор промывали водой и рассолом, сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт использовали для следующего шага напрямую или очищали с помощью флэш-хроматографии или преп-ВЭЖХ.

[0543] **Шаг 1:** Смесь соединения **9** (0,13 г, 0,26 ммоль), 4-нитрофенола (**10-5**, 72 мг, 0,52 ммоль) и карбоната калия (72 мг, 0,52 ммоль) в ацетоне (10 мл) кипятили с обратным холодильником (60°C) в течение ночи. После фильтрации для удаления твердых веществ фильтрат концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией (0-1% метанол в метиленхлориде) с получением промежуточного нитро-соединения (0,11 г, выход 77%) в виде коричневого масла. Масса/заряд при ИЭР: 552 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (CDCl₃, 500 МГц) (с эпимерами) δ 8,23–8,15 (m, 2,4H), 7,26–7,23 (m, 1H), 6,97–6,91 (m, 2,4H), 6,31–6,28 (m, 1H), 6,05–6,04 (m, 1H), 5,22–5,18 (m, 1,4H), 5,10–5,07 (m,

0,6H), 4,93 (д, $J = 5,0$ Гц, 0,6H), 4,83–4,77 (м, 1H), 4,67 (д, $J = 5,0$ Гц, 0,6H), 4,56–4,53 (м, 1H), 2,62–2,55 (м, 1H), 2,38–2,5 (м, 1H), 2,24–2,07 (м, 3H), 1,88–1,56 (м, 5H), 1,46–1,40 (м, 6H), 1,20–1,13 (м, 2H), 1,05–0,99 (м, 3H), 0,97–0,94 (м, 3H) м.д.

[0544] Шаг 2: Порошок железа (0,10 г, 1,9 ммоль) и хлорид аммония (0,10 г, 1,9 ммоль) одновременно добавляли к раствору промежуточного нитро-соединения (0,10 г, 0,19 ммоль) в объединенном растворе этанола (20 мл) и воды (2 мл). Суспензию перемешивали при 80°C в течение 2 часов и фильтровали через целит для удаления неорганических солей. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали препаратом преп-ВЭЖХ (метод В), получая соединение **(11-5R/S)** (50 мг, выход 50%) в виде белого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 522 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (MeOD_{d4}, 500 МГц) (с эписимерами) δ 7,47 (d, $J = 10,0$ Гц, 1H), 6,78–6,70 (m, 4H), 6,29–6,26 (m, 1H), 6,04 (br s, 1H), 5,25 (t, $J = 5,0$ Гц, 0,4H), 5,20 (d, $J = 7,0$ Гц, 0,4H), 5,06 (d, $J = 18,0$ Гц, 0,4H), 4,98 (d, $J = 18,0$ Гц, 0,6H), 4,90–4,87 (m, 0,6 H), 4,75–4,66 (m, 1,6H), 4,46–4,44 (m, 1H), 2,71–2,64 (m, 1H), 2,42–2,38 (m, 1H), 2,28–2,18 (m, 2H), 2,06–2,00 (m, 1H), 1,87–1,83 (m, 1H), 1,76–1,73 (m, 1H), 1,69–1,61 (m, 3H), 1,55–1,38 (m, 3H), 1,51 (s, 3H), 1,20–1,02 (m, 3H), 0,98–0,92 (m, 5H) чнм.

[0545] Смесь двух эписимеров соединения **11-5R** и соединения **11-5S** из Таблицы 1 (0,30 г, 0,58 ммоль) выделяли хиральным ВЭЖХ (прибор: Гилсон-281, колонка: OZ-H 20 * 250 мм, 10 мкм (Dacel), используя подвижную фазу: гексан (0,1% DEA)/этанол (0,1% DEA) = 70/30 при скорости потока 60 мл/мин, определенной при 214 нм. Полученный раствор концентрировали с отдельным получением соединения **11-5S** (30 мг, 10% выход) и соединения **11-5R** (50 мг, 17% выход) в виде белого твердого вещества. Структуры соединения **11-5S** и соединения **11-5R** определили методом 2D-NOESY.

[0546] (1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-8-[2-(4-Аминофенокси)ацетил]-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (**11-5S**): Первый пик оп ВЭЖХ; Масса/заряд при ЯМР: 522 (M+H)⁺. Время выдержки при ВЭЖХ (метод А): 7,54 минут; хиральная СКФХ(СC4): Время выдержки 4,71 минут, 99,5d.e.%; ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,21 (d, $J = 10,1$ Гц, 1H), 6,77 (d, $J = 8,8$ Гц, 2H), 6,63 (d, $J = 8,8$ Гц, 2H), 6,24 (dd, $J = 10,1, 1,6$ Гц, 1H), 6,02 (s, 1H), 5,20 (d, $J = 6,8$ Гц, 1H), 5,18 (t, $J = 4,8$ Гц, 1H), 4,99 (d, $J = -17,9$ Гц, 1H), 4,61 (d, $J = -17,9$ Гц, 1H), 4,43 (s, 1H), 3,46 (s, 2H), 2,57 (td, $J = 13,2, 4,4$ Гц, 1H), 2,34 (dd, $J = 13,4, 3,2$ Гц, 1H), 2,16–2,01 (m, 4H), 1,85–1,68 (m, 3H), 1,59–1,49 (m, 3H), 1,44 (s, 3H), 1,44–1,26 (m, 2H), 1,18–1,09 (2H), 1,00 (s, 3H), 0,91 (t, $J = 7,3$ Гц, 3H) чнм, ¹³C ЯМР (100 МГц, CDCl₃) δ 204,0, 186,7, 170,0, 156,3, 151,4, 141,0, 127,9,

122,6, 116,5, 116,4, 108,4, 98,6, 83,2, 72,6, 69,8, 55,3, 53,0, 47,2, 44,2, 41,5, 37,3, 34,1, 33,0, 32,0, 31,1, 21,2, 17,9, 17,7, 14,1 чнм.

[0547] (1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-8-[2-(4-Аминофенокси)ацетил]-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (**11-5R**): Второй пик на ВЭЖХ; Масса/заряд при ЯМР: 522 (M+H)⁺; Время выдержки при ВЭЖХ (метод А): 7,58 минут; хиральная СКФХ (CC4): Время выдержки 3,80 минут, 98,1 d.e.%; ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,23 (d, *J* = 10,1 Гц, 1H), 6,79 (dd, *J* = 8,8 Гц, 2H), 6,65 (d, *J* = 8,8 Гц, 2H), 6,27 (dd, *J* = 10,1, 1,7 Гц, 1H), 6,04 (s, 1H), 4,94 (d, *J* = 4,4 Гц, 1H), 4,89 (d, *J* = -18,0 Гц, 1H), 4,65 (d, *J* = -18,0 Гц, 1H), 4,61 (t, *J* = 4,4 Гц, 1H), 4,48 (d, *J* = 2,1 Гц, 1H), 3,51 (s, 2H), 2,58 (td, *J* = 13,3, 4,9 Гц, 1H), 2,35 (dd, *J* = 13,4, 2,8 Гц, 1H), 2,23-1,99 (m, 4H), 1,79-1,61 (m, 6H), 1,46-1,38 (m, 2H), 1,44 (s, 3H), 1,23-1,09 (m, 2H), 0,95 (s, 3H), 0,93 (t, *J* = 7,3 Гц, 3H) чнм, ¹³C ЯМР (101 МГц, CDCl₃) δ 204,9, 186,6, 170,0, 156,2, 151,2, 141,0, 127,9, 122,5, 116,3, 116,3, 104,5, 97,6, 81,9, 72,6, 69,9, 55,1, 49,8, 45,7, 44,0, 41,1, 35,0, 34,0, 33,3, 31,9, 30,3, 21,1, 17,5, 17,1, 14,0 чнм.

ПРИМЕР 13

[0548] Данный пример демонстрирует метод получения соединения **11-5S** и (**11-5R**) в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 2.

[0549] Соединение **9R** получали из (*R*)-будесонида, а соединение **9S** получали из (*S*)-будесонида, соответственно, согласно **Общей процедуре А** в ПРИМЕРЕ 9. Применяя способ, который описан в ПРИМЕРЕ 12, соединение (**11-5S**) получали в результате реакции соединения (**9S**) с соединением (**10-12**), а соединение (**11-5R**) получали из реакции соединения (**9R**) с соединением (**10-9**) соответственно. Репрезентативная процедура следующая. К раствору соединения (**9R**) или соединения (**9S**) (100 мг) в ацетоне (10 мл) одновременно добавляли соединение **10-9** (2 экв.) и Cs₂CO₃ (2 экв.). Смесь кипятили с обратным холодильником в течение 2 часов и неочищенный продукт обрабатывали удалением ацетона в вакууме, экстрагированием неочищенного вещества с помощью этилацетата, промывкой неорганических солей водой и очисткой полученного продукта хроматографией (0-50% этилацетат в петролейном эфире) с получением соединения **11-5R** или соединения **11-5S** (выход 25-60%) в виде бледно-желтого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 522 (M+H)⁺. *Анал.* ВЭЖХ: 98%. Спектры 2D-NOESY соединения **11-5R** и соединения **11-5S** показаны на ФИГ.7 и 8.

ПРИМЕР 14

[0550] Данный пример демонстрирует метод получения соединения **11-6S** и **11-6R** из Таблицы 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 2.

[0551] (1*S*,2*S*,4*R*,6*S*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-8-[2-(4-Амино-3-фторфенокси)ацетил]-11-гидроксил-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (**11-6S**) и (1*S*,2*S*,4*R*,6*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-8-[2-(4-Амино-3-фторфенокси)ацетил]-11-гидроксил-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (**11-6R**).

[0552] Соединения рацемической смеси **11-6R/S** готовили в соответствии со способом, описанным в Примере 12. Рацемические продукты разделяли хиральной СКФХ (см. подробно в Разделе 2.3) с получением соединения **11-6S** (второй пик) и соединения **11-6R** (первый пик) в виде желтоватого твердого вещества.

[0553] Соединение **11-6S** (30 мг, выход 7,9%). Масса/заряд при ЯМР: 540,2 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ 7,32 (d, *J* = 10,1 Гц, 1H), 6,71–6,62 (m, 2H), 6,49 (dd, *J* = 8,5, 2,0 Гц, 1H), 6,19–6,16 (m, 1H), 5,93 (s, 1H), 5,21 (t, *J* = 4,8 Гц, 1H), 5,10 (d, *J* = 7,3 Гц, 1H), 5,02 (d, *J* = 18,1 Гц, 1H), 4,69 (dd, *J* = 58,9, 28,6 Гц, 4H), 4,31 (s, 1H), 2,56–2,51 (m, 1H), 2,29 (d, *J* = 10,6 Гц, 1H), 2,06–1,97 (m, 3H), 1,89 (s, 2H), 1,79–1,72 (m, 1H), 1,30 (m, 10H), 0,88–0,85 (m, 6H) чнм. Время выдержки: 2,94 min, 98% при хиральной СКФХ (AD). *Анал.* ВЭЖХ: > 96,94%, Время выдержки: 7,94 минут (метод Б).

[0554] Соединение **11-6R** (28 мг, выход 7,4%). Масса/заряд при ЯМР: 540,3 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ 7,32 (d, *J* = 10,1 Гц, 1H), 6,72–6,68 (m, 2H), 6,52 (dd, *J* = 8,6, 2,1 Гц, 1H), 6,18 (d, *J* = 10,1 Гц, 1H), 5,93 (s, 1H), 5,01 (d, *J* = 18,3 Гц, 1H), 4,77 (dd, *J* = 12,9, 3,3 Гц, 2H), 4,71 (s, 2H), 4,65 (t, *J* = 4,3 Гц, 1H), 4,32 (s, 1H), 3,17 (d, *J* = 5,2 Гц, 1H), 2,57–2,51 (m, 1H), 2,30 (d, *J* = 10,5 Гц, 1H), 2,10 (d, *J* = 7,2 Гц, 1H), 2,01–1,99 (m, 1H), 1,84 (s, 2H), 1,62–1,52 (m, 5H), 1,39–1,33 (m, 5H), 1,23 (s, 1H), 1,02–0,95 (m, 2H), 0,87 (t, *J* = 7,4 Гц, 3H), 0,83 (s, 3H) чнм. Время выдержки: 2,25 минут, 100% при хиральной СКФХ (AD). *Анал.* ВЭЖХ: > 98,50%, Время выдержки: 8,01 минут (метод Б).

ПРИМЕР 15

[0555] Данный пример демонстрирует метод получения соединения **11-7R** в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 2.

[0556] (1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-8-[2-(4-Амино-3-фторфенокси)ацетил]-11-гидроксил-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (**11-7S** и **11-7R**)

[0557] Рацемическую смесь стероидов **11-7-22R/S** готовили в соответствии со способом, описанным в ПРИМЕРЕ 12. Рацемические продукты разделяли хиральной СКФХ (см. подробно в разделе 2.3), получая соединение **11-7S** (второе пик) и соединение **11-7R** (первый пик).

[0558] Соединения **11-7R**: Масса/заряд при ЯМР: 540,2 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 7,25 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 6,87 (dt, J = 15,5, 7,7 Гц, 1H), 6,47 (dd, J = 12,8, 2,4 Гц, 1H), 6,37 (d, J = 8,7 Гц, 1H), 6,29 (dd, J = 9,9, 4,4 Гц, 1H), 6,04 (s, 1H), 5,22–4,49 (m, 5H), 3,61 (s, 2H), 2,58 (td, J = 13,5, 4,9 Гц, 1H), 2,36 (d, J = 10,3 Гц, 1H), 2,19–2,03 (m, 3H), 1,87–1,72 (m, 2H), 1,67–1,55 (m, 3H), 1,51–1,33 (m, 7H), 1,21–1,11 (m, 2H), 1,00–0,90 (m, 6H), *Анал.* ВЭЖХ: > 62,24%, 36,49%, Время выдержки: 7,78, 7,86 минут (метод Б).

ПРИМЕР 16

[0559] Данный пример демонстрирует метод получения соединения **11-8R** в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 2.

[0560] (1*S*,2*S*,4*R*,6*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-Гидроксил-9,13-диметил-8-{2-[4-(метиламино)фенокс]ацетил}-6-пропил-5,7-диоксапентацикло-[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (**11-8R**)

[0561] Стероид **11-8** получали в соответствии с методом, изложенным в ПРИМЕРЕ 13.

[0562] Соединения (**11-8R**) получали в виде твердого вещества белого цвета (14 мг, выход 54%). Масса/заряд при ЯМР: 525,3 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, MeOD_{d4}) δ 7,47 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 6,83–6,80 (m, 2H), 6,65–6,62 (m, 2H), 6,28 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,04 (s, 1H), 4,99 (d, J = 18,2 Гц, 1H), 4,90 (d, J = 4,8 Гц, 1H), 4,74 (d, J = 18,1 Гц, 1H), 4,66 (t, J = 4,5 Гц, 1H), 4,46 (d, J = 3,0 Гц, 1H), 2,75 (s, 3H), 2,67 (td, J = 13,6, 5,2 Гц, 1H), 2,40 (dd, J = 13,5, 2,7 Гц, 1H), 2,30–2,22 (m, 1H), 2,16–2,12 (m, 1H), 2,02 (dd, J = 13,7, 3,3 Гц, 1H), 1,85 (dd, J = 13,7, 2,6 Гц, 1H), 1,76 (d, J = 6,9 Гц, 1H), 1,67–1,63 (m, 4H), 1,51 (s, 3H), 1,48–1,44 (m, 2H), 1,17–1,08 (m, 1H), 1,05 (dd, J = 11,2, 3,5 Гц, 1H), 0,98–0,94 (m, 6H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 100%, Время выдержки: 7,56 минут (метод А).

ПРИМЕР 17

[0563] Данный пример демонстрирует метод получения соединения (**11-10R/S**), в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 2.

[0564] (1*S*,2*S*,4*R*,6*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-8-[2-(4-Фторфенокс)ацетил]-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло-[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (**11-10R/S**).

[0565] Стероиды **11-10R/S** получали в соответствии с методом, изложенным в ПРИМЕРЕ 13.

[0566] Соединения **11-10R/S** получали в виде твердого вещества белого цвета (14 мг, выход 54%). Масса/заряд при ЯМР: 525,2 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, MeOD_{d4}) δ 7,47 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,02 (t, J = 8,7 Гц, 2H), 6,94–6,90 (m, 2H), 6,27 (dd, J = 10,1, 1,8 Гц, 1H), 6,03 (s, 1H), 5,06 (d, J = 18,1 Гц, 1H), 4,90–4,88 (m, 1H), 4,82 (d, J = 18,1 Гц, 1H), 4,69 (t, J = 4,4 Гц, 1H), 4,46 (d, J = 2,8 Гц, 1H), 2,71–2,63 (m, 1H), 2,42–2,38 (m, 1H), 2,30–2,11 (m, 2H), 2,05–2,01 (m, 1H), 1,89–1,84 (m, 1H), 1,77–1,63 (m, 5H), 1,51–1,41 (m, 5H), 1,18–1,02 (m, 2H), 0,97–0,93 (m, 6H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 100%, Время выдержки: 9,94 минут (метод А).

ПРИМЕР 18

[0567] Данный пример демонстрирует метод получения соединения **11-11R/S** в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 2.

[0568] *N*-(4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,6*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-Гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]}икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)ацетамид (**11-11R/S**)

[0569] Стероиды **11-11R/S** получали в соответствии с методом, изложенным в ПРИМЕРЕ 13.

[0570] Соединения **11-11R/S** получали в виде твердого вещества белого цвета (25 мг, выход 46%). Масса/заряд при ЯМР: 564,3 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, MeOD_{d4}) δ 7,49–7,45 (m, 3H), 6,89 (d, J = 9,0 Гц, 2H), 6,28 (d, J = 10,2 Гц, 1H), 6,04 (s, 1H), 5,09 (d, J = 18,1 Гц, 1H), 4,91–4,89 (m, 1H), 4,83 (d, J = 18,1 Гц, 1H), 4,70 (t, J = 4,3 Гц, 1H), 4,47 (d, J = 3 Гц, 1H), 2,72–2,65 (m, 1H), 2,43–2,39 (m, 1H), 2,30–2,22 (m, 1H), 2,18–2,12 (m, 4H), 2,06–2,03 (m, 1H), 1,90–1,86 (m, 1H), 1,77–1,65 (m, 5H), 1,48 (m, 5H), 1,18–1,09 (m, 1H), 1,07–1,04 (m, 1H), 0,99–0,95 (m, 6H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 100%, Время выдержки: 7,33 минут (метод Б).

ПРИМЕР 19

[0571] Данный пример демонстрирует метод получения соединения **11-12R/S** в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 2.

[0572] (1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-8-[2-(4-Аминофенокси)ацетил]-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]}икоса-14,17-диен-16-он (**11-12R/S**)

[0573] **Шаг 1:** Соединение (**9B**) получали в соответствии с **общей процедурой А** в ПРИМЕРЕ 9. К раствору (6*S*,9*R*)2F-будесонида (80 мг, 0,17 ммоль) в дихлорметане (1 мл) по каплям добавляли триэтиламин (34 мг, 0,34 ммоль) и метансульфонилхлорид (30 мг, 0,26

ммоль) при 0°C. Смесь перемешивали при этой температуре в течение получаса до тех пор, пока (6S,9R)2F-будесонид не израсходовался, что контролировали с помощью ТСХ. Затем реакционную смесь разбавляли дихлорметаном (100 мл) и гасили насыщенным водным раствором хлорида аммония (30 мл). Органический раствор промывали насыщенным водным раствором хлорида аммония и рассолом, сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали флэш-хроматографией (0-2% MeOH в дихлорметане), получая соответствующий мезилатный продукт (**9B**).

[0574] **Шаг 2:** Соединение **9B** растворяли в ацетоне (0,5 мл). К раствору добавляли 4-аминофенол (**10-9**, 37 мг, 0,34 ммоль) и карбонат цезия (0,11 г, 0,34 ммоль). Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 1,5 часов или до полного расходования (**9B**) в соответствии с ТСХ и ЖХМС. Затем смесь разбавляли этилацетатом и фильтровали. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали препаратом преп-ВЭЖХ (метод В), получая соединения **11-12R/S** (6,0 мг, выход 6,3% из (6S,9R)2F-будесонида) в виде белого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 558 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, MeOD_{d4}) δ 7,34 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 6,78–6,71 (m, 4H), 6,37–6,33 (m, 2H), 5,63–5,49 (m, 1H), 5,10–4,99 (m, 1H), 4,77–4,63 (m, 2H), 4,33 (d, J = 9,1 Гц, 1H), 2,74–2,57 (m, 1H), 2,39–2,13 (m, 3H), 1,98–1,31 (m, 12H), 1,03–0,93 (m, 6H) чнм. Анал. ВЭЖХ: чистота 97,4%, Время выдержки: 7,55 минут (метод Б).

[0575] (1S,2S,4R,6R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-8-[2-(4-Аминофеноксид)ацетил]-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (**11-12R**)

[0576] Соединение **9BR** получали в соответствии с **общей процедурой А** в Примере 9. В результате реакции соединения **9BR** (0,90 г, 1,7 ммоль) с 4-аминофенолом (0,20 г, 1,8 ммоль) и карбонатом цезия (1,1 г, 3,4 ммоль) в ацетонитриле (20 мл) получали (**11-12R**) (0,20 г, выход 54%) в виде желтого масла после очистки колоночной хроматографией на силикагеле (50-80% этилацетат в петролейном эфире). Масса/заряд при ЯМР: 558 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ 7,26 (d, J = 10,5 Гц, 1H), 6,64 (d, J = 5,0 Гц, 2H), 6,50 (d, J = 5,0 Гц, 2H), 6,30 (dd, J = 10 Гц, 2 Гц, 1H), 6,11 (s, 1H), 5,72-5,65 (m, 0,5H), 5,62-5,55 (m, 0,5H), 5,52-5,48 (m, 1H), 5,0 (s, 0,5H), 4,95 (s, 0,5H), 4,80-4,78 (m, 1H), 4,75-4,65 (m, 1H), 4,24-4,16 (m, 1H), 2,70-2,52 (m, 1H), 2,30-2,21 (m, 1H), 2,11-2,00 (m, 2H), 1,77 (d, J = 13,0 Гц, 1H), 1,61-1,54 (m, 4H), 1,49 (s, 3H), 1,36 (q, J = 7,5 Гц, 3H), 1,23 (s, 1H), 0,87 (d, J = 7,5 Гц, 3H), 0,83 (s, 3H) чнм. Анал. ВЭЖХ: 100%, время выдержки: 8,44 минут (метод Б).

ПРИМЕР 20

[0577] Данный пример демонстрирует метод получения соединения **11-13R** в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 2.

[0578] (1S,2S,4R,6R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-8-[2-(3-Аминофенокси)ацетил]-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (**11-13R**).

[0579] Стероид **11-13R** получали по методу, изложенному в ПРИМЕРЕ 19.

[0580] Соединение (**11-13R**) получали в виде светло-оранжевой жидкости (9.0 мг, выход 44%) после очищения преп-ВЭЖХ (метод А). Масса/заряд при ЯМР: 558 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, MeOD_{dd}) δ 7,35 (dd, J = 10,1, 1,3 Гц, 1H), 7,29 (t, J = 8,1 Гц, 1H), 6,76-6,70 (m, 3H), 6,40-6,29 (m, 2H), 5,66-5,48 (m, 1H), 5,14 (d, J = 18,1 Гц, 1H), 4,93-4,91 (m, 1H), 4,90-4,87 (m, 1H), 4,77 (t, J = 4,3 Гц, 1H), 4,35 (d, J = 9,3 Гц, 1H), 2,76-2,62 (m, 1H), 2,41-2,18 (m, 3H), 1,83-1,56 (m, 9H), 1,50 (dt, J = 15,4, 7,6 Гц, 2H), 0,99-0,96 (m, 6H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 100%, Время выдержки: 7,77 минут (метод А).

ПРИМЕР 21

[0581] Данный пример демонстрирует метод получения соединения **11-14R/S** в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 2.

[0582] (1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-8-[2-(4-Амино-3-фторфенокси)ацетил]-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (**11-14R/S**).

[0583] К раствору (**9B**) (0,20 г, 0,37 ммоль) в ДМСО (3 мл) добавляли 4-амино-3-фторфенол (10-14, 0,25 г, 2,0 ммоль) и гидроксид калия (0,11 г, 2,0 ммоль) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при 60°C в течение часа под защитой азота до тех пор, пока реакция не завершилась, что контролировали с помощью ТСХ и ЖХМС. После охлаждения до комнатной температуры и фильтрования через мембрану реакционный раствор напрямую очищали препаратом Преп-ВЭЖХ (метод А) с получением соединения **11-14R/S** (40 мг, выход 19%) в виде желтоватого белого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 576 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, MeOD_{dd}) δ 7,40-7,31 (m, 1H), 7,20 (td, J = 9,1, 1,9 Гц, 1H), 6,91-6,84 (m, 1H), 6,80-6,76 (m, 1H), 6,40-6,30 (m, 2H), 5,57 (ddd, J = 48,6, 9,7, 6,8 Гц, 1H), 5,15 (d, J = 18,1 Гц, 1H), 4,90-4,79 (m, 2H), 4,75 (t, J = 4,3 Гц, 1H), 4,41-4,28 (m, 1H), 2,78-2,57 (m, 1H), 2,40-2,12 (m, 3H), 1,98-1,39 (m, 11H), 1,07-0,92 (m, 6H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 100%, Время выдержки: 8,10 минут (метод А).

ПРИМЕР 22

[0584] Данный пример демонстрирует метод получения соединения **11-15R/S** в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 2.

[0585] Трет-бутил *N*-[(4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-Дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]*икоса*-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)метил]карбамат (*N*-Вос-**11-15R/S**).

[0586] **Шаг 1:** К раствору 4-(аминометил)фенола (1,2 г, 10 ммоль) в метаноле (70 мл) и воде (5 мл) по каплям добавляли Woc_2O (2,4 г, 11 ммоль) с помощью шприца при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение часа до полного расходования 4-(аминометил)фенола, что контролировали с помощью ТСХ и ЖХМС. Летучие вещества удаляли в вакууме и остаток растворяли в этилацетате (150 мл). Раствор промывали насыщенным водным раствором лимонной кислоты (50 мл x 2) и рассолом, сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме, получая *N*-Вос-4-аминометилфенол (2,1 г, выход 94%) в виде коричневого масла. Масса/заряд при ЯМР: 246 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ 7,12 (d, $J = 7,8$ Гц, 2H), 6,82-6,71 (m, 2H), 4,84 (s, 1H), 4,23 (d, $J = 5,3$ Гц, 2H), 1,46 (s, 9H) чнм.

[0587] **Шаг 2:** Соединение (*N*-Вос-**11-15R/S**) получали по методу, изложенному в ПРИМЕРЕ 19.

[0588] (1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-8-{2-[4-(Аминометил)фенокси]ацетил}-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]*икоса*-14,17-диен-16-он (**11-15R/S**).

[0589] К раствору (*N*-Вос-**11-15R/S**) (30 мг, 45 мкмоль) в DCM (2 мл) по каплям добавляли TFA (0,4 мл) с помощью шприца при 0°C. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение часа до полного удаления Woc , что контролировали с помощью ЖХМС. Летучие вещества удаляли в вакууме и остаток очищали препаратом преп-ВЭЖХ (метод А), получая соединение (**11-15R/S**) (15 мг, выход 49%) в виде белого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 572 ($\text{M}+\text{H}$)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, MeOD_{d4}) δ 7,45-7,32 (m, 3H), 7,01-6,96 (m, 2H), 6,41-6,30 (m, 2H), 5,57 (ddd, $J = 18,2, 10,4, 7,3$ Гц, 1H), 5,21 (dd, $J = 19,7$ Гц, 1H), 4,93-4,91 (m, 1H), 4,85 (d, $J = 18,0$ Гц, 1H), 4,77 (t, $J = 4,3$ Гц, 1H), 4,37-4,32 (m, 1H), 4,07 (s, 2H), 2,75-2,58 (m, 1H), 2,40-2,15 (m, 3H), 1,86-1,40 (m, 11H), 1,08-0,92 (m, 6H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 100%, время выдержки: 7,47 минут (метод А).

ПРИМЕР 23

[0590] Данный пример демонстрирует метод получения соединения **11-16R/S** в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 2.

[0591] (1S,2S,4R,6R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-Гидрокси-8-[2-(4-гидроксифенокси)ацетил]-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (**11-16R/S**)

[0592] Соединения **11-16R/S** получали по методу, изложенному в ПРИМЕРЕ 12.

[0593] Соединения **11-16R/S** (20 мг, выход 38%) получали в виде твердого вещества светло-коричневого цвета после очищения преп-ВЭЖХ (метод А). Масса/заряд при ЯМР: 523.2 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, MeOD_{d4}) δ 7,47 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 6,82-6,77 (m, 2H), 6,75-6,70 (m, 2H), 6,28 (dd, J = 10,1, 1,8 Гц, 1H), 6,04 (s, 1H), 5,00 (d, J = 18,1 Гц, 1H), 4,91-4,89 (m, 1H), 4,75 (d, J = 18,1 Гц, 1H), 4,67 (t, J = 4,5 Гц, 1H), 4,46 (d, J = 3,1 Гц, 1H), 2,68 (td, J = 13,6, 5,8 Гц, 1H), 2,40 (dd, J = 13,5, 2,8 Гц, 1H), 2,31-2,21 (m, 1H), 2,17-2,13 (m, 1H), 2,02 (dd, J = 13,7, 3,3 Гц, 1H), 1,86 (dd, J = 13,7, 2,6 Гц, 1H), 1,80-1,58 (m, 5H), 1,53-1,40 (m, 5H), 1,18-0,93 (m, 8H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 100%, Время выдержки: 8,92 минут (метод А).

ПРИМЕР 24

[0594] Данный пример демонстрирует метод получения соединения **11-17R/S** в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 2.

[0595] (1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-8-{2-[(6-Аминопиридин-2-ил)окси]ацетил}-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (**11-17R/S**).

[0596] Соединения **11-17R/S** получали по методу, изложенному в ПРИМЕРЕ Example 19.

[0597] Соединения (**11-17R/S**) (50 мг, выход 24%) получали в виде белого твердого вещества после очищения флэш-хроматографией (10-50% этилацетата в петролейном эфире). ИЭР: 559 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO_{d6}) δ 7,35-7,31 (m, 2H), 6,31 (d, J = 11,5 Гц, 1H), 6,13 (s, 1H), 6,03 (d, J = 8,0 Гц, 1H), 5,98 (d, J = 7,5 Гц, 1H), 5,84-5,82 (m, 1H), 5,68-5,56 (m, 3H), 5,25-4,72 (m, 4H), 4,29 (br s, 1H), 2,66-2,57 (m, 1H), 2,28-2,05 (m, 4H), 1,63-1,58 (m, 4H), 1,50-1,30 (m, 6H), 0,95-0,87 (m, 6H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 100%, Время выдержки: 8,65 минут (метод А).

ПРИМЕР 25

[0598] Данный пример демонстрирует метод получения соединения **11-19** в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 2.

[0599] (1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-8-(2-Азидоацетил)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (**11-19**).

[0600] Шаг 1: Суспензию соединения **9B** (1,0 г, 1,8 ммоль), азид натрия (1,2 г, 18 ммоль) в ацетоне (15 мл) перемешивали при 50°C в течение ночи до завершения реакции в соответствии с ЖХМС. После охлаждения реакционную смесь выливали в холодную воду (80 мл). Водную смесь экстрагировали этилацетатом (50 мл x 3). Объединенный органический раствор промывали рассолом (30 мл), сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме, получая неочищенное соединение - азидо-предшественник (**11-19R/S**) (0,90 г, выход > 99%) в виде твердого вещества желтого цвета, которое использовали для следующего шага без дальнейшей очистки. Масса/заряд при ЯМР: 492 (M+H)⁺.

[0601] (1*S*,2*S*,4*R*,6*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-8-(2-Аминоацетил)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он; соль трифторуксусной кислоты (**11-19R/S**).

[0602] Шаг 2: К раствору предшественника соединений **11-19R/S** (0,85 г, 1,7 ммоль) в ТГФ (20 мл) добавляли водный раствор гидрохлорида (1 н., 10 мл). Смесь перемешивали при 28-32°C до тех пор, пока она не становилась прозрачной, затем к ней добавляли трифенилфосфин (0,68 г, 2,6 ммоль) при этой температуре. Полученный желтый прозрачный раствор перемешивали при 28-32°C в течение 18 часов до завершения реакции в соответствии с ТСХ и ЖХМС. Смесь концентрировали в вакууме, остаток очищали флэш-хроматографией с обращенной фазой (0-50% ацетонитрила в водной TFA (0,05%)), получая соединения **11-19R/S** (0,56 г, выход 57%, соль TFA) в виде желтоватого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 466 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, MeOD_{d4}) δ 7,33 (d, J = 9,9 Гц, 1H), 6,40-6,29 (m, 2H), 5,69-5,45 (m, 1H), 4,93-4,92 (m, 1H), 4,71 (t, J = 4,3 Гц, 1H), 4,35-4,27 (m, 2H), 3,90-3,84 (m, 1H), 2,81-2,54 (m, 1H), 2,42-2,06 (m, 3H), 1,82-1,32 (m, 11H), 1,09-0,87 (m, 6H) чнм. ¹⁹F ЯМР (376 МГц, MeOD_{d4}) δ -77,01, -166,24, -166,92, -188,81, -188,83 чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 100%, Время выдержки: 6,86 минут (метод А).

[0603] (1*S*,2*S*,4*R*,6*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-8-(2-Аминоацетил)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он; соль трифторуксусной кислоты (**11-19R**)

[0604] Шаг 1: С использованием той же процедуры, которая описана выше, азидо-предшественник (**11-19R**) (0,12 г, выход 87%) получали из соединения (**9BR**) в виде белого твердого вещества после очистки флэш-хроматографией (0-50% этил ацетат в

петролейном эфире). Масса/заряд при ЯМР: 492 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ 7,10 (dd, J = 10,2, 1,3 Гц, 1H), 6,44 (s, 1H), 6,38 (dd, J = 10,2, 1,8 Гц, 1H), 5,48-5,31 (m, 1H), 4,92 (d, J = 5,4 Гц, 1H), 4,62 (t, J = 4,4 Гц, 1H), 4,43 (dd, J = 5,6, 2,7 Гц, 1H), 4,22 (d, J = 18,7 Гц, 1H), 3,94 (d, J = 18,7 Гц, 1H), 2,56-2,39 (m, 2H), 2,32-2,18 (m, 2H), 1,85-1,71 (m, 3H), 1,67-1,54 (m, 7H), 1,46-1,37 (m, 2H), 0,97-0,90 (m, 6H) чнм.

[0605] Шаг 2: С использованием той же процедуры, которая описана выше, соединение **11-19R** (30 мг, выход 66%) получали в виде белого твердого вещества после очистки преп-ВЭЖХ (метод А). Масса/заряд при ЯМР: 466 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, MeOD_{d4}) δ 7,34 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 6,40-6,30 (m, 2H), 5,65-5,46 (m, 1H), 4,94-4,91 (m, 1H), 4,72 (t, J = 4,3 Гц, 1H), 4,34-4,28 (m, 2H), 3,88 (d, J = 18,8 Гц, 1H), 2,78-2,60 (m, 1H), 2,39-2,34 (m, 1H), 2,33-2,18 (m, 2H), 1,77-1,54 (m, 9H), 1,53-1,40 (m, 2H), 0,99-0,95 (m, 6H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 100%, Время выдержки: 6,85 минут (метод А).

ПРИМЕР 26

[0606] Данный пример демонстрирует метод получения соединения **11-20R/S** в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 2.

[0607] (1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-Дифтор-11-гидрокси-8-(2-[(4-метоксифенил)метил](метил)амино}ацетил)-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он; трифторуксусная кислота (**11-20R/S**).

[0608] К раствору соединения **9B** (0,54 г, 1,0 ммоль) в ацетонитриле (10 мл) последовательно добавляли *N*-РМВ-метиламин (0,30 г, 2,0 ммоль) и карбонат калия (0,28 г, 2,0 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при 70°C в течение ночи. После охлаждения смесь разбавляли DCM и фильтровали. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали флэш-хроматографией (10-90% этил ацетат в петролейном эфире) с получением неочищенного соединения (**11-20R/S**) (0,20 г, выход 33%) в виде белого твердого вещества. Неочищенный продукт (30 мг) дополнительно очищали препаратом -ВЭЖХ (метод А) с получением чистого соединения (**11-20R/S**) в виде белого твердого вещества (12 мг, выход 13%). Масса/заряд при ЯМР: 600 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, MeOD_{d4}) δ 7,50-7,43 (m, 2H), 7,34 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,07 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 6,39-6,30 (m, 2H), 5,56 (ddd, J = 48,5, 10,7, 6,5 Гц, 1H), 5,24-5,21 (m, 1H), 4,94-4,92 (m, 1H), 4,64-4,53 (m, 1H), 4,38-4,16 (m, 4H), 3,86 (s, 3H), 2,92-2,91 (m, 3H), 2,76-2,56 (m, 1H), 2,39-2,31 (m, 1H), 2,28-2,09 (m, 2H), 1,97 (td, J = 13,2, 7,8 Гц, 1H), 1,78-1,23 (m, 10H), 1,08-0,88 (m, 6H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 100%, Время выдержки: 7,81 минут (метод А).

ПРИМЕР 27

[0609] Данный пример демонстрирует метод получения соединения **11-21R/S** в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 2.

[0610] (1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-Дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-8-[2-(метиламино)ацетил]-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он; трифторуксусная кислота (**11-21R/S**)

[0611] К соединениям **11-20R/S** (30 мг, 0,053 ммоль) в 4 мл флаконе с завинчивающейся крышкой добавляли 1-хлорэтилкарбонхлоридат (1 капля) и хлороформ (0,4 мл). Смесь перемешивали при 70°C в течение 2 часов до израсходования материала в соответствии ТСХ. После охлаждения до комнатной температуры к смеси добавляли метанол (1,5 мл). Смесь перемешивали при 70°C в течение 1 часа до завершения реакции, что контролировали с помощью ТСХ и ЖХМС. Летучие вещества удаляли в вакууме и остаток очищали препаратом преп-ВЭЖХ (метод А) с получением соединения **11-21R/S** (8,0 мг, выход 28%) в виде белого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 480 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, MeOD_{d4}) δ 7,34 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 6,41-6,26 (m, 2H), 5,56 (ddd, J = 48,7, 10,0, 6,8 Гц, 1H), 5,28 (t, J = 4,9 Гц, 1H), 5,23 (d, J = 7,4 Гц, 1H), 4,47-4,41 (m, 1H), 4,34-4,30 (m, 1H), 4,07-4,00 (m, 1H), 2,82-2,54 (m, 4H), 2,43-2,09 (m, 3H), 1,96 (td, J = 13,6, 7,9 Гц, 1H), 1,81-1,34 (m, 10H), 1,10-0,85 (m, 6H) чнм. ¹⁹F ЯМР (376 МГц, MeOD_{d4}) δ -76,96, -166,28, -166,95, -188,80, -188,83 чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 99%, Время выдержки: 6,97 минут (метод А).

ПРИМЕР 28

[0612] Данный пример демонстрирует метод получения соединения **14-2** в Таблице 1. Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 3.

[0613] (1R,2S,8S,10S,11S,13S,14R,15S,17S)-1,8-дифтор-17-гидрокси-2,13,15-триметил-14-[2-(метиламино)ацетил]-5-октотертацикло[8.7.0.0^{2,7}.0^{11,15}]гептадека-3,6-диен-14-ил пропаноат (**14-2**)

[0614] Синтез мезилата флуметазона (**12**) был опубликован в работе *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2015**, 25, 2837–2843, полное содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки для всех целей.

[0615] Раствор **12** (неочищенный 82 мг) в метиламине (2М раствор в ТГФ, 1,5 мл, 3000 ммоль) в герметичной пробирке перемешивали при комнатной температуре в течение ночи и затем нагревали при 60°C в течение 3 часов до завершения реакции. Раствор концентрировали в вакууме и остаток очищали преп-ВЭЖХ (0–80% ацетонитрила в воде с 10 ммоль NH₄HCO₃), получая соединение **14-2** (8 мг, выход 11% за две стадии) в виде белого

твёрдого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 480.2 (M+H). ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 400 МГц) δ 7,27–7,25 (d, J=10,4 Гц, 1H), 6,30–6,27 (dd, J=10,4, 2,0 Гц, 1 H), 6,10 (s, 1H), 5,73–5,56 (m, 1H), 5,43–5,32 (m, 2H), 4,62–4,42 (m, 1H), 4,25–4,18 (m, 1H), 4,15 (brs, 1H), 2,87 (s, 2H), 2,70 (s, 1H), 2,60–2,56 (m, 1H), 2,36–1,90 (m, 7H), 1,49–1,35 (m, 5H), 1,10–0,91 (m, 10H).

ПРИМЕР 29

[0616] Данный пример демонстрирует метод получения соединения **15-5** Table 1.

Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 3.

[0617] (1R,2S,8S,10S,11S,13R,14R,15S,17S)–14–[2–(4–Аминофенокси)ацетил]–1,8–дифтор–14,17–дигидрокси–2,13,15–триметилтетрацикло[8.7.0.0^{2,7}.0^{11,15}]гептадека–3,6–диен–5–он (**15-5**).

[0618] Шаг 1: Смесь соединений (**12**) (0,16 г, 0,33 ммоль), 4–нитрофенола (10–5, 92 мг, 0,67 ммоль) и карбоната калия (92 мг, 0,67 ммоль) в ацетоне (15 мл) кипятили с обратным холодильником (60°C) в течение 18 часов. После охлаждения до комнатной температуры летучие вещества удаляли в вакууме. Остаток очищали флэш-хроматографией (0–1% этилацетат в петролейном эфире) с получением промежуточного нитро-соединения (0,14 г, выход 79%) в виде белого твёрдого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 532 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ 8,20 (d, J = 9,0 Гц, 2H), 7,10 (d, J = 10,5 Гц, 1H), 6,94 (d, J = 9,0 Гц, 2H), 6,43 (br s, 1H), 6,39–6,37 (m, 1H), 5,45–5,32 (m, 1H), 5,26 (d, J = 18,0 Гц, 1H), 4,85 (d, J = 18,0 Гц, 1H), 4,43–4,40 (m, 1H), 3,21–3,16 (m, 1H), 2,60 (s, 1H), 2,52–2,40 (m, 2H), 2,30–2,20 (m, 2H), 2,06–1,99 (m, 1H), 1,86–1,68 (m, 3H), 1,53–1,48 (m, 2H), 1,09 (s, 3H), 0,99 (d, J = 7,0 Гц, 3H) чнм.

[0619] Шаг 2: К раствору промежуточного нитро-соединения (0,13 г, 0,25 ммоль) в объединённом растворе этанола (20 мл) и воды (2 мл) добавляли порошок железа (0,14 г, 2,5 ммоль), затем хлорид аммония (0,14 г, 2,5 ммоль). После перемешивания при 80°C в течение 2 часов суспензию охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через целит для удаления неорганических солей. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали препаратом преп-ВЭЖХ (метод В) с получением соединения **15-5** (90 мг, выход 70%) в виде белого твёрдого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 502 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (DMSO-d₆, 500 МГц) δ 7,27 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 6,59 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 6,49 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 6,31–6,28 (m, 1H), 6,11 (s, 1H), 5,77–5,57 (m, 1H), 5,42–5,39 (m, 1H), 5,22 (s, 1H), 5,07 (d, J = 18,5 Гц, 1H), 4,63 (s, 1 H), 4,59 (d, J = 18,5 Гц, 1H), 4,29–4,10 (m, 1H), 2,99–2,91 (m, 1H), 2,55–2,43 (m, 3H), 2,25–2,19 (m, 3H), 1,71–1,64 (m, 1H), 1,56–1,43 (m, 5H), 1,15–1,10 (m, 1H), 0,88 (s, 3H), 0,83 (d, J = 6,0 Гц, 3H) чнм.

ПРИМЕР 30

[0620] Данный пример демонстрирует метод получения соединения **16-5** в Таблице 1.

Данный пример относится к соединению, пронумерованному на ФИГ. 4.

[0621] (1*R*,2*S*,10*S*,11*S*,13*R*,14*R*,15*S*,17*S*)-14-[2-(4-Аминофенокс)ацетил]-1-фтор-14,17-дигидрокси-2,13,15-триметилтетрацикло[8.7.0.0^{2,7}.0^{11,15}]гептадека-3,6-диен-5-он (**16-5**).

[0622] Синтез мезилата дексаметазона (**13**) был описан в *J. Pharmacol.*, 172, 1360 (2015), полное содержание которого включено сюда в качестве ссылки для всех целей.

[0623] Смесь мезилата дексаметазона (**13**, 94 мг, 0,20 ммоль), 4-нитрофенола (10-5, 42 мг, 0,30 ммоль) и карбоната калия (55 мг, 0,40 ммоль) в ацетоне (10 мл) кипятили с обратным холодильником. (60°C) в течение 3 часов и затем концентрировали. Неочищенный продукт концентрировали в вакууме и затем напрямую очищали флэш-хроматографией (0-50% этил ацетат в петролейном эфире) с получением промежуточного нитро-соединения (0,10 г, выход 97%) в виде белого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 514 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (MeOD_{d4}, 400 МГц) δ 8,23 (d, J = 9,0 Гц, 2H), 7,43 (d, J = 10,5 Гц, 1H), 7,04 (d, J = 9,0 Гц, 2H), 6,31 (dd, J = 10,0 Гц, 2,0 Гц, 1H), 6,11 (br s, 1H), 5,41 (d, J = 18,0 Гц, 1H), 4,96 (d, J = 18,0 Гц, 1H), 4,34-4,30 (m, 1H), 3,13-3,06 (m, 1H), 2,79-2,72 (m, 1H), 2,57-2,41 (m, 3H), 2,32-2,26 (m, 1H), 1,94-1,90 (m, 1H), 1,82-1,75 (m, 1H), 1,62 (s, 3H), 1,62-1,53 (m, 2H), 1,28-1,23 (m, 1H), 1,07 (s, 3H), 0,92 (d, J = 7,0 Гц, 3 H) чнм.

[0624] К раствору промежуточного нитро-соединения (т.е. аналога NO₂ на ФИГ. 4, 60 мг, 0,12 ммоль) в объединенный раствор этанола (3 мл) и воды (0,5 мл) добавляли порошок железа (67 мг, 1,2 ммоль) и затем хлорид аммония (64 мг, 1,2 ммоль). После перемешивания при 80°C в течение 1,5 часов суспензию охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через целит для удаления неорганических солей. Фильтрат концентрировали в вакууме и остаток очищали препаратом преп-ВЭЖХ (метод В) с получением соединения **16-5** (20 мг, выход 35%) в виде белого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 484 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (MeOD_{d4}, 500 МГц) δ 7,42 (d, J = 10,5 Гц, 1H), 6,78-6,74 (m, 2H), 6,73-6,70 (m, 2H), 6,31 (dd, J = 10,0 Гц, 2,0 Гц, 1H), 6,10 (br s, 1H), 5,08 (d, J = 18,0 Гц, 1H), 4,71 (d, J = 18,0 Гц, 1H), 4,30-4,27 (m, 1H), 3,14-3,09 (m, 1H), 2,78-2,71 (m, 1H), 2,54-2,37 (m, 3H), 2,30-2,24 (m, 1H), 1,94-1,89 (m, 1H), 1,81-1,74 (m, 1H), 1,62 (s, 3H), 1,59-1,52 (m, 2H), 1,26-1,21 (m, 1H), 1,06 (s, 3H), 0,91 (d, J = 7,5 Гц, 3H) чнм.

ПРИМЕР 31

[0625] Этот пример демонстрирует методы для разделения стереоизомеров определенных раскрытых здесь соединений.

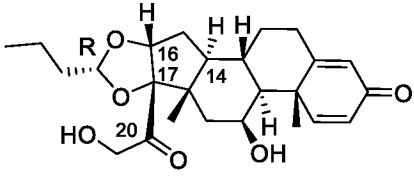
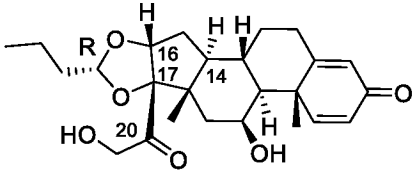
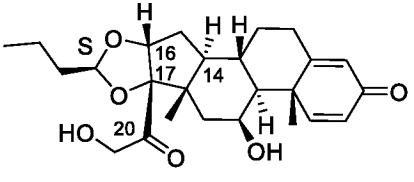
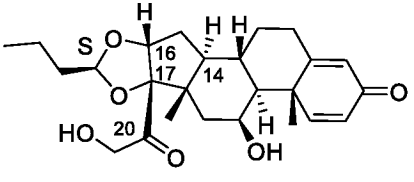
[0626] Технология СКЖХ (сверхкритическая жидкостная хроматография) использовалась для очистки низкомолекулярных соединений, которые являются термически лабильными, включая хиральные соединения. При СКЖХ использовали сверхкритическую жидкую двуокись углерода в качестве подвижной фазы и твердый адсорбент на основе органических полимеров в качестве неподвижной фазы. Основываясь на различном коэффициенте разделения эпимеров в двух фазах, смешанные эпимеры можно разделить, регулируя плотность подвижной фазы. Условия прибора и колонки описаны следующим образом: Прибор: СКЖХ – 80 (Thar, Waters), Колонка: AD 20 * 250 мм, 5 мкм (Decial), Температура колонки: 35°C, Подвижная фаза: CO₂/EtOH (1% Метанол Аммиак) = 65/35, скорость потока: 80 г/мин, противодавление: 100 бар, длина волны детектирования: 214 нм, время цикла: 4,5 мин, испытуемый раствор: 130 мг, растворенные в 30 мл метанола, объем впрыска: 1,5 мл. Используя хиральную колонку AD-H, отделяли 20 грамм 22*R/S*-будесонида, чтобы получить 8,9 грамм *R*-будесонида и 8,9 грамм *S*-будесонида с общим выходом восстановления 89%. Аналогичным образом два эпимера соединения 11-5*R/S* также разделяли по методу СКЖХ. Подробные условия разделения описаны ниже в Таблице 5.

ТАБЛИЦА 5: УСЛОВИЯ ХИРАЛЬНОГО АЗДЕЛЕНИЯ БУДЕСОНИДА И СОЕДИНЕНИЯ (11-5) В ТАБЛИЦЕ 1.

Соединение	Будесонид	11-5 <i>R/S</i>
Прибор	СКЖХ–200 (Thar, Waters)	СКЖХ–200 (Thar, Waters)
Колонка	AD–H 20*250 мм, 5 мкм (Dacel)	SC 20*250 мм, 5 мкм
Температура колонки	35°C	35°C
Подвижная фаза	CO ₂ /метанол (0,5% NH ₄ OH) = 70/30	CO ₂ /метанол (0,5% NH ₄ OH) = 60/40
Скорость потока	120 г/мин.	140 г/мин
Обратное давление	100 бар	100 бар
Длина волны детектирования	214 нм	214 нм
Время цикла	4,0 минуты	5,0 минут
Испытуемый раствор	20 г растворенные в 130 мл метанола	10 г растворенные в 130 мл метанола
Объем впрыска	1,0 мл	0,5 мл

[0627] Структуры 22*R/S*-будесонида определяли стереоспецифично с помощью 2D-NOESY. По сравнению с данными о 22*R/S*-будесониде, полученными методом протонной ЯМР, первое соединение из хиральной СКФХ было определено как *R*-эпимер, а второе - как *S*-эпимер. Конфигурация в позиции C²² влияет на магнитные резонансы соседних протонов. В *S*-спектре наблюдался двойной дублет с $J_{16\beta\text{H}-15\beta\text{H}} = 5,0$ Гц и $J_{16\beta\text{H}-15\alpha\text{H}} = 2,5$ Гц, что явилось следствием стерического отталкивания от 22-пропилового заместителя, дающего экранирование протона C¹⁶ в *S*-эпимере. Этот эффект не наблюдается в *R*-эпимере. Протон C²² в *S*-эпимере также сдвигается вниз по сравнению с протоном *R*-эпимера, что указывает на снижение защиты протона C²² в *S*-эпимере вследствие стерического отталкивания между заместителем 17 β -кетол и цепью 22 β -пропил в *S*-эпимере. Аналогичным образом, протон C²² в *R*-эпимере защищался эффектом анизотропии от группы C²⁰-карбонил в 22*R*-эпимере. Детали химических сдвигов описаны ниже в Таблице 6.

ТАБЛИЦА 6

Протоны в поз.	Химические сдвиги (чнм) в D-хлороформе			
				
1	Сообщенный <i>R</i> -эпимер	1-ое соединение по данным хиральной СКФХ	Сообщенный <i>S</i> -эпимер	2-ое соединение по данным хиральной СКФХ
C-1	7,26 (d, $J_{1,2} = 10,1$)	7,26 (d, $J_{1,2} = 10,1$)	7,23 (d, $J_{1,2} = 10,1$)	7,26 (d, $J_{1,2} = 10,0$)
C-2	6,27 (dd, $J_{1,2} = 10,1$, $J_{2,4} = 1,8$)	6,28 (dd, $J_{1,2} = 10,1$, $J_{2,4} = 1,7$)	6,27 (dd, $J_{1,2} = 10,1$, $J_{2,4} = 1,8$)	6,27 (dd, $J_{1,2} = 10,1$, $J_{2,4} = 1,7$)
C-4	6,03 (m)	6,03 (s)	6,02 (m)	6,02 (s)
C-11	4,4-4,6 (m)	4,42-4,60 (m)	4,50 (m)	4,50 (br s)
C-16	4,90 (dd, $J_{16\beta\text{H}-15\beta\text{H}} = 4,2$)	4,90 (d, $J_{16\beta\text{H}-15\beta\text{H}} = 4,4$)	5,16 (dd, $J_{16\beta\text{H}-15\beta\text{H}} = 5,0$, $J_{16\beta\text{H}-15\alpha\text{H}} = 2,5$)	5,23-5,11 (m)
C-18	0,92 (s)	0,92 (s)	0,99 (s)	0,99 (s)
C-19	1,45 (s)	1,44 (s)	1,45 (s)	1,46 (s)
C-21	4,50 (dd), 4,25 (dd) ($J_{21\text{H}, \text{H}'} = -20,2$, $J_{21\text{H}-21\text{OH}} = 4,8$)	4,50 (m), 4,26 (dd, $J_{21\text{H}, \text{H}'} = 20,1$, $J_{21\text{H}-21\text{OH}} = 4,3$)	4,60 (dd), 4,20 (dd) ($J_{21\text{H}, \text{H}'} = -20,2$, $J_{21\text{H}-21\text{OH}} = 4,8$)	4,62 (d), 4,21 (d) ($J_{21\text{H}, \text{H}'} = 19,9$)
C-22	4,55 (t, $J_{22,23} = 4,2$)	4,55 (t, $J_{22,23} = 4,6$)	5,16 (t, $J_{22,23} = 4,6$)	5,23-5,11 (m)
C-25	0,92 (t, $J_{24,25} = 6,7$)	0,92 (t, $J_{24,25} = 7,3$)	0,91 (t, $J_{24,25} = 7,3$)	0,91 (t, $J_{24,25} = 7,3$)

ПРИМЕР 32

[0628] Данный пример демонстрирует в целом способы получения линкеров и линкеров с полезной нагрузкой.

[0629] На ФИГ. 9 показаны три способа получения линкеров с полезной нагрузкой. На ФИГ. 9, R' означает стероидный амин или анилин; R'' означает алкин, содержащий фрагмент, например, фрагмент **A** или **B**, или малиемидный фрагмент, такой как **C**; R₁ означает аминокислотный остаток; P означает защитную группу, такую как Fmoc или Boc; n означает целое число от 0 до 11; m означает целое число от 2 до 4; p означает целое число от 0 до 5. При подходе I образуется амид (**23**) в результате реакции сочетания между стероидным амином или анилином (**21**, Q = NH или NR) и дипептидом (**22**), за которым следует N-удаление защиты. Амин (**23**) затем связывали с кислотой или ее активным эфиром (**24**), таким как **V-5**, **V-7**, **V** на ФИГ. 10, **VI-8** и **VI** на ФИГ. 11 и **VII** на ФИГ. 12, чтобы сгенерировать линкер с полезной нагрузкой (**25**). При подходе II образуется амид (**28**) в результате реакции сочетания кислоты или ее активного эфира (**26**) и VC-pAB (**27**) с последующей N-защитой. Соединение **28** затем преобразовывали в его производное PNP, которое далее реагировало с **21** с образованием карбаматного линкера с полезной нагрузкой (**29**). При подходе III образуется карбамат (**30**) из N-защищенного дипептида-pAB-PNP (**19**) и стероидного амина или анилина (**21**) с последующей N-защитой; аминный фрагмент в **30** затем соединяли с кислотой или ее активным эфиром (**26**) с образованием **29**.

ПРИМЕР 33

[0630] Данный пример демонстрирует способы получения линкера DIBAC-Suc-NHS (**V**). Следующий пример относится к ФИГ. 10.

[0631] См. методы в работе *J. Org. Chem.*, **2010**, *75*, 627–636, которая полностью включена сюда посредством ссылки для всех целей.

[0632] **Шаг 1:** N- [Трицикло[9.4.0.03,8]пентадека-1(11),3,5,7,9,12,14-гептаен-2-илиден] гидроксилламин (**V-2**): смесь дибензосуберенона (**V-1**) (21 г, 0,10 моль) и гидрохлорид гидроксилламина (9,3 г, 0,14 моль) в объединенном растворе абсолютного этанола (100 мл) и пиридина (200 мл) перемешивали и кипятили с обратным холодильником в течение 15 часов. ТСХ показала, что исходный материал был израсходован (ТСХ: 5% метанол в метиленхлориде). После охлаждения до температуры ниже 25°C реакционную смесь разбавляли метиленхлоридом (500 мл) и полученный раствор промывали водным раствором HCl (1 н., 3 × 200 мл) и затем рассолом (200 мл). Органический раствор сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме для получения неочищенного **V-2** (22 г,

выход 98% неочищенного продукта) в виде светло-коричневого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 222,1 (M+H)⁺.

[0633] Шаг 2: 2-Азатрицикло[10.4.0.0⁴⁻⁹]гексадека-1(16),4(9),5,7,10,12,14-гептен (**V-3**): К раствору оксима (**V-2**) (5,5 г, 25 ммоль) в сухом метиленхлориде (здесь также дихлорметан или DCM) (150 мл) при -5°C по каплям добавляли DIBAL-H (1 моль в толуоле, 250 мл) при поддержании температуры ниже -5°C. Реакционную смесь затем перемешивали при комнатной температуре в течение ночи и затем гасили раствором твердого фторида натрия (38 г, 0,90 моль) в воде (12 мл) при 0°C. Суспензию перемешивали при 0°C в течение еще 30 минут и фильтровали через целит. Целит тщательно промывали метиленхлоридом и объединенный органический раствор концентрировали в вакууме для получения **V-3** (4,6 г, выход 89%) в виде желтого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 222,1 (M+H)⁺.

[0634] Шаг 3: 4-[2-Азатрицикло[10.4.0.0⁴⁻⁹]гексадека-1(16),4(9),5,7,10,12,14-гептаен-2-ил]-4-оксобутановая кислота (**V-5**): К раствору (**V-3**) (5,0 г, 24 ммоль) в метиленхлориде (50 мл) добавляли DIPEA (3,1 г, 24 ммоль), затем янтарный ангидрид (**V-4**, 2,9 г, 29 ммоль). Затем смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 часов, гасили водным раствором бисульфата натрия (1 н., 100 мл) и экстрагировали метиленхлоридом (3 x 100 мл). Объединенный органический раствор промывали водой (100 мл), затем рассолом (100 мл), сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме, получая (**V-5**) (7,7 г, выход 95%) в виде твердого вещества белого цвета, которое использовали без дальнейшей очистки. Масса/заряд при ЯМР: 308,2 (M+H)⁺.

[0635] Шаг 4: 4-{10,11-дибромо-2-азатрицикло[10.4.0.0⁴⁻⁹]гексадека-1(16),4(9),5,7,12,14-гексаен-2-ил}-4-оксобутановая кислота (**V-6**): Раствор (**V-5**) (15 г, 49 ммоль) в метиленхлориде (200 мл) промывали азотом и охлаждали до 0°C. К раствору добавляли жидкий бром (23 г, 0,14 моль) по каплям при 0°C через шприц. Реакционную смесь перемешивали при заданной температуре в течение 2 часов, и ТСХ показала, что реакция завершилась (ТСХ: 10% метанол в метиленхлориде). Реакционную смесь разбавляли метиленхлоридом (50 мл) и оставляли нагреваться до комнатной температуры. Органический раствор промывали насыщенным (насыщенным) водным раствором сульфита натрия (3 x 50 мл), водой (50 мл), затем рассолом (50 мл), сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме для получения (**V-6**) (13 г, выход сырого продукта 99%) в виде желтоватого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 467,9 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 7,71 (d, J = 6,8 Гц, 1H), 7,25-7,01 (m, 6H), 6,94-6,88 (m, 1H), 5,90 (d, J

= 9,6 Гц, 1H), 5,84–5,79 (m, 1H), 5,25–5,25 (m, 1H), 4,24–4,10 (m, 1H), 2,87–2,80 (m, 1H), 2,68–2,47 (m, 3H) чнм.

[0636] Шаг 5: 4-{2-Азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(16),4(9),5,7,12,14-гексаен-10-ин-2-ил}-4- оксобутановая кислота (**V-7**): Раствор (**V-6**) (5,0 г, 11 ммоль) в безводном ТГФ (50 мл) охлаждали до -40°C на бане с сухим льдом/ацетонитрилом, к раствору добавляли раствор трет-бутанолата калия в тетрагидрофуране. (1H, 37 мл, 37 ммоль) по каплям в атмосфере аргона. Реакционную смесь перемешивали при этой температуре в течение получаса после добавления. ТСХ показала, что реакция завершилась (ТСХ: 10% метанол в метиленхлориде). Реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и гасили водным раствором бисульфата натрия (1 н.) до pH 1. Смесь экстрагировали метиленхлоридом (3 x 50 мл). Объединенный органический раствор промывали водой (50 мл), затем рассолом (50 мл), сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме для получения соединения (**V-7**) (2,7 г, выход 95%) в виде желтоватого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 306,1 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (DMSO_{d6}, 500 МГц): δ 11,98 (s, 1H), 7,67–7,29 (m, 8H), 5,02 (d, J = 13,5 Гц, 1H), 3,61 (d, J = 14,5 Гц, 1H), 2,61–2,56 (m, 1H), 2,32–2,27 (m, 1H), 2,21–2,16 (m, 1H), 1,80–1,76 (m, 1H) чнм.

[0637] Шаг 6: 4-{2-Азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4- оксобутановая кислота (**V**): К раствору кислоты (**V-7**) (50 мг, 0,16 ммоль) в метиленхлориде (10 мл) последовательно добавляли N – гидроксисукцинимид (HOSu, 28 мг, 0,24 ммоль) и N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимид гидрохлорид (EDCI, 47 мг, 0,24 ммоль). После перемешивания при комнатной температуре в течение ночи смесь промывали водой, затем рассолом, сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме для получения промежуточного соединения **V**, которое напрямую использовали для следующего шага. Масса/заряд при ЯМР: 403,0 (M+H)⁺.

ПРИМЕР 34

[0638] Данный пример демонстрирует способы получения линкера DIBAC-Suc-PEG₄-acid/NHS (**VI**). Следующий пример относится к ФИГ. 11.

[0639] Шаг 1: Трет-бутил-1-гидрокси-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-оат (**VI-3**): К раствору тетраэтиленгликоля (**VI-1**, 58 г, 0,30 моль) в сухом ТГФ (200 мл) добавляли натрий (0,12 г), смесь перемешивали до израсходования натрия. Затем к полученному раствору добавляли трет-бутилакрилат (**VI-2**, 13 г, 0,10 моль) в сухом ТГФ (50 мл) по каплям, полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакцию гасили сначала уксусной кислотой (0,1 мл), затем водой (0,5 мл), полученную

смесь перемешивали при комнатной температуре в течение получаса, затем экстрагировали этилацетатом (3 x 200 мл). Объединенный органический раствор промывали водой (30 мл), затем соляным раствором (3 x 100 мл), сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали для получения продукта (VI-3, 26 г, выход 81%) в виде бесцветного масла. Масса/заряд при ЯМР: 340 (M+18)⁺.

[0640] Шаг 2: Трет-бутил 1-(метансульфонилокси)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-оат (VI-4): К раствору (VI-3) (26 г, 81 ммоль), триэтиламина (12 мл, 89 ммоль) в метиленхлориде (150 мл) на ледяной бане добавляли раствор метансульфонилхлорида (10 г, 89 ммоль) в DCM (50 мл) по каплям. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 14 часов и затем концентрировали в вакууме. Остаток смешивали с водой (30 мл), затем экстрагировали этилацетатом (3 x 200 мл). Объединенный органический слой промывали рассолом (3 x 100 мл), сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали в вакууме для получения желаемого продукта (VI-4) (31 г, выход 95%) в виде светло-желтого масла. Масса/заряд при ЯМР: 418 (M+18)⁺.

[0641] Шаг 3: Трет-бутил 1-азидо-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-оат (VI-5): К раствору (VI-4) (27 г, 67 ммоль) в N,N-диметилформамиде (70 мл) добавляли азид натрия (6,6 г, 0,10 моль), который затем перемешивали при 80°C в течение 4-16 часов. После охлаждения до комнатной температуры смесь разбавляли этилацетатом (3 x 150 мл). Объединенный раствор промывали водой (30 мл), затем рассолом (3 x 100 мл), сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали колоночной хроматографией на силикагеле (петролейный эфир/этил ацетат (с 1% до 2% метанола) = 4/1) для получения (VI-5) (18 г, выход 67%) в виде бесцветного масла. Масса/заряд при ЯМР: 365 (M+18)⁺.

[0642] Шаг 4: Трет-бутил 1-амино-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-оат (VI-6): К раствору (VI-5) (1,5 г, 4.3 ммоль в этил ацетате (20 мл) добавляли влажный Pd/C (10%, 0,15 г) в атмосфере азота. Затем смесь продували водородом и перемешивали при комнатной температуре под водородным баллоном в течение ночи. Затем смесь фильтровали через целит. Целит промывали этил ацетатом (10 мл). Объединенный фильтрат концентрировали в вакууме для получения неочищенного (VI-6) (1,4 г) в виде светло-желтого масла, которое использовали для следующего шага без дополнительной очистки. Масса/заряд при ЯМР: 322 (M+H)⁺.

[0643] Шаг 5: 1-Амино-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-овая кислота (VI-7): К раствору (VI-6), полученному выше (1,4 г), в метиленхлориде (10 мл) добавляли TFA (5 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение часа. Летучие вещества

удаляли в вакууме для получения неочищенного продукта (VI-7) в виде его соли TFA (1,6 г) в виде желтого масла, которое использовали для следующего шага без дополнительной очистки. Масса/заряд при ЯМР: 266 (M+H)⁺.

[0644] Шаг 6: 1-(4-{2-Азатрицикло[10.4.0.0⁴⁻⁹]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексан-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-овая кислота (VI-8): Смесь 4-{2-Азатрицикло[10.4.0.0⁴⁻⁹]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутановая кислота (V на ФИГ. 11, 1,0 г, 2,5 ммоль) и (VI-7) (0,91 г, 2,5 ммоль) в N,N-диметилформамиде (10 мл) добавляли в триэтиламин (0,50 г, 5,0 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Смесь напрямую очищали с помощью обращенно-фазовой флэш-хроматографии (0-100% ацетонитрила в воде (NH₄HCO₃, 10 ммоль) для получения (VI-8) (1,0 г, выход 74% в 3 этапа от VI-5) в виде коричневого масла. Масса/заряд при ЯМР: 553,3 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (MeOD_{d4}, 400 МГц): δ 7,65 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 7,64-7,58 (m, 1H), 7,49-7,42 (m, 3H), 7,40-7,30 (m, 2H), 7,28-7,22 (m, 1H), 5,12 (d, J = 13,6 Гц, 1H), 3,75-3,68 (m, 3H), 3,63-3,50 (m, 12H), 3,50-3,39 (m, 2H), 3,25 (t, J = 5,6 Гц, 2H), 2,76-2,66 (m, 1H), 2,52 (t, J = 6,0 Гц, 2H), 2,41-2,30 (m, 1H), 2,21-2,14 (m, 1H), 2,03-1,93 (m, 1H) чнм.

[0645] Шаг 7: 2,5-Диоксопирролидин-1-ил-1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0⁴⁻⁹]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексан-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-оат (VI): К раствору (VI-8) (40 мг, 72 мкмоль) в метиленхлориде (10 мл) последовательно добавляли HOSu (1-гидроксипирролидин-2,5-дион, 12 мг, 0,11 ммоль) и EDCI (21 мг, 0,11 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, затем разбавляли метиленхлоридом (50 мл). Органический раствор промывали водой (50 мл), затем солевым раствором (50 мл), сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали в вакууме, получая промежуточное соединение (VI), которое используют для следующего шага без дополнительной очистки. Масса/заряд при ЯМР: 650 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 7,70 (m, 1H), 7,66 (m, 1H), 7,55-7,47 (m, 3H), 7,38-7,24 (m, 4H), 6,33 (br s, 1H), 5,13 (d, J = 13,6 Гц, 1H), 3,83-3,78 (m, 1H), 3,66-3,60 (m, 13H), 3,47-3,35 (m, 2H), 2,99-2,82 (m, 6H), 2,51-2,43 (m, 2H), 2,20-1,89 (m, 4H) чнм.

ПРИМЕР 35

[0646] Данный пример демонстрирует способы получения 1-((1R,8S,9s)-Бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-ил)-3-оксо-2,7,10,13,16-пентаокса-4-азанонадекан-19-оновой кислоты (BCN-PEG₄-кислота, VII). Следующий пример относится к ФИГ. 12.

[0647] К раствору промежуточного соединения VII-1 (0,10 г, 0,33 ммоль) в тетрагидрофуране (ТГФ) (5 мл) последовательно добавляли диизопропилэтиламин (0,17 г, 1,3 ммоль), промежуточное соединение (VI-7) (89 мг, 0,33 ммоль) и 1-гидроксibenзотриазола (НОВt, 43 мг, 0,33 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. После фильтрации для удаления нерастворимого твердого вещества и концентрирования в вакууме реакционную смесь напрямую очищали препаратом преп-ВЭЖХ (метод В) для получения BСN-PEG4-кислоты (VII) (25 мг, выход 17%) в виде бесцветного масла. ¹Н ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 5,07 (br s, 1H), 4,14 (d, J = 7,6 Гц, 2H), 3,77 (t, J = 6,4 Гц, 2H), 3,70–3,55 (m, 14H), 3,40–3,31 (m, 2H), 2,58 (t, J = 6,0 Гц, 2H), 2,30–2,19 (m, 6H), 1,61–1,52 (m, 2H), 1,43–1,32 (m, 1H), 1,0–0,92 (m, 2H) чнм.

ПРИМЕР 36

[0648] Данный пример демонстрирует способы получения {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил 4-нитрофенил карбоната (DIBAC-Suc-PEG₄-VC-pAB-PNP, VIII). Следующий пример относится к ФИГ. 13.

[0649] 1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексан-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-N-[(1S)-1-[(1S)-4-(карбамоиламино)-1-{4-(гидроксиметил)фенил}карбамоил}бутил]карбамоил}-2-метилпропил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид (VIII-3).

[0650] **Шаг 1:** К раствору соединения (VIII-1) (300 мг, 0,54 ммоль) и соединения (VIII-2, 205 мг, 0,54 ммоль) в N,N-диметилформамиде (10 мл) добавляли НАТУ (309 мг, 0,81 ммоль), затем DIEA (140 мг, 1,08 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. После фильтрации для удаления нерастворимого твердого вещества и концентрирования в вакууме реакционную смесь напрямую очищали методом обратной флэш-очистки (NH₄HCO₃ в качестве буфера) и получали белое твердое вещество (VIII-3) (300 мг, 60%). Масса/заряд при ЯМР: 617(M+1).

[0651] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексан-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил 4-нитрофенил карбонат (VIII).

[0652] **Шаг 2:** К раствору (VIII-3) (150 мг, 0,16 ммоль) и (VIII-4) (150 мг, 0,49 ммоль) в N,N-диметилформамиде (10 мл) добавляли DIEA (63 мг, 0,49 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. После фильтрации для удаления

нерастворимого твердого вещества и концентрирования в вакууме реакцию смесь напрямую очищали с помощью обратной флэш-хроматографии (NH_4HCO_3 в качестве буфера) и получали (**VIII**) в виде желтого твердого вещества (50 мг, 28%). Масса/заряд при ЯМР: 1079 (M+1).

ПРИМЕР 37

[0653] Данный пример демонстрирует способы получения линкера-полезной нагрузки (**LP1**). Следующий пример относится к ФИГ. 14.

[0654] Трет-бутил *N*-[(1*S*)-1-({4-[(1*S*,2*S*,4*R*,6*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-8-(2-гидроксиацетил)-9,13-диметил-16-оксо-5,7-диоксапентацикло[10.8.00^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-6-ил]фенил}карбамоил)этил]карбамат (**31**).

[0655] **Шаг 1:** Смесь Вос-Ala-OH (0,20 г, 0,42 ммоль), DIPEA (0,12 г, 0,84 ммоль) и HATU (0,24 г, 0,63 ммоль) в *N,N*-диметилформамиде (5 мл) перемешивали при 23°C в течение 30 минут. Затем к раствору добавляли соединение **7-1R** (87 мг, 46 ммоль). После перемешивания при 23°C в течение еще 2 часов смесь напрямую очищали с помощью преп-ВЭЖХ (метод В) для получения соединения **31** (0,11 г, выход 40%) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 651 (M+H)⁺.

[0656] (2*S*)-2-Амино-*N*-{4-[(1*S*,2*S*,4*R*,6*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-8-(2-гидроксиацетил)-9,13-диметил-16-оксо-5,7-диоксапентацикло[10.8.00^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-6-ил]фенил}пропанамид (**32**).

[0657] **Шаг 2:** К раствору соединения **31** (0,10 г, 0,15 ммоль) в метиленхлориде (3 мл) добавляли TFA (0,3 мл) по каплям. Смесь перемешивали при 23°C в течение часа, летучие вещества удаляли в вакууме для получения неочищенного (**32**) (83 мг) в виде масла, которое использовали для следующего шага без дополнительной очистки. Масса/заряд при ЯМР: 551 (M+H)⁺.

[0658] Трет-бутил *N*-[(1*S*)-1-{(1*S*)-1-({4-[(1*S*,2*S*,4*R*,6*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-8-(2-гидроксиацетил)-9,13-диметил-16-оксо-5,7-диоксапентацикло[10.8.00^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-6-ил]фенил}карбамоил)этил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамат (**33**).

[0659] **Шаг 3:** Смесь (**32**) (83 мг, 0,15 ммоль), триэтиламина (31 мг, 0,31 ммоль) и Вос-Val-NHS (58 мг, 0,19 ммоль) в *N,N*-диметилформамиде (5 мл) перемешивали при 23°C в течение 4 часов, реакцию смесь напрямую очищали препаратом преп-ВЭЖХ (метод В) для получения (**33**) (52 мг, выход 20% в два шага) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 750 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ 10,00 (s, 1H), 8,07 (d, *J* = 7,0 Гц, 1H), 7,58 (d, *J* = 8,5 Гц, 2H), 7,40 (d, *J* = 8,0 Гц, 2H), 7,31 (d, *J* = 10,0 Гц, 1H), 6,72 (d,

$J = 9,0$ Гц, 1H), 6,16 (dd, $J = 1,5, 10,0$ Гц, 1H), 5,91 (s, 1H), 5,38 (s, 1H), 5,08 (t, $J = 6,5$ Гц, 1H), 4,92 (d, $J = 5,1$ Гц, 1H), 4,78 (d, $J = 3,0$ Гц, 1H), 4,55–4,46 (m, 1H), 4,42 (t, $J = 7,0$ Гц, 1H), 4,29 (s, 1H), 4,21–4,14 (m, 1H), 3,82 (t, $J = 8,5$ Гц, 1H), 2,65–2,52 (m, 1H), 2,37–2,25 (m, 1H), 2,18–2,06 (m, 1H), 2,04–1,88 (m, 2H), 1,85–1,57 (m, 5H), 1,40 (s, 3H), 1,37 (s, 9H), 1,29 (d, $J = 7,0$ Гц, 3H), 1,15–0,98 (m, 2H), 0,96–0,76 (m, 9H) чнм.

[0660] (2*S*)-2-Амино-*N*-[(1*S*)-1-({4-[(1*S*,2*S*,4*R*,6*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-8-(2-гидроксиацетил)-9,13-диметил-16-оксо-5,7-диоксапентацикло[10.8.00^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-6-ил]фенил}карбамоил)этил]-3-метилбутанамид (**34g**).

[0661] Шаг 4: К раствору соединения **33** (50 мг, 67 мкмоль) в метилен-хлориде (3 мл) добавляли TFA (0,3 мл) по каплям, затем смесь перемешивали при 23°C в течение часа. Летучие вещества удаляли в вакууме для получения сырого соединения **34g** (42 мг) в виде масла, которое использовали для следующего шага без дополнительной очистки. Масса/заряд при ЯМР: 650 (M+H)⁺.

[0662] 1-(4-{2-Азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексан-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-*N*-[(1*S*)-1-({(1*S*)-1-({4-[(1*S*,2*S*,4*R*,6*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-8-(2-гидроксиацетил)-9,13-диметил-16-оксо-5,7-диоксапентацикло[10.8.00^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-6-ил]фенил}карбамоил)этил]карбамоил}-2-метилпропил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид (**LP1**).

[0663] Шаг 5: Раствор DIBAC-suc-PEG₄-OH (**VI-8**, 41 мг, 74 мкмоль), DIPEA (24 мг, 0,19 ммоль) и NATU (47 мг, 0,12 ммоль) в *N,N*-диметилформаиде (5 мл) перемешивали при 23°C в течение 30 минут, затем (**34g**) добавляли (40 мг, 62 мкмоль). После перемешивания при 23°C в течение еще 2 часов реакционную смесь напрямую очищали методом преп-ВЭЖХ (метод В) для получения **LP1** (33 мг, выход 44% в 2 этапа) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 1185 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ 9,97 (s, 1H), 8,18 (d, $J = 6,5$ Гц, 1H), 7,87 (d, $J = 8,5$ Гц, 1H), 7,75 (t, $J = 5,5$ Гц, 1H), 7,67 (d, $J = 6,5$ Гц, 1H), 7,63–7,56 (m, 3H), 7,53–7,41 (m, 3H), 7,42 7,27 (m, 6H), 6,19–6,14 (m, 1H), 5,93 (s, 1H), 5,38 (s, 1H), 5,08 (t, $J = 6,5$ Гц, 1H), 5,03 (d, $J = 14,0$ Гц, 1H), 4,92 (d, $J = 5,1$ Гц, 1H), 4,78 (d, $J = 3,0$ Гц, 1H), 4,55–4,46 (m, 1H), 4,42 (t, $J = 7,0$ Гц, 1H), 4,29 (s, 1H), 4,21–4,14 (m, 2H), 3,63–3,55 (m, 3H), 3,50–3,40 (m, 12H), 3,32–3,26 (m, 2H), 3,10–3,05 (m, 2H), 2,65–2,52 (m, 2H), 2,48–2,48 (m, 2H), 2,40–2,25 (m, 3H), 2,18–2,06 (m, 1H), 2,04–1,88 (m, 3H), 1,85–1,57 (m, 5H), 1,40 (s, 3H), 1,28 (d, $J = 7,0$ Гц, 3H), 1,15–0,98 (m, 2H), 0,96–0,84 (m, 6H), 0,84–0,80 (d, $J = 7,0$ Гц, 3H) чнм.

ПРИМЕР 38

[0664] Данный пример демонстрирует способ получения линкера с полезной нагрузкой (LP2). Следующий пример относится к ФИГ 15.

[0665] Трет-Бутил *N*-[(1*S*)-1-{[(1*S*)-4-(карбамоиламино)-1-[(4-{2-[(1*R*,2*S*,8*S*,10*S*,11*S*,13*R*,14*R*,15*S*,17*S*)-1,8-дифтор-14,17-дигидрокси-2,13,15-триметил-5-октотертацiclo[8.7.0.0^{2,7}.0^{11,15}]гептадека-3,6-диен-14-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамат (34e).

[0666] **Общая процедура С:** К раствору Вос-Val-Ala-ОН или Вос-Val-Cit-ОН (1,0 эквив.) в органическом растворе (таком как DCM или DMF) добавляли щелочь (такую как DIPEA) (2,0 эквив.) и НАТУ (1,2 эквив.) при 20-25°C. Смесь перемешивали при 20-25°C в течение 30 минут, после чего добавляли алинин (1,1 эквив.). Смесь продолжали перемешивать в течение 16 часов до израсходования пептида в соответствии с данными ЖХМС. Затем к реакционной смеси добавляли TFA (0,05 мл на 10 мг пептида). Смесь перемешивали при 20-25°C еще в течение часа. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении и остаток очищали напрямую методом преп-ВЭЖХ (метод Б).

[0667] **Шаг 1:** К раствору Вос-VC (VC is Val-Cit) (67 мг, 0,18 ммоль) в *N,N*-диметилформамиде (3 мл) добавляли НАТУ (68 мг, 0,18 ммоль) и NMM (30 мг, 0,30 ммоль), полученный раствор перемешивали при 23°C в течение 10 минут. Затем к реакционной смеси добавляли соединение 15-5 (75 мг, 0,15 ммоль). После перемешивания при 23°C в течение ночи реакционную смесь переливали в этил ацетат (80 мл), промывали рассолом, и затем сушат над безводным сульфатом натрия. Объединенный органический раствор концентрировали в вакууме, остаток очищали флэш-хроматографией (0-10% метанол в метилхлориде) для получения (34e) (0,12 г, выход 89%) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 858 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (MeOD_{dd}, 500 МГц) δ 7,54-7,47 (m, 2H), 7,36 (d, *J* = 10,0 Гц, 1H), 6,90-6,87 (m, 2H), 6,34 (dd, *J* = 10,0, 1,5 Гц, 1H), 6,31 (s, 1H), 5,63-5,50 (m, 1H), 5,20 (d, *J* = 18,0 Гц, 1H), 4,80 (d, *J* = 18,0 Гц, 1H), 4,54-4,47 (m, 1H), 4,32-4,30 (m, 1H), 3,92-3,81 (m, 1H), 3,23-3,11 (m, 3H), 2,65-2,52 (m, 1H), 2,43-2,32 (m, 3H), 2,11-1,99 (m, 1H), 1,79-1,58 (m, 9H), 1,46-1,24 (m, 11H), 1,06 (s, 3H), 1,00-0,92 (m, 9H) чнм.

[0668] Бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-илметил *N*-(14-{[(1*S*)-1-{[(1*S*)-4-(карбамоиламино)-1-[(4-{2-[(1*R*,2*S*,8*S*,10*S*,11*S*,13*R*,14*R*,15*S*,17*S*)-1,8-дифтор-14,17-дигидрокси-2,13,15-триметил-5-октотертацiclo[8.7.0.0^{2,7}.0^{11,15}]гептадека-3,6-диен-14-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-3,6,9,12-тетраоксатетрадекан-1-ил)карбамат (LP2).

[0669] Шаг 2: К раствору промежуточного соединения **34e** (25 мг, 29 мкмоль) в метилен хлориде (2 мл) добавляли TFA (1 мл), полученную смесь перемешивали при 23°C в течение часа. Летучие вещества удаляли в вакууме для получения остатка (25 мг, Масса/заряд при ЯМР: 758,3 (M+H)⁺) в виде коричневого масляного остатка.

[0670] К раствору BСN-РЕG₄-кислоты (**VII** на ФИГ. 12, 18 мг, 41 мкмоль) в N,N-диметилформамиде (2 мл) добавляли НАТУ (15 мг, 41 мкмоль) и NMM (6,9 мг, 41 мкмоль), получившийся раствор перемешивали при 23°C в течение получаса. Затем к реакционному раствору добавляли раствор коричневого масляного остатка, полученного выше в N,N-диметилформамиде (1 мл). После перемешивания при 23°C в течение ночи, смесь выделяли и очищали напрямую методом преп-ВЭЖХ (метод В) для получения **LP2** (15 мг, выход 37%) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 1181,4 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (DMSO_{д6}, 400 МГц) (ротамер) δ 9,82 и 9,37 (s, 1H), 8,39 (d, J = 8,0 Гц, 0,4H), 8,09 (d, J = 7,2 Гц, 0,6H), 8,00 (d, J = 8,0 Гц, 0,4H), 7,88 (d, J = 8,8 Гц, 0,6H), 7,55 (d, J = 8,8 Гц, 1H), 7,49 (d, J = 8,8 Гц, 1H), 7,27 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 7,10 (br s, 1H), 6,80 (m, 2H), 6,29 (dd, J = 10,0, 1,0 Гц, 1H), 6,11 (s, 1H), 5,99–5,94 (m, 1H), 5,72–5,56 (m, 1H), 5,43–5,41 (m, 3H), 5,31 (s, 1H), 5,22 (d, J = 18,0 Гц, 1H), 4,71 (d, J = 18,0 Гц, 1H), 4,37–4,31 (m, 1H), 4,24–4,14 (m, 2H), 4,04 (s, 1H), 4,02 (s, 1H), 3,62–3,56 (m, 2H), 3,50–3,45 (m, 12H), 3,40–3,37 (m, 2H), 3,13–3,08 (m, 2H), 3,00–2,92 (m, 3H), 2,54–2,33 (m, 2H), 2,25–2,08 (m, 8H), 2,09–1,90 (m, 1H), 1,78–1,23 (m, 15H), 1,14–1,09 (m, 1H), 0,89–0,82 (m, 14H) чнм.

ПРИМЕР 39

[0671] Данный пример демонстрирует способ получения линкера с полезной нагрузкой (**LP3**). Следующий пример относится к ФИГ. 15.

[0672] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-Амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил} метил N-(4-{2-[(1R,2S,8S,10S,11S,13R,14R,15S,17S)-1,8-дифтор-14,17-дигидрокси-2,13,15-триметил-5-октотертацкло[8.7.0.0^{2,7}0^{11,15}]гептадека-3,6-диен-14-ил]-2-оксоэтокси}фенил) карбамат (**34f**)

[0673] Общая процедура D: Шаг 1: К раствору полезной нагрузки анилина (1,0 эквив.) в N,N-диметилформамиде добавляли Fmoc-vcPAB-PNP (1,1 эквив.), HOBT (1,5 эквив.) и DIPEA (2,0 эквив.) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре (18-30°C) до расходования начального материала в соответствии с данными ЖХМС. **Шаг 2:** К реакционной смеси добавляли пиперидин (0,03 мл на 10 мг полезной нагрузки), смесь перемешивали при комнатной температуре (18-30°C) в течение часа до удаления Fmoc, процесс контролировали с помощью ЖХМС. После фильтрации через

мембрану реакционный раствор напрямую очищали флэш-хроматографией с обращенной фазой или препаратом В-ВЭЖХ для получения карбоната *vcPAB*.

[0674] Когда *N*-Вос-*vcPAB*-PNP использовали для замены Fmoc-*vcPAB*-PNP в реакции Шаг 1, карбонат *N*-Вос *vcPAB* получали из Шаг 1. После очистки карбонат *N*-Вос *vcPAB* повторно растворяли в DCM, и обрабатывали TFA (концентрация TFA <25%) при 0°C до удаления Вос, процесс отслеживали с помощью ЖХМС. Реакционную смесь концентрировали для удаления летучих веществ, полученный остаток очищали с помощью хроматографии или преп-ВЭЖХ с образованием карбоната *vcPAB*.

[0675] К раствору Fmoc-*vcPAB*-PNP (73 мг, 96 мкмоль) в *N,N*-диметилформамиде (1 мл) последовательно добавляли соединение **15-5** (40 мг, 80 мкмоль), DMAP (20 мг, 0,16 ммоль), HOBT (23 мг, 0,16 ммоль) и DIPEA (55 мг, 0,40 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение получаса до полного расходования (**15-5**) в соответствии с данными ЖХМС. (ESI: 565,3 (M+H)⁺). Затем к получившейся смеси добавляли пиперидин (34 мг, 0,40 ммоль) при комнатной температуре. После перемешивания при комнатной температуре в течение еще 30 минут, которое контролировали ЖХМС, полученную смесь напрямую очищали с помощью флэш-хроматографии с обращенной фазой (0–30% ацетонитрила в воде) до (**34f**) (50 мг, выход 69%) в виде бледно-желтого твердого вещества. ИЭР: 907 (M+H)⁺.

[0676] Бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-илметил *N*-(14-[[[(1S)-1-[[[(1S)-4-(карбамоиламино)-1-[4-[[[4-[[[4-[[2-[(1R,2S,8S,10S,11S,13R,14R,15S,17S)-1,8-дифтор-14,17-дигидрокси-2,13,15-триметил-5-октотертацикло[8.7.0.0^{2,7}0^{11,15}]гептадека-3,6-диен-14-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]окси}метил)фенил]карбамоил}бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-3,6,9,12-тетраоксатетрадекан-1-ил)карбамат (**LP3**).

[0677] Шаг 3: К раствору BCN-PEG₄-кислоты (60 мг, 67 мкмоль) в *N,N*-диметилформамиде (3,6 мл) последовательно добавляли NATU (27 мг, 70 мкмоль) и DIPEA (20 мг, 0,15 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение получаса, после чего порционно добавляли соединение (**34f**) (50 мг, 60 мкмоль). Реакционную смесь затем перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов до полного расходования соединения **34f** в соответствии с данными ЖХМС. Затем реакционную смесь напрямую очищали по методу преп-ВЭЖХ (метод В) для получения соединения **LP3** (36 мг, выход 54%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР: 1330 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ 10,02 (s, 1H), 9,56 (s, 1H), 8,14 (d, *J* = 7,2 Гц, 1H), 7,89 (d, *J* = 8,8 Гц, 1H), 7,62 (d, *J* = 8,4 Гц, 2H), 7,35 (d, *J* = 8,4 Гц, 4H), 7,27 (d, *J* = 10,4 Гц, 1H), 7,11 (t, *J* = 4,4 Гц, 1H), 6,78 (d, *J* = 8,8 Гц, 2H), 6,33–6,26 (m,

1H), 6,10 (s, 1H), 5,98 (t, $J = 5,4$ Гц, 1H), 5,75–5,52 (m, 1H), 5,42 (s, 3H), 5,30 (s, 1H), 5,20 (d, $J = 18,4$ Гц, 1H), 5,05 (s, 2H), 4,70 (d, $J = 18,4$ Гц, 1H), 4,43–4,35 (m, 1H), 4,26–4,15 (m, 2H), 4,02 (d, $J = 7,6$ Гц, 2H), 3,64–3,55 (m, 2H), 3,49 (s, 1H), 3,38 (t, $J = 6,0$ Гц, 2H), 3,11 (dd, $J = 11,8, 5,9$ Гц, 2H), 3,05–2,88 (m, 3H), 2,44–2,31 (m, 2H), 2,28–2,08 (m, 9H), 2,02–1,90 (m, 1H), 1,76–1,10 (m, 16H), 0,91–0,77 (m, 14H) чнм. ВЭЖХ чистота: >99%, время выдержки: 7,03 минут.

ПРИМЕР 40

[0678] Данный пример демонстрирует способ получения линкера с полезной нагрузкой (LP4). Следующий пример относится к ФИГ. 16.

[0679] (2S)-2-Амино-N-[(1S)-1-[(4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]}икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]этил]-3-метилбутанамид (**34a**).

[0680] Общая процедура E: К раствору Fmoc-Val-Ala-OH (1,2 эквив.) в N,N-диметилформамиде (0,2 мл на 10 мг пептида) добавляли DIPEA (3,0 эквив.) и HATU (1,4 эквив.) при 20–25°C. Смесь перемешивали при 20–25°C в течение 5 минут после чего добавляли аланин (1,0 эквив.). Смесь перемешивали еще в течение 2 до полного расходования пептида в соответствии с данными ЖХМС. Затем к реакционной смеси добавляли пиперидин (5,0 эквив.). Смесь перемешивали при 20–25°C в течение 2 часов. После фильтрации через мембрану реакционный раствор напрямую очищали флэш-хроматографией с обращенной фазой (0–100% ацетонитрил в водном бикарбонате аммония (10 ммоль)) или преп-ВЭЖХ (метод B). Соединение (**34a**) было получено в соответствии с этой Общей процедурой.

[0681] Альтернативно, соединение (**34a**) получали согласно **Общей процедуре C**. К раствору Boc-Val-Ala-OH (0,29 г, 1,0 ммоль) в метилен хлориде (5 мл) добавляли DIPEA (0,26 г, 2,0 ммоль) и HATU (0,46 г, 1,2 ммоль), смесь перемешивали при 23°C в течение 30 минут, затем к реакционной смеси добавляли соединение (**11-5**) (0,57 г, 1,1 ммоль). После перемешивания при 23°C еще в течение 16 часов к реакционной смеси добавляли TFA (1,5 мл), полученную смесь перемешивали при 23°C в течение еще одного часа. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении, остаток напрямую очищали методом преп-ВЭЖХ (метод B) для получения **34a** (0,17 г, 25% выход в 2 этапа) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 692 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO_{d6}) δ 10,00 (s, 1H), 8,47 (d, $J = 6,5$ Гц, 1H), 7,57–7,47 (m, 2H), 7,33 (d, $J = 10$ Гц, 1H), 6,87–6,82 (m, 2H), 6,18 (d, $J = 10$ Гц, 1H), 5,93 (s, 3H), 5,25–5,11 (m, 1H), 5,09 (d, $J = 6,5$ Гц, 1H), 4,92–4,65 (m, 3H),

4,55–4,40 (m, 1H), 4,40–4,30 (m, 1H), 2,32–2,22 (m, 1H), 2,18–1,80 (m, 5H), 1,65–1,45 (m, 5H), 1,45–1,25 (m, 9H), 1,25–0,98 (m, 2H), 0,96–0,76 (m, 13H) чнм.

[0682] Бицикло[6.1.0]нон–4–ин–9–илметил N –(14–{[(1*S*)–1–{[(1*S*)–1–[(4–{2–[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)–11–гидрокси–9,13–диметил–16–оксо–6–пропил–5,7–диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса–14,17–диен–8–ил]–2–оксоэтокси}фенил)карбамоил]этил]карбамоил}–2–метилпропил]карбамоил}–3,6,9,12–тетраоксатетрадекан–1–ил)карбамат (**LP4**).

[0683] **Общая процедура F:** К раствору BCN–PEG₄–кислоты или его NHS–эфира в *N,N*–диметилформамиде добавляли HATU (1 эквив.) и DIPEA (2,5 эквив.). Смесь перемешивали при 25°C в течение 30 минут с последующим добавлением раствора амина. После перемешивания при 25°C в течение 2 часов под контролем ЖХСМ исходные материалы расходовались, и смесь очищали напрямую с помощью преп-ВЭЖХ для получения желаемого амида.

[0684] К раствору BCN–PEG₄–кислоты (**IX**, 70 мг, 0,16 ммоль) в *N,N*–диметилформамиде (8 мл) последовательно добавляли HATU (66 мг, 0,17 ммоль) и DIPEA (56 мг, 0,43 ммоль). Смесь перемешивали при 25°C в течение 30 минут, после чего добавляли раствор **34a** (0,10 г, 0,15 ммоль). После перемешивания при 25°C в течение 2 часов смесь очищали напрямую с помощью преп-ВЭЖХ (метод В) для получения **LP4** (25 мг, выход 16%) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР = 1116 (M+H)⁺.

[0685] Используя хиральное соединение **11–5R** в качестве исходного материала, получали хирал (*R*)–**LP4** в виде твердого вещества белого цвета (24 мг, выход) 31% согласно **Общей процедуре F**. Масса/заряд при ЯМР: 1115 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) (ротамеры) δ 9,78 (s, 0,5H), 9,69 (s, 0,5H), 8,40 (d, $J = 7,5$ Гц, 0,5H), 8,15 (d, $J = 7,0$ Гц, 0,5H), 8,01 (d, $J = 8,0$ Гц, 0,5H), 7,89 (d, $J = 9,0$ Гц, 0,5H), 7,57 (d, $J = 9,0$ Гц, 1H), 7,51 (d, $J = 9,0$ Гц, 1H), 7,32 (d, $J = 10,1$ Гц, 1H), 7,09 (s, 1H), 6,85 (d, $J = 9,1$ Гц, 2H), 6,18 (d, $J = 11,4$ Гц, 1H), 5,93 (s, 1H), 5,10 (d, $J = 18,5$ Гц, 1H), 4,86–4,67 (m, 4H), 4,45–4,36 (m, 1H), 4,33 (s, 1H), 4,20 (t, $J = 7,5$ Гц, 0,5H), 4,10 (t, $J = 7,8$ Гц, 0,5H), 4,03 (d, $J = 8,0$ Гц, 2H), 3,59 (d, $J = 6,6$ Гц, 2H), 3,49–3,45 (m, 11H), 3,39 (s, 2H), 3,30 (s, 2H), 3,11 (dd, $J = 11,4, 5,9$ Гц, 2H), 2,47–2,43 (m, 1H), 2,38–2,12 (m, 8H), 2,03–1,83 (s, 5H), 1,62–1,51 (m, 6H), 1,42–1,24 (m, 10H), 1,02–0,94 (m, 2H), 0,90–0,82 (m, 14H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 100%, время выдержки: 9.49 минут (метод А).

ПРИМЕР 41

[0686] Данный пример демонстрирует способ получения линкера с полезной нагрузкой (**LP5**). Следующий пример относится к ФИГ.16.

[0687] (2*S*)-2-[(2*S*)-2-Амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)-*N*-(4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)пентанамида (**34c**).

[0688] Соединение **34c** получали, следуя **Общей процедуре С**. Смесь Вос-vc (0,26 г, 0,50 ммоль), DIPEA (0,19 г, 0,60 ммоль) и НАТУ (0,23 г, 0,60 ммоль) в *N,N*-диметилформамиде (10 мл) перемешивали при 23°C в течение 30 минут, затем добавляли смесь **11-5** (0,28 г, 0,55 ммоль). После перемешивания при 23°C в течение 16 часов реакционную смесь напрямую очищали с помощью флэш-хроматографии с обращенной фазой (0–50% ацетонитрил в воде) для получения неочищенного продукта (масса/заряд при ЯМР 878 (M+H)⁺), который растворяли в метиленхлориде (8 мл) и обрабатывали TFA (3 мл). Полученную смесь перемешивали при 23°C в течение одного часа. Летучие вещества удаляли при пониженном давлении, остаток очищали напрямую методом преп-ВЭЖХ (метод В) для получения соединения **34c** (0,12 г, 31% выход в 2 этапа) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 778 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO_{d6}) δ 9,97 (d, *J* = 12,0 Гц, 1H), 8,10 (m, 1H), 7,51 (d, *J* = 6,5 Гц, 2H), 7,32 (dd, *J* = 10,1, 2,5 Гц, 1H), 6,83 (dd, *J* = 15,9, 9,0 Гц, 2H), 6,17 (d, *J* = 10,0 Гц, 1H), 5,97 (t, *J* = 5,0 Гц, 1H), 5,93 (s, 1H), 5,40 (s, 2H), 5,22 (t, *J* = 4,8 Гц, 1H), 5,12 (d, *J* = 6,0 Гц, 1H), 5,09 (d, *J* = 6,5 Гц, 1H), 4,83–4,67 (m, 3H), 4,47–4,37 (m, 1H), 4,35 – 4,29 (m, 1H), 3,05 – 2,90 (m, 3H), 2,57–2,51 (m, 1H), 2,30 (d, *J* = 12,0 Гц, 1H), 2,13–1,74 (m, 7H), 1,70– 1,46 (m, 7H), 1,45–1,29 (m, 7H), 1,17–0,93 (m, 2H), 0,91– 0,82 (m, 9H), 0,77 (dd, *J* = 6,7, 2,7 Гц, 3H) чнм.

[0689] Бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-илметил *N*-(14-[(1*S*)-1-[(1*S*)-4-(карбамоиламино)-1-[(4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-3,6,9,12-тетраоксатетрадекан-1-ил)карбамат (**LP5**)

[0690] **LP5** получали, следуя **Общей процедуре F**. Раствор BSN-PEG4-кислоты (**IX** на ФИГ. 15, 0,28 г) в метилен хлориде (6 мл) добавляли к смеси НАТУ (59 мг, 0,15 ммоль) и DIPEA (50 мг, 0,39 ммоль) в *N,N*-диметилформамиде (5 мл). Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 30 минут, и добавляли к ней соединение **34c** (0,10 г, 0,13 ммоль) одной порцией. Полученную смесь перемешивали при 25°C в течение ночи и напрямую очищали методом преп-ВЭЖХ (метод В) для получения **LP5** (35 мг, 23% выход) as a pale yellow solid. Масса/заряд при ЯМР = 1202 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, MeOD_{d4}) δ 7,61–7,43 (m, 3H), 6,87 (t, *J* = 8,6 Гц, 2H), 6,26 (d, *J* = 10,0 Гц, 1H), 6,02 (s, 1H), 5,29–5,02 (m, 2H), 4,84–4,65 (m, 2H), 4,51–4,44 (s, 2H), 4,22–4,05 (m, 3H), 3,80–3,68 (m, 2H), 3,67–3,45 (m,

14H), 3,22–3,08 (m, 2H), 2,72–2,50 (m, 3H), 2,45–2,33 (m, 1H), 2,30–2,02 (m, 10H), 1,99–1,82 (m, 2H), 1,81–1,32 (m, 17H), 1,26–0,85 (m, 17H) чнм.

ПРИМЕР 42

[0691] Данный пример демонстрирует способ получения линкера с полезной нагрузкой (**LP6**). Следующий пример относится к ФИГ. 16.

[0692] {4–[(2*S*)–2–[(2*S*)–2–Амино–3–метилбутанамидо]–5–(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*–(4–{2–[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)–11–гидрокси–9,13–диметил–16–оксо–6–пропил–5,7–диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса–14,17–диен–8–ил]–2–оксоэтокси}фенил)карбамат (**34d**).

[0693] Соединение **34d** получали в соответствии с **Общей процедурой D**.

[0694] **Шаг 1:** К раствору соединения (**11-5**) из Таблицы 1 (66 мг, 0,10 ммоль) в *N,N*–диметилформамиде (3,5 мл) последовательно добавляли *Woc*–*vcPAB*–*PNP* (64 мг, 0,12 ммоль), *NOBt* (14 мг, 0,10 ммоль) и *DIPEA* (13,0 мг, 0,10 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 13°C в течение ночи и очищали напрямую с помощью преп–ВЭЖХ (метод В) для получения промежуточного **Woc**–**34d** (61 мг, выход 58%) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 1027,3 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (MeOD_{dt}, 400 МГц) δ 7,60 (d, *J* = 8,4 Гц, 2H), 7,46 (d, *J* = 10,4 Гц, 1H), 7,38–7,33 (m, 4H), 6,87–6,83 (m, 2H), 6,26 (dt, *J* = 10,0, 2,0 Гц, 1H), 6,02 (s, 1H), 5,26–5,03 (m, 4,2H), 4,82–4,67 (m, 1,8H), 4,54–4,51 (m, 1H), 4,48–4,43 (m, 1H), 3,91 (d, *J* = 6,4 Гц, 1H), 3,31–3,18 (m, 1H), 3,14–3,08 (m, 1H), 2,70–2,63 (m, 1H), 2,40–2,37 (m, 1H), 2,26–2,00 (m, 4H), 1,94–1,72 (m, 4H), 1,68–1,35 (m, 20H), 1,22–0,92 (m, 14H) чнм.

[0695] **Шаг 2:** К раствору **Woc**–**34d** (59 мг, 58 мкмоль) в DCM (2 мл) и MeOH (1 мл) добавляли по каплям HCl в диоксане (4 N, 1,5 мл) при 0°C. Затем смесь перемешивали при комнатной температуре (14°C) в течение 4 часов. Летучие вещества удаляли в вакууме для получения **34d** (60 мг, сырец) в виде масла коричневого цвета, которое затем напрямую использовали для следующего шага. Масса/заряд при ЯМР: 927 (M+H)⁺.

[0696] Бицикло[6.1.0]нон–4–ин–9–илметил *N*–(14–{[(1*S*)–1–{[(1*S*)–4–(карбамоиламино)–1–{4–{[(4–{2–[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)–11–гидрокси–9,13–диметил–16–оксо–6–пропил–5,7–диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса–14,17–диен–8–ил]–2–оксоэтокси}фенил)карбамоил]окси}метил)фенил} карбамоил}бутил]карбамоил}–2–метилпропил]карбамоил}–3,6,9,12–тетраоксатетрадекан–1–ил)карбамат (**LP6**).

[0697] **LP6** получали в виде твердого вещества белого цвета (24 мг, выход 31%) Следуя **Общей процедуре F**. Масса/заряд при ЯМР: 1350,5 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (DMSO_{d6}, 400 МГц) δ 10,02 (s, 1H), 9,58 (s, 1H), 8,13 (d, *J* = 7,6 Гц, 1H), 7,88 (d, *J* = 8,4 Гц, 1H), 7,61 (d, *J* = 8,4 Гц,

2H), 7,36–7,30 (m, 5H), 7,11 (t, $J=4,8$ Гц, 1H), 6,84–6,78 (m, 2H), 6,19–6,16 (m, 1H), 5,98 (t, $J=5,2$ Гц, 1H), 5,93 (s, 1H), 5,42 (s, 2H), 5,23–5,06 (m, 4H), 4,80–4,67 (m, 3H), 4,39–4,31 (m, 2H), 4,23 (t, $J=7,2$ Гц, 1H), 4,02 (d, $J=8,0$ Гц, 2H), 3,64–3,55 (m, 2H), 3,49 (m, 12H), 3,42–3,27 (m, 3H), 3,13–2,89 (m, 4H), 2,41–2,12 (m, 9H), 2,03–1,95 (m, 2H), 1,91–1,82 (m, 2H), 1,75–1,68 (m, 1H), 1,61–1,20 (m, 16H), 1,15–0,95 (m, 2H), 0,92–0,81 (m, 15H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 69%+31%=100%, время выдержки: 8,86 минут и 8,92 минут (метод Б).

ПРИМЕР 43

[0698] Данный пример демонстрирует способ получения линкера с полезной нагрузкой LP7. Следующий пример относится к ФИГ. 16.

[0699] (Бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-илметил *N*-(14-{{[(1*S*)-1-{{[(1*S*)-1-[(4-{{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,6*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло [10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]}икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]этил}карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-3,6,9,12-тетраоксатетрадекан-1-ил)карбамат (LP7).

[0700] LP7 (24 мг, выход 31% в 3 шага от 34a) получали в виде твердого вещества белого цвета, следуя **Общей процедуре F**. Масса/заряд при ЯМР: 1115 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO_{ab}) (ротамеры) δ 9,78 (s, 0,5H), 9,69 (s, 0,5H), 8,40 (d, $J=7,5$ Гц, 0,5H), 8,15 (d, $J=7,0$ Гц, 0,5H), 8,01 (d, $J=8,0$ Гц, 0,5H), 7,89 (d, $J=9,0$ Гц, 0,5H), 7,57 (d, $J=9,0$ Гц, 1H), 7,51 (d, $J=9,0$ Гц, 1H), 7,32 (d, $J=10,1$ Гц, 1H), 7,09 (s, 1H), 6,85 (d, $J=9,1$ Гц, 2H), 6,18 (d, $J=11,4$ Гц, 1H), 5,93 (s, 1H), 5,10 (d, $J=18,5$ Гц, 1H), 4,86-4,67 (m, 4H), 4,45-4,36 (m, 1H), 4,33 (s, 1H), 4,20 (t, $J=7,5$ Гц, 0,5H), 4,10 (t, $J=7,8$ Гц, 0,5H), 4,03 (d, $J=8,0$ Гц, 2H), 3,59 (d, $J=6,6$ Гц, 2H), 3,49-3,45 (m, 11H), 3,39 (s, 2H), 3,30 (s, 2H), 3,11 (dd, $J=11,4, 5,9$ Гц, 2H), 2,47-2,43 (m, 1H), 2,38-2,12 (m, 8H), 2,03-1,83 (s, 5H), 1,62-1,51 (m, 6H), 1,42-1,24 (m, 10H), 1,02-0,94 (m, 2H), 0,90-0,82 (m, 14H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 100%, время выдержки: 9,47 минут (метод А).

ПРИМЕР 44

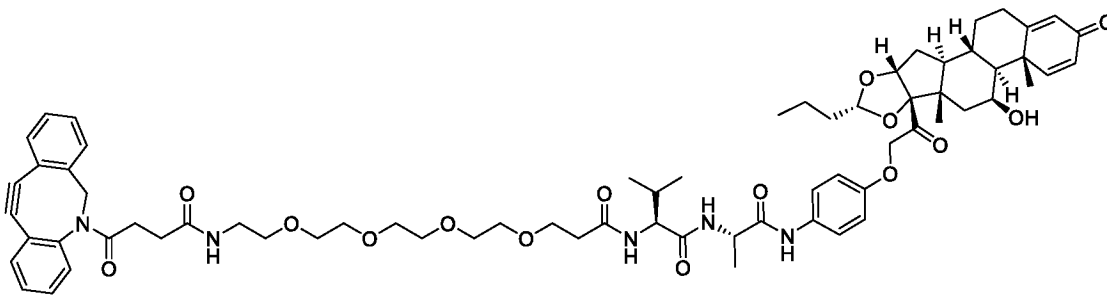
[0701] Данный пример также демонстрирует метод получения полезной нагрузки (LP7).

Следующий пример относится к ФИГ. 26. Применялись следующие условия реакции:

Амин мг (мкмоль)		Кислота мг (мкмоль)		Шаг 1			мг % выход	МС масса/ заряд		
				НАТУ мг (мкмоль)	DIPEA мг (мкмоль)	DMF (мл)			Темп. (°C)	Время (ч)
26 b	30 (43)	VI-8	48 (87)	40 (105)	17 (132)	1	25	16	30 56%	1227,6 (M+H) ⁺

[0702] К раствору кислоты (**VI-8**) (1,0-2,5 эквив.) в *N,N*-диметилформамиде (или DCM/DMF) последовательно добавляли DIPEA (1,5-10 эквив.) и HATU (2,5-4,0 эквив.) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при данной температуре в течение 0,5-1 часа, затем добавляли амин (**26b**) (1,0 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2-16 часов до полного расходования амина под контролем ЖХМС. Реакционную смесь фильтровали через мембрану, фильтрат концентрировали, затем отделяли с помощью преп-ВЭЖХ (метод В), получая примерное соединение **LP7** (выход 20-69%) в виде твердого вещества белого цвета.

1-(4-{2-азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]}гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-*N*-[(1*S*)-1-{(1*S*)-1-[(4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,6*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]}икоса-14,17-диен-8-ил}-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]этил]карбамоил}-2-метилпропил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид (LP7**).**



Масса/заряд при ЯМР: 1227,6 (M+H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO_{d6}) (ротамеры) δ 9,79 (s, 0,5H), 9,70 (s, 0,5H), 8,41 (d, *J* = 7,5 Гц, 0,5H), 8,17 (d, *J* = 7,0 Гц, 0,5H), 8,02 (d, *J* = 8,0 Гц, 0,5H), 7,89 (d, *J* = 8,6 Гц, 0,5H), 7,77 (t, *J* = 4,8 Гц, 1H), 7,68 (d, *J* = 7,3 Гц, 1H), 7,62 (d, *J* = 7,3 Гц, 1H), 7,58 (d, *J* = 9,0 Гц, 1H), 7,53-7,43 (m, 4H), 7,40-7,28 (m, 4H), 6,88-6,82 (m, 2H), 6,18 (d, *J* = 9,1 Гц, 1H), 5,93 (s, 1H), 5,10 (d, *J* = 18,4 Гц, 1H), 5,03 (d, *J* = 14,0 Гц, 1H), 4,83-4,67 (m, 4H), 4,45-4,29 (m, 2H), 4,23-4,17 (m, 0,5H), 4,11 (t, *J* = 7,7 Гц, 0,5H), 3,64-3,40 (m, 15H), 3,31-3,26 (m, 2H), 3,13-3,03 (m, 2H), 2,65-2,52 (m, 2H), 2,47-1,26 (m, 24H), 1,06-0,93 (m, 2H), 0,90-0,80 (m, 12H) чнм.

[0703] Анал. ВЭЖХ: 99%, время выдержки: 8,55 минут (метод Б).

[0704] Растворимость: <0,1 мг/мл воды; 0,06 мг/мл 20% DMSO в воде; 0,07 мг/мл 30% DMSO в воде.

ПРИМЕР 45

[0705] Данный пример демонстрирует метод получения линкера с полезной нагрузкой (**LP15**). Следующий пример относится к ФИГ. 27-28. Обратите внимание, что на ФИГ. 27 соединение 11b идентично соединению 11-5 на ФИГ. 2.

Шаг 1: Получение соединения (13b), со ссылкой на ФИГ. 27.

[0706] К раствору кислоты Fmoc-Val-Ala-OH (**12b**) в N,N-диметилформамиде добавляли НАТУ (1,0-2,8 эквив.) и ТЕА (2,0-5,0 эквив.) при 25°C. После перемешивания смеси при 25°C в течение 30 минут с помощью шприца добавляли раствор амина (**11b**, т.е. полезную нагрузку, 1,0 эквив.) в N,N-диметилформамиде (1 мл). Полученную смесь перемешивали при 25°C в течение 2-24 часов до расходования большей части амина в соответствии с данными ЖХМС. Затем к смеси добавляли пиперидин или диэтиламин (излишек), смесь перемешивали при 25°C в течение 1-16 часов до полного удаления Fmoc под контролем ЖХМС. Реакционную смесь фильтровали через мембрану, фильтрат концентрировали и напрямую очищали методом преп-ВЭЖХ (метод В) или методом флэш-хроматографии с обращенной фазой для получения соединения **13b** (выход 23-64%) в виде твердого вещества белого цвета. В частности, применялись следующие условия:

Амин мг (ммоль)		Кислота мг (ммоль)		Шаг 1				Шаг 2		Очи- щение *	% Выхо д мг	Масса/ заряд (M+1) ⁺
				НАТ У мг (ммоль)	DIPE А мг (ммоль)	DM F (мл)	Вре мя (ч)	Et ₂ N H (мл)	Ве мя (ч)			
11 b	85 (0,0 76)	12 b	69 (0,0 88)	69 (0,18)	TEA 18 (0,18)	3	2	0.5	16	RP	17, 43%	832.2 (M/2+ H) ⁺

Шаг 2: Получение соединения (17a), со ссылкой на ФИГ. 27.

[0707] К раствору соединения **13b** в N,N-диметилформамиде добавляли НАТУ (1,0-2,8 эквив.) и DIPEA или ТЕА (2,0-5,0 эквив.) при 25°C. После перемешивания смеси при 25°C в течение 30 минут с помощью шприца добавляли раствор Fmoc-Lys-(PEG)4-COT (**13c**, 1.0 эквив.) в N,N-диметилформамиде (1 мл). Полученную смесь перемешивали при 25 °C в течение 2-24 часов до расходования больше части амина (**13b**) в соответствии с данными ЖХМС. Затем к смеси добавляли пиперидин или диэтиламин (излишек), смесь перемешивали при 25°C в течение 1-16 часов до полного удаления Fmoc под контролем ЖХМС. Реакционную смесь фильтровали через мембрану, фильтрат концентрировали и напрямую очищали методом преп-ВЭЖХ (метод В) или методом флэш-хроматографии с обращенной фазой для получения соединения (**17a**) (выход 23-64%) в виде твердого вещества белого цвета.

Шаг 3: Получение соединения (27b), со ссылкой на ФИГ. 27.

[0708] К раствору алкина (**17a**) (1,0 эквив.) в N,N-диметилформамиде или DMSO добавляли α-циклодекстрин-азид (**16a**) (См. *Synth. Commun.*, 2002, 32(21), 3367-3372; *J. Am.*

Chem. Soc., **2012**, 134(46), 19108-19117; *J. Med. Chem.*, **1997**, 40(17), 2755-2761; *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, полное содержание каждой из этих публикаций включено в данное описание посредством ссылки для всех целей, 115(12), 5035-5040) (1,5-3,0 эквив.). Затем полученную смесь перемешивали при 20-30°C в течение 16 часов-3 дней до полного расходования соединения **16a** и получения желаемой массы промежуточного соединения, под контролем ЖХМС. После фильтрации полученную смесь напрямую очищали методом преп-ВЭЖХ (или использовали напрямую), получая соединение **27b** (выход 25-58%) в виде твердого вещества белого цвета (с региоизомерами триазола). В частности, применялись следующие условия.

Алкин мг (ммоль)	16a мг (ммоль)	Раствор (мл)	Темп. (°C)	Время (ч)	Очищение	Выход	Масса/ заряд
50 (0.030)	60 (0,06)	DMSO (2)	25	48	RP-B	46 мг, 58%	887,9 (M/3+H) ⁺

Шаг 4: Получение соединения (LP15), со ссылкой на ФИГ. 28.

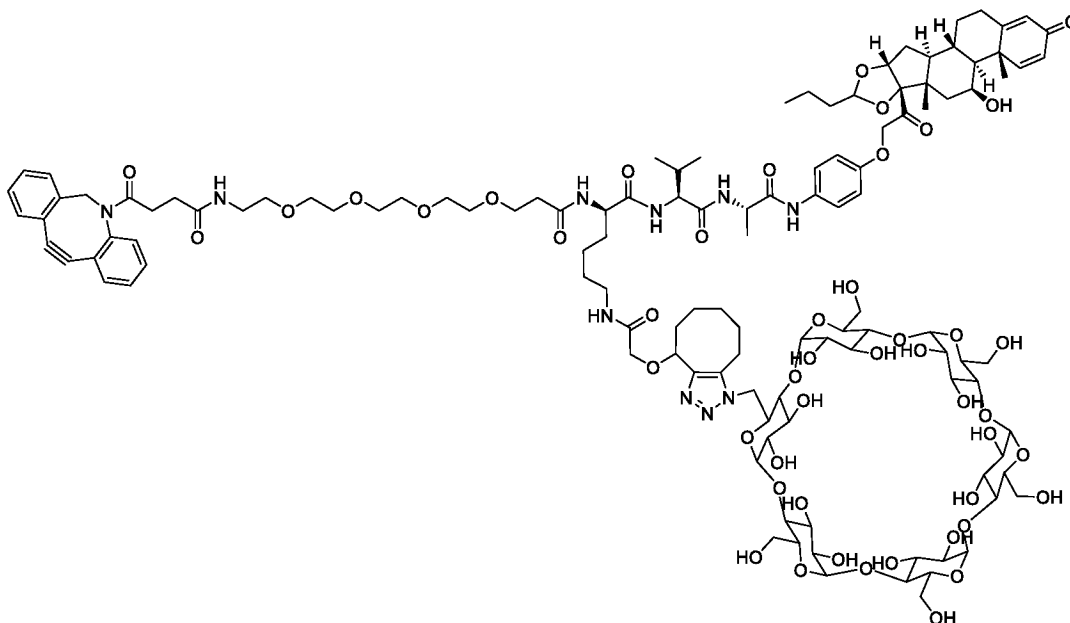
[0709] Применялись следующие условия реакции:

Амин мг (мкмоль)		Кислота мг (мкмоль)							мг % выход	МС масса / заряд
				НАТУ мг (мкмоль)	DIPEA мг (мкмоль)	DMF (мл)	Темп. (°C)	Время (ч)		
27 b	13 (6,0)	VI- 8	20 (36)	15 (39)	4.0 (31)	2	25	2	6,0 36%	1259,1 (M/2+H) ⁺

[0710] К раствору кислоты (VI-8) (1,0-2,5 эквив.) в N,N-диметилформамиде (или DCM/DMF) последовательно добавляли DIPEA (1,5-10 эквив.) и НАТУ (2,5-4,0 эквив.) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при данной температуре в течение 0,5-1 часа, затем добавляли амин (27b) (1,0 эквив.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2-16 часов до полного расходования амина (27b), п под контролем ЖХМС. Реакционную смесь фильтровали через мембрану, фильтрат концентрировали, затем отделяли методом преп-ВЭЖХ (метод В) для получения примерного соединения (выход 20-69%) в виде твердого вещества белого цвета.

1-(4-{2-Азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-N-[(1R)-5-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-додекаоксагептацикло[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11},2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]дотетракотан-5-ил]метил}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-4-ил)окси]ацетамидо}-1-[(1S)-1-[(1S)-1-[(4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-

пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]этил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}пентил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид (LP15)



Масса/заряд при ЯМР: 1259,1 (M/2+H)⁺.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO_{d6}) (ротамеры) δ 9,84 (s, 1H), 8,34 (s, 0,5H), 8,15 (d, J = 7,3 Гц, 1H), 8,04 (d, J = 6,6 Гц, 1H), 7,90-7,84 (m, 1H), 7,81-7,74 (m, 1,5H), 7,72-7,56 (m, 4H), 7,56-7,27 (m, 11H), 6,89-6,79 (m, 2H), 6,17 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 5,93 (s, 1H), 5,64-5,44 (m, 12H), 5,24-5,00 (m, 5H), 4,86-4,51 (m, 16H), 4,40-4,16 (m, 5H), 4,05-3,96 (m, 1H), 3,86-3,73 (m, 10H), 3,67-2,88 (m, 35H), 2,80-2,69 (m, 1H), 2,62-2,55 (m, 1H), 2,41-2,20 (m, 6H), 2,10-1,71 (m, 10H), 1,66-1,07 (m, 26H), 1,05-0,79 (m, 17H) чнм. Анал. ВЭЖХ: 97%, Время выдержки: 6.62 и 6.67 минут (метод Б). Время выдержки дано по региоизомерам триазола.

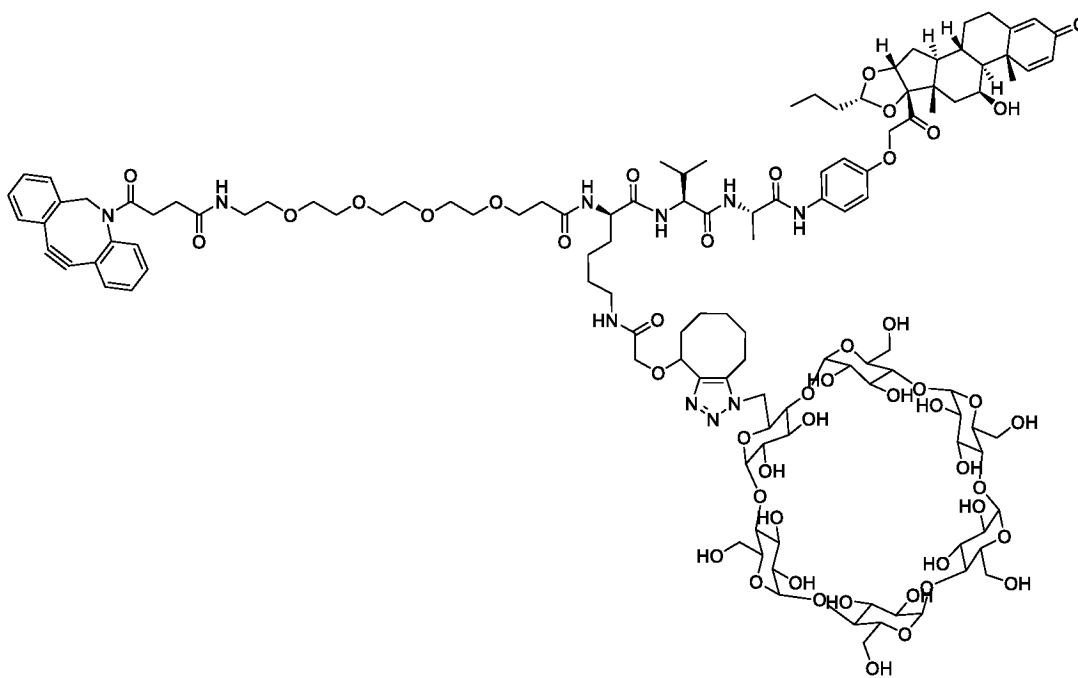
ПРИМЕР 46

[0711] Данный пример демонстрирует способ получения линкера с полезной нагрузкой (LP16). Следующий пример относится к ФИГ. 27-28. Способ получения LP16 был таким же, как и способ получения LP15 в приведенном здесь ПРИМЕРЕ 45, за исключением того, что была использована другая полезная нагрузка, как показано на ФИГ. 27-28. Применялись следующие условия реакции:

Амин мг (мкмоль)	Кислота мг (мкмоль)	Шаг 1							Очи- ще- ние	мг % вы- ход	МС масса / заряд
		НАТУ мг (мкмоль)	DIPEA мг (мкмоль)	DMF (мл)	Темп. (°C)	Время (ч)					
27b	30 (15)	VI- 8 (18)	8,0 (21)	6,0 (47)	1	15-20	16	В	18 47%	1259,1 (M/2+H) ⁺	

[0712] К раствору кислоты VI-8 (1,0-2,5 эквив.) в N,N-диметилформамиде (или DCM/DMF) последовательно добавляли DIPEA (1,5-10 эквив.) и HATU (2,5-4,0 эквив.) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при данной температуре в течение 0,5-1 часа, затем добавляли амин (27b) (1,0 эквив.) Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2-16 часов до полного расходования амина (27b), под контролем ЖХМС. Реакционную смесь фильтровали через мембрану, фильтрат концентрировали, затем отделяли с помощью преп-ВЭЖХ (метод В), получая примерное соединение (выход 20-69%) в виде твердого вещества белого цвета.

1-(4-{2-Азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-N-[(1R)-5-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-додекаоксагептацикло[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]дотетракотан-5-ил]метил}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-4-ил)окси]ацетамидо}-1-[(1S)-1-[(1S)-1-[(4-{2-[(1S,2S,4R,6R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]этил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}пентил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид (LP16)



Масса/заряд при ЯМР: 839,5 (M/3+H)⁺, 1259.1 (M/2+H)⁺ (60%).

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO_{d6}) (с региоизомером триазола) δ 9,77-9,42 (m, 1H), 8,27-8,20 (m, 0,5H), 8,17-8,01 (m, 2H), 7,86-7,74 (m, 2,5H), 7,70-7,60 (m, 4H), 7,57-7,43 (m, 7H), 7,39-7,28 (m, 6H), 6,88-6,81 (m, 2H), 6,21-6,14 (m, 1H), 5,93 (s, 1H), 5,61-5,42 (m, 10H), 5,16-4,97 (m, 4H), 4,89-4,48 (m, 17H), 4,40-4,28 (m, 4H), 4,16-4,10 (m, 1H), 4,04-3,94 (m, 1H), 3,83-3,74 (m,

7H), 3,65-3,56 (m, 9H), 3,48-3,21 (m, 23H), 3,15-3,06 (m, 4H), 2,97-2,89 (m, 1H), 2,81-2,69 (m, 1H), 2,61-2,53 (m, 2H), 2,40-2,20 (m, 6H), 2,14-2,06 (m, 2H), 2,03-1,95 (m, 4H), 1,91-1,70 (m, 5H), 1,64-1,52 (m, 9H), 1,49-1,25 (m, 14H), 1,13-0,81 (m, 19H) чнм. Анал. ВЭЖХ: 98%, время выдержки: 6,61(59%) и 6,73 (39%) минут (метод Б). Время выдержки указано по двум региоизомерам триазола. Растворимость: 0,1 мг/мл 10% DMSO в воде.

ПРИМЕР 47

[0713] Данный пример демонстрирует способ получения линкера с полезной нагрузкой (**LP8**). Следующий пример относится к ФИГ. 16.

[0714] (2*S*)-2-[(2*S*)-2-Амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)-*N*-(4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)пентанамид (**34h**).

[0715] Соединение (**34h**) в виде твердого вещества белого цвета получали в соответствии с общей процедурой **C** после очищения методом преп-ВЭЖХ (метод Б). Масса/заряд при ЯМР: 778 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO_{д6}) δ 9,97 (d, *J* = 12,0 Гц, 1H), 8,10 (m, 1H), 7,51 (d, *J* = 6,5 Гц, 2H), 7,32 (dd, *J* = 10,1, 2,5 Гц, 1H), 6,83 (dd, *J* = 15,9, 9,0 Гц, 2H), 6,17 (d, *J* = 10,0 Гц, 1H), 5,97 (t, *J* = 5,0 Гц, 1H), 5,93 (s, 1H), 5,40 (s, 2H), 5,22 (t, *J* = 4,8 Гц, 1H), 5,12 (d, *J* = 6,0 Гц, 1H), 5,09 (d, *J* = 6,5 Гц, 1H), 4,83-4,67 (m, 3H), 4,47-4,37 (m, 1H), 4,35-4,29 (m, 1H), 3,05-2,90 (m, 3H), 2,57-2,51 (m, 1H), 2,30 (d, *J* = 12,0 Гц, 1H), 2,13-1,74 (m, 7H), 1,70-1,46 (m, 7H), 1,45-1,29 (m, 7H), 1,17-0,93 (m, 2H), 0,91-0,82 (m, 9H), 0,77 (dd, *J* = 6,7, 2,7 Гц, 3H) чнм.

[0716] 1-(4-{2-Азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-*N*-[(1*S*)-1-[(1*S*)-1-[(4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,6*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]этил]карбамоил]-2-метилпропил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид (**LP8**).

[0717] Соединение **LP8** (25 мг, 20% выход) получали в виде твердого вещества белого цвета, следуя **Общей процедуре F**. Масса/заряд при ЯМР: 1263 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO_{д6}) δ 9,79 (s, 0,7H), 9,69 (s, 0,3H), 8,41 (d, *J* = 8,0 Гц, 0,3H), 8,16 (d, *J* = 8,0 Гц, 0,7H), 8,01 (d, *J* = 7,6 Гц, 0,3H), 7,89 (d, *J* = 7,6 Гц, 0,7H), 7,77 (t, *J* = 5,2 Гц, 1H), 7,70-7,66 (m, 1H), 7,64-7,60 (m, 1H), 7,60-7,54 (m, 1H), 7,54-7,44 (m, 4H), 7,40-7,24 (m, 4H), 6,90-6,82 (m, 2H), 6,30 (dd, *J* = 10 Гц, 1,2 Гц, 1H), 6,11 (s, 1H), 5,72-5,55 (m, 1H), 5,52-5,48 (m, 1H), 5,16-5,08 (m, 1H), 5,06-5,00 (m, 1H), 4,88-4,80 (m, 1H), 4,80-4,76 (m, 1H), 4,74 (t, *J* = 4,0 Гц, 1H), 4,42-4,33 (m, 1H), 4,26-4,06 (m, 2H), 3,64-3,54 (m, 3H), 3,50-3,40 (m, 12H), 3,12-3,02 (m, 2H), 2,70-2,55 (m, 2H), 2,40-2,20 (m, 4H), 2,12-1,90 (m, 4H), 1,86-1,70 (m, 2H), 1,64-1,54 (m, 4H), 1,49

(s, 4H), 1,46-1,34 (m, 3H), 1,29 (d, $J = 6,8$ Гц, 3H), 0,90-0,80 (m, 13H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 100%, время выдержки: 8.26 минут (метод Б).

ПРИМЕР 48

[0718] Данный пример демонстрирует способ получения линкера с полезной нагрузкой (LP9). Следующий пример относится к ФИГ. 16.

[0719] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-Азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13, 15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-(4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамамат (LP9).

[0720] Соединение (34i) в виде твердого вещества белого цвета получали в соответствии с общей процедурой D.

[0721] Соединение LP9 (20 мг, выход 22%) получали, следуя **Общей процедуре F**.

Масса/заряд при ЯМР: 1499 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ 10,02 (s, 1H), 9,59 (s, 1H), 8,14 (d, $J = 7,6$ Гц, 1H), 7,88 (d, $J = 8,8$ Гц, 1H), 7,80-7,75 (m, 1H), 7,70-7,66 (m, 1H), 7,65-7,60 (m, 3H), 7,53-7,45 (m, 3H), 7,40-7,28 (m, 7H), 6,84 (d, $J = 9,2$ Гц, 2H), 6,30 (dd, $J = 10,4$ Гц, $J = 1,6$ Гц, 1H), 6,11 (s, 1H), 6,10-6,0 (m, 1H), 5,72-5,55 (m, 1H), 5,52 (s, 1H), 5,43 (s, 2H), 5,16-5,05 (m, 4H), 4,88-4,70 (m, 3H), 4,43-4,33 (m, 1H), 4,25-4,20 (m, 2H), 3,65-3,55 (m, 3H), 3,50-3,40 (m, 12H), 3,30-3,25 (m, 2H), 3,12-2,90 (m, 4H), 2,70-2,55 (m, 2H), 2,48-2,43 (m, 1H), 2,40-2,35 (m, 1H), 2,30-2,20 (m, 2H), 2,15-1,95 (m, 4H), 1,86-1,75 (m, 2H), 1,64-1,54 (m, 5H), 1,49 (s, 4H), 1,46-1,34 (m, 4H), 1,23 (s, 2H), 0,90-0,80 (m, 12H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 100%, время выдержки: 7.83 минут (метод Б).

ПРИМЕР 49

[0722] Данный пример демонстрирует способ получения линкера с полезной нагрузкой (LP10). Следующий пример относится к ФИГ. 16.

[0723] (1S,2S,4R,6R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-8-(2-Аминоацетил)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (34j).

[0724] Соединение 34j (80 мг, выход 64%) получали из соединения 1-19, следуя **Общей процедуре D**. Масса/заряд при ЯМР: 871 (M+H)⁺.

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-Азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13, 15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-

метил бутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-{(4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*, 12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамат (LP10).

[0725] Следуя **Общей процедуре F**, соединение (LP10) (20 мг, выход 22%) получали в результате реакции 34j (43 мг, 50 мкмоль) с эфиром DIBAC-suc-PEG₄-NHS (VI), после очищения методом преп-ВЭЖХ (метод Б). Масса/заряд при ЯМР: 1406 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (DMSO_{д6}, 500 МГц) δ 9,99 (s, 1H), 8,11 (d, *J* = 7,5 Гц, 1H), 7,88 (d, *J* = 8,5 Гц, 1H), 7,80-7,75 (m, 1H), 7,70-7,66 (m, 1H), 7,65-7,60 (m, 3H), 7,53-7,33 (m, 6H), 7,33-7,28 (m, 3H), 6,30 (dd, *J* = 10,0 Гц и 1,5 Гц, 1H), 6,11 (s, 1H), 6,10-6,00 (m, 1H), 5,72-5,55 (m, 2H), 5,41 (s, 2H), 5,05-5,01 (m, 1H), 4,97 (s, 2H), 4,80-4,72 (m, 1H), 4,60-4,58 (m, 1H), 4,43-4,33 (m, 1H), 4,25-4,10 (m, 3H), 3,88-3,80 (m, 1H), 3,65-3,55 (m, 3H), 3,50-3,40 (m, 12H), 3,30-3,25 (m, 2H), 3,12-2,90 (m, 4H), 2,70-2,55 (m, 2H), 2,48-2,35 (m, 2H), 2,30-2,20 (m, 2H), 2,15-1,95 (m, 4H), 1,86-1,65 (m, 3H), 1,64-1,54 (m, 5H), 1,49 (s, 4H), 1,46-1,34 (m, 5H), 0,90-0,80 (m, 12H) чнм. Анал. ВЭЖХ: 100%, время выдержки: 7.40 минут (метод Б).

ПРИМЕР 50

[0726] Данный пример демонстрирует способ получения линкера с полезной нагрузкой LP11. Следующий пример относится к ФИГ. 16.

{4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(4-{2-Азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-{(4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,6*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)метил]карбамат (LP11).

[0727] Соединение 34k (80 мг, выход 64%) получали из (11-19), следуя **Общей процедуре D**.

[0728] Следуя **Общей процедуре C**, Соединение (LP11) (18 мг, выход 31%) в виде твердого вещества белого цвета получали в результате реакции соединения (34k). Масса/заряд при ЯМР: 756,5 (M/2+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO_{д6}) δ 10,02 (s, 1H), 8,14 (d, *J* = 8,0 Гц, 1H), 7,88 (d, *J* = 8,0 Гц, 1H), 7,76(t, *J* = 5,5 Гц, 1H), 7,72(t, *J* = 5,5 Гц, 1H), 7,70-7,66 (m, 1H), 7,65-7,60 (m, 3H), 7,53-7,45 (m, 3H), 7,40-7,31 (m, 2H), 7,31-7,25 (m, 4H), 7,20-7,15 (m, 2H), 6,86-6,80 (m, 2H), 6,30 (dd, *J* = 10,4 Гц, 1,6 Гц, 1H), 6,11 (s, 1H), 6,10-6,00 (m, 1H), 5,72-5,55 (m, 1H), 5,52 (s, 1H), 5,43 (s, 2H), 5,16-5,10 (m, 1H), 5,06-5,00 (m, 1H), 5,00-4,93 (m, 2H), 4,90-4,76 (m, 2H), 4,75 (t, *J* = 4,0 Гц, 1H), 4,43-4,33 (m, 1H), 4,25-4,20 (m, 2H), 4,12 (d, *J* = 6,0 Гц, 2H), 3,65-3,55 (m, 3H), 3,50-3,40 (m, 12H), 3,30-3,25 (m, 2H), 3,12-2,90 (m,

4H), 2,70-2,55 (m, 2H), 2,48-2,43 (m, 1H), 2,40-2,35 (m, 1H), 2,30-2,20 (m, 2H), 2,15-1,95 (m, 4H), 1,86-1,70 (m, 3H), 1,64-1,54 (m, 5H), 1,49 (s, 4H), 1,46-1,34 (m, 4H), 0,90-0,80 (m, 12H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 99%, время выдержки: 7,89 минут (метод Б).

ПРИМЕР 51

[0729] Данный пример демонстрирует способ получения линкера с полезной нагрузкой **LP12**. Следующий пример относится к ФИГ. 17.

[0730] [(2*R*,3*R*,4*S*,5*R*,6*S*)-3,4,5-три(ацетилокси)-6-[4-формил-3-(проп-2-ин-1-илокси)феноксид]оксан-2-ил]метил ацетат (**45**).

[0731] Шаг 1: О синтезе [(2*R*,3*R*,4*S*,5*R*,6*S*)-3,4,5-трис(ацетилокси)-6-(4-формил-3-гидроксифеноксид)оксан-2-ил]метил ацетата (**43**) сообщалось в источнике *Carbohydrate Research*, 1986, 146, 241-249, полное содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки. К раствору промежуточного соединения **43** (2,8 г, 6,0 ммоль) в ацетоне (40 мл) одновременно добавляли карбонат натрия (1,7 г, 12 ммоль) и 3-бромпроп-1-ин (**44**, 3,5 г, 30 ммоль), полученную смесь кипятили с обратным холодильником в течение ночи. Затем смесь концентрировали в вакууме, остаток очищали флэш-хроматографией (0-33% этил ацетат в нефтяном эфире) для получения соединения **45** (1,9 г, выход 63%) в виде твердого вещества коричневого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 507 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (MeOD_{dd}, 500 МГц) δ 10,26 (s, 1H), 7,78 (d, *J* = 8,5 Гц, 1H), 6,87 (d, *J* = 2,0 Гц, 1H), 6,77 (dd, *J* = 8,5, 2,0 Гц, 1H), 5,51 (d, *J* = 8,0 Гц, 1H), 5,41 (t, *J* = 9,5 Гц, 1H), 4,93 (t, *J* = 2,5 Гц, 2H), 5,23-5,19 (m, 1H), 5,14 (t, *J* = 9,5 Гц, 1H), 4,34-4,30 (m, 1H), 4,22-4,15 (m, 2H), 3,11 (t, *J* = 2,0 Гц, 1H), 2,05-1,99 (m, 12H) чнм.

[(2*R*,3*R*,4*S*,5*R*,6*S*)-3,4,5-Три(ацетилокси)-6-[4-(гидроксиметил)-3-(проп-2-ин-1-илокси)феноксид]оксан-2-ил]метил ацетат (**46**).

[0732] Шаг 2: К раствору соединения **45** (0,83 г, 1,6 ммоль) в изопропанолу (50 мл) добавляли борогидрид натрия (31 мг, 0,82 ммоль). Смесь перемешивали при 23°C в течение 2 часов, затем концентрировали в вакууме. Остаток разбавляли этил ацетатом и промывали рассолом. Органический раствор сушили над сульфатом натрия и концентрировали, получая соединение **46** (0,70 г, выход 84%) в виде масла коричневого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 526,1 (M+H₂O)⁺. ¹H ЯМР (MeOD_{dd}, 500 МГц) δ 7,32 (d, *J* = 8,0 Гц, 1H), 6,78 (d, *J* = 2,0 Гц, 1H), 6,67 (dd, *J* = 8,0, 2,0 Гц, 1H), 5,40 (t, *J* = 9,0 Гц, 1H), 5,33 (dd, *J* = 7,5 Гц, 1H), 5,20-5,11 (m, 2H), 4,78 (t, *J* = 2,5 Гц, 2H), 4,59 (s, 2H), 4,32 (d, *J* = 12,5, 5,0 Гц, 1H), 4,21 (dd, *J* = 12,5, 2,5 Гц, 1H), 4,12-4,08 (m, 1H), 3,02 (t, *J* = 2,0 Гц, 1H), 2,07-2,0.

[0733] [(2*R*,3*R*,4*S*,5*R*,6*S*)-3,4,5-три(ацетилокси)-6-(4-{{(4-нитрофеноксикарбонил)окси}метил}-3-(проп-2-ин-1-илокси)фенокси)оксан-2-ил]метил ацетат (**48**).

[0734] Шаг 3: К раствору соединения **46** (0,40 г, 0,79 ммоль) в метилен хлориде (30 мл) добавляли 4-нитрофенил хлорформиат (**47**, 0,24 г, 1,2 ммоль), 4-диметиламинопиридин (0,19 г, 1,6 ммоль) и диизопропилэтиламин (0,20 г, 1,6 ммоль). Смесь перемешивали при 23°C в течение ночи и разбавляли метилен-хлоридом (50 мл). Органический раствор промывали насыщенным водным раствором хлорида аммония (50 мл), затем рассолом (50 мл), сушили над сульфатом натрия и концентрировали. Остаток очищали флэш-хроматографией (0–33% этил ацетат в петролейном эфире) с получением соединения **48** (0,30 г, выход 57%) в виде твердого вещества желтоватого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 691,0 (M+H₂O)⁺. ¹H ЯМР (CDCl₃, 500 МГц) δ 8,27 (d, J = 9,0 Гц, 2H), 7,38 (d, J = 9,0 Гц, 2H), 7,35 (d, J = 8,5 Гц, 1H), 6,75 (d, J = 2,5 Гц, 1H), 6,64 (dd, J = 9,0, 2,5 Гц, 1H), 5,33–5,26 (m, 4H), 5,21–5,17 (m, 1H), 4,76 (t, J = 2,0 Гц, 2H), 4,28 (dd, J = 12,5, 5,0 Гц, 1H), 4,20 (dd, J = 12,5, 2,5 Гц, 1H), 3,89–3,88 (m, 1H), 2,56 (t, J = 7,0 Гц, 1H), 2,08–2,04 (m, 12H) чнм.

[(2*R*,3*R*,4*S*,5*R*,6*S*)-3,4,5-Три(ацетилокси)-6-[4-{{(4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло [10.8.002,9.04,8.013,18]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил}окси}метил)-3-(проп-2-ин-1-илокси)фенокси]оксан-2-ил]метил ацетат (49**).**

[0735] Шаг 4: К раствору соединения **48** (0,15 г, 0,22 ммоль) в N,N-диметилформамиде (5 мл) последовательно добавляли **11-5** (0,14 г, 0,26 ммоль), НОВt (59 мг, 0,44 ммоль) и диизопропилэтилмине (57 мг, 0,44 ммоль). Смесь перемешивали при 23°C в течение ночи, затем очищали с помощью преп-ВЭЖХ (метод В) для получения соединения **49** (0,14 г, выход 62%) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 1056,3 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (MeODd₄, 400 МГц) δ 7,46 (d, J = 10,4 Гц, 1H), 7,35–7,26 (m, 3H), 6,87–6,80 (m, 3H), 6,67 (dd, J = 8,0, 2,4 Гц, 1H), 6,26 (dt, J = 10,0, 2,4 Гц, 1H), 6,03 (br s, 1H), 5,42–5,34 (m, 2,5H), 5,26–5,03 (m, 5,5H), 4,88–4,64 (m, 4H), 4,46–4,43 (m, 1H), 4,34–4,30 (m, 1H), 4,21–4,18 (m, 1H), 4,12–4,08 (m, 1H), 3,03 (t, J = 2,0 Гц, 1H), 2,71–2,62 (m, 1H), 2,41–2,38 (m, 1H), 2,28–2,15 (m, 2H), 2,06–2,04 (m, 12H), 1,90–1,39 (m, 12H), 1,20–0,89 (m, 8H) чнм.

[0736] [2-(проп-2-ин-1-илокси)-4-{{(2*S*,3*R*,4*S*,5*S*,6*R*)-3,4,5-тригидрокси-6-(гидроксиметил)оксан-2-ил}окси}фенил]метил N-(4-{2-[(1*S*,2*S*,4*S*,8*R*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-4,9,13-триметил-16-оксо-6-пропил-7-оксапентацикло [10.8.002,9.04,8.013,18]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамат (**LP12**).

[0737] Шаг 5: К раствору соединения **49** (35 мг, 33 мкмоль) в метаноле (3 мл) добавляли другой раствор LiOH в H₂O (14 мг, 0,33 ммоль) в воде (1 мл). Смесь перемешивали при 23°C в течение 1,5 часов и гасили НОАс (20 мг). Смесь концентрировали в вакууме,

остаток очищали by с помощью преп-ВЭЖХ (метод В) для получения линкера-полезной нагрузки **LP12** (26 мг, выход)88% в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 888 (M+H)⁺. 1H ЯМР (MeODd4, 400 МГц) δ 7,46 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 7,35–7,30 (m, 3H), 6,91 (d, J = 2,0 Гц, 1H), 6,87–6,83 (m, 2H), 6,74 (dd, J = 8,0, 2,0 Гц, 1H), 6,27 (dt, J = 10,0, 2,0 Гц, 1H), 6,03 (s, 1H), 5,25 (t, J = 4,8 Гц, 0,5H), 5,19 (d, J = 7,2 Гц, 0,5H), 5,13–5,03 (m, 3H), 4,94–4,91 (m, 1H), 4,82–4,75 (m, 3H), 4,71–4,67 (m, 1H), 4,46–4,43 (m, 1H), 3,91 (dd, J = 12,0, 2,0 Гц, 1H), 3,70 (dd, J = 12,0, 5,2 Гц, 1H), 3,48–3,36 (m, 4H), 2,99 (t, J = 2,4 Гц, 1H), 2,71–2,62 (m, 1H), 2,40–2,37 (m, 1H), 2,26–2,12 (m, 2H), 2,07–2,00 (m, 1H), 1,88–1,61 (m, 5H), 1,56–1,35 (m, 6H), 1,20–0,92 (m, 8H) чнм.

ПРИМЕР 25

[0738] Данный пример демонстрирует способ получения линкера с полезной нагрузкой **LP13**. Следующий пример относится к ФИГ. 18.

2-[(1S,2S,4S,8S,9S,11S,12S,13R)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил N-(2-[(4-(2S)-5-(карбамоиламино)-2-[(2S)-2-[6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)гексанамидо]-3-метилбутанамидо]пентанамидо]фенил}метокси)карбонил (метил)амино}этил)-N-метилкарбамат (LP13)

[0739] К раствору карбоната Будесонид-ДМЭ (20 мг, 0,037 ммоль) в ДМФА (1 мл) последовательно добавляли MC-VC-PAV-PNP (22 мг, 0,03 ммоль), DIPEA (12 мг, 0,09 ммоль) и НОВt (6 мг, 0,05 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 часов, затем проводили препаративную ВЭЖХ с получением двух эписмеров: эписмер 1: 3,3 мг (выход 10%) и эписмер 2: 4,1 мг (выход 12%).

[0740] Эписмер 1: Масса/заряд при ЯМР: 1143,4 (M+1). 1H ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 7,63–7,62 (m, 2H), 7,50–7,49 (m, 1H), 7,37–7,35 (m, 2H), 6,81 (s, 1H), 6,29–6,27 (m, 1H), 6,03 (brs, 1H), 5,37–5,08 (m, 5H), 4,83–4,79 (m, 3H), 4,53–4,46 (m, 2H), 4,18–4,15 (m, 1H), 3,69–3,37 (m, 6H), 3,25–3,13 (m, 3H), 3,12–2,96 (m, 5H), 2,90–2,86 (m, 2H), 2,68–2,64 (m, 1H), 2,41–2,40 (m, 1H), 2,31–2,28 (m, 2H), 2,26–1,95 (m, 7H), 1,93–1,77 (m, 11H), 1,51 (s, 3H), 1,42–1,30 (m, 10H), 1,25–0,89 (m, 15H)

[0741] Эписмер 2: Масса/заряд при ЯМР: 1143,4 (M+1). 1H ЯМР (400 МГц, MeOD) δ 7,62–7,34 (m, 5H), 6,81 (brs, 1H), 6,29–6,23 (m, 1H), 6,05–6,00 (m, 1H), 5,27–5,17 (m, 4H), 4,92–4,79 (m, 2H), 3,75–3,37 (m, 7H), 3,03–2,86 (m, 5H), 2,72–2,63 (m, 1H), 2,41–2,28 (m, 3H), 2,23–2,04 (m, 7H), 1,91–1,32 (m, 31H), 1,19–0,90 (m, 14H).

ПРИМЕР 53

[0742] Данный пример демонстрирует способ получения линкера с полезной нагрузкой LP14. Следующий пример относится к ФИГ. 18.

[0743] *N*-[(1*S*)-1-[(1*S*)-1-[(4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,6*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-Дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]этил]карбамоил}-2-метилпропил]-1-{2-[4-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1*H*-пиррол-1-ил)фенил]ацетамидо}-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид (LP14).

[0744] Соединение 34h-2 (0,18 г, выход 74% в 2 шага) получили, следуя **Общей процедуре F**. Масса/заряд при ЯМР: 728 (M+H)⁺.

[0745] Соединение LP14 (20 мг, выход 14% в три шага от 34h) получали в виде твердого вещества белого цвета. ESI: 1189 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO_{d6}) δ 9,81-9,67 (m, 1H), 8,43-8,13 (m, 2H), 8,03-7,84 (m, 1H), 7,61-7,47 (m, 2H), 7,35 (d, *J* = 8,4 Гц, 2H), 7,29-7,21 (m, 3H), 7,17 (s, 2H), 6,88-6,81 (m, 2H), 6,33-6,28 (dd, *J* = 10,1, 1,8 Гц, 1H), 6,11 (s, 1H), 5,71-5,56 (m, 1H), 5,51 (s, 1H), 5,12 (d, *J* = 18,5 Гц, 1H), 4,84 (d, *J* = 18,5 Гц, 1H), 4,79-4,76 (m, 1H), 4,74 (t, *J* = 4,3 Гц, 2H), 4,38-4,33 (m, 1H), 4,25-4,17 (m, 2H), 3,63-3,55 (m, 2H), 3,52-3,44 (m, 14H), 3,42 (t, *J* = 5,8 Гц, 2H), 3,21 (q, *J* = 5,7 Гц, 1H), 2,69-2,55 (m, 1H), 2,47-2,41 (m, 1H), 2,41-2,34 (m, 1H), 2,29-2,23 (m, 1H), 2,14-2,02 (m, 2H), 1,99-1,90 (m, 1H), 1,82 (d, *J* = 13,0 Гц, 1H), 1,65-1,53 (m, 4H), 1,49 (s, 3H), 1,47-1,41 (m, 1H), 1,40-1,33 (m, 2H), 1,29 (d, *J* = 7,1 Гц, 3H), 0,90-0,80 (m, 12H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 100%, время выдержки: 8,45 минут (метод А).

[0746] В Таблице 7 ниже приведены некоторые физические свойства LP1–LP16.

ТАБЛИЦА 7: ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ ЛИНКЕРОВ С ПОЛЕЗНОЙ НАГРУЗКОЙ

№ LP	Молекулярная формула	Молекулярная масса	Чистота (%)	MS масса/заряд (100%)	Наибольшее значение масса/заряд	ВЭЖХ комн.темп. (мин.)
LP1	C ₆₆ H ₈₁ N ₅ O ₁₅	1184,4	98	593 (M/2+H)	1185 (M+H, 20%)	6,53 (B)
LP2	C ₆₁ H ₈₆ F ₂ N ₆ O ₁₅	1181,4	100	1181,4 (M+H)	1181,4 (M+H)	7,83 (B)
LP3	C ₇₀ H ₉₄ F ₂ N ₆ O ₁₇	1329,5	100	1330,4 (M+H)	1330,4 (M+H)	7,03 (B)
LP4	C ₆₁ H ₈₆ N ₄ O ₁₅	1115,4	100	1115 [M+H]	1115 [M+H]	8,17 (A) 8,24 (B)

№ LP	Молекулярная формула	Молекулярная масса	Чистота (%)	MS масса/заряд (100%)	Наибольшее значение масса/заряд	ВЭЖХ комн. темп. (мин.)
LP5	C ₆₄ H ₉₂ N ₆ O ₁₆	1201,5	100	1201 [M+H]	1201 [M+H]	7,34 (A) 7,44 (B)
LP6	C ₇₂ H ₉₉ N ₇ O ₁₈	1350,6	100	1350,5 (M+H)	1350,5 (M+H)	8,87 (A)
LP7	C ₆₁ H ₈₆ N ₄ O ₁₅	1226,5	100	1227,8 (M+H)	1227,8 (M+H)	9,47 (A)
LP8	C ₆₉ H ₈₅ F ₂ N ₅ O ₁₅	1262,4	100	1262,4 (M+H)	1262,4 (M+H)	8,26 (B)
LP9	C ₈₀ H ₉₈ F ₂ N ₈ O ₁₈	1497,7	100	749,5 (M/2+H)	1497,7 (M+H)	7,99 (B)
LP10	C ₇₄ H ₉₄ F ₂ N ₈ O ₁₇	1405,6	100	703,5 (M/2+H)	1405,7 (M+H) (5%)	7,40 (B)
LP11	C ₈₁ H ₁₀₀ F ₂ N ₈ O ₁₈	1511,7	99,3	756,5 (M/2+H)	756,5 (M/2+H)	7,89 (B)
LP12	C ₄₈ H ₅₇ NO ₁₅	888,0	100	566,2(M-glucose-PAB)	889,1 (M+H, 25%)	8,02 (A) 8,08 (B)
LP13	C ₇₂ H ₉₉ N ₇ O ₁₈	1350,6	100	1350,5 (M+H)	1350,5 (M+H)	8,87 (A)
LP14	C ₆₂ H ₇₉ F ₂ N ₅ O ₁₆	1188,31	100	594,8 (M/2+H)	1188,5 (M+H, 40%)	7,99 (B)
LP15	C ₁₂₁ H ₁₇₀ N ₁₀ O ₄₇	2516,71	97	1259 (M/2 +H)	1259,1 (M/2+H) ⁺ ,	6,62 и 6,67 (B)
LP16	C ₁₂₁ H ₁₇₀ N ₁₀ O ₄₇	2516,71	98	1258 (M/2+H)	1259,1 (M/2+H, 60%)	6,61(59%) и 6,73 (39%) (B)

ПРИМЕР 54

[0747] Данный пример в целом демонстрирует метод для сайт-специфической конъюгации полезной нагрузки и антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. Данный пример относится к ФИГ. 19.

[0748] В одном примере сайт-специфические конъюгаты получали с помощью опосредованного микробной транскламиназой (MTG EC 2.3.2.13, Zedira, Дармштадт, Германия) (здесь и далее «опосредованный МТГ») двухэтапного конъюгирования мутированного антитела N297Q или N297D. На первом этапе мутированное антитело было

функционализовано азидо-PEG₃-амином посредством ферментативной реакции, опосредованной МТГ. См., например, международную патентную заявку РСТ № РСТ/US17/19537, поданную 24 февраля 2017 г., озаглавленную «ОПТИМИЗИРОВАННАЯ САЙТ-СПЕЦИФИЧЕСКАЯ КОНЬЮГАЦИЯ ТРАНСАМИНАЗЫ И АНТИТЕЛА», включенную в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте для всех целей. На втором этапе к азидо-функционализованному антителу был присоединен функционализованный по алкину линкер с полезной нагрузкой с помощью реакции [2+3] 1,3-диполярного циклоприсоединения (см., например, ФИГ. 19, на котором показан функционализованный по DIBAC линкер с полезной нагрузкой, конъюгированный с азидо-функционализованным антителом, полученным циклизацией [2+3]. Этот процесс обеспечил получение сайт-специфических и стехиометрических конъюгатов с практическим выходом примерно 50–80%.

ПРИМЕР 55

[0749] Данный пример в целом демонстрирует метод для сайт-специфической конъюгации полезной нагрузки и антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

[0750] Данный пример относится к соединениям, изображенным на ФИГ. 29.

[0751] В этом примере сайт-специфические конъюгаты получали в два шага. Первый шаг – опосредованное микробной транскламиназой (МТГ) ферментативное присоединение малой молекулы, такой как азид-PEG₃-амин (выше), к антителу, имеющему Q-метку (ссылки на Qtag) (далее «опосредованная МТГ» конъюгация). На втором шаге использовалось присоединение линкера с полезной нагрузкой к азидо-функционализованному антителу с помощью циклоприсоединения [2+3], например, 1,3-диполярного циклоприсоединения между азидами и циклооктинами (так называемая клик-химия без меди). См., *Baskin, J. M.; Prescher, J. A.; Laughlin, S. T.; Agard, N. J.; Chang, P. V.; Miller, I. A.; Lo, A.; Codelli, J. A.; Bertozzi, C. R. PNAS 2007, 104 (43), 16793–7*, полное содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки для всех целей. На ФИГ. 28 показан пример линкера с полезной нагрузкой, имеющего фрагмент DIBAC, конъюгированный с азидо-функционализованным антителом посредством циклоприсоединения [2+3]. Этот процесс обеспечил получение сайт-специфических и стехиометрических конъюгатов с практическим выходом примерно 50–80%.

[0752] Конъюгация АЛС посредством [2+3] клик-реакции.

[0753] Шаг 1: Получение азидо-функционализованного антитела.

[0754] Агликозилированное антитело человека класса IgG (IgG1, IgG4 и т.д.) или изотип человекласса IgG1 с мутацией N297Q в PBS (pH 6,5-8,0) смешивали с ≥ 200 молярных эквивалентов азидо-dPEG₃-амина (MW = 218,26 г/моль). Получившийся раствор смешивали с МТГ (ЕС 2.3.2.13 производства компании Zedira, Дармштадт, Германия, или Modernist Pantry [L#210115A] - АСТИВА ТI содержит мальтодекстрин производства компании Ajinomoto, Япония) (25 ед./мл; 5 Ед. МТГ на 1 мг антитела), что дало конечную концентрацию антитела 0,5–5 мг/мл раствор, затем расвор инкубировали при 37°C в течение 4–24 ч при осторожном встряхивании. Реакцию контролировали с помощью ИЭР-МС. После завершения реакции избыток амина и МТГ удаляли с помощью эксклюзионной хроматографии или колоночной хроматографии на белке А для получения азидо-функционализированного антитела. Этот продукт характеризовался с помощью ДНС-ПААГ и ИЭР-МС. Азидо-dPEG₃-амин, добавленный к двум сайтам антитела, приводит к увеличению на 204 Да для конъюгата 2DAR антитело-PEG₃-азид.

[0755] В конкретном эксперименте N-концевое антитело с Q-меткой (24 мг) в 7 мл не содержащего калия буфера PBS (pH 7,3) инкубировали с > 200 молярным эквивалентом азидо-PEG₃-амина (MW 218,26) в присутствии МТГ (0,350 мл, 35 ед., mTGase, Zedira, Дармштадт, Германия). Реакционную смесь инкубировали при 37°C в течение ночи при осторожном перемешивании. Избыток азидо-PEG₃-амина и mTGase удаляли методом эксклюзионной хроматографии (SEC, Superdex 200 PG, GE Healthcare).

[0756] **Шаг 2:** Получение сайт-специфических конъюгатов лекарственного средства с антителом с использованием химических клик-реакций.

[0757] Конъюгаты сайт-специфических антител человека класса IgG (IgG1, IgG4 и т.д.) в Таблице 10 получали с помощью клик-реакции [2+3] между азидо-функционализированными антителами и алкинсодержащим линкером с полезной нагрузкой. Подробная процедура конъюгации приведена ниже. Конъюгат сайт-специфических антител с **линкером с полезной нагрузкой (LP)** получали путем инкубации **mAb-PEG₃-N₃** (1–3 мг/мл) в водной среде (например, PBS, PBS с содержанием 5% глицерина, ГЭПЭС) с ≥ 6 молярными эквивалентами **линкера с полезной нагрузкой**, растворенного в подходящем органическом растворителе, таком как диметилсульфоксид, N,N-диметилформамид или ДМА (то есть реакционная смесь содержит 5-20% органического растворителя, об/об) при температуре от 24 до 37°C в течение более 6 часов. Ход реакции контролировали с помощью ИЭР-МС, отсутствие **mAb-PEG₃-N₃** свидетельствовало о завершении конъюгации. Избыточное количество **линкера с полезной нагрузкой** и органического растворителя удаляли с помощью эксклюзионной

хроматографии путем элюирования с помощью PBS или с помощью колоночной хроматографии на протеине А с элюированием кислотным буфером с последующей нейтрализацией с помощью гидроксиметиламинометана (рН 8,0).

[0758] В конкретном примере азидо-функционализированное антитело (1 мг) в 0,800 мл PBSg (PBS, 5% глицерин, рН 7,4) обрабатывали шестимолярными эквивалентами полезной нагрузки DIBAC-PEG₄-D-Lys(COT- α -CD)-VC-PABC (концентрация 10 мг/мл в диметилсульфоксиде) в течение 6 -12 часов при комнатной температуре, избыточный линкер с полезной нагрузкой (LP) удаляли с помощью эксклюзионной хроматографии (SEC, Superdex 200 HR, GE Healthcare).

[0759] Конечный продукт концентрировали ультрацентрифугированием и характеризовали методами УФ, эксклюзионной хроматографии, ДНС-ПААГ и ИЭР-МС.

ПРИМЕР 56

[0760] Данный пример демонстрирует метод получения конъюгата с азидо-функционализированными антителами.

[0761] Агликозилированное антитело с изотипом человека класса IgG1 в BupH™ (рН 7,6-7,8) смешивали с ≥ 200 молярных эквивалентов азидо-dPEG₃-амин (молекулярная масса 218,26 г/моль). Получившийся раствор смешивали с трансклутаминазой (25 ед./мл; 5 ед. МТГ на 1 мг антитела, Zedra, Дармштадт, Германия), что дало конечную концентрацию антитела 0,5–3 мг/мл, затем раствор инкубировали при 37°C в течение 4–24 ч при осторожном встряхивании. Реакцию контролировали с помощью ИЭР-МС. После завершения реакции избыток амина и МТГ удаляли с помощью эксклюзионной хроматографии (см. ФИГ. 21) для получения азидо-функционализированного антитела. Этот продукт характеризовался с помощью ДНС-ПААГ (см. ФИГ. 20) и ИЭР-МС (см. ФИГ. 22). Азидо-dPEG₃-амин, добавленный к двум сайтам антитела, приводит к увеличению на 804 Да для конъюгата 4DAR агликозилированное антитело - PEG₃-азид. Сайты конъюгации идентифицировали и подтверждали на EEQ^{Linker}YQ^{Linker}STYR для азидо-функционализированного антитела 4DAR посредством картирования пептидной последовательности тяжелых цепей, расщепленных трипсином.

ПРИМЕР 57

[0762] Данный пример демонстрирует получение сайт-специфических конъюгатов лекарственного средства с антителом с использованием химических клик-реакций.

[0763] Конъюгаты сайт-специфических агликозилированных антител с IgG1 человека, содержащих мутацию N297Q в Таблице 8, описанную ниже, получали клик-реакцией [2+3] между азидо-функционализированными антителами с алкинсодержащим линкером с полезной нагрузкой. Как показано в Таблице 8, антитела Her2-PEG₃-N₃ конъюгировали с соединениями LP1, LP2, LP3, LP4, LP5, LP6, LP7, LP8, LP9, LP10 и LP11. Как показано в Таблице 8, антитела анти-PRLR-PEG₃-N₃ конъюгировали с LP1 LP2, LP3, LP4, LP5, LP6, LP7, LP8, LP9, LP10, LP11, LP15 и LP16. Как показано в Таблице 8, антитела анти-IL2Rg-PEG₃-N₃ конъюгировали с LP4 и LP7. Как показано в Таблице 8, антитела анти-Fel d 1-PEG₃-N₃ конъюгировали с LP4.

[0764] Для конъюгации конъюгат азидо-функционализированного агликозилированного антитела IgG1 человека (mAb-PEG₃-N₃) и линкер с полезной нагрузкой (LP) получали путем инкубации mAb-PEG₃-N₃ (1–3 мг/мл) в водной среде (например, PBS, PBS с содержанием 5% глицерина, ГЭПЭС) с ≥ 6 молярными эквивалентами линкера с полезной нагрузкой, растворенного в подходящем органическом растворителе, таком как диметилсульфоксид, N,N-диметилформаид или ДМА (реакционная смесь содержит 5-20% органического растворителя, об/об) при температуре от 24°C до 37°C в течение более 6 часов. Ход реакции контролировали с помощью ИЭР-МС, отсутствие mAb-PEG₃-N₃ свидетельствовало о завершении конъюгации. Избыточное количество линкера с полезной нагрузкой и органического растворителя удаляли с помощью эксклюзионной хроматографии путем элюирования с помощью PBS. Очищенные конъюгаты анализировали с помощью эксклюзионной хроматографии, ДНС-ПААГ и ИЭР-МС. В Таблице 8 показан список нетоксичных конъюгатов стероидных антител (ncADC) из соответствующих линкеров с полезной нагрузкой, их молекулярные массы и значения DAR по данным ИЭР. В Таблице 8 Ab относится к антителу, Ab-N₃ относится к функционализированному азидом антителу, а ncADC относится к конъюгату нецитотоксического антитела с лекарственным средством.

ТАБЛИЦА 8 .

	Ab, Ab-N ₃ , или ncADC	Масса/ заряд при МС (ncADC)	LP №	Мол.масса (LP)	DAR (ИЭР- МС)
1	Антитело Her2 mAb	145126			
2	Антитело Her2-PEG ₃ -N ₃	145930	NH ₂ -PEG ₃ -N ₃	218,3	4
3	Антитело Her2-LP1	150683	LP1	1184,4	4

	Ab, Ab-N₃, или ncADC	Масса/ заряд при МС (ncADC)	LP №	Мол.масса (LP)	DAR (ИЭР- МС)
4	Антитело Her2-LP2	150671	LP2	1181,4	4
5	Антитело Her2-LP3	151274	LP3	1330,5	4
6	Антитело Her2-LP4	150406	LP4	1115,4	4
7	Антитело Her2-LP5	150726	LP5	1201,5	4
8	Антитело Her2-LP6	151358	LP6	1350,6	4
9	Антитело Her2-LP7	151297	LP7	1226,5	4
10	Антитело Her2-LP8	152239	LP8	1262,4	4
11	Антитело Her2-LP9	151868	LP9	1497,7	4
12	Антитело Her2-LP10	152293	LP10	1405,6	4
13	Антитело Her2-LP11	145430	LP11	1511,7	4
14	Антитело PRLR mAb	144579			
15	Антитело PRLR-PEG ₃ -N ₃	145373	NH ₂ -PEG ₃ -N ₃	218,3	4
16	Антитело PRLR-LP1	150110	LP1	1184,4	4
17	Антитело PRLR-LP2	150101	LP2	1181,4	4
18	Антитело PRLR-LP3	150721	LP3	1330,5	4
19	Антитело PRLR-LP4	149836	LP4	1115,4	4
20	Антитело PRLR-LP5	150181	LP5	1201,5	4
21	Антитело PRLR-LP6	150795	LP6	1350,6	4
22	Антитело PRLR-LP7	150311	LP7	1226,5	4
23	Антитело PRLR-LP8	150444	LP8	1262,4	4
24	Антитело PRLR-LP9	151386	LP9	1497,7	4
25	Антитело PRLR-LP10	151015	LP10	1405,6	4
26	Антитело PRLR-LP11	151447	LP11	1511,7	4
27	Антитело-IL2Rg mAb	144960			
28	Антитело-IL2Rg-PEG ₃ -N ₃	145768	NH ₂ -PEG ₃ -N ₃	218,26	4
29A	Антитело-IL2Rg-LP4	150237	LP4	1115,37	4

	Ab, Ab-N ₃ , или ncADC	Масса/ заряд при МС (ncADC)	LP №	Мол.масса (LP)	DAR (ИЭР- МС)
29В	Антитело-IL2Rg-LP7	150670	LP7	1226,5	4
30	Антитело-Fel d 1 mAb	145430			
31	Антитело-Fel d 1-PEG ₃ -N ₃	146235	NH ₂ -PEG ₃ -N ₃	218,26	4
32	Антитело Fel d 1-LP4	150705	LP4	1115,37	4
33	Антитело-PRLR-LP15	155460	LP15	2515,1	4
34	Антитело-PRLR-LP16	155486	LP16	2515,1	4

ПРИМЕР 58

[0765] Данный пример демонстрирует способ выполнения несайтспецифической конъюгации лекарственного средства с антителом с использованием реакции тиол-малеимид.

[0766] Конъюгацию через антитела к цистеинам проводили в два этапа, используя методы, описанные аналогично методам, описанным в источнике *Mol Pharm.* 2015 Jun 1;12(6):1863-71.

[0767] Моноклональное антитело (mAb, 10 мг/мл в 50 ммоль ГЭПЭС, 150 ммоль NaCl) при pH 7,5 восстанавливали с помощью 1 ммоль дитиотреитола (0,006 мг на 1 мг антитела) или ТСЕР (2,5 молярного эквивалента антитела) при 37° С в течение 30 минут. После гель-фильтрации (G-25, pH 4,5 ацетат натрия) соединение **LP13** в диметилсульфоксиде (10 мг/мл) добавляли к восстановленному антителу, смесь доводили до pH 7,0 с помощью 1 моль ГЭПЭС (pH 7,4). Реакции давали проходить в течение 3–14 часов. Полученный конъюгат очищали методом эксклюзионной хроматографии. Значения DAR (УФ) определяли с использованием измеренных значений поглощения ncADC и коэффициентов экстинкции антитела и **LP13**.

ПРИМЕР 59

[0768] Данный пример демонстрирует способ характеристики антител и конъюгатов нецитотоксичное антитело – лекарственное средство (ncADC).

[0769] Антитело и ncADC характеризовали с помощью ДНС-ПААГ, эксклюзионной хроматографии и МС (ИЭР). Конъюгат анти-PRLR-LP4 в Таблице 8, полученный из антитела к рецептору анти-пролактина через его азидо-функционализированное антитело

(анти-PRLR-PEG₃-N₃), характеризовали с помощью ДНС-ПААГ, выполненным в невосстанавливающих и восстанавливающих условиях (ФИГ.20), эксклюзионной хроматографии (ФИГ. 21) и ИЭР-МС (ФИГ. 22), и продемонстрировали завершение формирования конъюгата псADC.

[0770] Для анализа целостности и чистоты конъюгатов АЛС применяли ДНС-ПААГ.

[0771] В одном методе условия выполнения ДНС-ПААГ включали невосстановленные и восстановленные образцы (2-4 мкг), которые загружали вместе с предварительно окрашенной белковой лестницей BenchMark (Invitrogen, кат. № 10748–010; L № 1671922.) пофрагментно в 20% триглицериновый гель Novex 4 (1,0 мм x 10 лунок) и обрабатывали при 180 М, 300 мА в течение 80 минут. Аналитическую пробу готовили с использованием триглицеринового SDS-буфера Novex (2X) (Invitrogen, кат. № LC2676); восстанавливающие образец готовили с SDS-буфером (2X), содержащим 10% 2-мекаптоэтанола.

[0772] На ФИГ. 20 показаны молекулярные массы антител и конъюгатов псADC по данным ДНС-ПААГ, выполненного в невосстанавливающих и восстанавливающих условиях. В невосстанавливающих условиях массовые сдвиги не были очевидны из-за относительно небольшого процента массовых изменений. Однако массы тяжелых цепей увеличивались от незащищенных антител к азидо-функционализированным антителам и далее до конъюгата псADC. Обнаруживаемый материал с поперечной межмолекулярной связью отсутствовал.

[0773] Как показано на ФИГ. 20, фрагменты ДНС-ПААГ включали следующие виды на основе следующих фрагментов в Таблице 9.

ТАБЛИЦА 9

Фрагмент	Образец
1	Стандарты (шаблон 10 мкл)
2	Антитело к рецептору анти-пролактина
3	Антитело к рецептору анти-пролактина –NH–PEG₃–N₃
4	Антитело к рецептору анти-пролактина –LP4
8	Антитело к рецептору анти-пролактина (восстановленное)
9	Антитело к рецептору анти-пролактина NH–PEG₃–N₃ (восстановленное)
10	Антитело к рецептору анти-пролактина –LP4 (восстановленное)
~ 2 мкг невосстановленного/восстановленного образца/фрагмента.	

[0774] Конъюгаты АЛС анализировали на чистоту методом эксклюзионной хроматографии (SEC).

[0775] Для определения чистоты конъюгатов антитело-лекарственное средство выполняли эксклюзионную хроматографию. Аналитические эксперименты методом эксклюзионной хроматографии проводились с использованием прибора Waters 600 на колонке HR Superdex 200 (1,0 × 30 см) при скорости потока 0,80 мл/мин. с использованием PBS pH 7,4 и контролировались при длине волны 280 нм с использованием PDA Waters 2998. Аналитическая проба состояла из 200 мкл PBS (pH 7,4) с 30–100 мкл исследуемого образца. Препаративную очистку в процессе эксклюзионной хроматографии проводили с использованием инструмента АКТА производства компании GE Healthcare на колонке Superdex 200 PG (2,6 × 60 см) с элюированием при скорости потока 2 мл/мин. с PBSg при pH 7,4 и контролем при длине волны λ 280 нм. Результаты эксклюзионной хроматографии на ФИГ. 21 показывают типичное время выдержки для мономерного mAb и его конъюгатов, выявляемая агрегации или деградации отсутствовали.

[0776] Антитело и конъюгат АЛС анализировали с помощью анализа интактной массы методом ЖХ-ИЭР-МС.

[0777] Измерение интактной массы образцов конъюгата pcADC методом ЖХ-ИЭР-МС проводили для определения профиля распределения лекарственного средства и для расчета среднего DAR интактных форм конъюгата АЛС. Каждый тестируемый образец (20–50 нг, 5 мкл) загружали в колонку Acquity UPLC Protein ВЕН С4 (10 кПа, 300 Å, 1,7 мкм, 75 мкм × 100 мм; номер по каталогу 186003810). Через 3 минуты обессоливания белок элюировали и получали масс-спектры с помощью масс-спектрометра Waters Synapt G2–Si (Waters).

[0778] Как показано на ФИГ. 22, деконволютированные масс-спектры демонстрируют преобладающий пик для аликозилированного антитела к рецептору анти-пролактина с молекулярной массой 144579,0 Да и преобладающий пик для его азидо-функционализированного антитела к рецептору анти-пролактина с молекулярной массой 145373,0 Да, что указывает на увеличение на 794,0 Да по сравнению с его агликозирванным родительским антителом (соответствует конъюгации 4 амино-PEG₃-азид с каждым агликозилированным антителом). Кроме того, преобладающий пик для конъюгата анти-PRLR-LP4 имел молекулярную массу 149836,0 Да, что указывает на увеличение на 4463 Да по сравнению с его агликозилированным родительским антителом (что соответствует конъюгации 4 LP4 с каждым агликозилированным антителом). Как показано в Таблице 8, большинство сайт-специфичных конъюгатов АЛС в этом документе имеют соотношение 4DAR.

[0779] Для несайтспецифичных конъюгатов АЛС значения DAR определяли на основании масс-анализа ИЭР Q-TOF. Масс-спектры ИЭР Q – TOF деконволютировали до масс-спектров с нулевым зарядом с использованием алгоритма максимальной энтропии (MassLinx). Полученные масс-спектры демонстрировали распределение каждого антитела, конъюгированного с лекарственным средством(ами). Процент площади пика представляет относительное распределение конкретных видов антител, нагруженных лекарственными средствами. Среднее значение соотношения DAR рассчитывали с использованием информации о площади пика в процентах и числа лекарственной нагрузки на антитело.

ПРИМЕР 60

[0780] Этот пример демонстрирует, используя анализ конкурентного связывания LanthaScreen TR-FRET GR, что приведенные в настоящем документе стероиды в описанном здесь количестве связываются с рецептором глюкокортикоидов (GR).

[0781] Для оценки способности новых стероидов связываться с глюкокортикоидным рецептором (GR) проводили бесклеточный анализ связывания с использованием набора для анализа конкурентного связывания LanthaScreen TR-FRET GR (Life Technologies, кат. № A15901). Анализ проводился в соответствии с инструкцией производителя. Будесонид является коммерческим стероидным рецептором глюкокортикоидов и использовался в качестве контроля в анализе связывания и других анализах на клеточной основе, описанных здесь ниже. Вкратце, трехкратное последовательное разведение будесонида и производного соединения, отмеченное ниже, готовили в 100% диметилсульфоксида, начиная с 100 нмоль (100X от конечного значения). Последовательные разведения дополнительно разводили в 50 раз в буферном растворе ядерного рецептора F дитиотреитолом в количестве 5 ммоль и 0,1 ммоль стабилизирующим пептидом и переносили в 384-луночный планшет для анализа. Затем в 384-луночный планшет для анализа последовательно добавляли флуоромон GS1 Green, GR-LBD (GST) и антитело к GST Тб. Затем планшет инкубировали при комнатной температуре в течение 2,5 часов, при этом он был защищен от света. Планшет анализировали на многослойном ридере Envision (PerkinElmer) с установленным возбуждением при 340 нм и эмиссионными фильтрами при 520 нм и 486 нм. Коэффициент FRET рассчитывали как 520 нм/486 нм. Значения IC_{50} определяли с использованием четырехпараметрического логистического уравнения на кривой отклика с 12 точками (GraphPad Prism).

[0782] Как показано в Таблице 10, будесонид конкурировал за связывание флуоромона GS1 Green в анализе глюкокортикоидных рецепторов со значением IC_{50} от 10 до 100 нмоль. N-аналоги будесонида аналогично конкурировали за связывание со значениями IC_{50} в диапазоне

от менее 10 нмоль до более 100 нмоль. Исследуемые здесь новые стероиды проявили себя сопоставимо или лучше (более низкие значения IC₅₀) в этом анализе и аналогичное смещение для лиганда GR по сравнению с будесонидом. 22R-изомеры в целом более эффективны, чем 22S-изомеры или как минимум, идентичны 22S-изомерам.

ТАБЛИЦА 10: БЕСКЛЕТОЧНОЕ СВЯЗЫВАНИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК

	Номера соединений	EC ₅₀ клеток HEK293/9xUAS-Luc2P/pBind-GR/PRLR-NA (нмоль)		IC ₅₀ по данным анализа конкурентного связывания GR, (нмоль)
1	Будесонид	+++	Полная активация	++
2	Дифлоразон	+++	Полная активация	++
3	7-1 S	+	Частичная активация	+++
4	7-1 R	+++	Полная активация	++
5	7-2S/R	+++	Нет активации	+++
6	7-4 S/R	+	Нет активации	+++
7	8-1 R	++	Полная активация	NT
8	8-2 S/R	+	Нет активации	+++
9	8-3 S/R	+	Нет активации	+++
10	11-1 S/R	+++	Полная активация	++
11	11-2 S/R	+	Полная активация	++
12	11-3 S/R	++	Частичная активация	+++
13	11-5 S/R	+++	Полная активация	++
14	11-5 S	+++	Полная активация	++
15	11-5 R	+++	Полная активация	++
16	11-6 S	+++	Полная активация	++
17	11-6 S/R	++	Полная активация	++
18	11-7 R	++	Полная активация	++
19	11-8 R	+++	Полная активация	++
20	11-10 S/R	+	Нет активации	+++
21	11-11 S/R	+	Нет активации	+++
22	11-12 S/R	+++	Полная активация	++
23	11-13 R	+++	Полная активация	+++
24	11-14 S/R	+++	Полная активация	+++

	Номера соединений	EC ₅₀ клеток HEK293/9xUAS-Luc2P/pBind-GR/PRLR-НА (нмоль)	IC ₅₀ по данным анализа конкурентного связывания GR, (нмоль)	
25	11-15 S/R	++	Частичная активация	+++
26	11-17 S/R	++	Полная активация	+++
28	11-19 S/R	+++	Полная активация	+++
29	11-20 S/R	+	Нет активации	+++
30	11-21 S/R	++	Частичная активация	+++
31	14-2	+	Нет активации	+++
32	15-5	++	Полная активация	++
33	16-5	++	Полная активация	++

+++ : ≤ 10 нмоль; ++ : ≤100 нмоль > 10 нмоль; + : > 100 нмоль; NT: не тестировался.

Полная активация: > 75% кратной активации, вызванной будесонидом. Частичная активация: (20%, 75%) кратная активация, вызванная будесонидом. Нет активации: <20% кратной активации, индуцированной будесонидом. Бесклеточный анализ используют для оценки прямого связывания соединений с рекомбинантным GR LBD независимо от их проницаемости. Клеточный анализ используется для измерения того, как соединения активируют внутриклеточную GR-опосредованную транскрипцию после прохождения через плазматическую мембрану, таким образом, соединение через проницаемость мембраны является необходимым условием для активности.

ПРИМЕР 61

[0783] Данный пример демонстрирует, что конъюгат PRLR–pcADC интернационализируется в клетки HEK293/PRLR.

[0784] Интернализацию антитела к рецептору анти-пролактина и антител изотипического контроля оценивали в клетках HEK293, сконструированных для экспрессии полноразмерного рецептора пролактина (PRLR) человека (аминокислоты с 1 по 622 инвентарного номера NP_000940.1 с мутацией K2E; HEK293/PRLR). Родительские клетки HEK293 также оценивали как отрицательный контроль. Клетки высевали по 20000 клеток в лунку в полную среду и инкубировали в течение ночи при 37°C. На следующий день лунки промывали PBS и помещали на лед. Последовательные разведения антител от 0,1 до 100 нмоль добавляли в соответствующие лунки в 2% FBS в растворе PBS и инкубировали на льду в течение 30 минут. Клетки дважды промывали раствором PBS, затем инкубировали в течение 30 минут на льду с конъюгированным с Alexa 488 Fab-фрагментом козьего антитела анти-hIgG (Jackson

Immunoresearch, кат. № 109–547–003). Клетки дважды промывали раствором PBS, затем либо фиксировали в 3,7% формальдегиде в растворе PBS (условия контроля 4°C), либо инкубировали при 37°C в течение 3 часов, чтобы дать возможность для интернализации. После 3-часовой инкубации клетки фиксировали в 3,7% формальдегиде в растворе PBS в течение 15 минут, промывали раствором PBS и визуализировали на молекулярных устройствах ImagExpress MicroXL.

[0785] Анти-PRLR-ncADC и родительское антитело к рецептору пролактина интернализировались в клетки HEK293/PRLR, тогда как антитела изотипического контроля ncADC и родительское тело изотипического контроля не были интернализированы, поскольку они не связываются с белком, обнаруженным в протестированных клеточных линиях. В родительских клетках HEK293 в любых протестированных образцах интернализации не наблюдалось.

ПРИМЕР 62

[0786] Описанные здесь биоанализы были использованы для оценки эффективности свободных стероидов и анти-PRLR-ncADC. В одном примере путем биоанализа оценивали активность стероидов после интернализации сайт-специфического анти-PRLR-GC стероидного конъюгата АЛС в клетки для связывания с pBIND-GR и последующей активацией репортера люциферазы. Для этого анализа была разработана клеточная линия 293 для экспрессии полноразмерного рецептора пролактина (PRLR) человека. Затем такую стабильную клеточную линию трансфицировали химерным рецептором, состоящим из лигандсвязывающего домена глюкокортикоидного рецептора, слитого с ДНК-связывающим доменом дрожжей Gal4 (pBind-GR, Promega кат. № E1581), и активирующей последовательностью Gal4 (9xGal4UAS-Luc2P), которая управляет экспрессией гена люциферазы. Такой формат анализа обеспечивает высокую чувствительность и низкую перекрестную реактивность с другими ядерными рецепторами. Поскольку два вектора вместе в целом используются для мониторинга связывания и трансактивации лиганда глюкокортикоидного рецептора, формирующаяся в результате стабильная клеточная линия для упрощения обозначается здесь как 293/PRLR/GRE-Luc (см. Improved Dual-Luciferase Reporter Assays for Nuclear Receptors, *Current Chem Genomics*, 2010; 4: 43-49; Aileen Paguio, Pete Stecha, Keith V Wood, и Frank Fan).

[0787] Во втором примере путем биоанализа оценивали как эффективность свободных стероидов, так и любую неспецифическую активность анти-PRLR-ncADC. Для этого анализа клеточную линию 293 трансфицировали с помощью вектора pGL4.36 [Luc2P/MMTV/Hygro]

(кат. № E1360, Promega). Сформированная в результате клеточная линия упоминается здесь как 293/MMTV-Luc.

ПРИМЕР 63

[0788] Анализ на основе ко-активатора люциферазной репортерной клетки глюкокортикоидного рецептора (GR) использовали для анализа активации GR будесонидом и стероидами, описанными здесь, в зависимости от времени.

[0789] Активность стероидов в клетках 293/PRLR/GRE-Luc изучали при 72 часах инкубации. Для этого анализа 20000 клеток высевали в 96-луночные планшеты в среду, содержащую минимальную эссенциальную среду Игла, модифицированную по способу Дульбекко (DMEM), дополненную 10% FBS и пенициллином/стрептомицином (полная среда), и выращивали в течение ночи при 37°C в 5% CO₂. Для кривых зависимости доза свободного лекарственного средства или конъюгата pсADC последовательно разбавленные реагенты в диапазоне от 100 нмоль до 5,1 пмоль добавляли к клеткам и инкубировали в течение 72 часов при 37°C. Активность люциферазы определяли путем добавления реагента One-Glo™ (Promega, кат. № E6130), относительные световые единицы (RLU) измеряли на люцинометре Victor (Perkin Elmer). Значения EC₅₀ определяли из четырехпараметрического логистического уравнения по кривой отклика из 10 точек с использованием приложения GraphPad Prism. Доставка стероидов приведет к активации репортера Luc в клетках 293/PRLR/GRE-Luc.

[0790] Как показано в Таблице 11, в 72-часовой момент времени **будесонид** активировал клетки 293/PRLR/GRE-Luc со значением IC₅₀ от 10 до 100 нмоль. N-аналоги активированных будесонидом клеток 293/PRLR /GRE-Luc с активацией одинаковой кратности и значениями IC₅₀ варьировались в диапазоне от менее 10 нмоль до более 100 нмоль.

ПРИМЕР 64

[0791] Селективная активация глюкокортикоидных рецепторов с помощью конъюгатов АЛС в целевых клеточных линиях.

[0792] Активность стероидов и стероидных конъюгатах pсADC после интернализации в клеточную линию 293/PRLR/GRE-Luc, а также в клетки 293/MMTV-Luc, которые не экспрессируют рецептор пролактина, как описано в Примере 61, и клетки 293/PRLR, которые не экспрессируют репортер люциферазы, как описано в ПРИМЕРЕ 62, исследовали при концентрациях от 100 нмоль до 5,1 пмоль с использованием процедур анализа, описанных в ПРИМЕРЕ 63, при 72 часах инкубации.

[0793] Конъюгат PRLR-LP4 (в Таблице 8) и его конъюгат, контролирующий изотип, а также свободные полезные нагрузки и неконъюгированные антитела были изучены в двух типах клеточных линий. Конъюгат PRLR-LP4 (анти-PRLR-LP4 в Таблице 8) продемонстрировал избирательную активацию клеточной линии 293/PRLR/GRE-Luc (ФИГ. 23А) и отсутствие активации глюкокортикоидного рецептора (ФИГ. 23В) в клетках 293/MMTV-Luc, не экспрессирующих рецептор пролактина.

[0794] Как показано на ФИГ. 23А, в клетках 293/PRLR/ GRE-Luc антитела к рецептору анти-пролактина, сайт-специфически конъюгированные с LP4 (анти-PRLR-LP4 в Таблице 8), индуцировали полную активацию GRE-Luc со значением $EC_{50} < 10$ нмоль. Антитело изотипического контроля, конъюгированное с LP4 (Анти-Her2-LP4 в Таблице 8), не вызывало значимой активации GRE-Luc. Неконъюгированное антитело изотипического контроля не вызывало значительной активации GRE-Luc. Полезная нагрузка 11-5 в Таблице 1 (полезная нагрузка LP4) вызывала полную активацию GRE-Luc с $EC_{50} < 10$ нмоль. Эталон, **будесонид**, индуцировал полную активацию GRE-Luc с $EC_{50} < 10$ нмоль. Как показано на ФИГ. 23В, в клетках 293/MMTV-Luc только свободная полезная нагрузка **11-5** в Таблице 1 (полезная нагрузка LP4) и эталон, **будесонид**, индуцировали активацию GRE-Luc: полезная нагрузка **11-5** в Таблице 1 (полезная нагрузка LP4) вызывала полную активацию GRE-Luc со значением EC_{50} от 10 до 100 нмоль, а **будесонид** индуцировал полную активацию GRE-Luc со значением EC_{50} от 10 до 100 нмоль.

[0795] Приведенные здесь примеры демонстрируют, что анти-PRLR-LP4 в Таблице 8 специфически активирует клетки 293/PRLR/GRE-Luc, которые экспрессируют как целевой рецептор пролактина, так и стероид-индуцированный репортер GRE-люциферазы, но не влияют на чувствительные к стероидам клеточные линии 293-MMTV-Luc или целевые клеточные линии, экспрессирующие 293-PRLR.

ПРИМЕР 65

[0796] В данном примере изучалось значение линкера и полезной нагрузки для активации глюкокортикоидных рецепторов конъюгатов pcADCs.

[0797] Активность свободных стероидов и их соответствующих конъюгатов pcADC после интернализации в клеточную линию 293/PRLR/GRE-Luc изучали при концентрациях от 100 нмоль до 5,1 пмоль с использованием процедур анализа, описанных в ПРИМЕРЕ 63, при 72 часах инкубации.

[0798] Как показано в Таблице 11 и на ФИГ. 24, в клетках 293/PRLR/GRE-Luc антитела к рецептору анти-пролактина, сайт-специфически конъюгированные с LP4 (анти-PRLR-LP4 в

Таблице 8), индуцировали полную активацию GRE-Luc со значением EC₅₀ <10 нмоль. Антитело изотипического контроля, конъюгированное с LP4 (анти-Her2-LP4 в Таблице 8), не вызывало значительной активации GRE-Luc. Свободная полезная нагрузка 11-5 в Таблице 1 (интервал LP4) вызывала полную активацию GRE-Luc с EC₅₀ <10 нмоль.

[0799] Антитела к рецептору анти-пролактина, сайт-специфически конъюгированные с LP2 (анти-PRLR-LP2 в Таблице 8), индуцировали полную активацию GRE-Luc со значением EC₅₀ <10 нмоль. Антитело изотипического контроля, конъюгированное с LP2 (анти-Her2-LP2 в Таблице 8), не вызывало значительной активации GRE-Luc. Свободная полезная нагрузка 16-5 в Таблице 1 (полезная нагрузка LP2) вызывала полную активацию GRE-Luc с EC₅₀ <10 нмоль. Наконец, антитела к рецептору анти-пролактина, сайт-специфически конъюгированные с LP1 (анти-PRLR-LP1 в Таблице 8), индуцировали полную активацию GRE-Luc со значением EC₅₀ в диапазоне 10-100 нмоль. Антитело контроля изотипа, конъюгированное с LP1 (анти-Her2-LP1 в Таблице 8), не вызывало значительной активации GRE-Luc. Свободная полезная нагрузка 7-1R в Таблице 1 (полезная нагрузка LP1) вызывала полную активацию GRE-Luc с EC₅₀ в диапазоне 10-100 нмоль.

[0800] Этот пример демонстрирует, что при том же антителе и линкере, эффективность полезной нагрузки 11-5 в Таблице 1 (полезная нагрузка LP4) выше, чем у полезной нагрузки 16-5 в Таблице 1 (полезная нагрузка LP2), которая выше, чем у полезной нагрузки 7-1R в Таблице 1 (полезная нагрузка LP1). Полезная нагрузка анти-PRLR-LP4 в Таблице 8 обладала более высокой эффективностью, чем анти-PRLR-LP2 в Таблице 8, которая имела более высокую эффективность, чем анти-PRLR-LP1 в Таблице 8.

ТАБЛИЦА 11: ЗНАЧЕНИЕ ЛИНКЕРА С ПОЛЕЗНОЙ НАГРУЗКОЙ ДЛЯ АКТИВАЦИИ ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ КОНЪЮГАТОВ NCADCS, ИЗУЧЕННОЕ НА ПРИМЕРЕ КЛЕТОК 293/PRLR/GRE-Luc

Исследуемый образец	Степень активации	EC ₅₀ (нмоль)
Анти-PRLR-LP1	Полная	++
Анти-PRLR-LP2	Полная	+++
Анти-PRLR-LP4	Полная	+++
Анти-Her2-LP1	NA	NA
Анти-Her2-LP2	NA	NA
Анти-Her2-LP4	NA	NA
7-2 (полезная нагрузка LP1)	Полная	++
16-5 (полезная нагрузка LP2)	Полная	+++

Исследуемый образец	Степень активации	EC ₅₀ (нмоль)
11-5 (полезная нагрузка LP4)	Полная	+++
Будесонид	Полная	+++

NA= не применимо; +++: ≤ 10 нмоль; ++: 10 – 100 нмоль, +: > 100 нмоль.

ПРИМЕР 66

[0801] Биологическое тестирование IL2R γ -pcADC с помощью клеток HEK293/MMTV-luc/IL2R γ /IL7R.

[0802] γ -цепь общего рецептора цитокинов, также известная как IL2R γ и CD132, представляет собой рецептор цитокинов типа I, который является общим для сигнальных путей для интерлейкина-2 (IL-2), IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, и IL-21 и играет важную роль в формировании и регуляции иммунной системы (Rochman et al. 2009). IL2R γ экспрессируется главным образом на иммунных клетках и, следовательно, может быть полезной мишенью для доставки иммунодепрессантов, таких как стероиды, через нецитотоксический конъюгат антитело-лекарственное средство (pcADC) и подавлять активность иммунных клеток, избегая при этом нецелевых побочных эффектов, связанных с системным введением стероидов.

[0803] Описанный здесь клеточный анализ был использован для обнаружения транскрипционной активации глюкокортикоидного рецептора (GR) с помощью pcADC с областью длинного конечного повтора вируса опухоли молочной железы мыши (LTR MMTV), которая была использована для изучения активации глюкокортикоидного рецептора (Deroo et al. 2001). Сначала создали клеточную линию HEK293 для стабильной экспрессии люциферазного репортера pGL4.36 [*luc2P/MMTV/Hygro*] (Promega, № E136A), называемую здесь HEK293/MMTV-luc, которую поддерживали в среде DMEM, содержащей 10% FBS, заменимые аминокислоты, пенициллин/ стрептомицин /L – глутамин и 100 мкг/мл гигромицина (полная среда). Затем родительскую стабильную клеточную линию HEK293/MMTV-luc трансфицировали с помощью плазмиды, кодирующей полноразмерный человеческий IL2R γ (экспрессирующий аминокислоты 1–369 с инвентарным номером NP_000197.1), и трансдуцировали с помощью плазмиды, кодирующей полноразмерный IL7R α (экспрессирующий аминокислоты 1–459 с инвентарным номером NP_002176.2) и отсортировали по степени экспрессии IL2R γ и IL7R α с помощью проточной цитометрии. Полученную в результате клеточную линию, обозначенную здесь как HEK293/MMTV-luc/IL-2R γ /IL7R, поддерживали в полной среде, дополненной 1 мкг/мл пуромицина и 500 мкг/мл сульфата G418.

[0804] Для проведения биоанализа клетки HEK293/MMTV-luc или HEK293/MMTV-luc/IL2R γ /IL7R высевали на 96-луночные планшеты для анализа по 10000 клеток в лунку в полной среде и инкубировали при 37°C в 5% CO₂ в течение ночи. На следующее утро для тестирования активации глюкокортикоидного рецептора, будесонид, соединение **11-5** в Таблице 1 (полезная нагрузка LP4) и соединение **16-5** в Таблице 1 (полезная нагрузка LP2), конъюгатанги-IL2R γ -LP4 (в Таблице 8), антитело изотипического контроля (в Таблице 8) и незащищенные антитела последовательно разводили в пропорции 1:3 от 200 нмоль-1 мкмоль до 0,002-0,01 нмоль и добавляли к клеткам. Концентрации корректировали в соответствии с отношением лекарственное средство-антитело для psADC и другими методами, известными специалистам в данной области. Одна лунка без тестируемого образца была также включена в качестве контроля.

[0805] Активность люциферазы измеряли после 6, 24, 48 и 72 часов инкубации при 37°C при 5% CO₂ на приборе Victor X (Perkin Elmer). Результаты анализировали с использованием нелинейной регрессии (четырёхпараметрическая логистическая модель) с помощью программного обеспечения Prism 6 (GraphPad) для получения значений EC₅₀. Степень активации рассчитывали путем определения отношения активности люциферазы каждого образца к активности люциферазы, наблюдаемой без добавления какого-либо тестируемого образца.

[0806] Как показано в Таблице 12, после 6, 24 и 48 часов инкубации будесонид продемонстрировал наибольшую активацию глюкокортикоидного рецептора с полной активацией; соединения **16-5** в Таблице 1 (полезная нагрузка LP2) и **11-5** в Таблице 1 (полезная нагрузка LP4) показали частичную активацию. При более длительных инкубационных периодах, равных 72 часам, **16-5** в Таблице 1 (полезная нагрузка LP2) и **11-5** в Таблице 1 (полезная нагрузка LP4) показали уровень активации глюкокортикоидного рецептора аналогичный уровню активности будесонида при полной активации. Эти результаты демонстрируют, что будесонид, соединения **16-5** (полезная нагрузка LP2) и **11-5** (полезная нагрузка LP4) в Таблице 1 активируют глюкокортикоидный рецептор со значениями EC₅₀ в диапазоне 10-100 нмоль.

ТАБЛИЦА 12: АКТИВАЦИЯ ГЛЮКОКОРТИКОИДНОГО РЕЦЕПТОРА В КЛЕТКАХ HEK293/MMTV-LUC/IL-2RG/IL7R БУДЕСОНИДОМ, ПОЛЕЗНОЙ НАГРУЗКОЙ 11-5 В ТАБЛИЦЕ 1 ИЛИ ПОЛЕЗНОЙ НАГРУЗКОЙ 16-5 В ТАБЛИЦЕ 1 НА МОМЕНТ 6, 24, 48 ИЛИ 72-ЧАСОВ

Момент времени	6 часов		24 часов		48 часов		72 часов	
	Степень активации	EC ₅₀ [нмоль]	Степень активации	EC ₅₀ [нмоль]	Степень активации	EC ₅₀ [нмоль]	Степень активации	EC ₅₀ [нмоль]
Будесонид	Полная активация	++	Полная активация	++	Полная активация	++	Полная активация	++
Соединение 11-5 в Таблице 1	Частичная активация	+	Частичная активация	+	Частичная активация	++	Полная активация	++
Соединение 16-5 в Таблице 1	Частичная активация	+	Частичная активация	+	Частичная активация	++	Полная активация	++

+++; ≤ 10 нмоль; ++: 10 – 100 нмоль, +: > 100 нмоль.

[0807] Будесонид, линкер с полезной нагрузкой **LP4** (Полезная нагрузка 11-5) и линкер с полезной нагрузкой **LP7** (Полезная нагрузка **R-11-5**), анти-IL2R γ , анти-IL2R γ mAbs-ncADC с полезными нагрузками **LP4** и **LP7** (упоминаемые как анти-IL2R γ -LP4 и анти-IL2R γ -LP7), а также контроль **mAb-LP7** и неконъюгированный анти-IL2R γ mAb, добавляли к клеткам НЕК293/MMTV-Luc/IL2R γ /IL7R и инкубировали в течение 24 часов (A), в течение 48 часов (B), в течение 72 часов (C), или для клеток НЕК293/MMTV-Luc в течение 72 часов (D) с максимальной концентрацией при 200 нмоль (RLU, относительная световая единица) на ФИГ. 25 и в Таблице 13.1.

[0808] Как показано в Таблице 13.1 и на ФИГ.25, после 24 часов инкубации будесонид показал наивысшую максимальную степень активацию в клетках НЕК293/MMTV-Luc/IL2R γ /IL7R, а полезные нагрузки **11-5** и **R-11-5** показали относительно более низкие уровни активации по сравнению с будесонидом (ФИГ.25A). При более длительном времени инкубации, равном 48 и 72 часам, **11-5** и **R-11-5** показали уровень активации аналогичный уровню активации будесонидом (ФИГ. 25B и ФИГ. 25C).

[0809] Анти-IL2R γ -LP4 и анти-IL2R γ -LP7 показали незначительную или нулевую активацию в клетках НЕК293/MMTV-Luc/IL2R γ /IL7R после 24 часов инкубации (ФИГ. 25A), но более высокие уровни активации при более длительном инкубационном периоде 48 часов и 72 часов (ФИГ. 25B и 25C). Анти-IL2R γ -ncADCs, анти-IL2R γ -LP4 и анти-IL2R γ -LP7, не продемонстрировали никакой активации в клетках НЕК293/MMTV-Luc (ФИГ. 25D), что

указывает на то, что доставка стероидов конъюгатом pcADC зависит от связывания с антигеном IL2R γ на поверхности клетки и последующей интернализации. Напротив, неконъюгированное анти-IL2R γ -антитело, неконъюгированные и конъюгированные антитела изотипического контроля не проявляли какой-либо значительной активации в любых условиях. Будесонид, полезные нагрузки 11-5 и R-11-5, показали активацию в клетках HEK293/MMTV-Luc через 72 часа инкубации, что указывает на активацию глюкокортикоидных рецепторов свободными лекарственными средствами (ФИГ.25D).

[0810] ТАБЛИЦА 13.1: АКТИВАЦИЯ ГЛЮКОКОРТИКОИДНОГО РЕЦЕПТОРА В КЛЕТКАХ HEK293/MMTV-LUC/IL-2R γ /IL7R С ПОМОЩЬЮ СТЕРОИДНЫХ ПОЛЕЗНЫХ НАГРУЗОК И АНТИ-IL2R γ -СТЕРОИДНЫХ КОНЪЮГАТОВ АЛС И КОНТРОЛЬНОГО КОНЪЮГАТА АЛС

Обработка	Максимальная степень активации		
	24 часа	48 часов	72 часа
Анти-IL2R γ -LP4	NA	+	++
АнтиIL2R γ -LP7	NA	+	++
Полезная нагрузка LP4 (11-5)	+	++	+++
Полезная нагрузка LP7 (R-11-5)	+	++	+++
Будесонид	+++	+++	+++
Контроль Ab-LP7	NA	NA	NA

NA= не применимо +++: ≤ 10 нмоль; ++: 10 – 100 нмоль; +: > 100 нмоль.

ПРИМЕР 67

[0811] В этом примере показана биоактивность цитотоксических конъюгатов АЛС с линкерами циклодекстрина и без таковых (ФИГ. 30).

[0812] Для оценки сравнимости конъюгатов с ЦД и без такового, содержащих цитотоксические полезные нагрузки, проводили анализ цитотоксичности с использованием клеток SKBR3. Клетки SKBR3 обычно использовались для оценки активности анти-Her2 ADC. Анти-PRLR конъюгаты АЛС использовали в качестве контрольного конъюгата mAb АЛС в анализе цитотоксичности клеток SKBR3. Для анализа цитотоксичность анти-PRLR конъюгата АЛС *in vitro* оценивали с использованием набора для анализа CellTiter-Glo (Promega, кат. № G7573), в котором количество присутствующего АТФ используют для определения количества жизнеспособных клеток в культуре. Для анализа клетки SKBR3 высевали по 6000 клеток в лунку на белые 96-луночные планшеты Nunclon в полной питательной среде и выращивали в течение ночи при 37°C в 5% CO₂. Для построения кривых жизнеспособности клеток

последовательно разведенные в пропорции 1:4 конъюгаты АЛС или свободную полезную нагрузку добавляли к клеткам в концентрациях, начиная с 100 нмоль, включая контроль без обработки, и затем инкубировали в течение 5 дней. После 5-дневной инкубации клетки инкубировали при комнатной температуре с 100 мкл реагентов CellTiter-Glo в течение 5 минут. Относительные единицы люминесценции (RLU) определяли на планшет-ридере Victor (PerkinElmer). Значения IC_{50} определяли из четырехпараметрического логистического уравнения по кривой отклика из 10 точек (приложение GraphPad Prism). Все кривые и значения EC_{50} корректировали с учетом эквивалентов. Все значения IC_{50} выражены в нмоль концентрации, а процент убитых клеток (% уничтожения) указан для самой высокой протестированной концентрации.

[0813] Биоактивность стероидных конъюгатов АЛС с линкерами циклодекстрина и без таковых показана на ФИГ. 30.

[0814] Для оценки сравнимости конъюгатов с ЦД и без такового, содержащих стероидные полезные нагрузки, их активность в клетках 293/PRLR/GRE-Luc изучали при 72 часах инкубации. Для этого анализа 20000 клеток высевали в 96-луночные планшеты в среду, содержащую DMEM, дополненную 10% FBS и пенициллином/стрептомицином (полная среда), и выращивали в течение ночи при 37°C в 5% CO₂. Для построения кривых зависимости доза свободного лекарственного средства или конъюгата АЛС последовательно разбавленные реагенты в диапазоне от 100 нмоль до 5,1 пмоль добавляли к клеткам и инкубировали в течение 72 часов при 37°C. Активность люциферазы определяли путем добавления реагента One-Glo™ (Promega, кат. № E6130), относительные световые единицы (RLU) измеряли на люцинометре Victor (Perkin Elmer). Значения EC определяли из четырехпараметрического логистического уравнения по кривой отклика из 10 точек с использованием приложения GraphPad Prism. Доставка стероидов приведет к активации репортера Luc в клетках 293/PRLR/GRE-Luc. Полная активация в этом анализе определяется как активация, которая составляет от 90% до 100% максимальной активации, измеренной по свободной полезной нагрузке. Частичная активация в этом анализе определяется как активация, которая составляет от 10% до 90% от максимальной активации, измеренной по свободной полезной нагрузке. Минимальная активация в этом анализе определяется как менее чем 10% от максимальной активации, измеренной по свободной полезной нагрузке.

[0815] Как показано в Таблице 13.2 и на ФИГ. 30, конъюгаты АЛС анти-PRLR Ab, содержащие ЦД (анти-PRLR Ab-Eh46), имеют эффективность и специфическую активность при активации репортера GRE-Luc в клетках 293/PRLR/GRE-Luc, сходную с этими параметрами конъюгатов АЛС анти-PRLR Ab, которые не содержат ЦД (анти- -PRLR Ab-Eh44). В этом анализе

Конъюгаты АЛС изотипического контроля, независимо от того, содержат ли они ЦД или нет, а также неконъюгированное антитело, не продемонстрировали каких-либо существенных эффектов.

ТАБЛИЦА 13.2: АКТИВАЦИЯ ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ СТЕРЕОИДНЫХ КОНЪЮГАТОВ АЛС С ЦИКЛОДЕКСТРИНОВЫМИ ЛИНКЕРАМИ И БЕЗ ТАКОВЫХ В КЛЕТКАХ 293/PRLR/GRE-LUC

Исследованные молекулы	Макс. активация	EC ₅₀ (нмоль)	Исследованные молекулы	Макс. активация	EC ₅₀ (нмоль)
Анти-PRLR Ab-Ex46	Частичная	8,6	Изотипический контроль Ab-Ex46	Минимальная	NA
АнтиPRLR Ab-Ex45	Частичная	9,5	Изотипический контроль Ab-Ex45	Минимальная	NA
Свободная полезная нагрузка (Соединение 1c)	Полная	8,4	АнтиPRLR Ab	Минимальная	NA

NA= не применимо

ТАБЛИЦА 14. ХИМИКО-ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СТЕРЕОИДОВ ЛИНКЕРОВ

Ввод	Молекулярная формула	Мол. масса	cLogP	Чистота по ВЭЖХ (%)	ВЭЖХ при комн. темп. (мин.)	МС (масса/заряд) 100%	Наивыс. пик масса/заряд
LP101	C ₆₀ H ₈₄ F ₂ N ₈ O ₁₃	1163,35	4,04	100	7,07 (B)	1163,6 (M+H)	1163,6 (M+H)
LP102	C ₅₅ H ₇₅ F ₂ N ₅ O ₁₁	1020,21	5,41	> 99	8,44 (A) 8,47 (B)	510,8 (M/2+H)	1020,3 (M+H) (33%)
LP103	C ₆₆ H ₈₈ F ₂ N ₈ O ₁₄	1255,45	5,9	> 99	8,46 (A)	1255,5 (M+H)	1255,5 (M+H)
LP104	C ₁₂₆ H ₁₇₇ F ₂ N ₁₃ O ₄₉	2695,81	-5,09	> 99	6,23 (B)	899,2 (M/3+H)	1348,6 (M/2+H) (40%)
LP105	C ₁₁₈ H ₁₇₆ F ₂ N ₁₂ O ₄₉	2584,71	-5,21	> 99	7,37 (A) 7,41 (B)	1293,6 (M/2+H)	1293,6 (M/2+H)
LP108	C ₁₂₁ H ₁₆₈ F ₂ N ₁₀ O ₄₇	2552,66	-3,72	> 99	7,76 (B)	851,4 (M/3+H)	1276,8 (M/2+H) (83%)
LP110	C ₁₃₂ H ₁₈₁ F ₂ N ₁₃ O ₅₀	2787,9	-3,23	> 99	7,94(A) 8,02 (B)	930,3 (M/3+H)	1394,2 (M/2+H) (33%)

LP112	C ₇₄ H ₉₄ F ₂ N ₈ O ₁₇	1405,60	4,39	> 99	7,40 (B)	703,5 (M/2+H)	703,5 (M/2+H)
LP113	C ₅₄ H ₇₄ N ₄ O ₁₅	1019,18	3,46	100	7,46 (B)	510,3 (M/2+H)	1041,3 (M+Na) (10%)
LP114	C ₇₀ H ₈₇ F ₂ N ₅ O ₁₆	1292,46	5,61	99	9,18 (A) 9,22 (B)	1292,1 (M+H)	1292,1 (M+H)
LP115	C ₆₉ H ₈₄ F ₃ N ₅ O ₁₅	1280,42	5,91	100	8,34 (B)	1279,6 (M+H)	1279,6 (M+H)
LP116	C ₈₀ H ₉₈ F ₂ N ₈ O ₁₈	1497,70	6,25	99	7,99 (B)	1498,7 (M/2+H)	1498,7 (M+H) (10%)

ТАБЛИЦА 15. ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СТЕРОИДОВ ЛИНКЕРОВ

LP №	Структура			cLogP	Мол. масса	
	Полезная нагрузка Структура	Линкер				
		Фрагмент расщепления L3	Гидрофильный фрагмент L2			Линкер конъюгата L1
LP112		vcPAB	/	Lk-DIBAC	4,39	1405,58
LP101		vcPAB	/	LkCCK	4,04	1163,35
LP104		vcPAB	aCDCCK	Lk-DIBAC	-5,09	2695,81
LP105		vcPAB	aCDCCK	Lk-BCN	-5,21	2584,71
LP102		VA	/	Lk-CCK	5,41	1020,2
LP108		VA	aCDCCK	Lk-DIBAC	-3,72	2552,66
LP116		vcPAB	/	Lk-DIBAC	6,25	1497,67
LP103		vcPAB	/	LkCCK	5,90	1255,5
LP110		vcPAB	aCDCCK	Lk-DIBAC	-3,23	2787,9
LP113		VA	/	Lk-MAL	3,46	1019,18
LP114		VA	/	Lk-DIBAC	5,61	1292,46

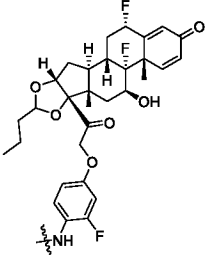
LP №	Структура			сLogP	Мол. масса	
	Полезная нагрузка	Линкер				
	Структура	Фрагмент расщепления L3	Гидрофильный фрагмент L2			Линкер конъюгата L1
LP115		VA	/	Lk-DIBAC	5,91	1280,42

ТАБЛИЦА 16. ПЕРЕЧЕНЬ САЙТ-СПЕЦИФИЧНЫХ ЛИНКЕРОВ СТЕРОИД-АНТИТЕЛО

LP		Ab, Ab-N3, или Ab-Steroid conjugates		
EX	MC масса/заряд	Наименование	Мол.масса (Da)	Соотношение DAR
		Анти-PRLR Ab	144602	4,0
PEG ₃ -N ₃	218,3	Анти-PRLR-Ab-N ₃	145385	3,9
LP112	1405,6	Анти-PRLR Ab-LP12z	151015	4,0
LP104	2695,9	Анти-PRLR Ab-LP4z	156198	4,0
LP116	1497,7	Анти-PRLR Ab-LP16z	151015	4,0
		Анти-Fel D1 Ab		
PEG ₃ -N ₃	218,3	Анти-Fel D1 Ab-N3z	146251	4
LP112	1405,6	Анти-Fel D1 Ab-LP12z	151871	3,9
LP116	1497,7	Анти-Fel D1 Ab-LP16z	152235	3,9

ПРИМЕР 68

[0816] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и на ФИГ. 31.

[0817] В качестве исходных материалов использовали коммерческие стероиды, включая флуоцинолона ацетонид (**1a**), дексаметазон (**1c**), флуметазон (**1d**), триамцинолон (**1e**), метилпреднизолон (**1f**) и триамцинолона ацетонид (**1g**). Соединение **1b** получали из **1a** путем кеталь-обмена с бутиральдегидом в присутствии хлорной кислоты, а два его хиральных изомера получали из разделения хиральной сверхкритической флюидной хроматографией (СКФХ).

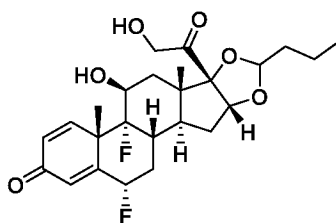
Используя тот же подход, из **1g** получали соединение **1h**. Соединения **1b-f** и **1h** преобразовывали в соответствующие мезилатные производные (**2b-f**, **2h**) с последующей заменой мезилатной группы азидным фрагментом с образованием соединений **3b-f** и **3h**, которые затем восстанавливали до аминов (**4b-f**, **4h**). Мезилатный фрагмент в соединении **2b** также замещали анилинами с получением **5-Iz**, замещали алкиламином с образованием **5-II** и замещали фенолами с образованием **6-I** до **6-III**. Соединение **6-VI** получали при замене мезилата будесонида 4-амино-фенолом, **6-VII** получали при замене мезилата в соединении **2f** с 4-амино-фенолом.

ПРИМЕР 69

[0818] Синтез соединения **1b**, **R-1b**, **S-1b**, и **1h**.

[0819] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и на ФИГ. 31.

[0820] (1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-Дифтор-11-гидрокси-8-(2-гидроксиацетил)-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло [10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (**1b**)

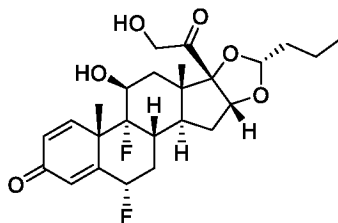


[0821] К смеси флуоцинолона ацетонида (**1a**, 0,90 г, 2,0 ммоль) и силикагеля (18 г) в гептанах (90 мл) добавляли бутиральдегид (0,27 мл, 3,0 ммоль) при 10°C, суспензию перемешивали при 10-20°C в течение 10 минут. К смеси добавляли хлорную кислоту (70%, 0,68 мл, 8,3 ммоль) по каплям при 0°C. Реакционную смесь затем перемешивали при 10-20°C в течение ночи. Большая часть соединения **1a** была израсходована в соответствии с данными TLC и ЖХМС. Реакционную смесь разбавляли петролейным эфиром и гасили насыщенным водным раствором карбоната натрия. Суспензию фильтровали, твердое вещество промывали смесью ДСМ/метанол (об./об. = 1). Объединенный фильтрат концентрировали в вакууме. Остаток очищали методом флэш-хроматографии (0-100% этил ацетат в петролейном эфире), в результате получали соединение **1b** (0,15 г, выход 16%) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 467,1 (M+H)⁺. Соединение **1b** дополнительноочищали методом преп-ВЭЖХ (метод В) для получения соединения **R-1b** (40 мг, выход 39%) и **S-1b** (10 мг, выход 9%) в виде белого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 467 (M+H)⁺.

[0822] (1*S*,2*S*,4*R*,6*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-Дифтор-11-гидрокси-8-(2-гидроксиацетил)-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло [10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}] икоса-14,17-диен-16-он (**R-1b**)

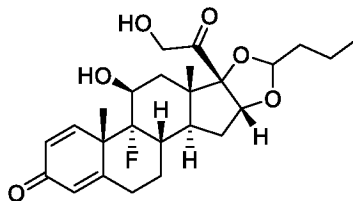
[0823] Были использованы определенные методы и/или промежуточные продукты в EP0262108A1, полное содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки для всех целей:

[0824] Соединение **R-1b** означает



[0825] ¹H ЯМР (400 МГц, MeOD_{dd}) δ 7,34 (dd, *J* = 10,1, 1,3 Гц, 1H), 6,37-6,32 (m, 2H), 5,65-5,48 (m, 1H), 4,63 (t, *J* = 4,3 Гц, 1H), 4,55 (d, *J* = 19,4 Гц, 1H), 4,33-4,28 (m, 2H), 2,74-2,59 (m, 1H), 2,38-2,32 (m, 1H), 2,26-2,16 (m, 2H), 1,70-1,41 (m, 12H), 0,97-0,93 (m, 6H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: >99,9%, время выдержки: 8.05 минут (метод А).

[0826] (1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*)-12-Фтор-11-гидрокси-8-(2-гидроксиацетил)-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (**1h**)



[0827] Следуя процедуре получения соединения **1b**, преобразовывали соединение **1g** (1,3 г, 3,0 ммоль) в соединение **1h** (1,1 г, выход 85%) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 449 (M+1)⁺.

ПРИМЕР 70

[0828] **Общая процедура А для синтеза метилатов(Ms) 2 на ФИГ. 31:**

[0829] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и на ФИГ. 31.

[0830] К раствору соединения **1** (**1c**, **1d**, **1e**, **1f**, или **1h**, 1 эквив.) в пиридине (10 мл на грамм соединения **1**) по каплям добавляли 4-диметиламинопиридин (2 эквив.) и метансульфонил-хлорид (1,5 эквив.) при 0°C. После перемешивания при комнатной температуре в течение 2 часов и контроля реакции с помощью ЖХМС до полного расходования соединения **1** (**1c**, **1d**, **1e**, **1f**, или **1h**, 1 эквив.) получившуюся смесь заливали в этилацетат (100 мл). Смесь промывали разбавленным водой гидрохлоридом (1N) to pH=7 и рассолом, сушили над сульфатом натрия и

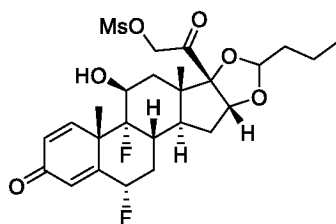
концентрировали. Сырой продукт очищали методом флэш-хроматографии (0-2% MeOH в DCM) для получения соединения **2** (**2c**, **2d**, **2e**, **2f**, или **2h**, 1 эквив.).

ПРИМЕР 71

[0831] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и на ФИГ. 31.

[0832] 2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-Дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил метансульфонате (**2b**)

[0833] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и на ФИГ. 31.



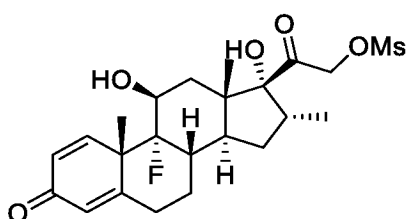
[0834] К раствору соединения **1b** (0,28 г, 0,65 ммоль) в DCM (3 мл) добавляли триэтиламин (0,13 г, 1,3 ммоль) и метансульфонилхлорид (89 мг, 0,78 ммоль). После перемешивания при 0°C в течение получаса до полного расходования соединения **1b** по данным TLC, реакцию смесью концентрировали в вакууме. Остаток на силикагеле очищали колоночной хроматографией на силикагеле (0-50% этил ацетат в петролейном эфире) для получения соединения **2b** (0,26 г, выход >99%) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 545 (M+H)⁺.

ПРИМЕР 72

[0835] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и на ФИГ. 31.

[0836] 2-[(1*R*,2*S*,10*S*,11*S*,13*R*,14*R*,15*S*,17*S*)-1-Фтор-14,17-дигидрокси-2,13,15-триметил-5-октотертацикло[8.7.0.0^{2,7}.0^{11,15}]гептадека-3,6-диен-14-ил]-2-оксоэтил метансульфонат (**2c**)

[0837] Были использованы определенные методы и/или промежуточные продукты в WO2015/71657, полное содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки для всех целей:



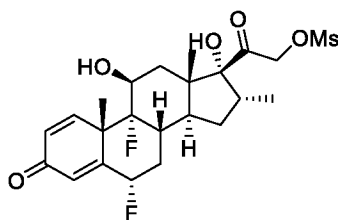
[0838] Следуя **Общей процедуре А**, получали соединение **2c** (0,32 г, выход 50%) в виде твердого вещества белого цвета из дексаметазона (**1c**, 0,53 г, 1,4 ммоль). Масса/заряд при

ЯМР: 471 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (MeOD_{d4}, 500 МГц) δ 7,42 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 6,31 (dd, J = 10,0, 2,0 Гц, 1H), 6,10 (s, 1H), 5,27 (d, J = 18,0 Гц, 1H), 5,04 (d, J = 18,0 Гц, 1H), 4,30-4,27 (m, 1H), 3,21 (s, 3H), 3,10-3,05 (m, 1H), 2,78-2,71 (m, 1H), 2,55-2,40 (m, 1H), 2,36-2,32 (m, 1H), 2,27-2,21 (m, 1H), 1,93-1,88 (m, 1H), 1,82-1,74 (m, 1H), 1,61 (s, 3H), 1,58-1,51 (m, 2H), 1,25-1,20 (m, 1H), 1,06 (s, 3H), 0,89 (d, J = 7,5 Гц, 3H) чнм.

ПРИМЕР 73

[0839] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и на ФИГ. 31.

[0840] 2-[(1R,2S,8S,10S,11S,13R,14R,15S,17S)-1,8-Дифтор-14,17-дигидрокси-2,13,15-триметил-5-оксотертацкло[8.7.0.0^{2,7}.0^{11,15}]гептадека-3,6-диен-14-ил]-2-оксоэтил метансульфонат (2d)



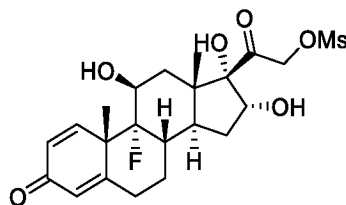
[0841] Были использованы определенные методы и/или промежуточные продукты в источнике *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2015**, 25, 2837-2843, полное содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки для всех целей:

[0842] Следуя **Общей процедуре А**, получали соединение **2d** (0,17 г, выход 71%) в виде твердого вещества белого цвета из флюметазона (**1d**, 0,20 г, 0,49 ммоль). Масса/заряд при ЯМР: 489 (M+H)⁺.

ПРИМЕР 74

[0843] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и на ФИГ. 31.

[0844] 2-((8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17S)-9-Фтор-11,16,17-тригидрокси-10,13-диметил-3-оксо-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагидро-3H-циклопента[а]р феноантрен-17-ил)-2-оксоэтил метансульфонат (2e)

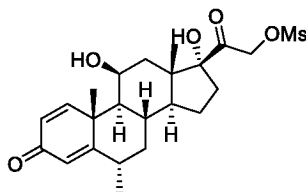


[0845] Следуя **Общей процедуре А**, получали соединение **2e** (0,38 г, выход 81%) в виде твердого вещества белого цвета из триамцинолона (**1e**, 0,39 г, 1,0 ммоль). Масса/заряд при ЯМР: 473 (M+H)⁺.

ПРИМЕР 75

[0846] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и на ФИГ. 31.

[0847] 2-((6*S*,8*S*,9*S*,10*R*,11*S*,13*S*,14*S*,17*R*)-11,17-Дигидрокси-6,10,13-триметил-3-оксо-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагидро-3*H*-циклопента[а]фенантрен-17-ил)-2-оксоэтил метансульфонат (2f)

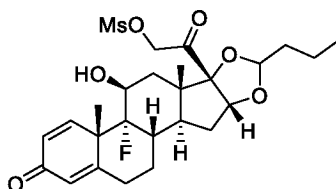


[0848] Следуя **Общей процедуре А**, получали соединение **2f** (0,16 г, выход 35%) в виде твердого вещества белого цвета из метилпреднизолона (**1f**, 0,38 г, 1,0 ммоль). Масса/заряд при ЯМР: 453 (M+H)⁺.

ПРИМЕР 76

[0849] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и на ФИГ. 31.

[0850] 2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*)-12-Фтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил метансульфонат (2h)



[0851] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и на ФИГ. 31.

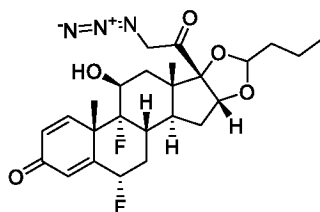
[0852] Следуя **Общей процедуре А**, получали соединение **2h** (0,45 г, выход 85%) в виде твердого вещества белого цвета из метилпреднизолона (**1h**, 0,39 г, 1,0 ммоль). Масса/заряд при ЯМР: 528 (M+H)⁺.

ПРИМЕР 77

[0853] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и FIG. 31.

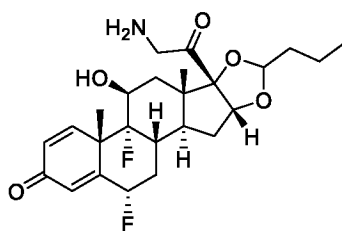
[0854] Синтез стероидной полезной нагрузки **4b**.

[0855] (1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-8-(2-Азидаацетил)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (**3b**)



[0856] Взвесь соединения **2b** (1,0 г, 1,8 ммоль) и азиды натрия (1,2 г, 18 ммоль) в ацетоне (15 мл) перемешивали при 50°C в течение ночи, за это время реакция завершилась согласно данным, полученным по методу ЖХМС. После охлаждения взвесе реакционную смесь заливали в холодную воду (80 мл). Водную смесь экстрагировали этилацетатом (50 мл x 3). Объединенный органический раствор промывали рассолом (30 мл), сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме для образования соединения **3b** (0,90 г, > выход 99%) в виде желтого твердого вещества, которое использовали для следующего шага без дополнительной очистки. Масса/заряд при ЯМР: 492 (M+H)⁺.

[0857] (1*S*,2*S*,4*R*,6*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-8-(2-Аминоацетил)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он; соль трифторуксусной кислоты (**4b**)

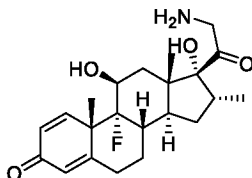


[0858] В круглодонную колбу объемом 100 мл добавляли соединение **3b** (0,85 г, 1,7 ммоль) с последующим добавлением ТГФ (20 мл) и водного гидрохлорида (1 н., 10 мл). Смесь перемешивали при 28-32°C до тех пор, пока она становилось прозрачной, затем к ней добавляли трифенилфосфин (0,68 г, 2,6 ммоль) при данной температуре. Полученный желтый прозрачный раствор перемешивали при 28-32°C в течение 18 часов, в течение этого времени реакция завершилась по данным ТСХ и ЖХМС. Смесь концентрировали в вакууме, остаток очищали с помощью флэш-хроматографии с обращенной фазой (0-50% ацетонитрила в водной TFA (0,05%)), получая соединение **4b** (0,56 г, выход 57%, соль трифторуксусной кислоты) в виде желтоватого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 466 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, MeOD_{d4}) δ 7,33 (d, *J* = 9,9 Гц, 1H), 6,40-6,29 (m, 2H), 5,69-5,45 (m, 1H), 4,93-4,92 (m, 1H), 4,71 (t, *J* = 4,3 Гц, 1H), 4,35-4,27 (m, 2H), 3,90-3,84 (m, 1H), 2,81-2,54 (m, 1H), 2,42-2,06 (m, 3H), 1,82-1,32 (m, 11H), 1,09-0,87 (m, 6H) чнм. ¹⁹F ЯМР (376 МГц, MeOD_{d4}) δ -77,01, -166,24, -166,92, -188,81, -188,83 чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 100%, время выдержки: 6.86 минут (метод А).

ПРИМЕР 78

[0859] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и на ФИГ. 31.

[0860] (1*R*,2*S*,10*S*,11*S*,13*R*,14*R*,15*S*,17*S*)-14-(2-Аминоацетил)-1-фтор-14,17-дигидрокси-2,13,15-триметилтетрацикло [8.7.0.0^{2,7}.0^{11,15}]гептадека-3,6-диен-5-он трифторацетат (4с)

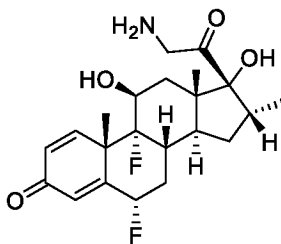


[0861] Следуя процедуре, описанной в ПРИМЕРЕ 77, для получения соединения **4b**, за исключением замещения соединения **2c** на соединение **2d**, получали соединение **4c** в виде соли трифторуксусной кислоты (0,50 г, выход 53% в 2 шага) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 392 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO_{d6}) δ 8,22 (s, 3H), 7,35 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 6,19 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 5,98 (s, 1H), 5,60 (d, J = 4,0 Гц, 1H), 5,38 (s, 1H), 4,30-4,10 (m, 2H), 3,62 (d, J = 18,8 Гц, 1H), 2,98-2,83 (m, 1H), 2,65-2,50 (m, 1H), 2,50-2,22 (m, 2H), 2,20-2,01 (m, 2H), 1,80-1,72 (m, 1H), 1,72-1,58 (m, 1H), 1,46 (s, 3H), 1,46-1,25 (m, 2H), 1,13-1,01 (m, 1H), 0,89 (s, 3H), 0,78 (d, J = 6,8 Гц, 3H) чнм, ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO_{d6}) δ -73,79, -164,32 чнм. *Анал.* ВЭЖХ: > 99%, время выдержки: 6.34 минут (метод А).

ПРИМЕР 79

[0862] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и на ФИГ. 31.

[0863] (1*R*,2*S*,8*S*,10*S*,11*S*,13*R*,14*R*,15*S*,17*S*)-14-(2-Аминоацетил)-1,8-дифтор-14,17-дигидрокси-2,13,15-триметилтетрацикло [8.7.0.0^{2,7}.0^{11,15}]гептадека-3,6-диен-5-он трифторацетат (4d)



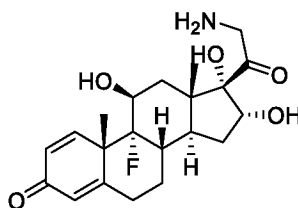
[0864] Следуя процедуре, описанной в ПРИМЕРЕ 77 для получения соединения **4b**, за исключением замещения соединения **2d** на соединение **2b**, получали соединение **4d** в виде соли трифторуксусной кислоты (0,18 г, выход 21% в 2 шага), в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 410 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO_{d6}) δ 8,17 (s, 3H), 7,36 (d, J = 10,3 Гц, 1H), 6,29 (dd, J = 10,2, 1,7 Гц, 1H), 6,11 (s, 1H), 5,74-5,54 (m, 2H), 5,42 (s, 1H), 4,28-4,10 (m, 2H), 3,70-3,59 (m, 1H), 3,02-2,89 (m, 1H), 2,58-2,40 (m, 1H), 2,31-2,12 (m, 3H), 2,08 (s, 1H), 1,77-

1,64 (m, 1H), 1,51-1,44 (m, 4H), 1,16-1,06 (m, 1H), 0,91 (s, 3H), 0,82 (d, $J = 7,2$ Гц, 3H), чнм, ^{19}F ЯМР (376 МГц, DMSO_{d6}) δ -73,65, -163,75, -186,04 чнм. *Анал.* ВЭЖХ: > 99%, Время выдержки: 6.36 минут (метод А).

ПРИМЕР 80

[0865] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и на ФИГ. 31.

[0866] (8*S*,9*R*,10*S*,11*S*,13*S*,14*S*,16*R*,17*S*)-17-(2-Аминоацетил)-9-фтор-11,16,17-тригидрокси-10,13-диметил-7,8,11,12,13,15,16,17-октагидро-6*H*-циклопента[а] фенантрен-3(9*H*,10*H*,14*H*)-он трифторацетат (4e)

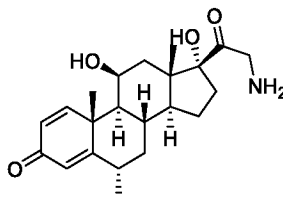


[0867] Следуя процедуре, описанной в ПРИМЕРЕ 77 для получения соединения **4b**, за исключением замещения соединения **2e** на соединение **2b**, получали соединение **4e** в виде соли трифторуксусной кислоты (28 г, выход 21% в 2 шага), в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 394 (M+H)⁺. ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO_{d6}) δ 8,04 (s, 3H), 7,33 (d, $J = 10$ Гц, 1H), 6,24 (dd, $J = 10$ Гц, 1,0 Гц, 1H), 6,02 (s, 1H), 5,53 (d, $J = 5,5$ Гц, 1H), 5,50-5,45 (m, 1H), 5,04 (s, 1H), 4,76-4,70 (m, 1H), 4,20-4,12 (m, 2H), 3,68 (d, $J = 20$ Гц, 1H), 2,66-2,57 (m, 1H), 2,40-2,20 (m, 3H), 2,20-2,10 (m, 1H), 1,90-1,70 (m, 2H), 1,50-1,20 (m, 6H), 0,89 (s, 3H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: > 99%, время выдержки: 5.79 минут (метод А).

ПРИМЕР 81

[0868] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и на ФИГ. 31.

[0869] (6*S*,8*S*,9*S*,10*R*,11*S*,13*S*,14*S*,17*R*)-17-(2-Аминоацетил)-11,17-дигидрокси-6,10,13-триметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагидро-3*H*-циклопента[а]фенантрен-3-он (4f)



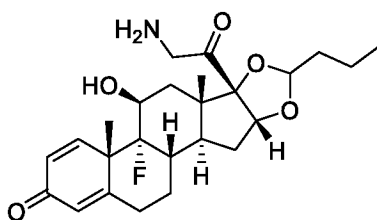
[0870] Следуя процедуре, описанной в ПРИМЕРЕ 77 для получения соединения **4b**, за исключением замещения соединения **2b** на соединение **2f** и перемешивания при 60°C, а не при 28~32°C на шаге 2, получали соединение **4f** (10 мг, выход 14% в 2 шага) в виде твердого

вещества желтого цвета после очистки методом преп-ВЭЖХ (метод Б). Масса/заряд при ЯМР: 466 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, MeOD_{d4}) δ 8,50 (s, 1H), 7,50 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 6,27 (dd, J = 1,6 Гц, 10,0 Гц, 1H), 6,02 (s, 1H), 4,43-4,42 (m, 1H), 4,32-4,27 (m, 1H), 3,80-3,76 (m, 1H), 2,79-2,73 (m, 2H), 2,29-2,15 (m, 3H), 1,83-1,50 (m, 7H), 1,10-0,80 (m, 8H) чнм.

ПРИМЕР 82

[0871] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и на ФИГ. 31.

[0872] (1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S)-8-(2-Аминоацетил)-12-фтор-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (4h) с изомерами 22R/S (соотношение 2:1)

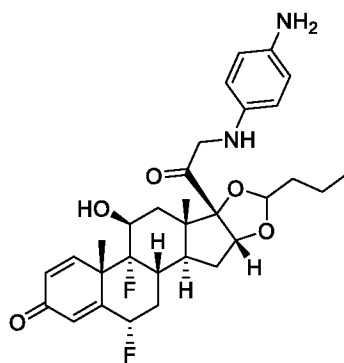


[0873] Следуя процедуре, описанной в ПРИМЕРЕ 77 для получения соединения 4b, за исключением замещения соединения 2h (0,26 г, 0,5 ммоль) на соединение 2b, получали соединение 4h (5 мг, выход 6% в 2 шага) в виде твердого вещества желтого цвета после двойной очистки методом преп-ВЭЖХ. Масса/заряд при ЯМР: 448 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500МГц, DMSO_{d6}) δ 8,04 (s, 3H), 7,95-7,70 (m, 1H), 7,32 (d, J = 10 Гц, 1H), 6,24 (d, J = 9,0 Гц, 1H), 6,02 (s, 1H), 5,65-5,55 (m, 1H), 5,18 (t, J = 4 Гц, 0,24H), 5,12 (d, J = 5 Гц, 0,24H), 4,77 (d, J = 5,0 Гц, 0,76H), 4,66 (t, J = 4 Гц, 0,76H), 4,25-4,10 (m, 2H), 3,80-3,70 (m, 1H), 2,65-2,55 (m, 1H), 2,36-2,30 (m, 1H), 2,05-1,95 (m, 2H), 1,85-1,75 (m, 1H), 1,70-1,55 (m, 4H), 1,48 (s, 3H), 1,40-1,30 (m, 3H), 1,25-1,20 (m, 1H), 0,90-0,80 (m, 6H) чнм. ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO_{d6}) δ -73,51 (3F), -164,50 (0,3F), -165,27 (0,7F) чнм.

ПРИМЕР 83

[0874] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и на ФИГ. 31.

[0875] (1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-8-{2-[(4-Аминофенил)амино]ацетил}-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он трифторацетат (5-I)



[0876] К соединению **2b** (0,10 г, 0,18 ммоль) в *N,N*-диметилформамиде (2 мл) в пробирке с завинчивающейся крышкой добавляли 4-гидроксиалинин (0,10 мг, 0,92 ммоль), триэтиламин (0,20 г, 2,0 ммоль) и йодит натрия (0,10 г, 0,67 ммоль). Смесь перемешивали при 70°C в течение 5 часов под контролем ЖХМС. Реакционную смесь дважды очищали напрямую методом преп-ВЭЖХ (метод А) для получения соединения **5-I** (10 мг, выход 8%) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 557 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO_{d6}) δ 9,59 (br s, 3H), 7,50-5,96 (m, 8H), 5,76-3,81 (m, 7H), 2,73-2,55 (m, 1H), 2,28 (s, 1H), 2,20-1,99 (m, 2H), 1,86-1,79 (m, 1H), 1,70-1,27 (m, 10H), 0,93-0,76 (m, 6H) чнм, ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO_{d6}) δ -73,90, -164,22, -165,02, -186,37 чнм. *Анал.* ВЭЖХ: > 99%, время выдержки: 7.55 минут (метод А).

ПРИМЕР 84

[0877] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и на ФИГ. 31.

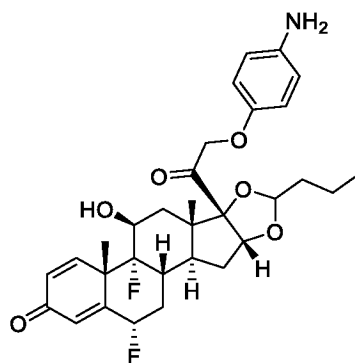
Общая процедура В для получения соединения 6 путем замещения фенолом соединения 2:

[0878] К горячему ацетонитрилу или ацетону (60-65°C) добавляли соединение **2** (1 экв.), соответствующий фенол (2,0-2,5 экв.) и карбонат калия или карбонат цезия (2,0-3,0 экв.). Полученную суспензию кипятили с обратным холодильником в течение 2-3 часов под контролем ЖХМС и TLC. После охлаждения до комнатной температуры летучие вещества удаляли в вакууме и к остатку добавляли воду. Водную смесь экстрагировали этилацетатом. Объединенный органический раствор промывали водой и рассолом, сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт использовали для следующего шага напрямую или очищали с помощью флэш-хроматографии или препаративной ВЭЖХ с получением чистого арилэфира **6**.

ПРИМЕР 85

[0879] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и на ФИГ. 31.

[0880] (1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-8-[2-(4-Аминофенокси)ацетил]-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (6-I)

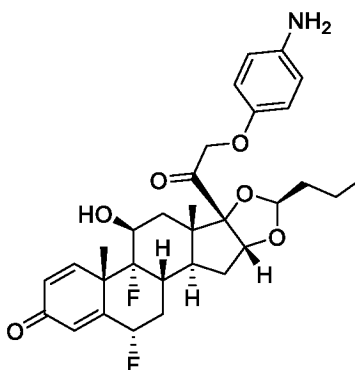


[0881] Следуя **Общей процедуре В** в результате реакции **2b** (расчетное количество 0,17 ммоль) с 4-аминофенолом (37 мг, 0,34 ммоль) и синтеза карбоната цезия (0,11 г, 0,34 ммоль) в ацетоне (0,5 мл), получали титульное соединение **6-I** (6,0 мг, выход 6,3% от **1b**) в виде твердого вещества белого цвета после очищения по методу преп-ВЭЖХ (метод Б). Масса/заряд при ЯМР: 298 (M/2+H)⁺, 558 (M+H)⁺ (10%). ¹H ЯМР (500 МГц, MeOD_{d4}) δ 7,34 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 6,78-6,71 (m, 4H), 6,37-6,33 (m, 2H), 5,63-5,49 (m, 1H), 5,10-4,99 (m, 1H), 4,77-4,63 (m, 2H), 4,33 (d, J = 9,1 Гц, 1H), 2,74-2,57 (m, 1H), 2,39-2,13 (m, 3H), 1,98-1,31 (m, 12H), 1,03-0,93 (m, 6H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: чистота 97,4%, время выдержки: 7,55 минут (метод Б).

ПРИМЕР 86

[0882] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и ФИГ. 31.

[0883] (1*S*,2*S*,4*R*,6*S*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-8-[2-(4-Аминофенокси)ацетил]-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло [10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (**S-6-I**)



[0884] Следуя **Общей процедуре В**, за исключением замещения **2b** соединением **S-2b**, получали соединение **S-6-I** (19 мг, выход 19% в 2 шага от **S-2b**) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 558 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ 7,26 (dd, J = 10,2, 1,0 Гц, 1H), 6,65-6,55 (m, 2H), 6,51-6,44 (m, 2H), 6,30 (dd, J = 10,2, 1,9 Гц, 1H), 6,11 (s, 1H),

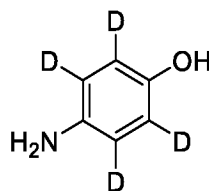
5,74-5,46 (m, 2H), 5,23 (t, $J = 4,9$ Гц, 1H), 5,14 (d, $J = 7,2$ Гц, 1H), 4,99 (d, $J = 18,2$ Гц, 1H), 4,74-4,55 (m, 3H), 4,26-4,12 (m, 1H), 2,65-2,53 (m, 1H), 2,29-2,19 (m, 1H), 2,13-1,94 (m, 2H), 1,86-1,22 (m, 11H), 0,92-0,78 (m, 6H) чнм, ^{19}F ЯМР (376 МГц, DMSO_{d6}) δ -164,26, -186,38 чнм. *Анал.* ВЭЖХ: > 99%, время выдержки: 7.34 минут (метод Б).

ПРИМЕР 87

[0885] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и ФИГ. 31.

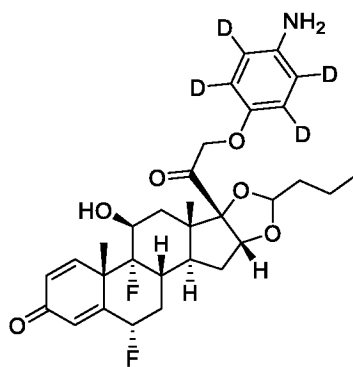
[0886] Были использованы определенные способы, изложенные в источнике *Org. Biomol. Chem.*, 2014, 12, 7551–7560 полное содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки для всех целей.

[0887] Шаг 1: 4-Амино($^2\text{H}_4$)фенол:



[0888] В 20 мл микроволновую трубку загружали 4-гидроксианилин (0,97 г, 8,9 ммоль), дейтерием оксид (D_2O , 10 мл) и концентрированный дейтерием хлорида (DCl , 125 мкл) для получения суспензии. Пробирку заполняли атмосферой азота, закупоривали и облучали в микроволновой печи (CEM Discover SP) при 180°C в течение 2,5 часов под контролем, которая контролируется ЖХМС. Затем смесь охлаждали до комнатной температуры ($28-32^\circ\text{C}$) и выдерживали при данной температуре в течение 18 часов. Летучие вещества удаляли в вакууме с получением остатка коричневого цвета, который суспендировали в дейтерием оксиде (10 мл) в 20 мл микроволновой пробирке. Пробирку заполняли азотом, закупоривали и облучали в микроволновой печи при 180°C в течение 5,5 часов. После охлаждения до комнатной температуры ($28-32^\circ\text{C}$) смесь выдерживали при данной температуре в течение 16 часов. Летучие вещества удаляли в вакууме, остаток очищали методом флэш-хроматографии (10-60% этил ацетат в петролейном эфире), получая 4-амино($^2\text{H}_4$)фенол (0,50 г, выход 50%) в виде твердого вещества коричневого цвета. ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO_{d6}) δ 8.31 (s, 1H), 4.36 (s, 2H) чнм.

[0889] (1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-8-{2-[4-Амино(2,3,5,6- $^2\text{H}_4$)фенокси]ацетил}-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он (6-I D)



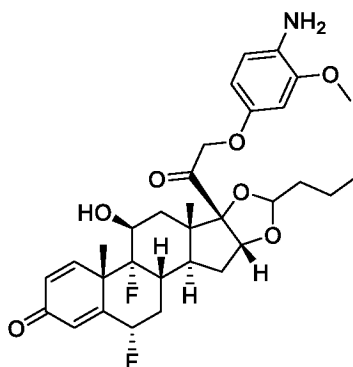
[0890] **Шаг 2:** К смеси 4-Амино ($^2\text{H}_4$) фенола (0,10 г, 0,88 ммоль) в диметилсульфоксиде (3 мл) добавляли гидроксид калия (45 мг, 0,80 ммоль). После перемешивания при 28-32°C в течение 2 минут, затем перемешивания при 60°C, к смеси добавляли соединение **2b** (0,20 г, 0,40 ммоль) одной порцией и перемешивали под защитой азота при 60°C в течение часа. После охлаждения до комнатной температуры смесь напрямую очищали методом преп-ВЭЖХ (метод А), затем преп-ВЭЖХ (метод Б), в результате получали **6-II** (10 мг, выход 4,4%) в виде желтоватого твердого вещества. Масса/заряд при ЯМР: 562 (M+H)⁺. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO_{d6}) δ 7,27 (d, $J = 10,1$ Гц, 1H), 6,30 (dd, $J = 10,1, 1,7$ Гц, 1H), 6,12 (s, 1H), 5,74-5,45 (m, 2H), 5,03-4,93 (m, 1H), 4,82-4,58 (m, 4H), 4,27-4,14 (m, 1H), 3,33 (s, 1H), 2,70-2,53 (m, 1H), 2,31-2,20 (m, 1H), 2,14-1,93 (m, 2H), 1,86-1,70 (m, 1H), 1,67-1,24 (m, 10H), 0,92-0,73 (m, 6H) чнм. ^{19}F ЯМР (376 МГц, DMSO_{d6}) δ -164,24, -165,05, -186,35 чнм. *Анал. ВЭЖХ:* 98,41%, время выдержки: 7,34 минут (метод В)

[0891] Соединение 6-I D полезно, например, для аналитических методов.

ПРИМЕР 88

[0892] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и на ФИГ. 31.

[0893] (1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-8-[2-(4-Амино-3-метоксифенокси)ацетил]-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло [10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-16-он трифторацетат (**6-II**)



[0894] Следуя **Общей процедуре В**, в результате реакции соединения **2b** (0,50 г, 0,92 ммоль) с 4-амино-3-метоксифенолом (0,32 г, 2,3 ммоль) и синтеза карбоната (0,60 г, 1,8 ммоль) в

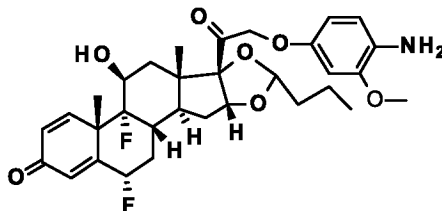
ацетонитриле (20 мл) получали соединение **6-II** (0,25 г, выход 47%) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 588 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO_{d6}) δ 9,00 (s, 2H), 7,33-7,23 (m, 1H), 7,16-7,08 (m, 1H), 6,77-6,68 (m, 1H), 6,52-6,41 (m, 1H), 6,35-6,27 (m, 1H), 6,12 (s, 1H), 5,74-5,51 (m, 2H), 5,31-5,11 (m, 2H), 4,98-4,68 (m, 3H), 4,28-4,15 (m, 1H), 3,90-3,83 (m, 3H), 2,74-2,55 (m, 1H), 2,35-2,21 (m, 1H), 2,17-1,97 (m, 2H), 1,88-1,75 (m, 1H), 1,67-1,28 (m, 10H), 0,93-0,78 (m, 6H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: > 99%, время выдержки: 7.68 и 7.72 минут (метод А).

ПРИМЕР 89

[0895] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и на ФИГ. 31.

[0896] Получение соединения **6-III**

[0897] (1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-8-[2-(4-Амино-3-фторфенокси)ацетил]-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-6-пропил-5,7-диоксапентацикло [10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}] икоса-14,17-диен-16-он (**6-III**)

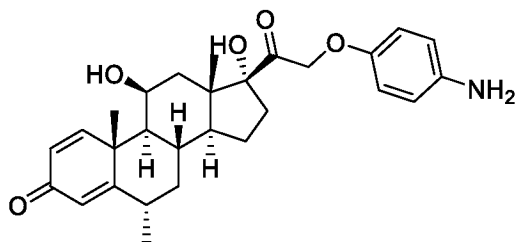


[0898] Во флакон с круглым дном добавляли соединение **2e** (0,20 г, 0,37 ммоль), 4-амино-3-фторфенол (0,25 г, 2,0 ммоль), гидроксид калия (0,11 г, 2,0 ммоль) и диметилсульфоксид (3 мл) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при 60°C в течение часа под защитой азота до завершения реакции, под контролем TLC и ЖХМС. После охлаждения до комнатной температуры и фильтрации через мембрану реакционный раствор напрямую очищали методом преп-ВЭЖХ (метод А) для получения титульного соединения **6-III** (40 мг, выход 19%) в виде твердого вещества желтоватого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 576 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, MeOD_{d4}) δ 7,40-7,31 (m, 1H), 7,20 (td, *J* = 9,1, 1,9 Гц, 1H), 6,91-6,84 (m, 1H), 6,80-6,76 (m, 1H), 6,40-6,30 (m, 2H), 5,57 (ddd, *J* = 48,6, 9,7, 6,8 Гц, 1H), 5,15 (d, *J* = 18,1 Гц, 1H), 4,90-4,79 (m, 2H), 4,75 (t, *J* = 4,3 Гц, 1H), 4,41-4,28 (m, 1H), 2,78-2,57 (m, 1H), 2,40-2,12 (m, 3H), 1,98-1,39 (m, 11H), 1,07-0,92 (m, 6H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 100%, время выдержки: 8.10 минут (метод А).

ПРИМЕР 90

[0899] Данный пример относится к соединениям в Таблице 2 и FIG. 31.

[0900] (6*S*,8*S*,9*S*,10*R*,11*S*,13*S*,14*S*,17*R*)-17-(2-(4-Аминофенокси)ацетил)-11,17-дигидрокси-6,10,13-триметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагидро-3*H*-циклопента[а]фенантрен-3-он (6-VI)



[0901] К раствору соединения **2f** (60 мг, 0,13 ммоль) в *N,N*-диметилформамиде (3 мл) добавляли карбонат цезия (86 мг, 0,26 ммоль) и *N*-Вос-4-аминофенол (28 мг, 0,13 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 часов, процесс контролировали с помощью ЖХМС. Смесь разбавляли этил ацетатом (10 мл). Органический раствор промывали водой (10 мл), сушили над сульфатом натрия и концентрировали. Белый остаток (50 мг, масса/заряд при ЯМР: 566 (M+H)⁺ растворяли в дихлорметане (5 мл), к раствору добавляли трифторукусную кислоту (0,5 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов до полного удаления Вос в соответствии с данными ЖХМС. Летучие вещества удаляли в вакууме, остаток очищали методом флэш-хроматографии с обращенной фазой (0-25% ацетонитрила в воде) для получения **6-VI** (10 мг, выход 7,5%) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 466 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ 7,32 (d, *J* = 10,0 Гц, 1H), 6,61-6,58 (m, 2H), 6,51-6,47 (m, 2H), 6,19 (dd, *J* = 10,0, 1,6 Гц, 1H), 5,82 (t, *J* = 1,6 Гц, 1H), 5,39 (s, 1H), 5,04-5,01 (m, 3H), 4,66 (d, *J* = 3,2 Гц, 1H), 4,58 (d, *J* = 18,0 Гц, 1H), 4,30 (d, *J* = 2,4 Гц, 1H), 2,67-2,50 (m, 2H), 2,13-2,01 (m, 2H), 1,93-1,89 (m, 1H), 1,67-1,61 (m, 3H), 1,45-1,30 (m, 5H), 1,01 (d, *J* = 3,2 Гц, 3H), 0,95-0,71 (m, 5H) чнм.

ПРИМЕР 91

[0902] Данный пример демонстрирует общие методы синтеза промежуточных звеньев линкера полезной нагрузки в Таблице 4.

[0903] Данный пример относится к соединениям в Таблице 4 и на ФИГ. 31 и 33.

[0904] Синтез линкеров с полезной нагрузкой (**LP1-LP16**) начинался с получения карбонатов **L4** из реакций аминов (**4**) или анилинов (**6**) с защищенным Val-Cit-PAВ-PNP (**L2a** или **L2b**) с последующим N-снятием защиты или с образования амидов **L4** между анилинами (**6**) с помощью Вос или Fmoc-защищенного Val-Cit-OH или Fmoc-Val-Ala-OH (**L3a-c**) с последующим N-снятием защиты. Соединения **L4** напрямую связывали с **L9** или **L10** для генерации конечных линкер-стероидов **LP1, LP2, LP3, LP13, LP14, LP15** и **LP16**. Соединения

L4 также соединяли с Fmoc-D-Lys-COT **L5** с последующим де-Fmoc для получения соединения **L6**, которое подвергали [3+2] циклоприсоединению с азидо-циклодекстрином (**7a**) или азидо-сульфонатами (**7b** или **7c**) с образованием **L8**. Наконец, использовали реакции сочетания **L8** с кислотой PEG4 или сложным эфиром NHS (**L9** или **L10**) для получения линкера с полезной нагрузкой **LP5**, **LP8**, **LP10** и **LP12**.

[0905] Общая процедура C для синтеза промежуточного L4:

[0906] К раствору полезной нагрузки **4** или **6** (1,0 эквив.) и Boc-vcPAB-PNP (1,1 эквив.) в N,N-диметилформамиде (1 мл на 10 мг полезной нагрузки) добавляли HOBT (1,0 эквив.) и DIPEA (2,0 эквив.) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре (18-30°C) в течение ночи до израсходования полезной нагрузки под контролем ЖХМС. После фильтрации через мембрану реакционный раствор напрямую очищали методом преп-ВЭЖХ для получения **Boc-L4** (выход 52%) в виде твердого вещества белого цвета, которое растворяли в дихлорметане (0,6 мл на 1 мг соединения **Boc-L4**). К полученному раствору добавляли по каплям трифторуксусную кислоту (0,2 мл на 1 мг соединения **Boc-L4**) при 0°C. Смесь перемешивали при комнатной температуре (18-30°C) в течение часа до удаления Boc под контролем ЖХМС. Летучие вещества удаляли в вакууме для получения соединения **L4**, которое затем использовали для следующего шага без дополнительной очистки.

[0907] Общая процедура D для синтеза промежуточного L4:

[0908] К раствору полезной нагрузки **4** или **6** (1,0 эквив.) в N,N-диметилформамиде (0,3 мл на 10 мг полезной нагрузки) добавляли Fmoc-vcPAB-PNP (1,1 эквив.), HOBT (1,5 эквив.) и DIPEA (2,0 эквив.) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре (18-30°C) в течение 3 часов до полного расходования под контролем ЖХМС. К реакционной смеси добавляли пиперидин (0,03 мл на 10 мг полезной нагрузки), смесь перемешивали при комнатной температуре (18-30°C) в течение часа до удаления Fmoc под контролем ЖХМС. После фильтрации через мембрану реакционный раствор напрямую очищали методом флэш-хроматографии с обращенной фазой или преп-ВЭЖХ для получения соединения **L4**.

[0909] Общая процедура E для синтеза промежуточного L4:

[0910] К раствору Boc-Val-Ala-OH или Boc-Val-Cit-OH (1,0 эквив.) в дихлорметане (0,2 мл на 10 мг пептида) добавляли DIPEA (2,0 эквив.) и NATU (1,2 эквив.) при 20-25°C. Смесь перемешивали при 20-25°C в течение 30 минут, после чего добавляли анилин (1,1 эквив.), смесь перемешивали в течение 16 до полного расходования пептида под контролем ЖХМС. Затем к реакционной смеси добавляли триуксусную кислоту (0,05 мл на 10 мг пептида). Смесь перемешивали при 20-25°C еще в течение часа. Летучие вещества удаляли под пониженным

адвлением, остаток напрямую очищали методом преп-ВЭЖХ (метод В) для получения соединения **L4**.

[0911] Общая процедура F для синтеза промежуточного L4:

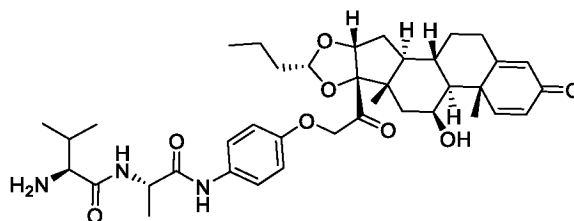
[0912] К раствору Fmoc-Val-Ala-OH (1,2 эквив.) в N,N-диметилформамиде (0,2 мл на 10 мг пептида) добавляли DIPEA (3,0 эквив.) и HATU (1,4 эквив.) при 20-25°C. Смесь перемешивали при 20-25°C в течение 5 минут, после чего добавляли анилин (1,0 эквив.), полученную смесь дополнительно перемешивали в течение 2 часов до полного расходования пептида под контролем ЖХМС. Затем к реакционной смеси добавляли пиперидин (5,0 эквив.). Смесь перемешивали при 20-25°C в течение 2 часов. После фильтрации через мембрану реакционный раствор напрямую очищали методом флэш-хроматографии с обращенной фазой (0-100% ацетонитрил в водном бикарбонате аммония (10 ммоль) или методом преп-ВЭЖХ (метод В) для получения соединения **L4**.

ПРИМЕР 92

[0913] Данный пример относится к соединениям в Таблице 4 и на ФИГ. 33.

[0914] Получение соединения **L4a, VA-R-6-VI**

[0915] (2S)-2-Амино-N-[(1S)-1-[(4-{2-[(1S,2S,4R,6R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]этил]-3-метилбутанамид



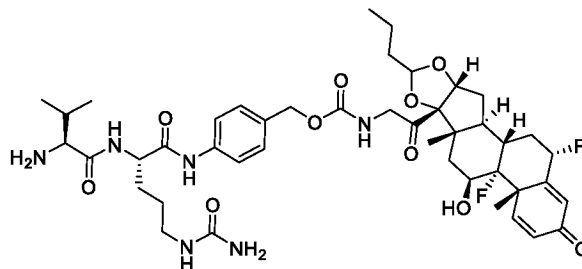
[0916] Следуя **Общей процедуре E** (выход 65%) или **F** (выход 53%) из **R-6-VI** получали соединение **L4a** в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 692 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO_{d6}) δ 9,95 (d, J = 8,2 Гц, 1H), 8,19-8,09 (m, 1H), 7,54-7,47 (m, 2H), 7,33 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 6,85 (d, J = 9,0 Гц, 2H), 6,22-6,13 (m, 1H), 5,93 (s, 1H), 5,14-5,04 (m, 1H), 4,86-4,77 (m, 2H), 4,75 (d, J = 4,2 Гц, 1H), 4,70 (t, J = 4,3 Гц, 1H), 4,48-4,38 (m, 1H), 4,34 (s, 1H), 3,01 (t, J = 5,0 Гц, 1H), 2,58-2,52 (m, 1H), 2,33-2,25 (m, 1H), 2,13-2,06 (m, 1H), 2,03-2,00 (m, 1H), 1,95-1,89 (m, 1H), 1,88-1,84 (m, 2H), 1,63-1,53 (m, 5H), 1,45-1,33 (m, 6H), 1,32-1,26 (m, 3H), 1,06-0,93 (m, 2H), 0,92-0,82 (m, 10H), 0,80-0,75 (m, 3H) чнм.

ПРИМЕР 93

[0917] Данный пример относится к соединениям в Таблице 4 и на ФИГ. 33.

[0918] Получение соединения **L4b**, **vcPAВ-4b**

[0919] {4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-Амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил}карбамат



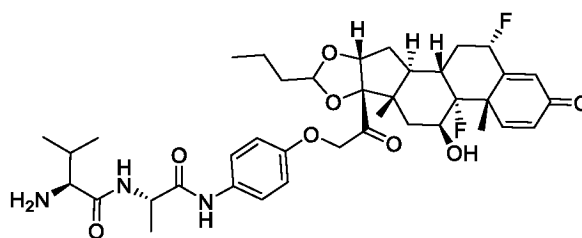
[0920] Следуя **Общей процедуре D**, из соединения **4b** (93 мг, 0,20 ммоль) получали соединение **vcPAВ-4b** (0,13 г, выход 73%) после очищения методом флэш-хроматографии с обращенной фазой (50-80% ацетонитрил в водном бикарбонате аммония (10 ммоль)) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 871 (M+H)⁺.

ПРИМЕР 94

[0921] Данный пример относится к соединениям в Таблице 4 и на ФИГ. 33.

[0922] Получение соединения **L4c**, **VA-6-I**

[0923] (2*S*)-2-Амино-*N*-[(1*S*)-1-[(4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]этил]-3-метилбутанамид



[0924] Следуя **Общей процедуре E**, из соединения **6-I**, (0,50 г, 0,90 ммоль) с *Woc*-Val-Ala-OH получали сырое соединение **L4c** (0,69 г, выход 72% в 2 шага) без очистки, в виде масла желтого цвета, которое использовали напрямую для следующего шага. Масса/заряд при ЯМР: 728 (M+H)⁺.

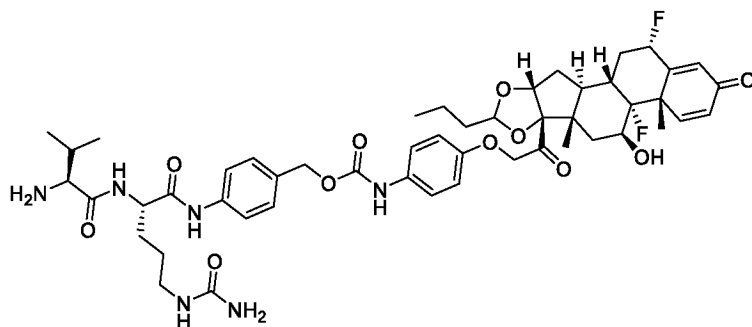
ПРИМЕР 95

[0925] Данный пример относится к соединениям в Таблице 4 и на ФИГ. 33.

[0926] Получение соединения **L4d**, **VC-PAВ-6-I**

[0927] {4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-Амино-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-(4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифтор-11-

гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]
икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамат



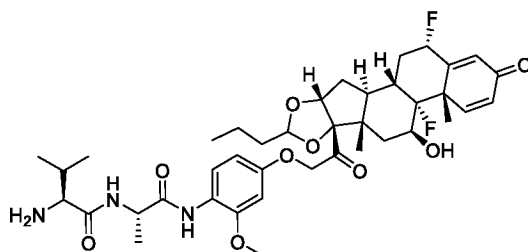
[0928] Следуя **Общей процедуре E**, из соединения **6-I**, (87 мг, 0,15 ммоль) получали соединение **L4d** (80 мг, выход 64%) в виде твердого вещества белого цвета после очистки методом преп-ВЭЖХ (метод Б). Масса/заряд при ЯМР: 963 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO_{d6}) δ 10,22 (s, 1H), 9,57 (s, 1H), 8,69 (d, J = 7,5 Гц, 1H), 8,08 (s, 3H), 7,61 (d, J = 6,8 Гц, 2H), 7,36 (d, J = 6,8 Гц, 3H), 7,27 (d, J = 8,0 Гц, 1H), 7,22-7,0 (m, 1H), 6,84 (d, J = 7,2 Гц, 2H), 6,30 (dd, J = 8,0 Гц, J = 1,6 Гц, 1H), 6,11 (s, 1H), 6,10-6,0 (m, 1H), 5,72-5,55 (m, 1H), 5,52 (s, 1H), 5,48 (s, 1H), 5,16-5,05 (m, 3H), 4,88-4,80 (m, 1H), 4,80-4,76 (m, 1H), 4,75-4,70 (m, 1H), 4,55-4,48 (m, 1H), 4,25-4,20 (m, 1H), 3,70-3,60 (m, 1H), 3,12-2,90 (m, 2H), 2,70-2,55 (m, 1H), 2,40-2,20 (m, 1H), 2,15-2,0 (m, 3H), 1,86-1,75 (m, 1H), 1,75-1,65 (m, 1H), 1,64-1,54 (m, 5H), 1,49 (s, 4H), 1,46-1,34 (m, 4H), 0,97-0,91 (m, 5H), 0,90-0,85 (m, 4H), 0,85-0,80 (m, 3H) чсм.

ПРИМЕР 96

[0929] Данный пример относится к соединениям в Таблице 4 и на ФИГ. 33.

[0930] Получение соединения **L4e**, VA-6-II

[0931] (2S)-2-Амино-N-[(1S)-1-[(4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло
[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]
икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}-2-метоксифенил)карбамоил]
этил]-3-метилбутанамид



[0932] Следуя **Общей процедуре F**, из соединения **6-III** (0,10 г, 0,17 ммоль) получали сырое соединение **L4e** (0,12 г, выход 82% в 2 шага), которое затем использовани для следующего шага без дополнительной очистки. Масса/заряд при ЯМР: 758 (M+H)⁺.

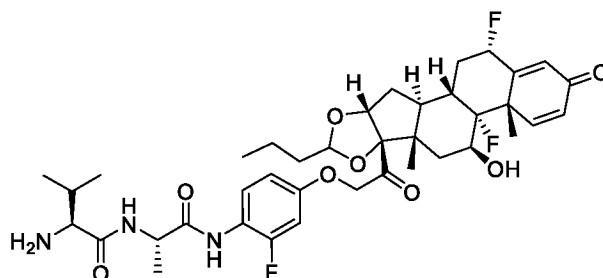
ПРИМЕР 97

[0933] Данный пример относится к соединениям в Таблице 4 и на ФИГ. 33.

[0934] Получение соединения **L4f**, VA-6-III

[0935] (2*S*)-2-Амино-*N*-[(1*S*)-1-[(4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло

[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}-2-фторфенил)карбамоил] этил]-3-метилбутанамид



[0936] Следуя **Общей процедуре F**, из соединения **L4f**, (95 мг, 0,17 ммоль) получали сырое соединение **L4f** (0,10 г, выход 66% в 2 шага), которое затем использовано для следующего шага без дополнительной очистки. Масса/заряд при ЯМР: 746 (M+H)⁺.

ПРИМЕР 98

[0937] Данный пример относится к соединениям в Таблице 4 и на ФИГ. 33.

[0938] Синтез промежуточных полезных нагрузок **L6**.

[0939] Общая процедура: К раствору соединения **L5** (1,2 эквив.) в *N,N*-диметилформамиде (0,2 мл на 10 мг **L5**) добавляли HATU (1,4 эквив.) и DIPEA (3 эквив.) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 минут, после чего добавляли соединение **L4** (1,0 эквив.). Затем реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов до полного расходования соединения **L4** под контролем ЖХМС. После фильтрации через мембрану реакционный раствор напрямую очищали методом преп-ВЭЖХ для получения циклооктина **L6**.

ПРИМЕР 99

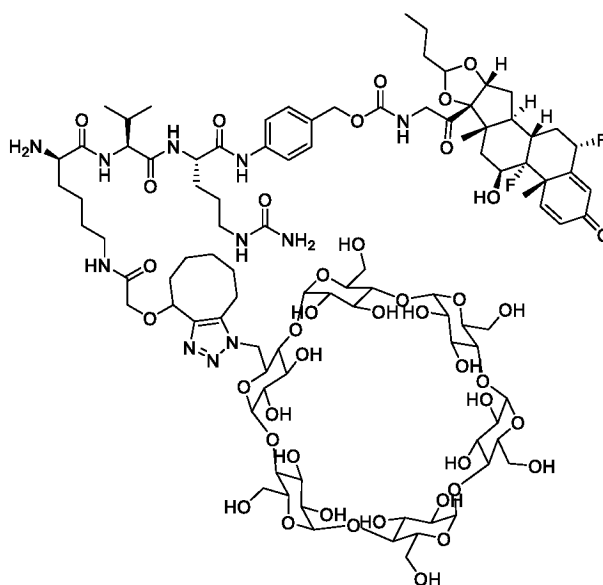
[0940] **Общая процедура H** для получения промежуточных соединений 8.

[0941] К раствору **L6** в *N,N*-диметилформамиде (0,5 мл на 10 мг соединения **L6**) добавляли азидо соединение (**L7a**(CD-N3), **L7b**(N3-PEG4-сульфонат) или **L7c** (N3-2-сульфонат), 1.5 эквив. vs **L6**) и DIPEA (0.1 мл на 10 мг **L6**) при комнатной температуре. После перемешивания при 30°C в течение 24 часов, большая часть исходного вещества была поглощена, и данная реакция проходила под контролем ЖХМС. Реакционную смесь напрямую очищали методом преп-ВЭЖХ, чтобы получить соединение **L8** в виде твердого вещества белого цвета.

ПРИМЕР 100

[0942] Получение соединения L8a, aCDССК-vcPAВ-4b

[0943] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-Амино-6-{2-[(1-{{31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24, 27,29-додекаоксагептацикло[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]дотетракотан-5-ил]метил}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокт[d][1,2,3]триазол-4-ил)окси] ацетиамидо}гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил N-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил}карбамат (L8a)



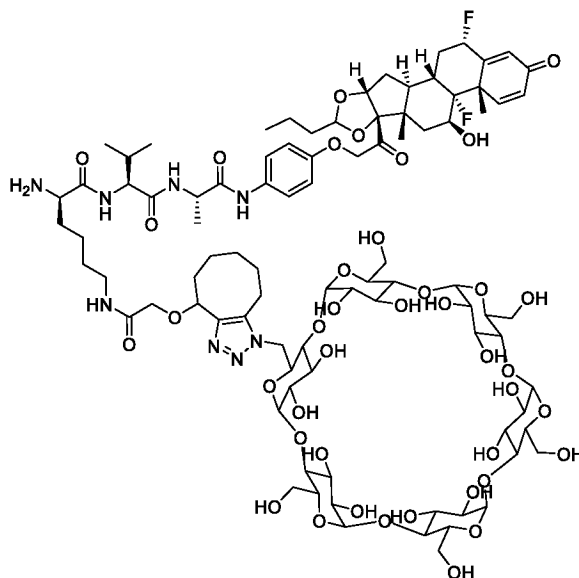
[0944] Следуя **Общей процедуре Н** для получения соединения **L6a** (0,12 г, 0,10 ммоль) с соединением **L7a**, получали соединение **L8a** (0,11 г, выход 51%) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 1081 (M/2+H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO_{д6}) δ 10,05 (s, 1H), 8,30-7,80 (m, 3H), 7,80-7,55 (m, 2H), 7,50-7,40 (m, 1H), 7,40-7,25 (m, 3H), 6,30 (d, J = 12,5 Гц, 1H), 6,11 (s, 1H), 6,0 (s, 1H), 5,80-5,35 (m, 16H), 5,25-5,05 (m, 1H), 4,97 (s, 2H), 4,90-4,50 (m, 13H), 4,50-4,00 (m, 5H), 3,95-3,55 (m, 22H), 3,30-3,20 (m, 8H), 3,20-3,00 (m, 4H), 3,00-2,85 (m, 5H), 2,25-2,20 (m, 2H), 2,10-1,95 (m, 4H), 1,80-1,00 (m, 30H), 1,00-0,90 (m, 4H), 0,90-0,80 (m, 14H) чнм.

ПРИМЕР 101

[0945] Получение соединения L8d, aCDССК-VA-2168

[0946] (2R)-2-Амино-N-[(1S)-1-[(1S)-1-[(4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло

[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил
 этил]карбамоил}-2-метилпропил]-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-
 додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22, 24,27,29-
 додекаоксагептацикло[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]дотетракотан-5-ил]метил}-
 1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[*d*][1,2,3]триазол-4-ил)окси] ацетиамидо}гексанамид
 (L8d)

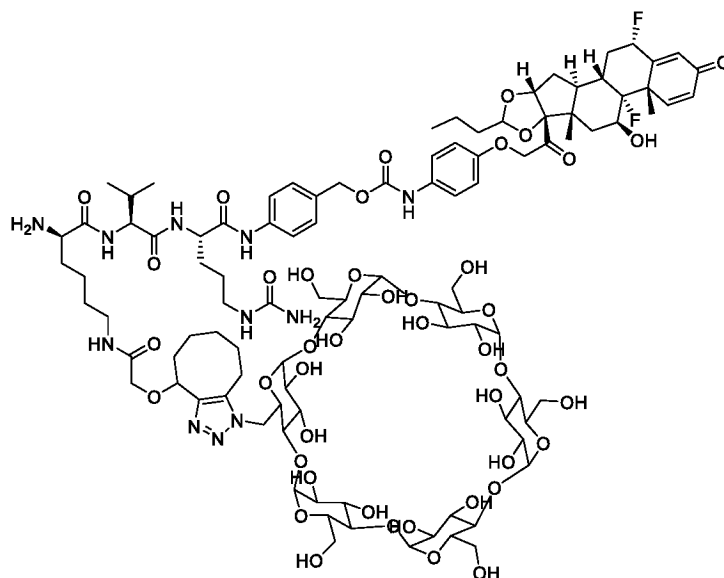


[0947] Следуя **Общей процедуре Н**, из **L6b** (60 мг, 59 мкмоль) с соединением **L7a** получали соединение **L8d** (40 мг, выход 34%) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 1009,5 (M/2+H)⁺.

ПРИМЕР 102

[0948] Получение соединения L8f, аCDССК-vcPAВ-6-I

[0949] {4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*R*)-2-Амино-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-
 додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-
 додекаоксагептацикло[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]дотетракотан-5-ил]метил}-
 1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[*d*][1,2,3]триазол-4-ил)окси]ацетиамидо}гексанамидо]-3-
 метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-(4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,
 9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-
 диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил) карбамат



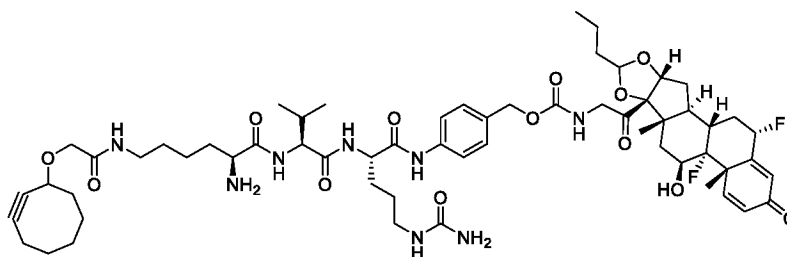
[0950] Следуя **Общей процедуре Н**, из соединения **L6c** (0,10 г, 80 мкмоль) с соединением **L7a** получали соединение **L8f** (0,11 г, выход 58%) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 751 (M/3+H)⁺.

ПРИМЕР 103

[0951] Получение линкеров с полезной нагрузкой **LP101 - LP116**

[0952] Получение соединения LP1: L6a (COT-dLys-vcPAB-4b)

[0953] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-Амино-6-[2-(сислоост-2-ин-1-илокси)ацетиамидо]гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо] фенил}метил *N*-{2-[(1S,2S,4R, 8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}-12⁸-12¹⁸]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил} карбамат

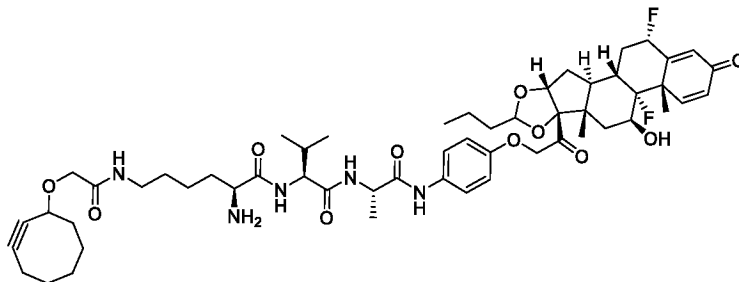


[0954] Следуя **Общей процедуре G** для получения соединения **L4b** (0,20 г, 0,23 ммоль), получали соединение **L6a** (0,12 г, выход 45%) в виде твердого вещества белого цвета после преп--ВЭЖХ (метод Б). Масса/заряд при ЯМР: 1385 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, MeOD_{d4}) δ 7,65-7,55 (m, 2H), 7,40-7,26 (m, 3H), 6,39-6,27 (m, 2H), 5,65-5,45 (m, 1H), 5,13-5,01 (m, 2H), 4,71-4,50 (m, 2H), 4,40-4,14 (m, 4H), 4,11-3,82 (m, 3H), 3,46-3,39 (m, 1H), 3,29-3,09 (m, 4H), 2,76-2,54 (m, 1H), 2,41-2,10 (m, 7H), 2,09-1,99 (m, 1H), 1,96-1,80 (m, 5H), 1,78-1,21 (m, 23H), 1,06-0,82 (m, 12H) чнм.

ПРИМЕР 104

[0955] Получение соединения **LP102: L6b (COT-dLys-VA-6-I)**

[0956] (2*R*)-2-Амино-6-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетиламино]-*N*-[*(1S)*-1-[[*(1S)*-1-[(4-{2-[[*(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)*]-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]этил]карбамоил]-2-метилпропил]гексанамида

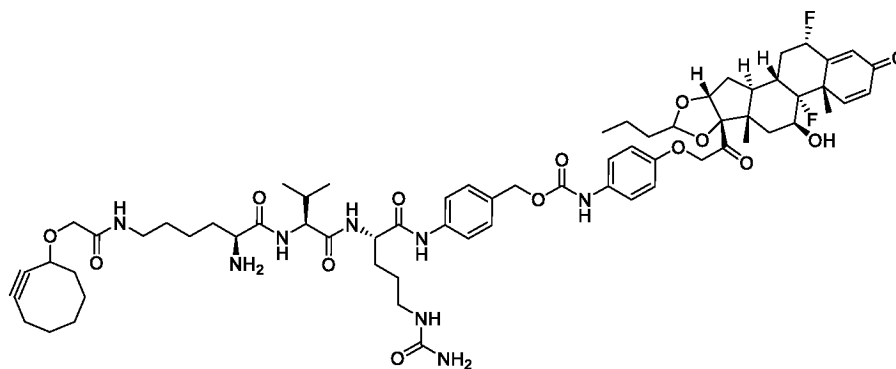


[0957] Следуя **Общей процедуре G** для получения соединения **L4c** (0,20 г, 0,23 ммоль), получали соединение **L6b** (0,21 г, выход 46%) в виде твердого вещества белого цвета после преп-ВЭЖХ (метод Б). Масса/заряд при ЯМР: 1021,5 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, MeOD_{d4}) δ 7,33-7,60 (m, 3H), 6,87-6,91 (m, 2H), 6,32-6,37 (m, 2H), 5,47-5,65 (m, 1H), 5,07-5,30 (m, 1H), 4,72-4,86 (m, 3H), 4,34-4,51 (m, 3H), 3,83-4,20 (m, 3H), 3,33-3,49 (m, 1H), 3,14-3,27 (m, 3H), 2,59-2,75 (m, 1H), 1,31-2,39 (m, 33 H), 0,93-1,05 (m, 12H) чнм.

ПРИМЕР 105

[0958] Получение соединения **LP103: L6c (COT-dLys-vcPAВ-6-I)**

[0959] {4-[[*(2S)*-2-[[*(2S)*-2-[[*(2R)*-2-Амино-6-[2-(циклоокт-2-ин-1-илокси)ацетиламино]-гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил]метил *N*-[4-{2-[[*(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)*]-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамат



[0960] Следуя **Общей процедуре G** для получения соединения **L4d** (0,14 г, 0,15 ммоль), получали соединение **L6c** (0,10 г, 57% выход) в виде твердого вещества белого цвета после

преп-ВЭЖХ (метод Б). Масса/заряд при ЯМР: 1255,5 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, MeOD_{d4}) δ 7,61 (d, J = 8,4 Гц, 1H), 7,32-7,39 (m, 4H), 6,84-6,88 (m, 2H), 6,31-6,36 (m, 2H), 5,43-5,63 (m, 1H), 5,05-5,16 (m, 3H), 4,71-4,83 (m, 1H), 4,50-4,54 (m, 1H), 4,18-4,33 (m, 3H), 3,00-2,85 (m, 2H), 3,40-3,51 (m, 1H), 3,00-3,29 (m, 6H), 1,31-2,35 (m, 34H), 1,29 (t, J=7,2 Гц, 2H), 0,93-1,02 (m, 12H) чнм.

ПРИМЕР 106

[0961] Общая процедура I для полезных нагрузок LP104 - LP116:

[0962] К раствору PEG₄-кислота **L9** (1,2-1,3 эквив.) в N,N-диметилформамиде (1 мл на 10 мг **L9**) добавляли HATU (1,3 эквив.) и DIPEA (5,0 эквив.) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре (19°C) в течение получаса, после чего добавляли раствор соединения **L4** или **L8** (1,0 эквив.) в N,N-диметилформамиде (0,6 мг на 10 мг **L4** или **L8**). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре еще в течение 2 часов до израсходования соединения **L4** или **L8** под контролем ЖХМС. После фильтрования через мембрану фильтрат напрямую очищали методом преп-ВЭЖХ для получения соединения **L1**. (**L9a**: BCN-PEG₄-кислота, **L9b**: DIBAC-PEG₄-кислота, **L9c**: MAL-PEG₄-кислота)

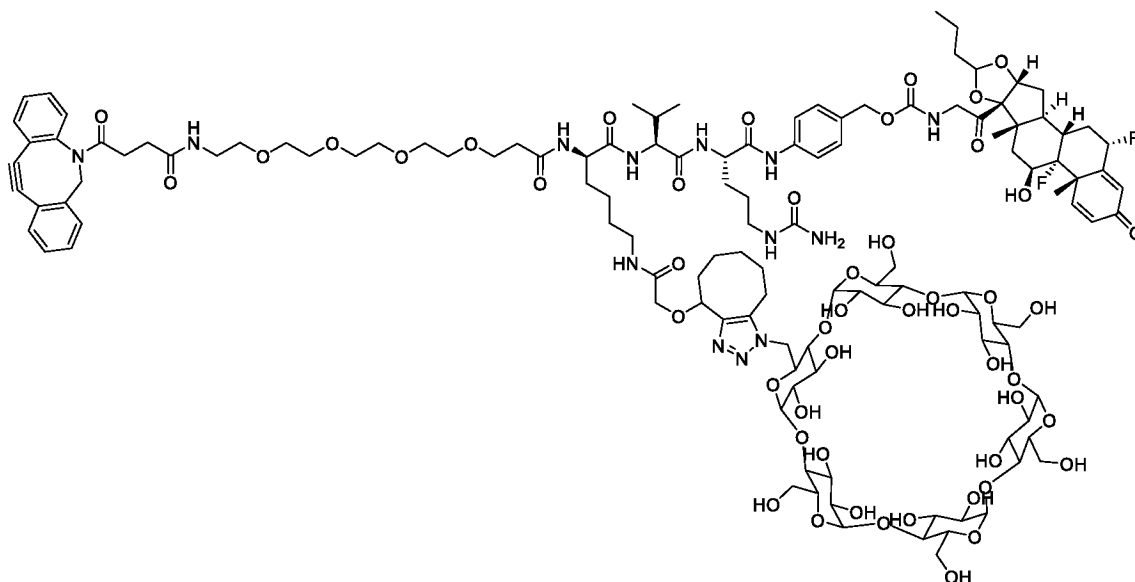
[0963] Общая процедура J для полезных нагрузок LP104 - LP116

[0964] К раствору соединения **L4** или **L8** (1,0 экв.) в ДМФА (1 мл на 50 мг) добавляли соединение DIBAC-PEG₄-NHS **L10b** (1,1-1,2 экв.) и DIPEA (5,0 экв.) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов под контролем ЖХМС. Реакционную смесь напрямую очищали препаративной ВЭЖХ (метод В), получая соединение **L1**.

ПРИМЕР 107

[0965] Получение соединения **LP104: L11a (DIBAC-PEG4-aCDCCK-vcPAВ-4b**

[0966] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-[1-(4-{2-Азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9), 5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-додекаоксагептацикло [26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]дотетракотан-5-ил]метил}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-4-ил)окси]ацетамидо}гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил N-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S) - 12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло [10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил}карбамат

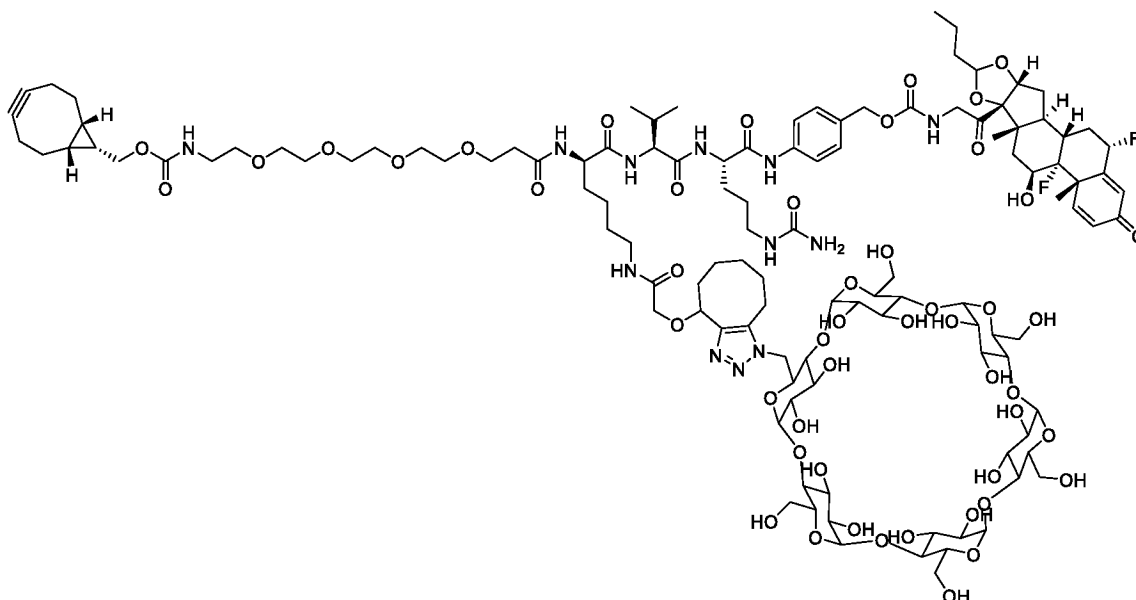


[0967] Следуя **Общей процедуре I**, из соединения **L8a** (0,10 г, 46 мкмоль) с соединением **L9b** получали соединение **L1a** (26 мг, выход 22%) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 1349 (M/2+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 9,71 (s, 1H), 8,30-8,00 (m, 3H), 8,00-7,74 (m, 2H), 7,70-7,58 (m, 5H), 7,52-7,20 (m, 12H), 6,35-6,20 (m, 2H), 6,15-5,85 (m, 3H), 5,80-5,35 (m, 18H), 5,25-4,90 (m, 6H), 4,90-4,50 (m, 14H), 4,40-4,25 (m, 4H), 4,25-4,10 (m, 3H), 4,10-3,95 (m, 2H), 3,95-3,55 (m, 22H), 3,55-3,40 (m, 22H), 3,20-3,00 (m, 6H), 3,00-2,85 (m, 3H), 2,65-2,55 (m, 1H), 2,25-2,20 (m, 4H), 2,10-1,95 (m, 6H), 1,80-1,70 (m, 5H), 1,70-1,50 (m, 10H), 1,50-1,45 (m, 9H), 0,90-0,80 (m, 14H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: > 99%, время выдержки: 6,23 минуты (метод Б).

ПРИМЕР 108

[0968] Получение соединения **LP105: L11b (BCN-PEG4-aCDCCK-vcPAВ-4b**

[0969] (1R,8S,9S)-Бицикло[6.1.0]нон-4-ин-9-илметил N-(14-{{{(1R)-1-{{{(1S)-1-{{{(1S)-4-(карбамоиламино)-1-[(4-{{{(2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]} икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил}карбамоил)окси]метил}фенил)карбамоил} бутил]карбамоил}-2-метилпропил]карбамоил}-5-{2-[(1-{{31,32,33,34,35,36,37,38,39, 40,41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-додекаоксагептацикло[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]} дотетракотан-5-ил]метил}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-циклоокта[d][1,2,3]триазол-4-ил)окси]ацетамидо} пентил]карбамоил}-3,6,9,12-тетраоксатетрадекан-1-ил)карбамат

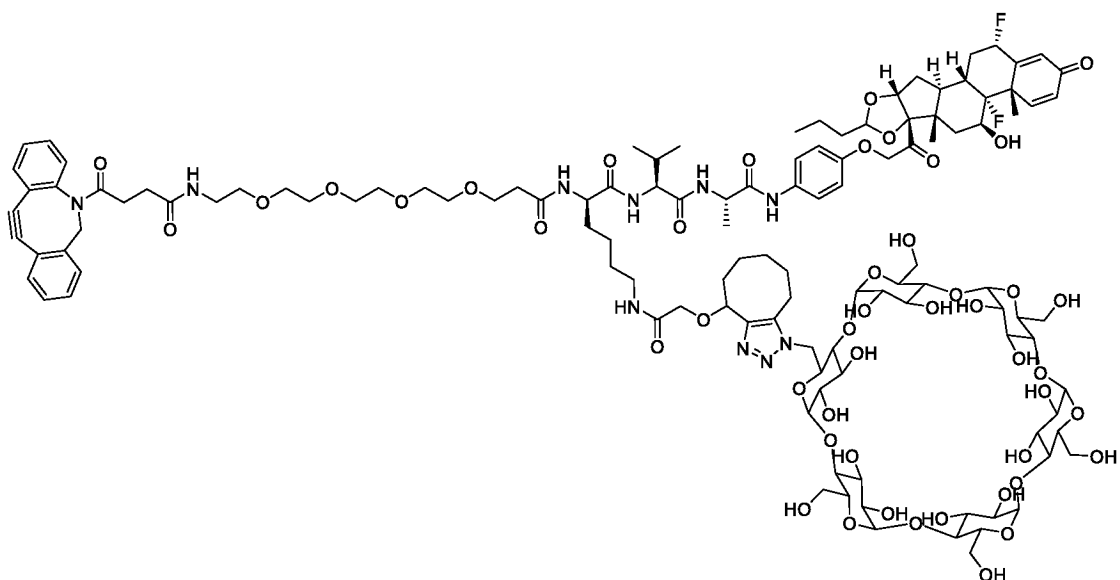


[0970] Следуя **Общей процедуре I**, из соединения **L8a** (22 мг, 10 мкмоль) с **BCN-PEG₄-кислотой L9a** получали соединение **L1b** (10 мг, выход 38%) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 1293 (M/2+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ 9,68 (s, 1H), 8,14-7,08 (m, 11H), 6,30 (d, *J* = 10,0 Гц, 1H), 6,11 (s, 1H), 5,99 (s, 1H), 5,67-5,31 (m, 15H), 5,21-3,33 (m, 61H), 3,13-2,60 (m, 22H), 2,30-1,96 (m, 46H), 0,95-0,80 (m, 17H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: время выдержки: 7,31 минут (48%) и 7,41 (52%) (метод Б).

ПРИМЕР 109

[0971] Получение соединения **LP108: L11e (DIBAC-PEG₄-aCDCCK-VA-6-I**

[0972] 1-(4-{2-Азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-*N*-[(1*R*)-1-{(1*S*)-1-{(1*S*)-1-[(4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*, 13*S*,19*S*)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]этил]карбамоил]-2-метилпропил]карбамоил]-5-{2-[(1-[[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42]-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-додекаоксагептацикло[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]дотетракотан-5-ил]метил]-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[*d*][1,2,3]триазол-4-ил)окси]ацетамидо}пентил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид

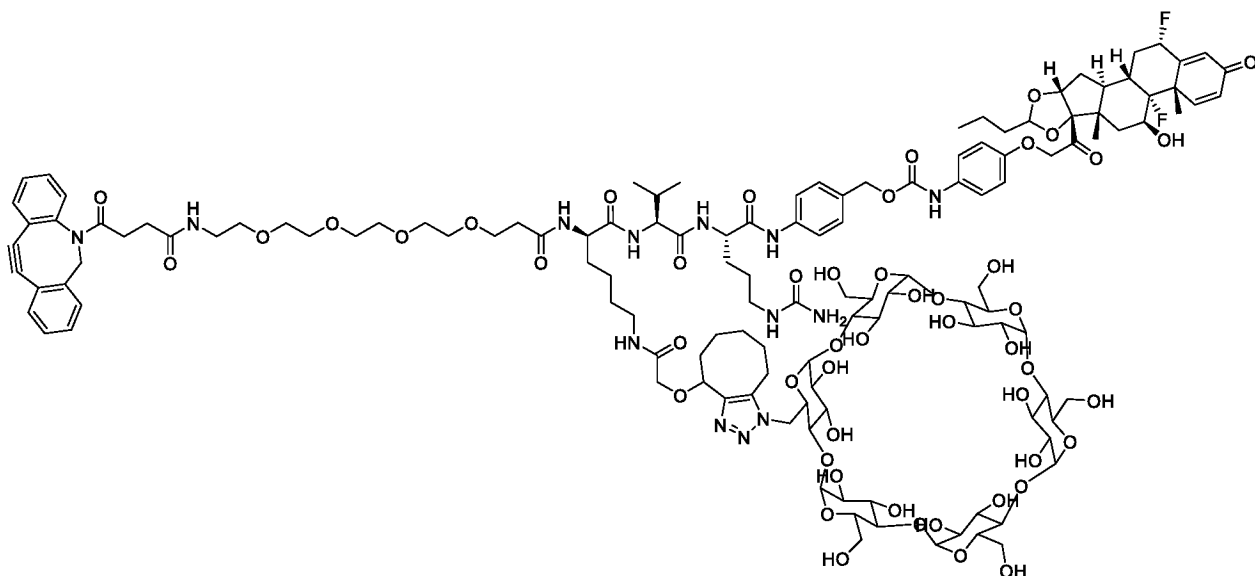


[0973] Следуя **Общей процедуре J**, из соединения **L8d** (19 мг, 9,4 мкмоль) с DIBAC-PEG₄-NHS **L10b** получали соединение **L1e** (7,0 мг, выход 29%) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 1276,8 (M/2+H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ 9,80-9,47 (m, 1H), 8,23-7,91 (m, 3H), 7,83-7,11 (m, 13H), 6,87-6,66 (m, 2H), 6,32-6,11 (m, 2H), 5,85-5,23 (m, 14H), 5,14-5,01 (m, 3H), 4,86-3,99 (m, 19H), 3,85-3,40 (m, 38H), 3,27-2,87 (m, 13H), 2,76-2,55 (m, 3H), 2,33-2,20 (m, 4H), 2,12-1,91 (m, 6H), 1,83-1,72 (m, 4H), 1,59-0,98 (m, 31H), 0,89-0,84 (m, 12H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 100%, время выдержки: 7.76 минут (метод Б).

ПРИМЕР 110

[0974] Получение соединения **LP110: L11g (DIBAC-PEG4-aCDCCK-vcPAV-6-I**

[0975] {4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[(2*R*)-2-[1-(4-{2-Азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-додекагидрокси-10,15,20,25,30-пентакис(гидроксиметил)-2,4,7,9,12,14,17,19,22, 24,27,29-додекаоксагептацикло[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]дотетракотан-5-ил]метил}-1*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*,8*H*,9*H*-циклоокта[d][1,2,3]триазол-4-ил)окси]ацетамидо} гексанамидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-(4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамат

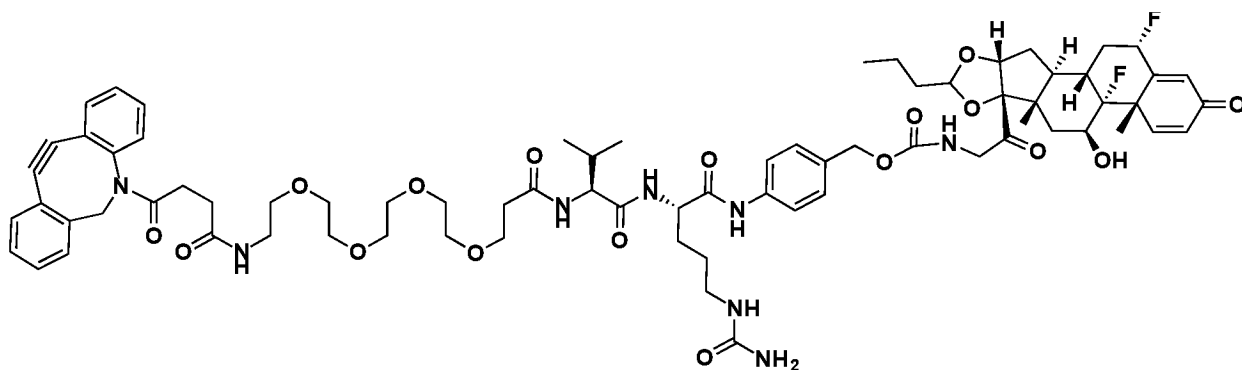


[0976] Следуя **Общей процедуре I**, из соединения **L8d** (0,10 г, 44 мкмоль) с DIBAC-PEG₄-acid **L9b** получали соединение **L1g** (29 мг, выход 24%) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 1394 (M/2+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO_{dd}) δ 9,67 (s, 1H), 9,56 (s, 1H), 8,20-8,05 (m, 2H), 7,85-7,70 (m, 2H), 7,70-7,60 (m, 4H), 7,50-7,25 (m, 12H), 6,90-6,80 (m, 2H), 6,30 (d, *J* = 12,5 Гц, 1H), 6,11 (s, 1H), 6,0 (s, 1H), 5,80-5,35 (m, 16H), 5,25-5,00 (m, 6H), 4,90-4,65 (m, 10H), 4,65-4,45 (m, 4H), 4,40-4,00 (m, 6H), 3,95-3,55 (m, 22H), 3,50-3,30 (m, 22H), 3,20-2,85 (m, 12H), 2,65-2,55 (m, 2H), 2,45-2,35 (m, 2H), 2,35-2,20 (m, 3H), 2,15-1,95 (m, 5H), 1,90-1,70 (m, 4H), 1,70-1,50 (m, 10H), 1,50-1,00 (m, 18H), 0,90-0,80 (m, 12H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ, время выдержки: 7,93 (82%) и 8,02 (18%) минут (метод Б).

ПРИМЕР 111

[0977] Получение соединения **LP112: (DIBAC-PEG₄-aCDCCK-vcPAB-4b**

[0978] {4-[(2*S*)-2-[(2*S*)-2-[1-(4-{2-Азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил *N*-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*R*,13*S*,19*S*)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтил}карбамат

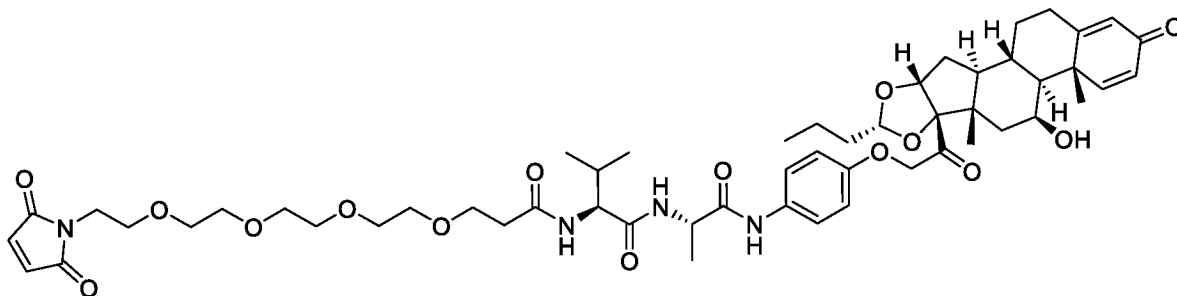


[0979] Следуя **Общей процедуре J**, из соединения **L4b** (43 мг, 50 мкмоль) с DIBAC-suc-PEG₄-кислотой (**L9b**), получали титульное соединение **L12** (16 мг, выход 23%) в виде твердого вещества белого цвета после очищения методом преп-ВЭЖХ (метод В). Масса/заряд при ЯМР: 1406 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (DMSO_{d6}, 500 МГц) δ 9,99 (s, 1H), 8,11 (d, J = 7,5 Гц, 1H), 7,88 (d, J = 8,5 Гц, 1H), 7,80-7,75 (m, 1H), 7,70-7,66 (m, 1H), 7,65-7,60 (m, 3H), 7,53-7,33 (m, 6H), 7,33-7,28 (m, 3H), 6,30 (dd, J = 10,0 Гц и 1,5 Гц, 1H), 6,11 (s, 1H), 6,10-6,00 (m, 1H), 5,72-5,55 (m, 2H), 5,41 (s, 2H), 5,05-5,01 (m, 1H), 4,97 (s, 2H), 4,80-4,72 (m, 1H), 4,60-4,58 (m, 1H), 4,43-4,33 (m, 1H), 4,25-4,10 (m, 3H), 3,88-3,80 (m, 1H), 3,65-3,55 (m, 3H), 3,50-3,40 (m, 12H), 3,30-3,25 (m, 2H), 3,12-2,90 (m, 4H), 2,70-2,55 (m, 2H), 2,48-2,35 (m, 2H), 2,30-2,20 (m, 2H), 2,15-1,95 (m, 4H), 1,86-1,65 (m, 3H), 1,64-1,54 (m, 5H), 1,49 (s, 4H), 1,46-1,34 (m, 5H), 0,90-0,80 (m, 12H) чнм.
Анал. ВЭЖХ: 100%, время выдержки: 7.40 минут (метод Б).

ПРИМЕР 112

[0980] Получение соединения **LP113: MAL-PEG4-VA-R-11-5**

[0981] 1-(2,5-Диоксо-2,5-dihydro-1*H*-пиррол-1-ил)-*N*-[(1*S*)-1-{(1*S*)-1-[(4-{2-[(1*S*,2*S*,4*R*,6*R*,8*S*,9*S*,11*S*,12*S*,13*R*)-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамоил]этил]карбамоил]-2-метилпропил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид



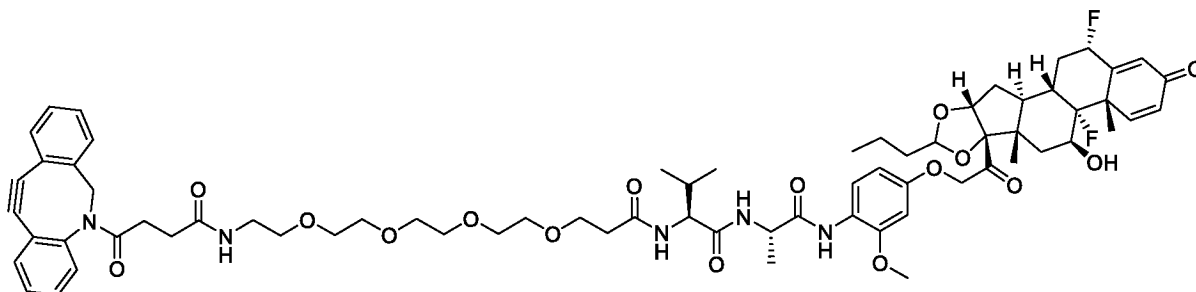
[0982] Следуя **Общей процедуре J**, из соединения **L4a** (20 мг, 25 мкмоль) с MAL-PEG₄-NHS **L10c** получали соединение **LP113** (7 мг, выход 27%) в виде твердого вещества белого цвета.

Масса/заряд при ЯМР: 1119 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO_{d6}) δ 9,89-9,60 (m, 1H), 8,51-6,73 (m, 10H), 6,18 (dd, J = 10,1, 1,7 Гц, 1H), 5,93 (s, 1H), 5,17-4,05 (m, 9H), 4,02-3,52 (m, 13H), 2,71-2,54 (m, 1H), 2,46-2,20 (m, 5H), 2,15-1,77 (m, 5H), 1,63-1,53 (m, 5H), 1,47-1,20 (m, 9H), 1,10-0,94 (m, 2H), 0,95-0,65 (m, 12H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 100%, время выдержки: 7,46 минут (метод Б).

ПРИМЕР 113

[0983] Получение соединения LP114: L11j (DIBAC-PEG4-VA-6-II)

[0984] 1-(4-{2-Азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(16),4(9),5,7,12,14-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-N-[(1S)-1-[(1S)-1-[(4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло [10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}-2-метоксифенил)карбамоил] этил]карбамоил]-2-метилпропил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид



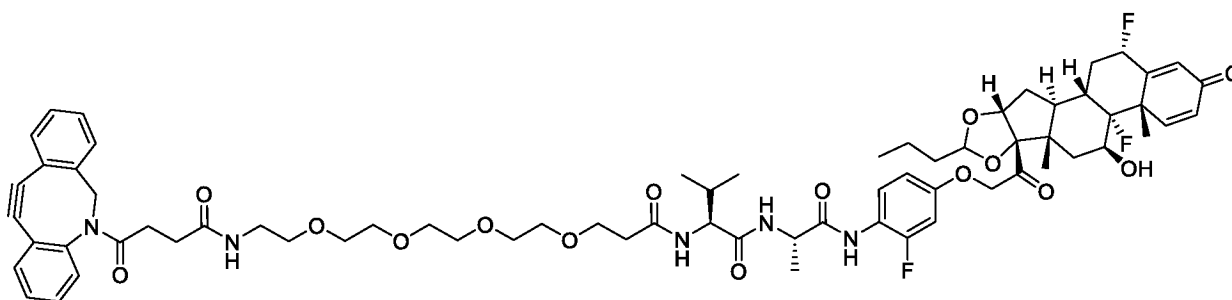
[0985] Следуя **Общей процедуре I**, из соединения L4e (40 мг, 47 мкмоль) с DIBAC-suc-PEG₄-кислотой L9b полчали соединение L1j (25 мг, выход 41%) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 1293 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO_{d6}) δ 8,98-8,86 (m, 1H), 8,37-8,30 (m, 1H), 7,94-7,88 (m, 1H), 7,87-7,72 (m, 2H), 7,70-7,57 (m, 2H), 7,52-7,42 (m, 3H), 7,41-7,22 (m, 4H), 6,65-6,59 (m, 1H), 6,44-6,34 (m, 1H), 6,33-6,27 (m, 1H), 6,12 (s, 1H), 5,77-5,49 (m, 2H), 5,18-5,11 (m, 1H), 5,07-4,98 (m, 1H), 4,91-4,70 (m, 3H), 4,54-4,43 (m, 1H), 4,29-4,16 (m, 2H), 3,79 (s, 3H), 3,65-3,53 (m, 3H), 3,51-3,38 (m, 12H), 3,30-3,22 (m, 2H), 3,13-3,03 (m, 2H), 2,72-2,54 (m, 2H), 2,47-2,18 (m, 4H), 2,13-1,91 (m, 4H), 1,85-1,72 (m, 2H), 1,64-1,55 (m, 3H), 1,52-1,33 (m, 6H), 1,31-1,23 (m, 3H), 0,99-0,77 (m, 13H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 99%, время выдержки: 9,18 и 9,22 минут (метод Б).

ПРИМЕР 114

[0986] Получение соединения LP115: L11k-(DIBAC-PEG4-VA-6-III)

[0987] 1-(4-{2-Азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-N-[(1S)-1-[(1S)-1-[(4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло

[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}-2-фторфенил)карбамоил] этил]карбамоил]-2-метилпропил]-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амид

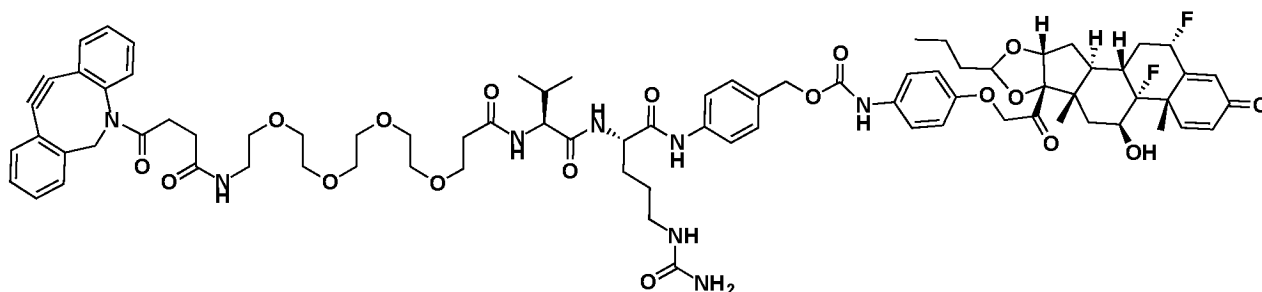


[0988] Следуя **Общей процедуре I**, из соединения **L4f** (82 мг, 0,11 ммоль) с DIBAC-suc-PEG₄-кислотой **L9b** получали соединение **L1k** (50 мг, 35% выход) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 1280 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO_{d6}) δ 9,54 (s, 1H), 8,41-8,15 (m, 1H), 8,01-7,17 (m, 12H), 6,90 (d, J = 10,8 Гц, 1H), 6,73 (s, 1H), 6,31 (d, J = 9,9 Гц, 1H), 6,12 (s, 1H), 5,77-5,46 (m, 2H), 5,28-4,65 (m, 5H), 4,58-4,42 (m, 1H), 4,29-4,11 (m, 2H), 3,71-3,43 (m, 15H), 3,29 (s, 2H), 3,08 (s, 2H), 2,71-2,54 (m, 2H), 2,47-2,17 (m, 4H), 2,16-1,88 (m, 4H), 1,88-1,69 (m, 2H), 1,69-1,19 (m, 13H), 0,95-0,80 (m, 12H) чнм. ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO) δ -121,11 и -121,92, -165,13 и -165,14, -186,38 и -186,40 чнм. *Анал.* ВЭЖХ: >99%, время выдержки: 8,32 минут (метод Б).

ПРИМЕР 115

[0989] Получение соединения **LP116: L11k-(DIBAC-PEG4-VC-PAV-4b)**

[0990] {4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-Азатрицикло[10.4.0.0^{4,9}]гексадека-1(12),4(9),5,7,13,15-гексаен-10-ин-2-ил}-4-оксобутанамидо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амидо]-3-метилбутанамидо]-5-(карбамоиламино)пентанамидо]фенил}метил N-(4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-дифтор-11-гидрокси-9,13-диметил-16-оксо-6-пропил-5,7-диоксапентацикло[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]икоса-14,17-диен-8-ил]-2-оксоэтокси}фенил)карбамат



[0991] Следуя **Общей процедуре I**, из соединения **L4k** (58 мг, 60 мкмоль) с DIBAC-suc-PEG₄-кислотой **L9b** получали титульное соединение **L1v** (20 мг, выход 22%) в виде твердого вещества белого цвета. Масса/заряд при ЯМР: 1499 (M+H)⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO_{d6}) δ 10,02 (s, 1H),

9,59 (s, 1H), 8,14 (d, $J = 7,6$ Гц, 1H), 7,88 (d, $J = 8,8$ Гц, 1H), 7,80-7,75 (m, 1H), 7,70-7,66 (m, 1H), 7,65-7,60 (m, 3H), 7,53-7,45 (m, 3H), 7,40-7,28 (m, 7H), 6,84 (d, $J = 9,2$ Гц, 2H), 6,30 (dd, $J = 10,4$ Гц, $J = 1,6$ Гц, 1H), 6,11 (s, 1H), 6,10-6,0 (m, 1H), 5,72-5,55 (m, 1H), 5,52 (s, 1H), 5,43 (s, 2H), 5,16-5,05 (m, 4H), 4,88-4,70 (m, 3H), 4,43-4,33 (m, 1H), 4,25-4,20 (m, 2H), 3,65-3,55 (m, 3H), 3,50-3,40 (m, 12H), 3,30-3,25 (m, 2H), 3,12-2,90 (m, 4H), 2,70-2,55 (m, 2H), 2,48-2,43 (m, 1H), 2,40-2,35 (m, 1H), 2,30-2,20 (m, 2H), 2,15-1,95 (m, 4H), 1,86-1,75 (m, 2H), 1,64-1,54 (m, 5H), 1,49 (s, 4H), 1,46-1,34 (m, 4H), 1,23 (s, 2H), 0,90-0,80 (m, 12H) чнм. *Анал.* ВЭЖХ: 100%, время выдержки: 7,83 минут (метод Б).

ПРИМЕР 116

[0992] Конъюгация конъюгатов АЛС

[0993] Конъюгация стероид антитело конъюгатов обозначена на ФИГ.33. В одном примере сайт-специфические конъюгаты получали с помощью опосредованного микробной трансглутаминазой (MTG ЕС 2.3.2.13, Zedira, Дармштадт, Германия) (здесь и далее «опосредованный МТГ») двухэтапного конъюгирования мутированного антитела N297Q или N297D. На первом этапе мутированное антитело было функционализировано азидо-PEG₃-амином посредством ферментативной реакции, опосредованной МТГ. См., например, международную патентную заявку РСТ № РСТ/US17/19537, поданную 24 февраля 2017 г., включенную в настоящий документ посредством ссылки во всей своей полноте для всех целей. На втором этапе к азидо-функционализированному антителу был присоединен функционализированный по алкину линкер с полезной нагрузкой с помощью реакции [2+3] 1,3-диполярного циклоприсоединения (на ФИГ. 33 показан функционализированный по DIBAC линкер с полезной нагрузкой (LP112), конъюгированный с азидо-функционализированным антителом, полученным циклизацией [2+3]. Этот процесс обеспечил получение сайт-специфических и стехиометрических конъюгатов с практическим выходом примерно 50–80%.

[0994] Получение конъюгата стероид-антитело на ФИГ. 33

[0995] Данный пример в целом демонстрирует метод сайт-специфичной конъюгации полезной нагрузки к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту. Данный пример относится к ФИГ. 33.

[0996] В следующем примере демонстрируется метод получения азидо-функционализированного конъюгата антитело - лекарственное средство, приведенного в Таблице 16.

[0997] Агликозилированное антитело с изотипом человека класса IgG1 в ВирН_{ТМ} (рН 7,6-7,8) смешивали с ≥ 200 молярных эквивалентов азидо-dPEG₃-амина (молекулярная масса 218,26

г/моль). Получившийся раствор смешивали с трансглутаминазой (25 ед./мл; 5 ед. МТГ на 1 мг антитела), что дало конечную концентрацию антитела 0,5–3 мг/мл, затем раствор инкубировали при 37°C в течение 4–24 ч при осторожном встряхивании. Реакцию контролировали с помощью ИЭР-МС. После завершения реакции избыток амина и МТГ удаляли с помощью эксклюзионной хроматографии для получения азидо-функционализированного антитела. Этот продукт характеризовался с помощью ДНС-ПААГ и ИЭР-МС. Азидо-dPEG₃-амин, добавленный к двум сайтам –Q295 и Q297- антитела, приводит к увеличению на 804 Да для конъюгата 4DAR агликозилированное антитело- PEG₃-азид. Сайты конъюгации идентифицировали и подтверждали на EEQ^{Linker}YQ^{Linker}STYR для азидо-функционализированного антитела 4DAR посредством картирования пептидной последовательности тяжелых цепей, расщепленных трипсином.

[0998] Следующий пример демонстрирует метод создания сайт-специфических конъюгаций антитело - лекарственные средства с использованием химических клик-реакций.

[0999] Конъюгаты сайт-специфических агликозилированных антител с IgG1 человека, содержащих мутацию N297Q в Таблице 16, описанную ниже, получали клик-реакцией [2+3] между азидо-функционализированными антителами с алкинсодержащим линкером с полезной нагрузкой. Как показано в Таблице 16, антитела анти-PRLR-PEG₃-N₃ конъюгировали с полезными нагрузками **LP112**, **LP104** и **LP116**; антитела анти-Fel D Ab-PEG₃-N₃ конъюгировали с полезными нагрузками **LP112** и **LP116**.

[1000] Подробная процедура конъюгации приведена ниже. Конъюгат сайт-специфических антител с **линкером с полезной нагрузкой (LP)** получали путем инкубации **mAb-PEG₃-N₃** (1–3 мг/мл) в водной среде (например, PBS, PBS с содержанием 5% глицерина, ГЭПЭС) с ≥ 6 молярными эквивалентами **линкера с полезной нагрузкой**, растворенного в подходящем органическом растворителе, таком как диметилсульфоксид, N,N-диметилформамид или ДМА (то есть реакционная смесь содержит 5-20% органического растворителя, об/об) при температуре от 24 до 37°C в течение более 6 часов. Ход реакции контролировали с помощью ИЭР-МС, отсутствие **mAb-PEG₃-N₃** свидетельствовало о завершении конъюгации. Избыточное количество **линкера с полезной нагрузкой** и органического растворителя удаляли с помощью эксклюзионной хроматографии путем элюирования с помощью PBS или с помощью колоночной хроматографии на протеине А с элюированием кислотным буфером с последующей нейтрализацией с помощью гидроксиметиламинометана (рН 8,0). Очищенные конъюгаты анализировали с помощью эксклюзионной хроматографии, ДС-ПААГ и ИЭР – МС. В Таблице 16 приведен список конъюгатов стероид- антитело из соответствующих полезных нагрузок, их молекулярные массы и значения ИЭР – DAR.

[01001] В конкретном примере азидо-функционализированное антитело (1 мг) в 0,800 мл PBSg (PBS, 5% глицерин, pH 7,4) обрабатывали шестьюмолярными эквивалентами DIBAC-PEG₄-D-Lys (COT- α -CD)-VC-PAVC-полезная нагрузка (концентрация 10 мг/мл в диметилсульфоксиде) в течение 6 -12 часов при комнатной температуре, избыточный линкер с полезной нагрузкой (LP) удаляли с помощью эксклюзионной хроматографии (SEC, Superdex 200 HR, GE Healthcare). Конечный продукт концентрировали ультрацентрифугированием и характеризовали методами УФ, эксклюзионной хроматографии, ДНС-ПААГ и ИЭР-МС.

ПРИМЕР 117

[1002] Характеризация конъюгата АЛС методом ЖХ-ИЭР-МС

[1003] Измерение интактной массы образцов конъюгата ADC методом ЖХ-ИЭР-МС проводили для определения профиля распределения лекарственного средства и для расчета среднего DAR интактных форм конъюгата АЛС. Каждый тестируемый образец (20-50 нг, 5 мкл) загружали в колонку Acquity UPLC Protein ВЕН С4 (10 кПа, 300 Å, 1,7 мкм, 75 мкм × 100 мм; номер по каталогу 186003810). Через 3 минуты обессоливания белок элюировали и получали масс-спектры с помощью масс-спектрометра Waters Synapt G2-Si (Waters).

[1004] Как показано на следующем ФИГ. 34, деконволютированные масс-спектры демонстрировали преобладающий пик для аликозилированного антитела к рецептору анти-пролактина с молекулярной массой 144602 Да и преобладающий пик для азидо-функционализированного антитела к рецептору анти-пролактина с молекулярной массой 145385 Да, что указывает на увеличение на 783 Да по сравнению с его агликозилированным родительским антителом (т.е. соответствие 4 конъюгациям аминокислот-амино-PEG₃-азид с каждым агликозилированным антителом). Кроме того, преобладающий пик для конъюгата **анти-PRLR-LP12** имел молекулярную массу 151015 Да, что указывает на увеличение на 5630 Да по сравнению с его азидо-функционализированным антителом (т.е. соответствие 4 конъюгациям LP (молекулярная масса = 1405,6 Да с каждым агликозилированным антителом)). Аналогично, другие сайт-специфические конъюгаты анти-PRLR-ADC имели 3,9-4AR.

[1005] Как показано на следующем ФИГ. 35, деконволютированные масс-спектры демонстрируют преобладающий пик для аликозилированного антитела к Fel D1 с молекулярной массой 145441 Да и преобладающий пик для азидо-функционализированного антитела к Fel d1 с молекулярной массой 146235 Да, что указывает на увеличение на 794 Да по сравнению с его агликозилированным родительским антителом (т.е. соответствие 4 конъюгациям аминокислот-амино-PEG₃-азид с каждым агликозилированным антителом). Кроме того, преобладающий пик для конъюгата **анти-Fel d1-LP12** имел молекулярную массу 151871,0 Да, что указывает на

увеличение на 5635 Да по сравнению с его азидо-функционализированным антителом (т.е. соответствие 4 конъюгациям LP (молекулярная масса = 1405,6 Да для каждого агликозилированного антитела). Аналогично, другие сайт-специфические конъюгаты анти-Fc γ 1-ADC имели 3,9-4AR.

[1006] В Таблице 16 представлен список нецитотоксических конъюгатов стероидных антител (ncADC) из соответствующих полезных нагрузок, их молекулярная масса незащищенных антител, азидо-функционализированных антител, полезных нагрузок и стероидных конъюгатов АЛС, а также значения ИЭР-DAR. В Таблице Ab относится к антителу, Ab – N₃ относится к азидо-функционализированному антителу, ncADC относится к нецитотоксическому конъюгату стероид-антитело.

ПРИМЕР 118

[1007] Ферментный анализ *in vitro*

[1008] Расщепление полезной нагрузки в анализе с применением Катепсина В

[1009] Линкер с полезной нагрузкой тестировали в анализе с Катепсином В. После 4-часового инкубирования в Катепсине В (CatB) с ингибитором CatB (VA074) и без такового оценивали линкер с полезной нагрузкой и полезную нагрузку с помощью ЖХ-МС/МС. Результаты показали, что гидрофильные линкеры с полезной нагрузкой (LP104) могут расщепляться CatB и высвобождают больше полезной нагрузки (4b) по сравнению с не гидрофильными линкерами с полезной нагрузкой (LP12).

[1010] Ниже представлена процедура анализа с применением CatB: исходный раствор линкера (10 ммоль в диметилсульфодиоксиде) добавляли в инкубационный буфер (100 ммоль NaOAc, 10 ммоль дитиотреитола, pH 5) для получения 50 мкмоль раствора субстрата. 4 мкл 0,47 мкг/мкл Катепсина В печени человека (Athens Research & Technology, Athens, GA) в 50 ммоль NaOAc, 1 ммоль ЭДТА, pH 5, добавляли в 196 мкл 50 мкмоль раствора субстрата. Реакционную смесь инкубировали при 37°C в течение 4 часов. Затем 5 мкл уксусной кислоты и 150 мкл ацетонитрила (содержащего осалмид в качестве внутреннего стандарта) добавляли к 50 мкл аликвот реакционной смеси. После встряхивания закаленные образцы замораживали в морозильной камере при -70°C с последующим оттаиванием и центрифугированием при 14000 об./мин. Затем аликвоты по 50 мкл полученных супернатантов разбавляли равным объемом воды и анализировали с помощью ЖХ-ИЭР-МС/МС на предмет высвобожденной полезной нагрузки.

ТАБЛИЦА 17. РЕЗУЛЬТАТЫ РАСЩЕПЛЕНИЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ КАТЕПСИНА В

Соединение	Полезная нагрузка	Линкер			С применением СА074/ без применения СА074		Коэф. преобразования (%)
		Расщепленный фрагмент	Гидрофильный линкер	Конъюгированный фрагмент			
LP101	4b	vcPAB	/	Lk-ССК	Без применения	Mean	48,20
						RSD	
					С применением	Mean	<1,00
						RSD	
LP112	4b	vcPAB	/	Lk-DIBAC	Без применения	Mean	20,8
						RSD	
					С применением	Mean	<1,00
						RSD	
LP104	4b	vcPAB	aCDCCK	Lk-DIBAC	Без применения	Mean	29,0
						RSD	
					С применением	Mean	<1,00
						RSD	
LP102	6-I	Val-Ala	/	Lk-ССК	Без применения	Mean	22,72
						RSD	
					С применением	Mean	<1,00
						RSD	
LP108	6-I	Val-Ala	aCDCCK	Lk-DIBAC	Без применения	Mean	
						RSD	
					С применением	Mean	
						RSD	
LP116	6-I	vcPAB	/	Lk-DIBAC	Без применения	Mean	
						RSD	
					С применением	Mean	<1,00
						RSD	
LP103	6-I	vcPAB	/	Lk-ССК	Без применения	Mean	29,0
						RSD	
					С применением	Mean	<1,00
						RSD	

*Mean = среднее значение; RSD = относительное стандартное отклонение;

[1011] Экспериментальный анализ с применением CapB включал следующую процедуру.

1. Предварительный нагрев аналитического буфера: 0,1 моль NaOAc/0,01 моль ДТТ (pH 5,0)

2. Растворы модельных смесей для исследуемых соединений: 25-мкмольные растворы модельных смесей для исследуемых соединений: Добавьте 2 мкл 5 ммоль маточного раствора в 398 мкл 0,1 моль NaOAc/0,01 моль ДТТ-буфера (pH 5,0).
3. Приготовьте 0,47 мкг/мкл катепсина В в 50 ммоль NaOAc/1 ммоль ЭДТА (pH 5,0). Положите на лед.
4. Без образцов ингибитора CA074: добавьте 4 мкл 0,47 мкг/мкл катепсина В в 196 мкл 25 мкм растворов модельных смесей (из шага 2), инкубируйте пробирки при 37°C.
5. С образцами ингибитора CA074: добавьте 4 мкл 0,47 мкг/мкл катепсина В с 4 мкл 10 ммоль ингибитора (CA074) в 196 мкл 25 мкмоль растворов модельных смесей (из шага 2), инкубируйте пробирки при 37°C.
6. Через 4 часа отбирали аликвоты по 5 мкл (с ингибитором CA074 и без ингибитора CA074) для теста на активность фермента (шаг 15-17). Одновременно отбирали аликвоты по 50 мкл в момент времени (4 часа), добавляли 5 мкл уксусной кислоты, затем добавляли 150 мкл ACN (IS), чтобы остановить реакцию.
7. После закаливания встряхните планшет и центрифугируйте их при 14000 об./мин.
8. Перенесите 50 мкл супернатанта из каждой лунки в 96-луночный планшет для образцов, содержащий 50 мкл сверхчистой воды (Millipore, ZMQS50F01) для анализа методом ЖХ/МС.

[1012] Экспериментальный анализ с применением CapВ включал контрольные соединения и следующую процедуру.

9. Предварительно подогрейте буфер для анализа: 100 ммоль Na/K фосфата, pH 6,0, 1,33 ммоль EDTA и 2 ммоль ДТТ.
10. Приготовьте 0,024 мкг/мкл катепсина В: добавьте 1 мкл 0,47 мкг/мкл исходного раствора катепсина В в 19 мкл буфера (из шага 11).
11. Добавьте 2 мкл 0,024 мкг/мкл катепсина В (из шага 12) в непрозрачный 96-луночный планшет.
12. Добавьте 96 мкл буфера в каждый образец.
13. Добавьте 2 мкл 10 ммоль субстрата Z-RR-MNA (конечная концентрация 200 мкмоль). Для отрицательного контроля (с ингибитором) добавьте 2 мкл 10 ммоль ингибитора (CA074).
14. Немедленно считайте образцы в кинетическом режиме при возбуждении 340 нм/эмиссии 425 нм (считывайте планшет каждые 30 секунд в течение 3 минут). Стабильность катепсина В в инкубационных образцах:
15. Возьмите 5 мкл инкубационных образцов в 93 мкл аналитического буфера (из шага 11) и добавьте 2 мкл 10 ммоль субстрата (Z-RR-MNA).

16. Инкубируйте образцы при 37°C в течение 2 минут.

17. Считывайте образцы при возбуждении 340 нм/эмиссии 425 нм.

ПРИМЕР 119

[1013] Бесклеточная и клеточная активность *in vitro*

[1014] Бесклеточное связывание с глюкокортикоидными рецепторами с применением набора для анализа конкурентного связывания глюкокортикоидных рецепторов (GR) LanthaScreen TR–FRET GR

[1015] Для оценки способности новых стероидов связываться с глюкокортикоидным рецептором (GR) проводили бесклеточный анализ связывания с использованием набора для анализа конкурентного связывания LanthaScreen TR-FRET GR (Life Technologies, кат. № A15901). Анализ проводился в соответствии с инструкцией производителя. Будесонид является коммерческим стероидным рецептором глюкокортикоидов и использовался в качестве контроля в анализе связывания и других анализах на клеточной основе, описанных здесь ниже. Вкратце, трехкратное последовательное разведение будесонида и производного соединения, отмеченное ниже, готовили в 100% диметилсульфоксида, начиная с 100 нмоль (100X от конечного значения). Последовательные разведения дополнительно разводили в 50 раз в буферном растворе ядерного рецептора F дитиотреитолом в количестве 5 ммоль и 0,1 ммоль стабилизирующим пептидом и переносили в 384-луночный планшет для анализа. Затем в 384-луночный планшет для анализа последовательно добавляли флуормон GS1 Green, GR-LBD (GST) и антитело к GST Тб. Затем планшет инкубировали при комнатной температуре в течение 2,5 часов, при этом он был защищен от света. Планшет анализировали на многослойном ридере Envision (PerkinElmer) с установленным возбуждением при 340 нм и эмиссионными фильтрами при 520 нм и 486 нм. Коэффициент FRET рассчитывали как 520 нм/486 нм. Значения IC₅₀ определяли с использованием четырехпараметрического логистического уравнения на кривой отклика с 12 точками (GraphPad Prism).

[1016] Как показано в Таблице 18, будесонид конкурировал за связывание флуормона GS1 Green в анализе глюкокортикоидных рецепторов со значением IC₅₀ от 10 до 100 нмоль. N-аналоги будесонида аналогично конкурировали за связывание со значениями IC₅₀ в диапазоне от менее 10 нмоль до более 100 нмоль. Исследуемые здесь новые стероиды проявили себя сопоставимо или лучше (более низкие значения IC₅₀) в этом анализе и аналогичное смещение для лиганда GR по сравнению с будесонидом.

ТАБЛИЦА 18: БЕСКЛЕТОЧНОЕ СВЯЗЫВАНИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК

Номера соединений	EC ₅₀ клеток HEK293/9xUAS-Luc2P/pBind-GR/PRLR-NA (нмоль)		IC ₅₀ по данным анализа конкурентного связывания GR, (нмоль)
Будесонид	+++	Полная активация	++
4b	+++	Полная активация	+++
4d	++	Частичная активация	++
4h	+++	Полная активация	++
5-I	+++	Полная активация	NT
6-I	+++	Полная активация	NT
R-6-I	+++	Полная активация	+++
S-6-I	+++	Полная активация	+++
6-I D	+++	Полная активация	+++
6-II	+++	Полная активация	+++
6-III	+++	Полная активация	NT
6-VI	+++	Полная активация	NT
6-VII	NA	Без активации	+++

[1017] В Таблице 18: +++: ≤ 10 нмоль; ++: ≤ 100 нмоль > 10 нмоль; +: > 100 нмоль; NT: не тестировался.

NA= нет активации. Полная активация: $> 75\%$ от степени активации, вызванной будесонидом. Частичная активация: (20%, 75%) от степени активация, вызванной будесонидом. Нет активации: $< 20\%$ от степени активации, индуцированной будесонидом. Бесклеточный анализ используют для оценки прямого связывания соединений с рекомбинантным GR LBD независимо от их проницаемости. Клеточный анализ используется для измерения того, как соединения активируют внутриклеточную опосредованную глюкокортикоидным рецептором транскрипцию после прохождения через плазматическую мембрану, таким образом, соединение через проницаемость мембраны является необходимым условием для активности.

ПРИМЕР 120

[1018] Клеточный анализ репортерного гена люциферазы коактиватора глюкокортикоидного рецептора (GR)

[1019] Анализ активации глюкокортикоидов

[1020] Активность стероидных полезных нагрузок и анти-PRLR стероидных конъюгатов ncADC изучали с применением клеточного анализа репортерного гена люциферазы с использованием либо клеточной линии 293/PRLR/GRE-luc, описанной в ПРИМЕРЕ 62, в

качестве антиген-негативной клеточной линии 293, которая содержит химерный рецептор, состоящий из связывающего лиганд глюкокортикоидный рецептор домена, слитого с ДНК-связывающим доменом CAL4 дрожжей (pBind-GR, каталог Promega № E1581), и активирующей последовательности Gal4 (9XGal4 UAS-Luc), которая управляет экспрессией люциферазы. Сформированная в результате клеточная линия называется 293/GRE-Luc.

[1021] Биоанализ проводили с использованием этих двух клеточных линий, tesgin анти-PRLR-LP112, дексаметазона, будесонида, соединения 4b, контрольной полезной нагрузки Ab-LP112, а также одного анти-PRLR Ab, с использованием анализа, организованного как описано в ПРИМЕРЕ 63.

[1022] Как показано на ФИГ. 36А и в Таблице ниже, после 72 часов инкубации полезная нагрузка анти-PRLR-LP112 показала наивысшую кратность в клеточной линии 293/PRLR/GRE-luc, в то время как полезная нагрузка LP112 (4b) показала лучшее значение IC₅₀, чем у будесонида и дексаметазона. Контрольная полезная нагрузка Ab-LP112 и неконъюгированный анти-PRLR mAb не продемонстрировал активности в этой клеточной линии.

[1023] Как показано на ФИГ. 36В и в Таблице ниже, после 72 часов инкубации полезная нагрузка анти-PRLR-LP112 не обнаружила активации в клеточной линии 293/PRLR/GRE-luc, которая не экспрессирует рецептор пролактина, что указывает на то, что доставка стероидов конъюгатами анти-PRLR-ncADCs является антиген-зависимой. Полезная нагрузка LP112 (4b) снова показала лучшее значение IC₅₀, чем будесонид и дексаметазон. Контрольная полезная нагрузка Ab-LP112 и неконъюгированный анти-PRLR Ab не продемонстрировали никакой активности в этой клеточной линии.

[1024] Следующая таблица относится к ФИГ. 36А и 36В.

	EC ₅₀ в 293/PRLR/GRE-Luc (моль)	EC ₅₀ в 293/GRE-Luc (моль)
Анти-PRLR Ab-LP112	+++	+
Контроль Ab-LP112	+	+
Анти-PRLR Ab	NA	NA
4b (полезная нагрузка LP112)	+++	+++
Будесонид	++	+++
Дексаметазон	+++	+++

В Таблице, +++<5 нмоль, 5 нмоль<+++<10 нмоль, 10 ноль<+.

ПРИМЕР 121

[1025] Данный пример описывает мышиную модель высвобождения цитокина, индуцированного липополисахаридом

[1026] Целью данного исследования является исследование соединений **4b** и **6-I** на ингибирование индуцированного липополисахаридом высвобождения цитокина у мышей. Исследуемые соединения вводили за 48 часов, 24 часа и 2 часа до заражения липополисахаридами, уровни цитокинов в образцах крови, включая TNF- α и IL6, измеряли через 2 часа и 4 часа после заражения липополисахаридами..

[1027] Материалы и реагенты

[1028] Липополисахарид (LPS), полученный из E.Coli K12, приобретен у компании Invivogen (Сан-Диего, Калифорния, США, кат. № Tlrl-eklps), дексаметазон приобретен у компании ADAMAS (Emeryville, CA, США, кат. № 50-02- 2). Набор ELISA для мышинного TNF- α приобретен у компании eBioscience (ThermoFisher Scientific, кат. № 88-7324). Набор мышинного ILISA ELISA приобретен у компании eBioscience (ThermoFisher Scientific, кат. № 88-7064).

[1029] Экспериментальные методы

[1030] Содержание животных:

[1031] В этом исследовании использовали 18 интактных мышей C57BL/6j. Животные были самцами с массой тела в начале исследования 18-20 г. Животные были приобретены в Шанхайском центре лабораторных животных, CAS (SLAC) и помещены в животный виварий ChemPartner в среде, свободной от патогенной флоры (SPF). После прибытия животных проверяли на предмет состояния здоровья, включая шерсть, конечности, отверстия и ненормальные признаки осанки или движений, и акклиматизировали их в течение более 7 дней.

[1032] Животных содержали по 3 мыши в клетке в поликарбонатных обувных клетках IVC в среде, свободной от патогенной флоры; средства контроля среды в помещении для животных были настроены на поддержание температуры 20-26°C, влажности 40-70% и цикла освещения 12 часов света /12 часов темноты.

[1033] Стандартная еда (SLAC-M01, Шанхайский центр лабораторных животных) и очищенная вода (фильтрованная водопроводная вода) предоставлялись *ad libitum* в течение всего периода исследования.

[1034] Порядок проведения эксперимента

[1035] Группировка. Животных рандомизировали на 6 групп (A-F) перед началом исследования. Каждая группа состояла из 3 мышей. Группа A служила наивным контролем;

Группа В получала дексаметазон и служила положительным контролем; Группу С лечили соединением 4b и Группу D-F лечили соединением 6-I.

[1036] **Ход эксперимента**

[1037] Все мыши получали липополисахарид (ЛПС), растворенный в PBS, в дозе 0,5 мг/кг путем внутрибрюшинной инъекции. Мыши в группе А получали PBS, мыши в группе В получали Dex (5 мг/кг массы тела), мыши в группе С получали соединение 4b (5 мг/кг массы тела) путем внутрибрюшинной инъекции за 2 часа до заражения ЛПС; Мышей в группе D, E и F получали в дозе 5 мпк внутрибрюшинно, за 2 часа, 24 часа и 48 часов до введения ЛПС, соответственно.

[1038] Образцы крови собирали через 2 часа и 4 часа после введения ЛПС в гепаринсодержащие пробирки. Образцы крови центрифугировали, образцы плазмы собирали и хранили при -80°C до проведения анализа.

[1039] Уровни TNF α в плазме измеряли с помощью наборов ELISA, следуя стандартным процедурам, рекомендованным производителем.

[1040] Фармакокинетические результаты представлены на ФИГ. 37А и в Таблице 20

ТАБЛИЦА 20. СВОДНЫЕ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ СОЕДИНЕНИЙ 4В И 6-I

Фармако-кинети-ческие параметры	Ед.	Дексаметазон (IP, 1мг/кг у самцов мышей C57BL/6 мышей)			4b (IP, 1мг/кг у самцов мышей C57BL/6 мышей)			6-I (IP, 1мг/кг у самцов мышей C57BL/6 мышей)		
		Mean	SD	CV(%)	Mean	SD	CV(%)	Mean	SD	CV(%)
T _{max}	ч	0,625	0,433	69,3	0,438	0,375	85,7	0,250	0,00	0,00
C _{max}	нг/мл	231	7,97	3,45	39,4	1,75	4,43	44,8	4,77	10,6
Терминал. t _{1/2}	ч	1,64	0,187	11,4	1,69	0,620	36,7	1,91	0,210	11,0
AUC _{last}	ч*нг/мл	545	60,6	11,1	84,6	7,71	9,12	107	13,6	12,7
AUC _{INF}	ч*нг/мл	562	67,2	11,9	89,2	8,20	9,19	113	14,1	12,5

Mean = среднее значение; SD = стандартное отклонение; CV = коэффициент вариации

[1041] Фармакодинамические результаты

[1042] Инъекция ЛПС индуцировала высвобождение TNF- α в этой фармакодинамической

модели, наблюдаемой в момент отбора образцов через 2 часа. Результаты соответствовали заявленной кинетике высвобождения цитокинов в модели заражения ЛПС у мышей, уровни TNF- α снижались в момент времени 4 часа. Следовательно, эффект исследуемых соединений не может быть измерен, в соответствии с этим никакого значимого различия между группами в момент времени 4 часа не наблюдалось.

[1043] Образцы крови собирали через 2 часа и 4 часа после заражения ЛПС; измеряли уровни TNF- α в плазме. Данные выражали как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ против группы А, по данным Oneway.

[1044] Показанное на ФИГ. 37А, в момент времени 2 часа, соединение 4b в дозе 5 мпк значительно ингибировало выработку TNF- α ; соединение 6-I демонстрировало зависимое от времени ингибирование, значительная выработка TNF- α ингибировалась при дозировании за 2 часа до введения ЛПС. Дексаметазон был способен значительно ингибировать TNF- α в момент отбора образцов через 2 часа.

[1045] Образцы крови собирали через 2 часа и 4 часа после заражения ЛПС; измеряли уровни TNF- α в плазме. Данные выражали как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ в сравнении с группой А, с помощью анализа Oneway ANOVA.

[1046] Анализ ANOVA представлен на ФИГ. 37В и в Таблице 21.

ТАБЛИЦА 21. НЕОБРАБОТАННЫЕ ДАННЫЕ ПО TNF- α

TNF- α (пг/мл)	A:PBS	B: DEX 5 мг/кг (-2ч)	C:4b 5 мг/кг (-2ч)	D: 6-I 5 мг/кг (-2ч)	E) 6-I 5 мг/кг (-24ч)	F) 6-I 5 мг/кг (-48ч)
2 ч	840,2	644,3	56,5	110,6	23,1	1280,1
	1293,6	508,5	10,4	30,8	997,3	1149,4
	968,6	487,1	274,8	240,8	55,4	750,0

ПРИМЕР 122

[1047] *Дендритные клетки мыши*

[1048] Для определения влияния соединений 4b на вызванные ЛПС ex vivo воспалительные иммунные ответы, дендритные клетки CD11c⁺ выделяли из селезенки мышей дикого типа C57Bl/6 (Jackson Labs, Protocol № 426.0). Дендритные клетки селезенки выделяли с использованием расщепления коллагеназой D (400ед./мл коллагеназы D (Roche кат. № 11088858001), 20 мкг/мл ДНКазы I (Roche кат. № 10104159001), 2% фетальной телячьей сыворотки (FCS) в ГЭПЭС-буферизованной среде RPMI-1640) и инкубировали при 37°C в

течение 25 минут. После инкубации ткань селезенки промывали средой RPMI-1640 и фильтровали через 70-миллиметровый фильтр, затем проводили лизис эритроцитов с использованием лизирующего буфера АСК (Gibco кат. № A1049201) в течение 1 минуты. Затем клеточную суспензию дважды промывали с использованием среды RPMI-1640. Классические дендритные клетки выделяли из суспензии мононуклеарных клеток с использованием магнитных микрогранул CD11c (Milteny Biotec кат. № 130108338). Вкратце, клеточную суспензию дважды промывали подвижным буфером autoMACS (Milteny Biotec кат. № 130091221), затем подвергали 30-минутной инкубации при 4°C с микрогранулами CD11c⁺ согласно установленным протоколам Milteny Biotec. Клетки CD11c⁺ выделяли положительным отбором, промывали, суспендировали в полной среде RPMI [RPMI-1640 (ThermoFisher Scientific, кат. № 15140122), содержащем 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS) (ThermoFisher Scientific, кат. № 10082147) и 1% пенициллин-стрептомицина (ThermoFisher Scientific), кат. № 11875093)], и выполняли подсчет до культивирования при 2×10^5 клеток на лунку. Контрольную полную среду RPMI, обработанную соединением 4b контрольную полную среду RPMI (при 10 нмоль и 100 нМ) или обработанную дексаметазоном (Sigma, кат. № D4902-25МГ) полную среду RPMI (при 10 нмоль и 100 нмоль) добавляли к клеткам в 96-луночном планшете для культивирования. Дендритные/контрольные клетки, обработанные соединением 4b или дексаметазоном, инкубировали в течение 24 часов при 37°C до стимуляции с применением 10 нг/мл ЛПС в течение 24 часов.

[1049] *Дендритные клетки человека:*

[1050] Для определения влияния соединений 4b на вызванные ЛПС *ex vivo* воспалительные иммунные ответы в клетках врожденной иммунной системы человека моноциты CD14⁺ (Lonza кат. № 2W-400C) выделяли и культивировали в присутствии полной среды RPMI [RPMI-1640 (ThermoFisher Scientific, кат. № 15140122), содержащей 10% FBS (ThermoFisher Scientific, кат. № 10082147) и 1% пенициллин-стрептомицина (ThermoFisher Scientific, кат. № 11875093)], дополненной ИЛ-4 человека (50 нг/мл) (Milteny Biotec, кат. № 130-093-922) и ГМ-КСФ человека (100 нг/мл) (Milteny Biotec, кат. № 130093866) в течение 7 дней. Полная среда RPMI с ИЛ-4 и ГМ-КСФ менялась каждые три дня. Были разработаны два специфических условия культивирования: Условие 1: Инкубация моноцитов CD14⁺ с контрольной полной средой RPMI, обработанной соединением 4b полной средой RPMI (при 10 нмоль и 100 нмоль), или обработанной дексаметазоном (Sigma) полной средой RPMI (при 10 нмоль и 100 нмоль) для всего объема 7-дневной культуры; или Условие 2: Инкубация моноцитов CD14⁺ с контрольной полной средой RPMI в течение 5 дней до инкубации с обработанной соединением 4b полной средой RPMI (при 10 нмоль и 100 нмоль), или

обработанной дексаметазоном (Sigma, кат. № D4902-25МГ) полной средой RPMI (при 10 нмоль и 100 нмоль) до 7-го дня. На 7-й день различные экспериментальные группы подвергли стимуляции 10 нг/мл ЛПС в течение 24 часов.

[1051] *Измерение цитокинов в супернатантах через 24 часа после заражения ЛПС ex vivo:*

[1052] Супернатанты собирали в 96-луночные круглодонные планшеты для тканевых культур через 24 часа после заражения ЛПС и хранили при -20°C до дальнейшего анализа. Концентрации цитокинов в супернатантах измеряли с использованием набора для мультиплексного иммуноанализа по провоспалительной Панели 1 (мыши) (MesoScale Discovery, кат. № K15048D) в соответствии с инструкциями производителя или набора для мультиплексного иммуноанализа по провоспалительной Панели 1 (человека) (MesoScale Discovery, кат. № K15049D). Вкратце, 50 мкл/лунка калибраторов и образцов (разведенных в разбавителе 1:2) добавляли к планшетам, предварительно покрытым иммобилизованными антителами, и инкубировали при комнатной температуре при встряхивании на скорости 700 об./мин. в течение 2 часов. Затем планшеты 3 раза промывали раствором 1xPBS, содержащим 0,05% (вес/объем) сурфактанта Tween-20, с последующим добавлением 25 мкл раствора детектирующего антитела, разбавленного в разбавителе 45. После 2-часовой инкубации при комнатной температуре при встряхивании планшеты промывали 3 раза, в каждую лунку добавляли 150 мкл 2x буфера считывания. Электрохемилюминесценцию немедленно считывали на приборе MSD Sceptor®. Анализ данных проводился с использованием программного обеспечения GraphPad Prism™. Статистическую значимость в группах определяли односторонним методом однофакторного дисперсионного анализа с применением критерия множественного сравнения Таки после теста, и вычисляли стандартную ошибку среднего значения (SEM \pm).

[1053] *Обзор результатов и выводы:*

[1054] Как показано в Таблице 22, заражение ЛПС *ex vivo* индуцировало устойчивую продукцию IL12p70, IL1 β , IL6, KC-GRO и TNF- α и DC селезенки CD11c⁺. Напротив, введение дексаметазона и Соединения 4b *in vitro* в возрастающих дозах в течение 24 часов значительно снижало ЛПС-индуцированные цитокиновые ответы в CD11c⁺ DC.

[1055] **ТАБЛИЦА 22: СОЕДИНЕНИЕ 4В И ДЕКСАМЕТАЗОН (SIGMA) ИНГИБИРУЕТ ЛПС-ИНДУЦИРОВАННУЮ ВЫРАБОТКУ ЦИТОКИНА В ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТКАХ CD11C⁺.**

Цитокин	Контроль	Контроль +ЛПС	Декса-метазон (10 нмоль)	Дексаметазон (10 нмоль) +ЛПС	Декса-метазон (100 нмоль)	Декса-метазон (100 нмоль) + ЛПС
IL-12p70	17,43±2,72	77,02±4,40	8,55±1,08	30,41±3,22	6,05±1,13	9,29±3,28
IL-1b	9,53±0,26	162,48±5,69	6,299±0,33	34,76±4,33	5,25±0,12	10,58±0,88
IL-6	144,49±16,69	1492,12±66,47	98,93±8,98	714,89±77,13	55,07±1,76	303,48±11,37
KC-GRO	111,69±10,96	536,47±49,90	75,75±8,03	399,40±49,75	65,99±2,75	233,49±18,48
TNF-a	0±0	8644,14±74,73	0±0	2496,27±415,75	0±0	405,49±70,23
	4b (10 нмоль)	4b (10 нмоль) +ЛПС	4b (100 нмоль)	4b (100 нмоль) +ЛПС		
IL-12p70	5,24±1,12	3,84±2,88	6,43±0,67	8,21±2,79		
IL-1b	5,22±0,11	6,32±0,83	5,65±0,18	4,80±0,99		
IL-6	47,90±4,55	184,54±21,59	63,87±4,78	201,10±20,96		
KC-GRO	62,85±6,51	186,57±15,71	84,30±6,06	211,96±25,23		
TNF-a	0±0	146,46±18,66	0±0	193,29±25,56		

[1056] Как показано в Таблице 23, заражение ЛПС *ex vivo* индуцировало устойчивую экспрессию IL12p70, IL1 β , IL6, и TNF- α дендритными клетками человека, производными от моноцитов. Напротив, моноциты, культивируемые в течение всего 7-дневного периода кондиционирования (условие 1) с соединением 4b и дексаметазоном (Sigma), вызывали значительное снижение продуцирования провоспалительных цитокинов. Кроме того, кондиционирование зрелых дендритных клеток, производных от моноцитов, с помощью соединения 4b и дексаметазона (Sigma) также значительно снижало продуцирование IL12p70, IL6 и TNF- α по сравнению со стимуляцией ЛПС контрольными дендритными клетками.

[1057] ТАБЛИЦА 23: СОЕДИНЕНИЕ 4В И ДЕКСАМЕТАЗОН (SIGMA) ИНГИБИРУЕТ ИНДУЦИРОВАННОЕ ЛПС ПРОДУЦИРОВАНИЕ ЦИТОКИНОВ В ПРОИЗВОДНЫХ ОТ МОНОЦИТОВ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА.

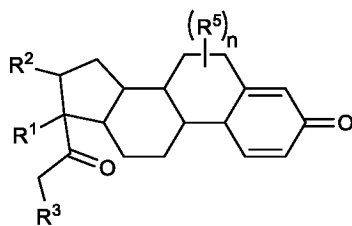
Условие 1				
Цитокин	Контроль	Контроль +ЛПС	Дексаметазон (10 нмоль)	Дексаметазон (10 нмоль) +ЛПС
IL-12p70	0,79±0,04	994,23±19,89	0,65±0,02	4,83±0,05
IL-1b	0,80±0,001	12,97±0,186	0,625±0,006	1,77±0,11
IL-6	8,71±0,23	5669,2±266,12	2,68±0,03	687,45±2,17
IL-8	850,50±0,89	1677,86±20,06	174,59±0,68	8789,98±126,98

Условие 1				
TNF-a	44,20±1,08	7476,12±177,0	2,32±0,098	242,34±10,75
	4b (10 нмоль)	4b (10 нмоль) + ЛПС	4b (100 нмоль)	4b (100 нмоль)+ЛПС
IL-12p70	0,58±0,002	1,05±0,08	0,66±0,03	0,50±0,19
IL-1b	0,61±0,007	1,18±0,11	0,641±0,15	1,01±0,07
IL-6	2,23±0,002	325,46±2,12	3,45±0,13	159,32±7,31
IL-8	166,99±2,01	8670,27±268,97	136,50±0,87	8461,59±522,77
TNF-a	1,28±0,087	117,75±6,63	1,46±0,10	123,31±0,11
Условие 2				
Цитокин	Контроль	Контроль +ЛПС	Дексаметазон (10 нмоль)	Дексаметазон (10 нмоль) +ЛПС
IL-12p70	5,83±2,55	49,64±2,05	0,64±0,03	6,32±1,69
IL-1b	3,13±0,05	13,03±1,26	0,611±0,003	37,88±1,90
IL-6	37,74±1,50	6679,97±173,8	14,76±0,267	5747,37±234,08
IL-8	1541,04±82,6	1958,27±5,35	288,23±6,02	3314,0±37,86
TNF-a	61,49±4,82	2690,61±164,5	1,73±0,02	994,92±73,66
IL-12p70	4b (10 нмоль)	4b (10 нмоль) +ЛПС	4b (100 нмоль)	4b (100 нмоль)+ЛПС
IL-1b	0,60±0,01	4,81±0,63	0,61±0,02	2,03±0,16
IL-6	0,59±0,005	30,10±0,93	0,59±0,03	18,20±1,04
IL-8	12,87±0,312	5124,75±114,8	11,25±0,82	4680,03±104,90
TNF-a	274,75±1,75	3003,52±212,16	317,46±14,83	2735,36±87,88
	2,03±0,14	874,18±30,46	1,37±0,251	696,26±75,10

[1058] Варианты осуществления и примеры, описанные выше, предназначены только для иллюстрации и не являются ограничивающими. Специалисты в данной области поймут или смогут установить, используя не более чем обычные эксперименты, многочисленные эквиваленты конкретных соединений, материалов и процедур. Все такие эквиваленты считаются находящимися в объеме и включены в прилагаемую Формулу изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ


1. Соединение Формулы (А):



(A);

или его фармацевтически приемлемая соль, сольват, стереоизомер или их производные, где:

R¹ и R² независимо представляют собой -H, алкил, алкил-C(O)-O-, -OH, или гало; или

R¹ и R² вместе образуют ,

где R⁴ представляет собой алкил, арил, арилалкил или N-содержащий гетероциклоалкил,

где алкил, арил, арилалкил и N-содержащий гетероциклоалкил в каждом случае независимо опционально замещены -NR^aR^b;

R³ представляет собой -оксиарил-NR^aR^b;

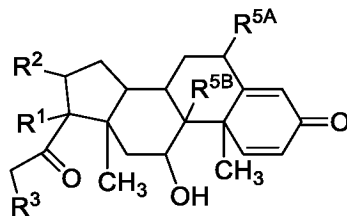
R⁵ в каждом случае независимо представляет собой -OH, гало, алкил или арилалкил;

R^a и R^b в каждом случае независимо представляют собой -H, опционально замещенный алкилом или опционально замещенный арилом;

или R^a и R^b вместе образуют 3-7 членное кольцо; и


n представляет собой целое число от 0 до 16.

2. Соединение по п.1, где соединение с Формулой (А) имеет структуру Формулы (А¹):

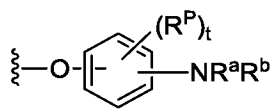


(A¹)

где R¹-R³ имеют значение, указанное выше, и R^{5A} и R^{5B} каждый независимо представляют собой гало или атом водорода.

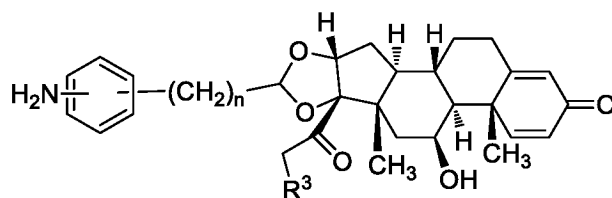
3. Соединение по п. 2, где R¹ и R² вместе образуют , где R⁴ представляет собой арил, арилалкил или алкил, где арил, арилалкил и алкил опционально замещены -NR^aR^b.

4. Соединение по любому из п.п.1-3, где R³ представляет собой



, где R^P представляет собой гало, t представляет собой целое число от 0 до 2, R^a представляет собой H, а R^b представляет собой H или алкил.

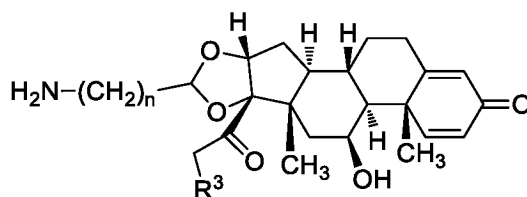
5. Соединение по п.1, имеющее Формулу (A²)



(A²)

где n представляет собой целое число от 0 до 4.

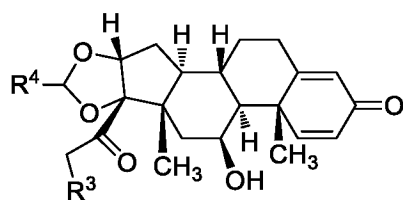
6. Соединение по п.1, имеющее Формулу (A³):



(A³)

где n представляет собой целое число от 1 до 4.

7. Соединение по п.1, имеющее Формулу (A⁴):

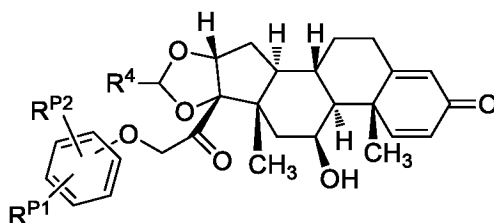


(A⁴)

где R^a и R^b каждый независимо представляют собой атом водорода или алкил, или R^a и R^b вместе образуют 3-7 членное кольцо.

8. Соединение по п.7, где R⁴ представляет собой C₁₋₄ alkyl.

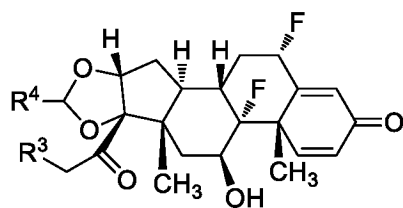
9. Соединение по п.1, имеющее Формулу (A⁵):



(A⁵)

где R⁴ представляет собой алкил, R^{P1} представляет собой гало или атом водорода, и R^{P2} представляет собой -NR^aR^b, где R^a и R^b каждый независимо представляют собой атом водорода или алкил.

10. Соединение по п.1, имеющее Формулу (A⁶):

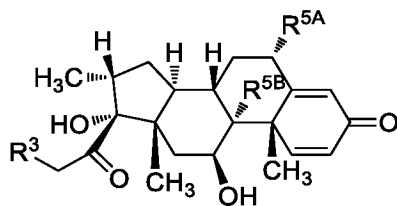


(A⁶)

где R³ представляет собой $\xi-X-\text{A}-(R^P)_t-NR^aR^b$, где X представляет собой O, A

представляет собой арил, R^P представляет собой гало, t представляет собой целое число от 0 до 2, R^a и R^b каждый независимо представляют собой атом водорода или алкил, и R⁴ представляет собой алкил.

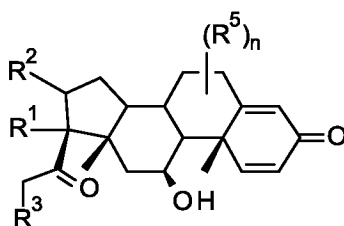
11. Соединение по п.1, имеющее Формулу (A⁷)



(A⁷)

где R³ представляет собой $\text{---X---}\text{A}$, где X представляет собой O, A представляет собой арил, R^P представляет собой гало, t представляет собой целое число от 0 до 2, R^a и R^b каждый независимо представляют собой атом водорода или алкил, R^{5A} представляет собой атом водорода или фтор и R^{5B} представляет собой фтор.

12. Соединение по Формуле 1000:



1000

или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или их стереоизомер,

где:

R¹ и R² каждый независимо выбран из группы, включающей -H, -OH, алкил, -O-C(O)-алкил, и гало; или

R¹ и R² вместе образуют $\text{---}\text{O---}\text{C}(\text{R}^4)\text{---}\text{O---}$,

R³ представляет собой -оксиарил-NR^aR^b;

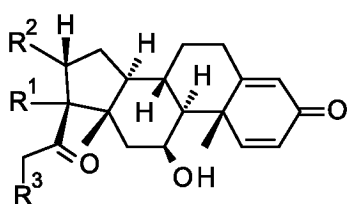
R⁴ выбран из группы, включающей алкил, арил, алкиларил, арилалкил, гетероарил, -алкилен-NR^aR^b, -X-арилен-Y-NR^aR^b, -X-гетероарилен-Y-NR^aR^b, и N-содержащий гетероциклоалкил; где X отсутствует или

представляет собой -NH-, -CH₂-, или -O-; где Y отсутствует или представляет собой -CH₂-;

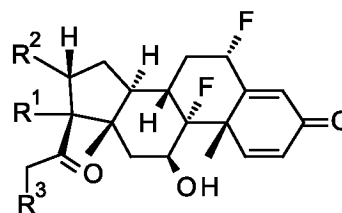
R⁵ в каждом случае независимо выбран из заместителя в группе, включающей -OH, гало или алкил; n представляет собой целое число от 0 до 19; и каждый R⁵ расположен на любом атоме кольца;

R^a и R^b в каждом случае независимо выбраны из группы, включающей -H и алкил; или R^a и R^b циклизируют для образования циклогетероалкила с 3-6 кольцевыми атомами, включая один гетероатом, которым является N, к которому они присоединены.

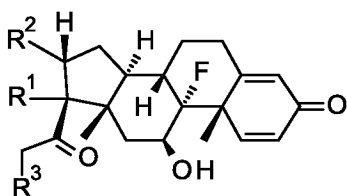
13. Соединение по п.12, имеющее Формулу **1010**, **1020**, **1030** или **1040**:



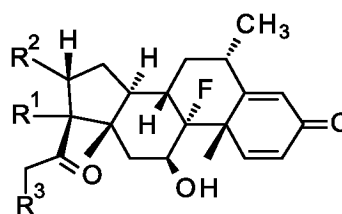
1010



1020



1030

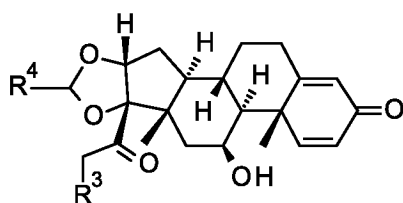


1040

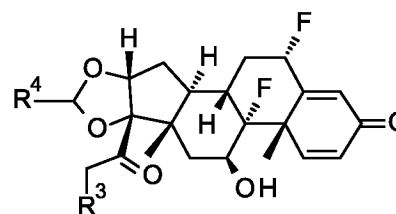
или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или их стереоизомер.

14. Соединение по п.13, где R¹ представляет собой -OH; R² представляет собой -H, -CH₃ или -OH.

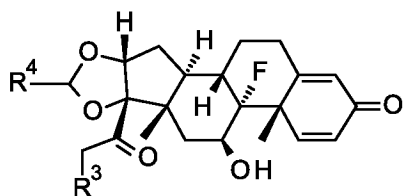
15. Соединение по п.12, имеющее Формулу **1110**, **1120**, **1130**, или **1140**:



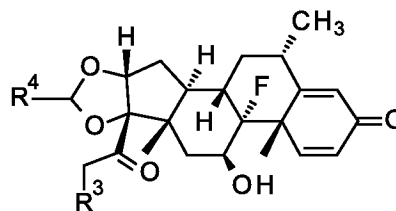
1110



1120



1130



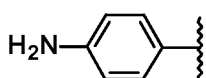
1140

или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или их стереоизомер.

16. Соединение по п.15, где R⁴ представляет собой n-пропил.

17. Соединение по п.16 по Формуле 1120.

18. Соединение по п.15, где R⁴ представляет собой H₂NCH₂CH₂- или

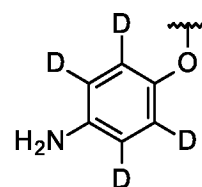
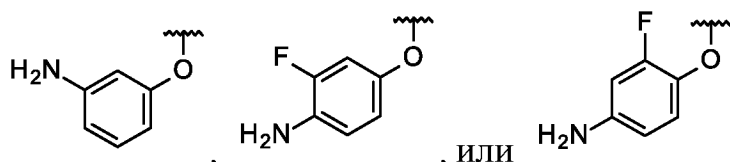
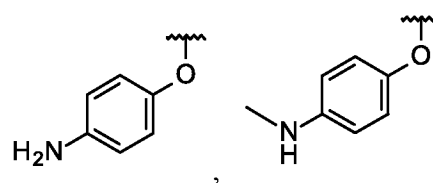


19. Соединение по п.15, где R⁴ представляет собой алкил, арил, алкиларил или арилалкил.

20. Соединение по п.15, где R³ представляет собой -O-арил- NR^aR^b, где арилен в -O-арил- NR^aR^b опционально замещен галогеном, дейтерием, гидроксилом или метоксилом.

21. Соединение по п.15, где R³ представляет собой -O-фенил- NR^aR^b, где опционально замещен галогеном или дейтерием.

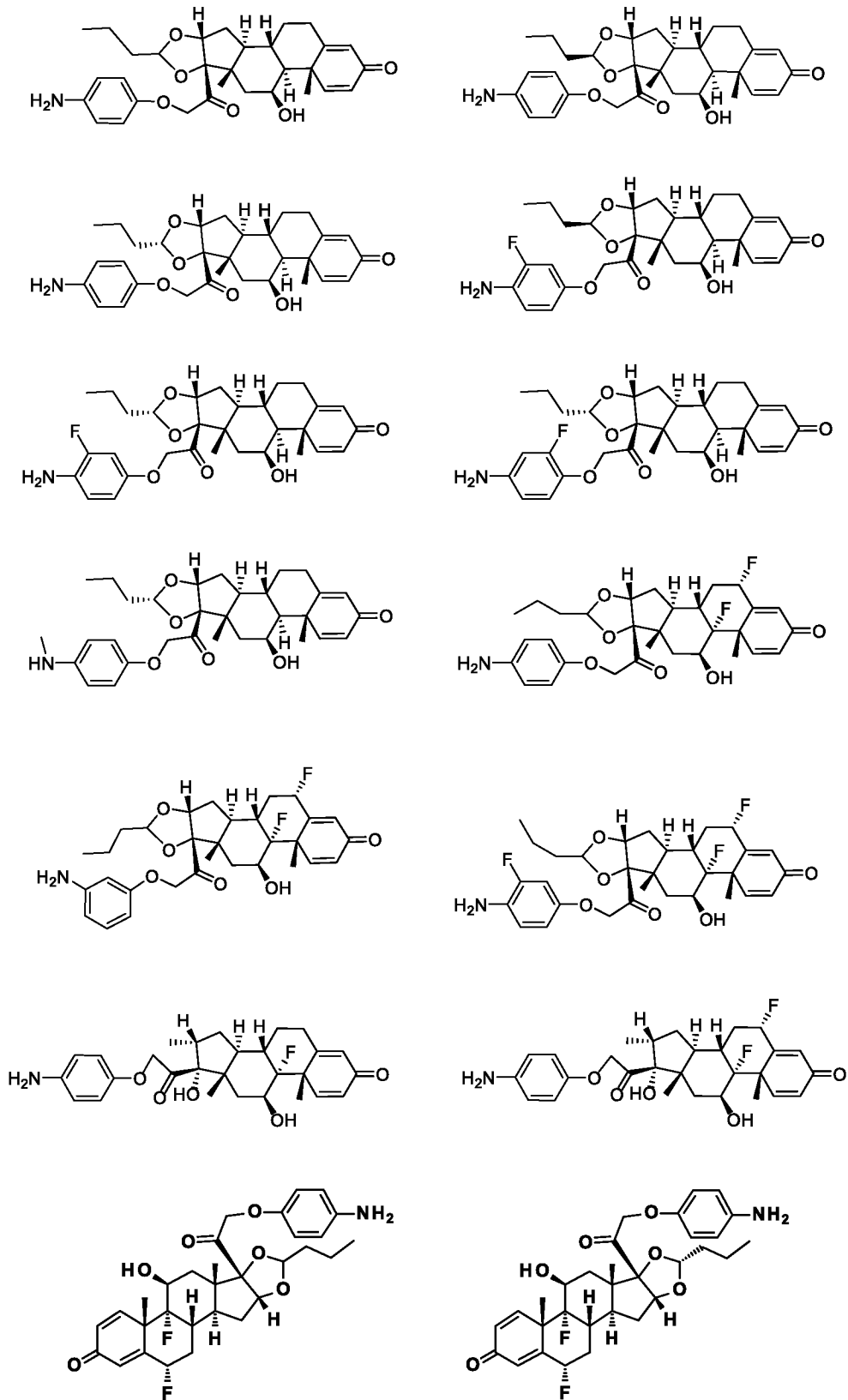
22. Соединение по п.15, где R³ представляет собой

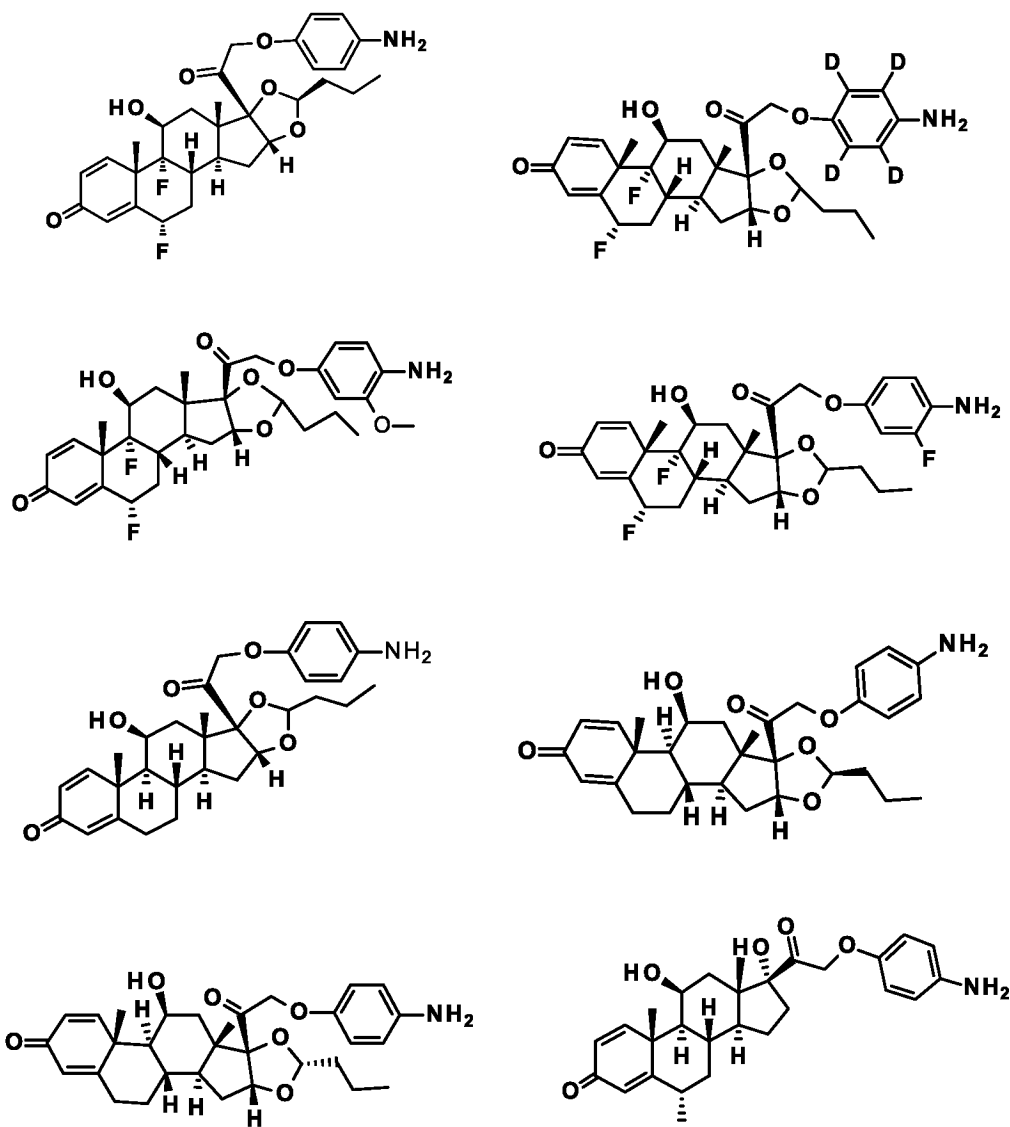


23. Соединение по п.15, где R³ представляет собой

24. Соединение по любому из п.п. 15-23, где R⁴ представляет собой n-пропил.

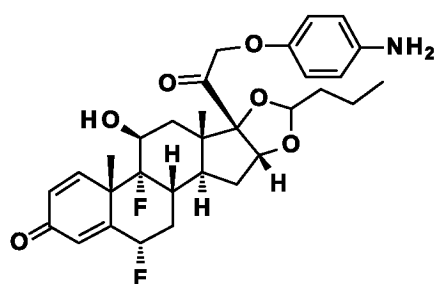
25. Соединение по п.1, где соединение представляет собой:





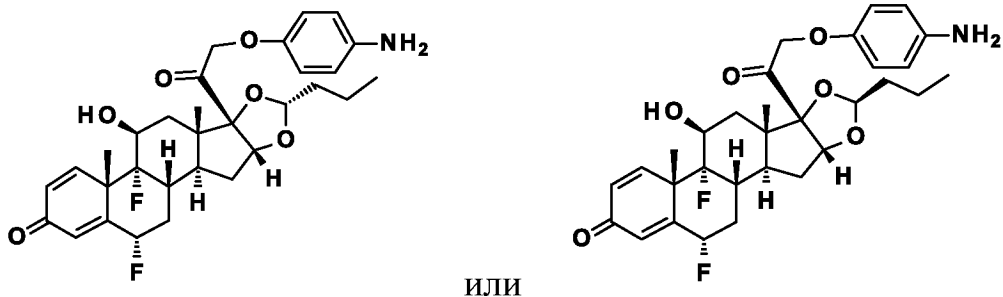
или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или их стереоизомер.

26. Соединение по п.25, где соединение представляет собой



или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или их стереоизомер.

27. Соединение по п. 25, где соединение представляет собой



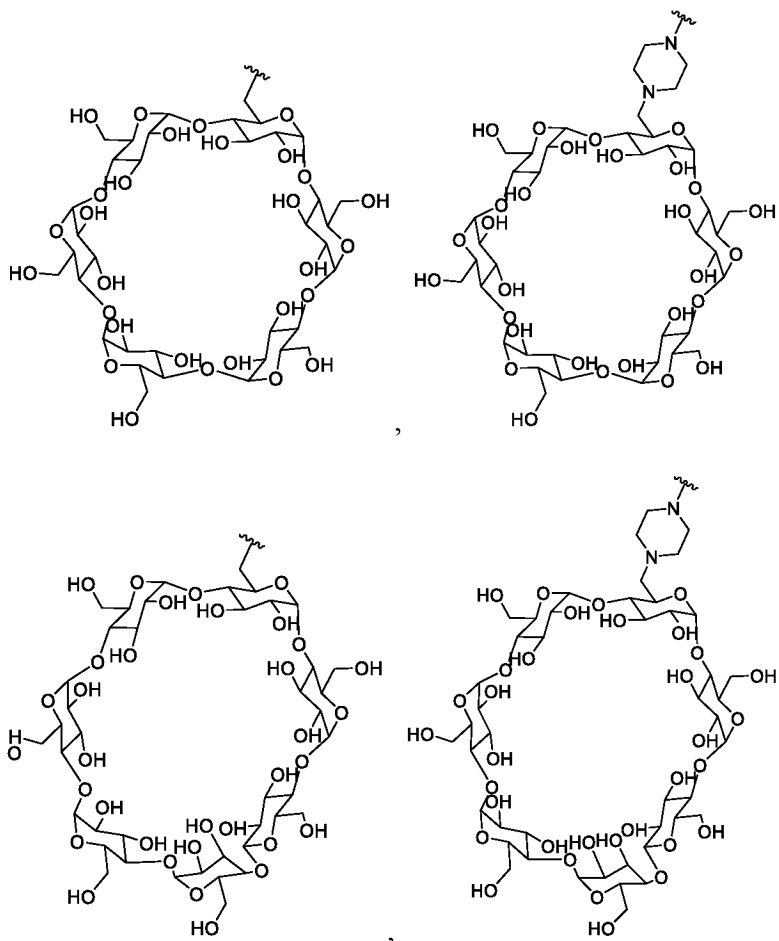
или

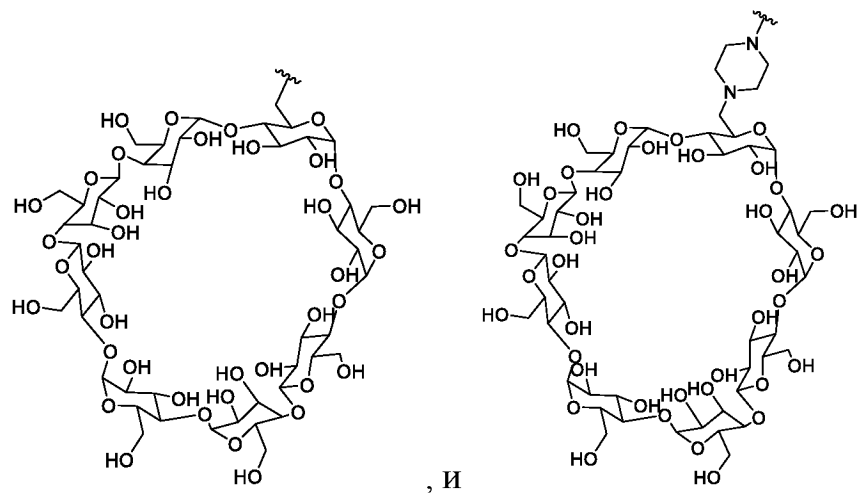
или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или их стереоизомер.

28. Соединение, включающее связывающий агент, конъюгированный с соединением по любому из п.п. 1-27.

29. Соединение, включающее связывающий агент, конъюгированный с соединением по любому из п.п. 1-27 и циклодекстрином (ЦД).

30. Соединение по п.29, где ЦД выбран из группы, включающей



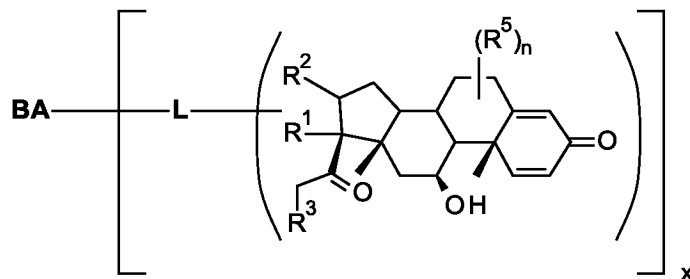


где  обозначает связь, посредством которой ЦД связан с протеин-стероидным конъюгированным агентом.

31. Соединение по любому из п.п. 28-30, где связывающий агент представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.
32. Соединение по п. 28, где связывающий агент представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.
33. Соединение по любому из п.п. 28-32, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывает мишень, выбранную из AXL, BAFFR, BCMA, BDCA2, BDCA4, BTLA, BTNL2, BTNL3, BTNL8, BTNL9, C10orf54, CCR1, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR9, CCR10, CD11c, CD137, CD138, CD14, CD168, CD177, CD19, CD20, CD209, CD209L, CD22, CD226, CD248, CD25, CD27, CD274, CD276, CD28, CD30, CD300A, CD33, CD37, CD38, CD4, CD40, CD44, CD45, CD47, CD46, CD48, CD5, CD52, CD55, CD56, CD59, CD62E, CD68, CD69, CD70, CD74, CD79a, CD79b, CD8, CD80, CD86, CD90.2, CD96, CLEC12A, CLEC12B, CLEC7A, CLEC9A, CR1, CR3, CRTAM, CSF1R, CTLA4, CXCR1/2, CXCR4, CXCR5, DDR1, DDR2, DEC-205, DLL4, DR6, FAP, FcγR, FcγR's, Fire, GITR, HHLA2, HLA class II, HVEM, ICOSLG, IFNLR1, IL10R1, IL10R2, IL12R, IL13RA1, IL13RA2, IL15R, IL17RA, IL17RB, IL17RC, IL17RE, IL20R1, IL20R2, IL21R, IL22R1, IL22RA, IL23R, IL27R, IL29R, IL2Rg, IL31R, IL36R, IL3RA, IL4R, IL6R, IL5R, IL7R, IL9R, Интегрины, LAG3, LIFR, MAG/Siglec-4, MMR, MSR1, NCR3LG1, NKG2D, Kp30, Kp46, PDCD1, PROKR1, PVR, PVRIG, PVRL2, PVRL3,

RELT, SIGIRR, Siglec-1, Siglec-10, Siglec-5, Siglec-6, Siglec-7, Siglec-8, Siglec-9, SIRPA, SLAMF7, TACI, PTCRA, TCRb, CD3z, CD3, TEK, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, TIGIT, TLR2, TLR4, TROY, TSLPR, TYRO, VLDLR, VSIG4, и VTCN1.

34. Соединение по Формуле 1200:

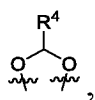


1200

или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или их стереоизомер,

где:

R^1 и R^2 независимо выбраны из группы, включающей -H, -OH, алкил, -O-C(O)-алкил и гало; или

R^1 и R^2 вместе образуют ,

R^3 представляет собой -оксиарил- NR^aR^b ;

R^4 выбран из группы, включающей алкил, арил, алкиларил, арилалкил, гетероарил, -алкилен- NR^aR^b , -X-арилен- $Y-NR^aR^b$, -X-гетероарилен- $Y-NR^aR^b$, и N-содержащий гетероциклоалкил; где X отсутствует или представляет собой -NH-, -CH₂-, или -O-; где Y отсутствует или представляет собой -CH₂-;

R^5 в каждом случае независимо выбран из заместителя в группе, включающей -OH, гало и алкил; n представляет собой целое число от 0 до 16; и каждый R^5 расположен на любом атоме кольца;

R^a и R^b в каждом случае независимо выбраны из группы, включающей -H и алкил; или R^a и R^b циклизируют для образования циклогетероалкила с 3-6 кольцевыми атомами, включая один гетероатом, которым является N, к которому они присоединены;

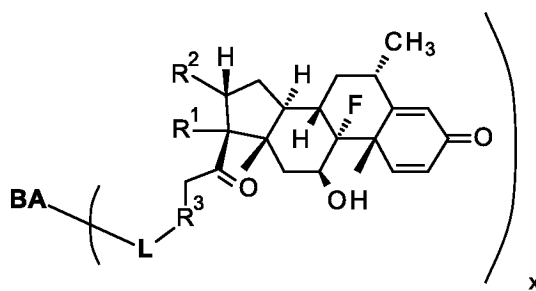
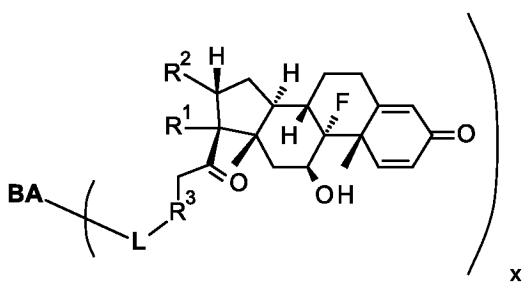
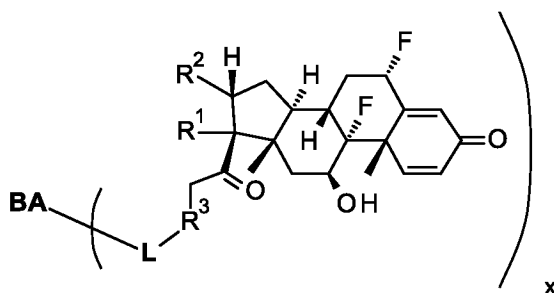
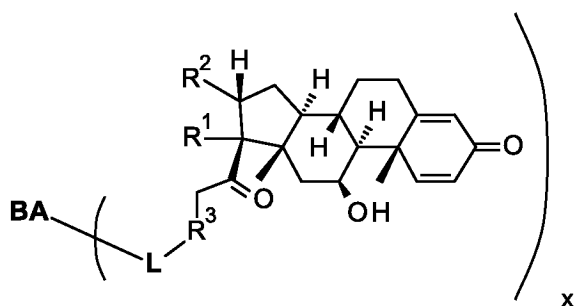
BA представляет собой связывающий агент;

каждый L представляет собой опциональный линкер;

BA или L ковалентно связан с R³ или R⁴; и

x представляет собой целое число от 1 до 30.

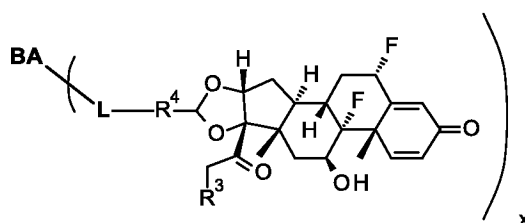
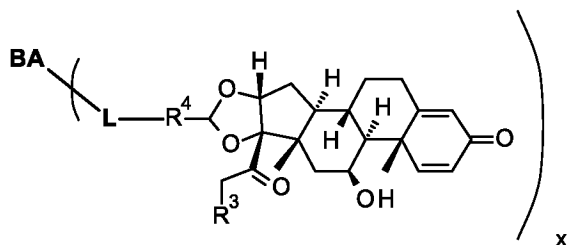
35. Соединение по п. 34, имеющее Формулу 1210, 1220, 1230, или 1240:

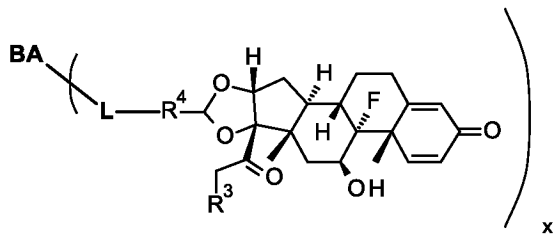


или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или их стереоизомер;

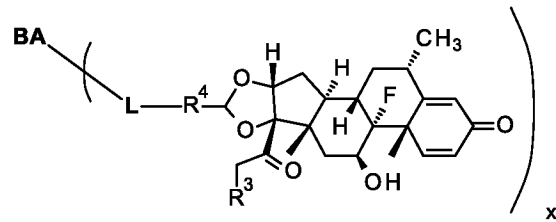
где R³ ковалентно связан с L или BA.

36. Соединение по п. 34, имеющее Формулу 1310, 1320, 1330, или 1340:





1330

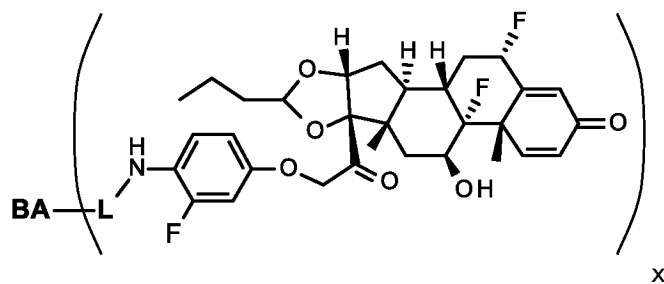
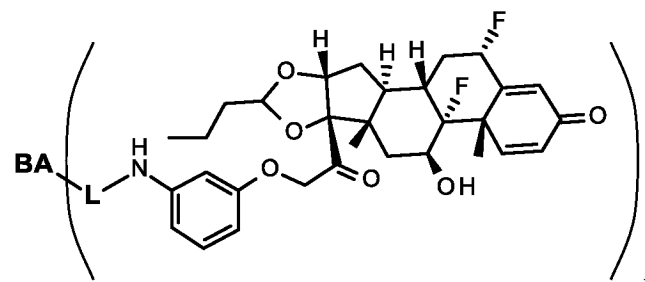
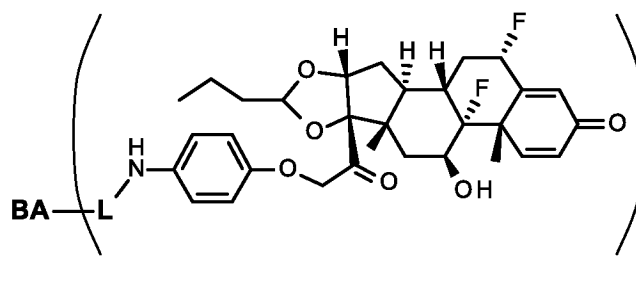
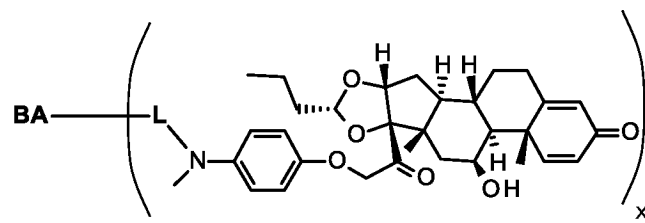
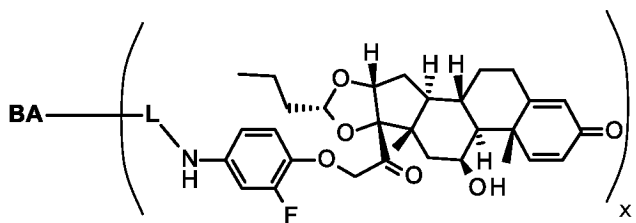
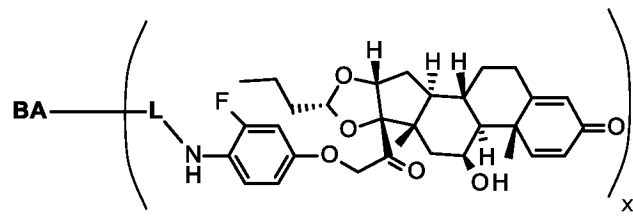
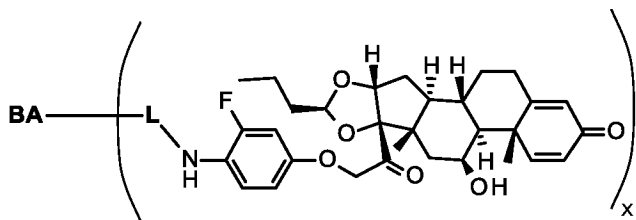
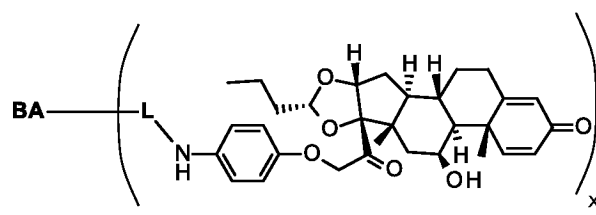
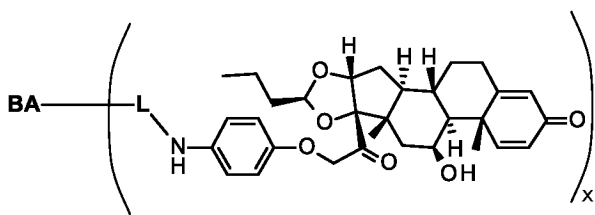


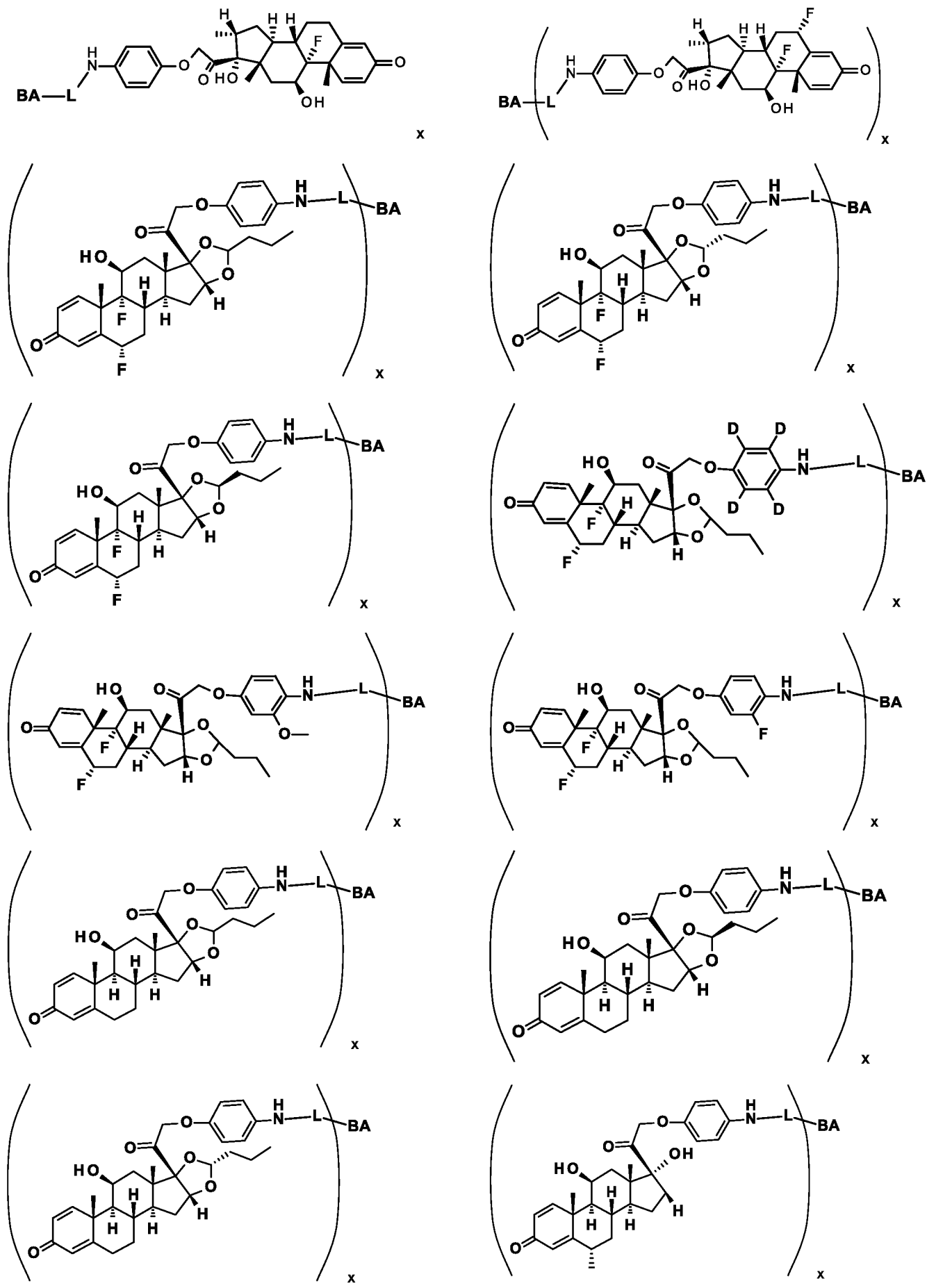
1340

или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или их стереоизомер;

где R⁴ ковалентно связан с L или ВА.

37. Соединение по п. 34, выбранное из группы, включающей:





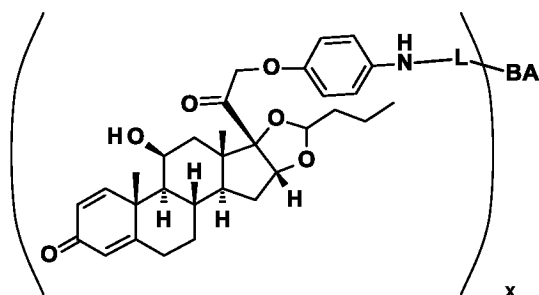
или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или их стереоизомер;

где каждый L представляет собой опциональный линкер;

каждый ВА представляет собой связывающий агент; и

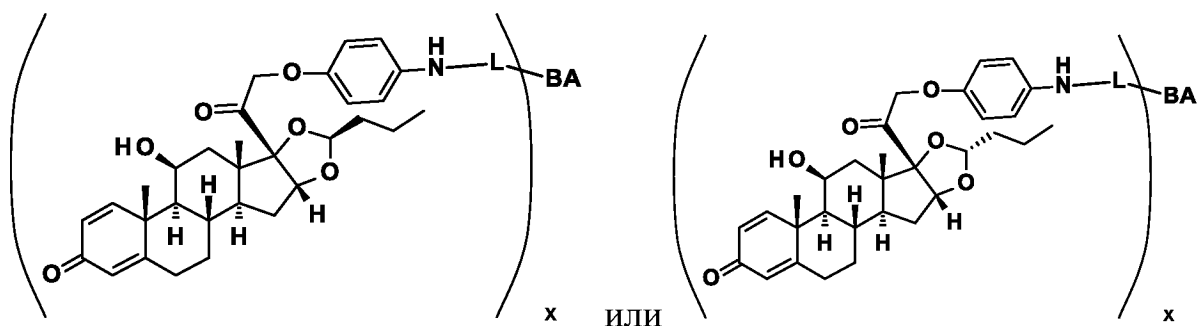
каждый x представляет собой целое число от 1 до 30.

38. Соединение по п. 34, где конъюгированное соединение представляет собой



где L, ВА и x определены в п. 34.

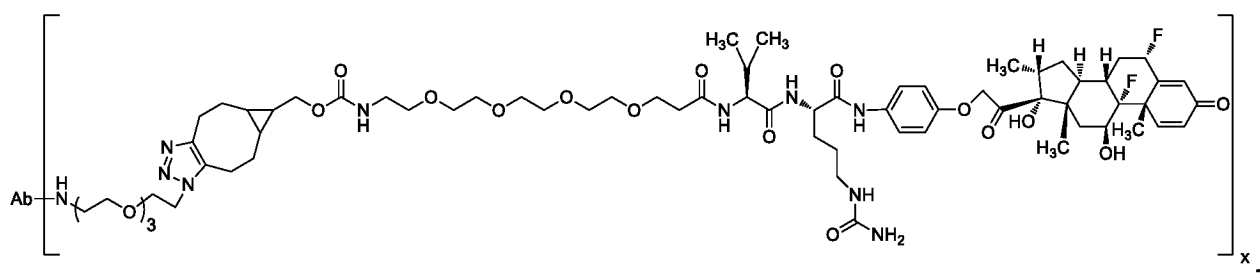
39. Соединение по п. 34, где конъюгированное соединение представляет собой

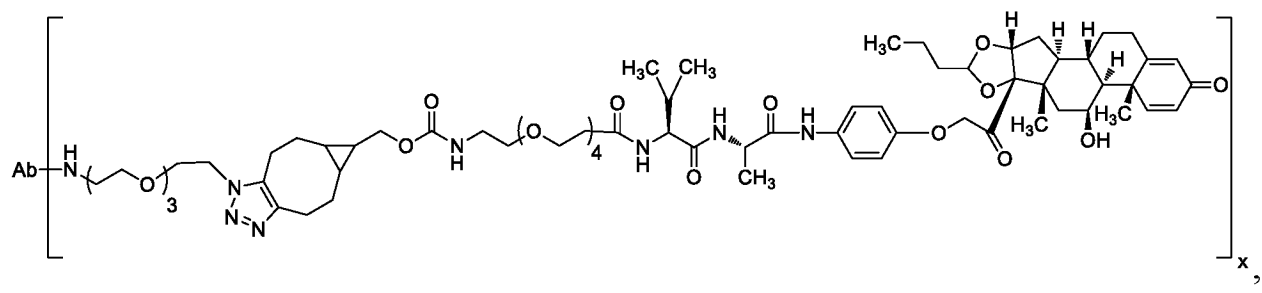
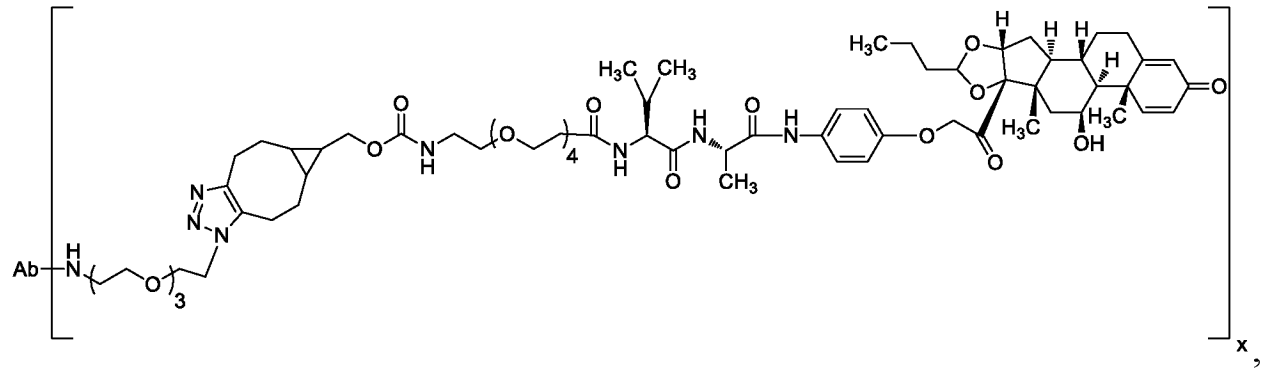
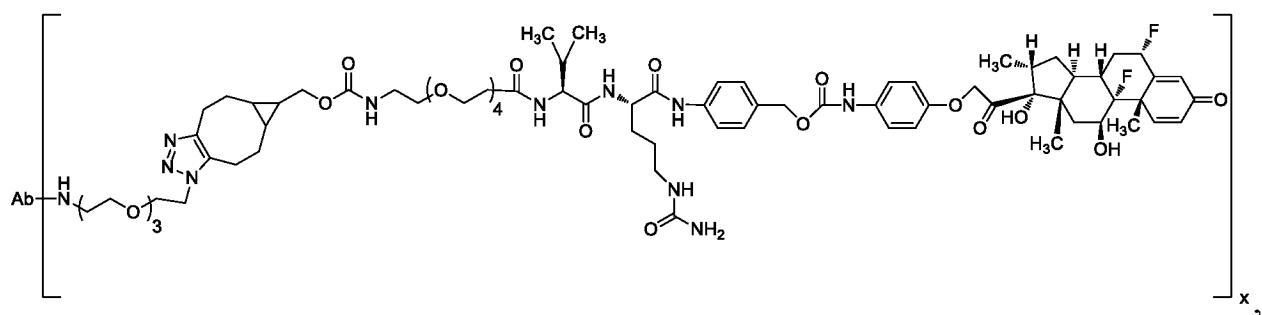
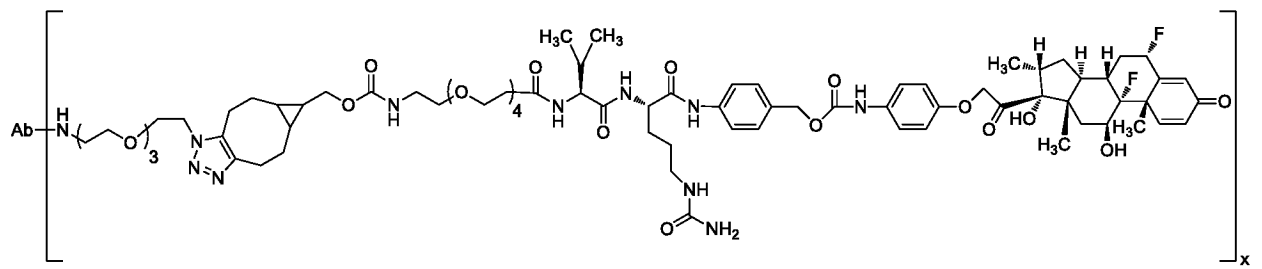
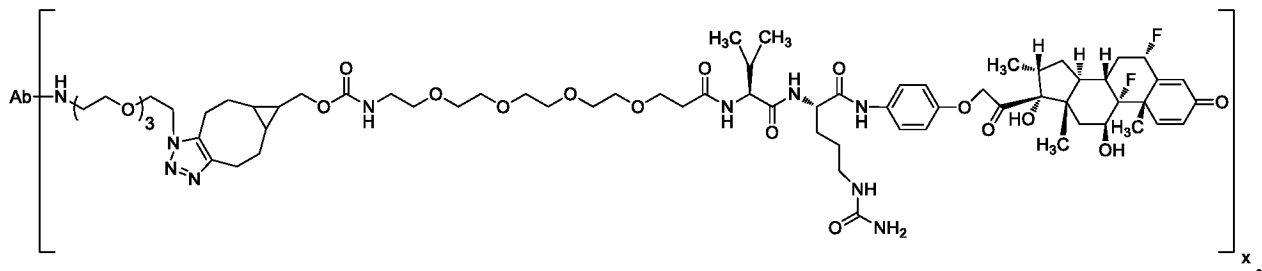


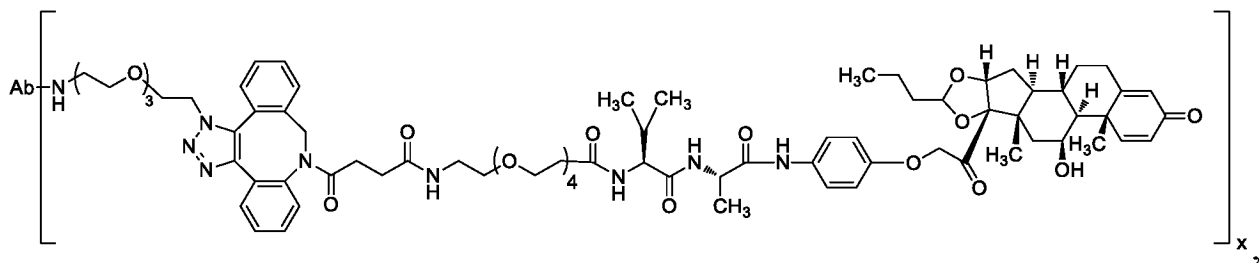
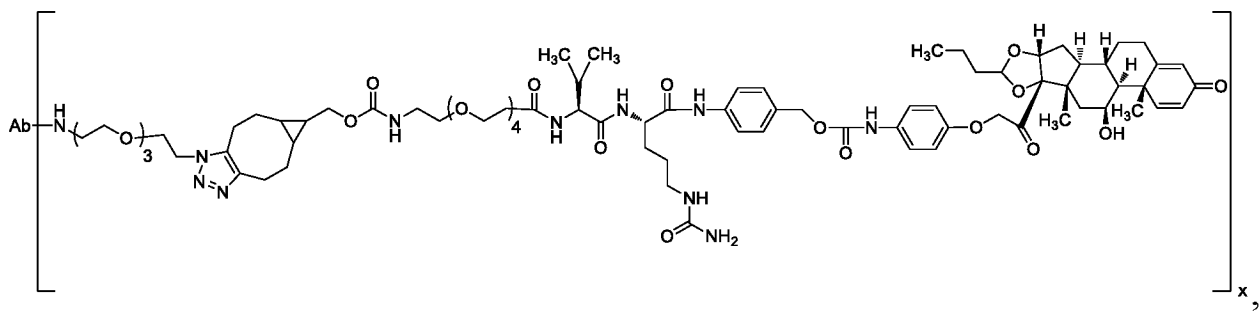
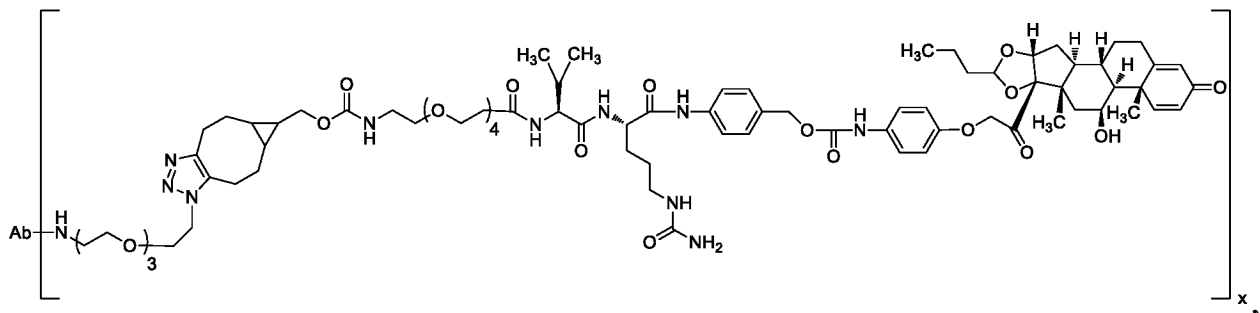
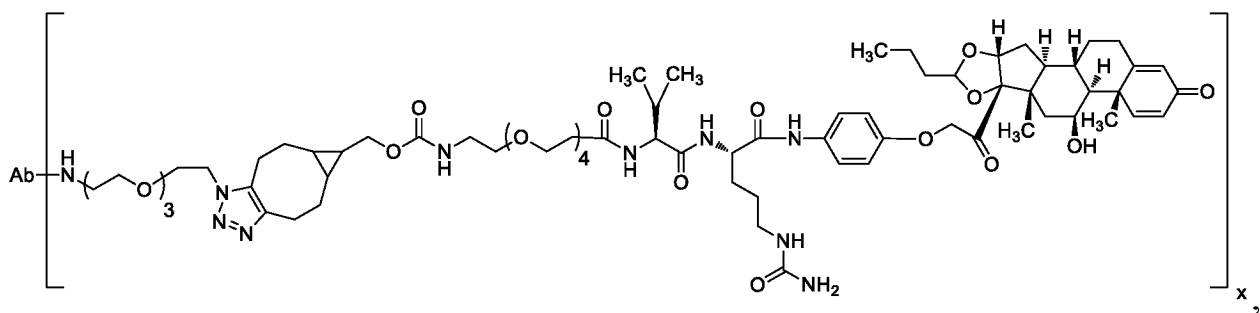
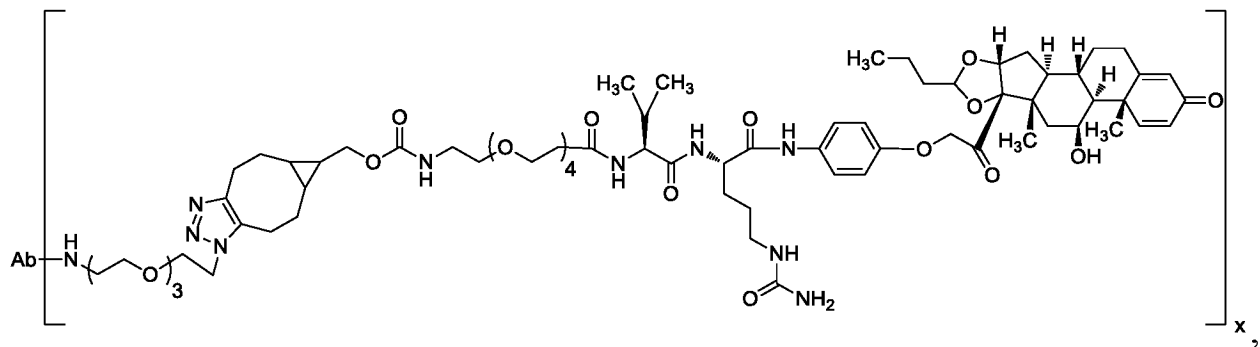
где L, ВА и x определены в п. 34.

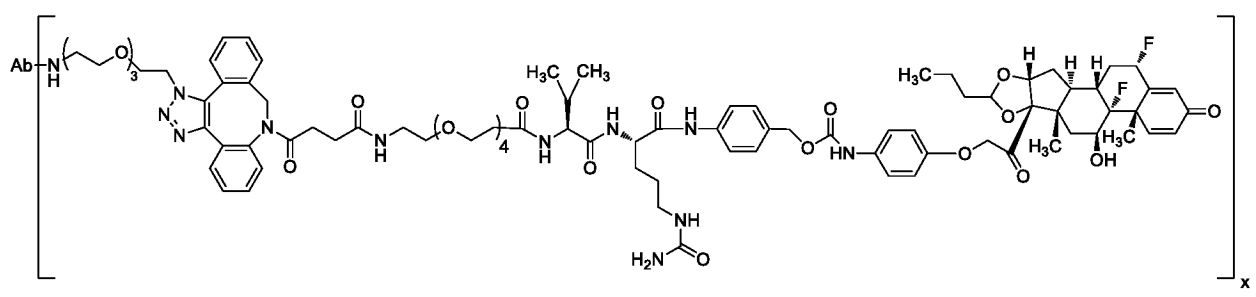
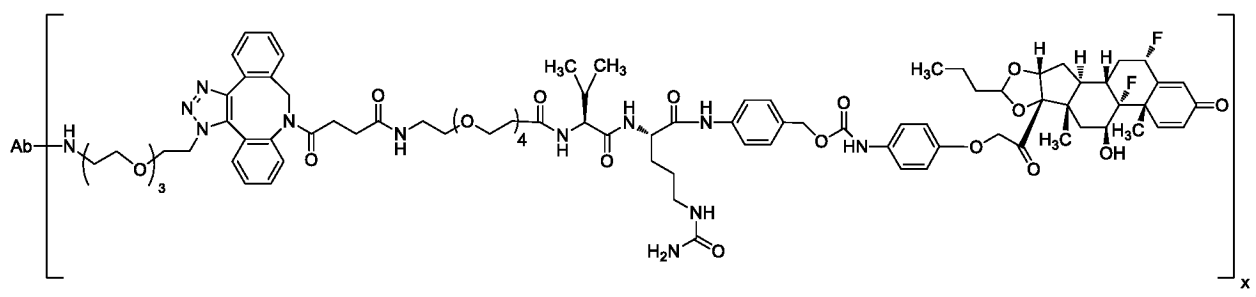
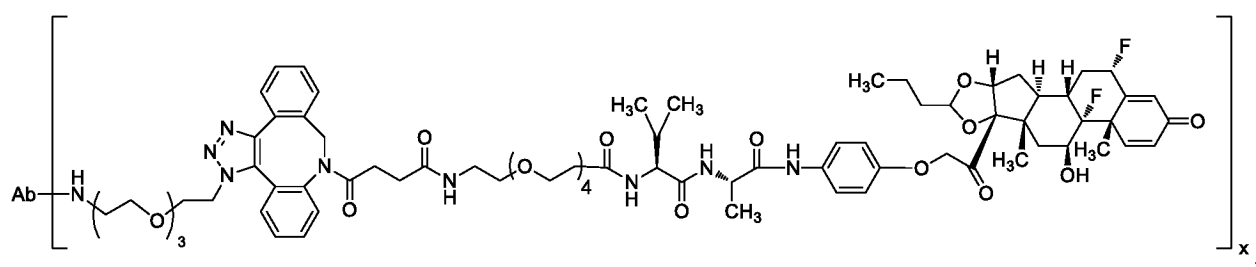
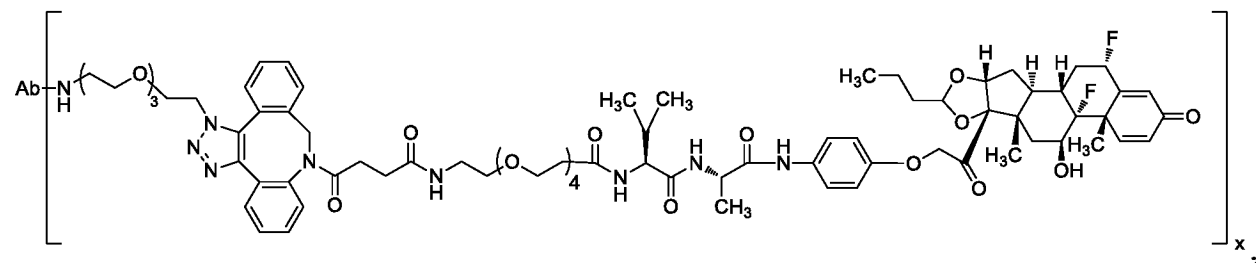
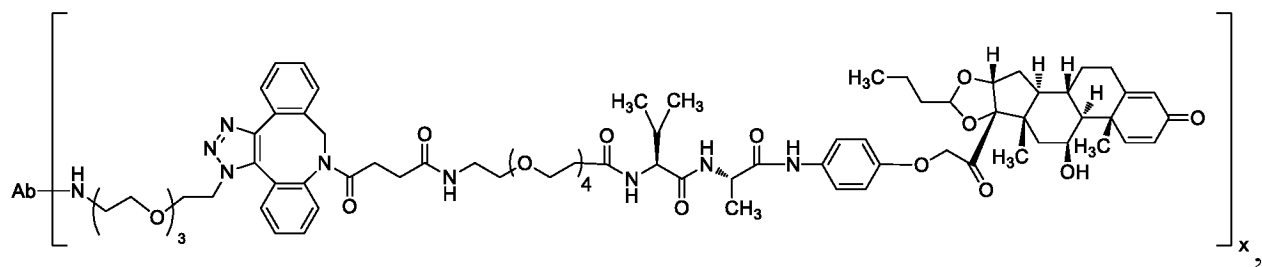
40. Конъюгированное соединение по п.п. 39 или 40, где ВА представляет собой антитело, модифицированное одной или более группами $H_2N-LL-N_3$, где LL представляет собой двухвалентный полиэтиленгликоль.

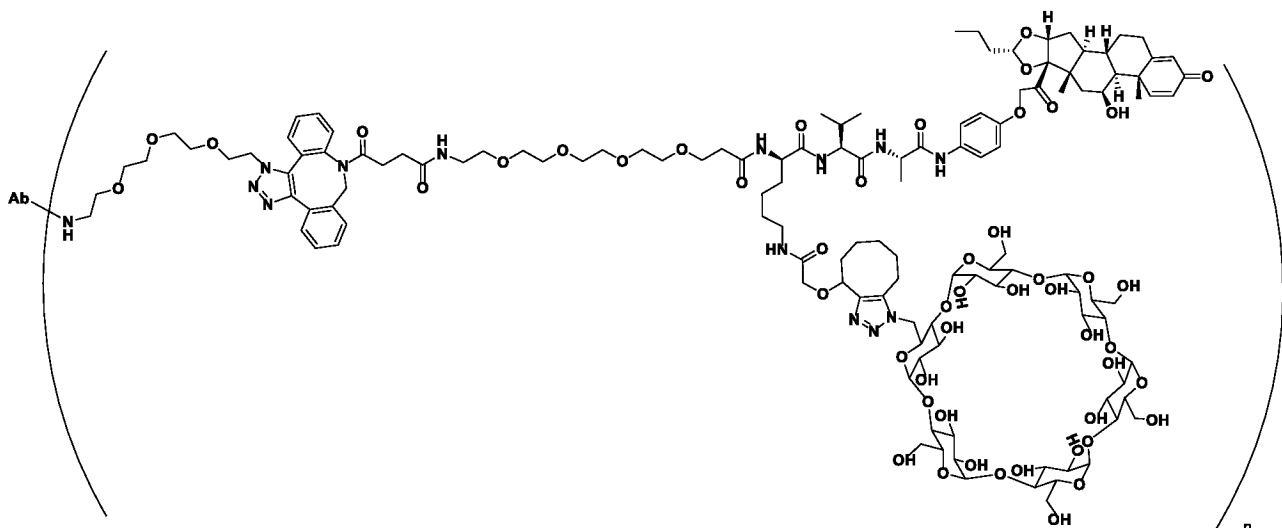
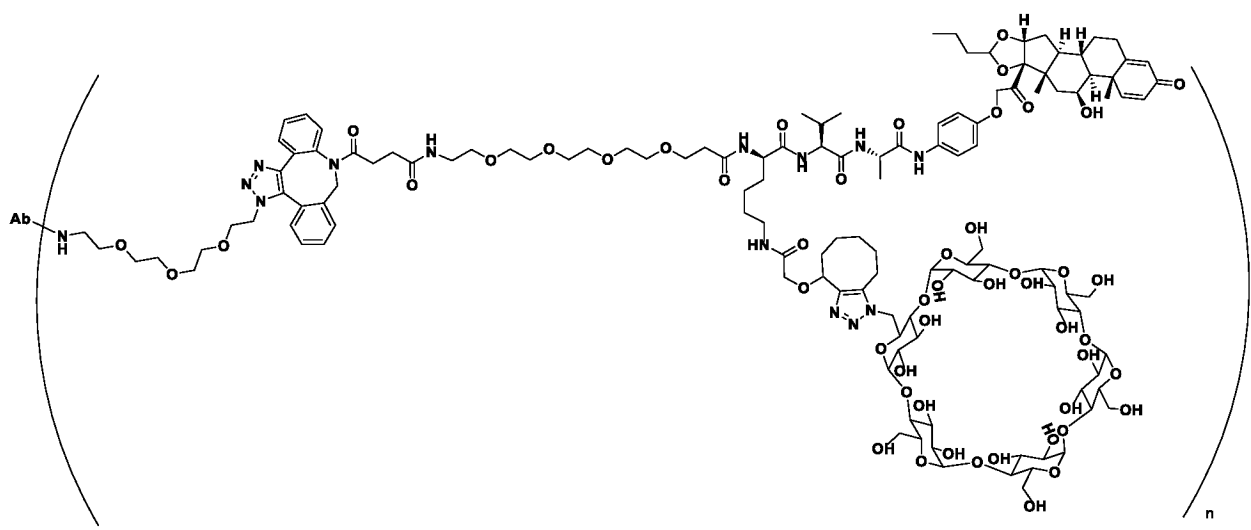
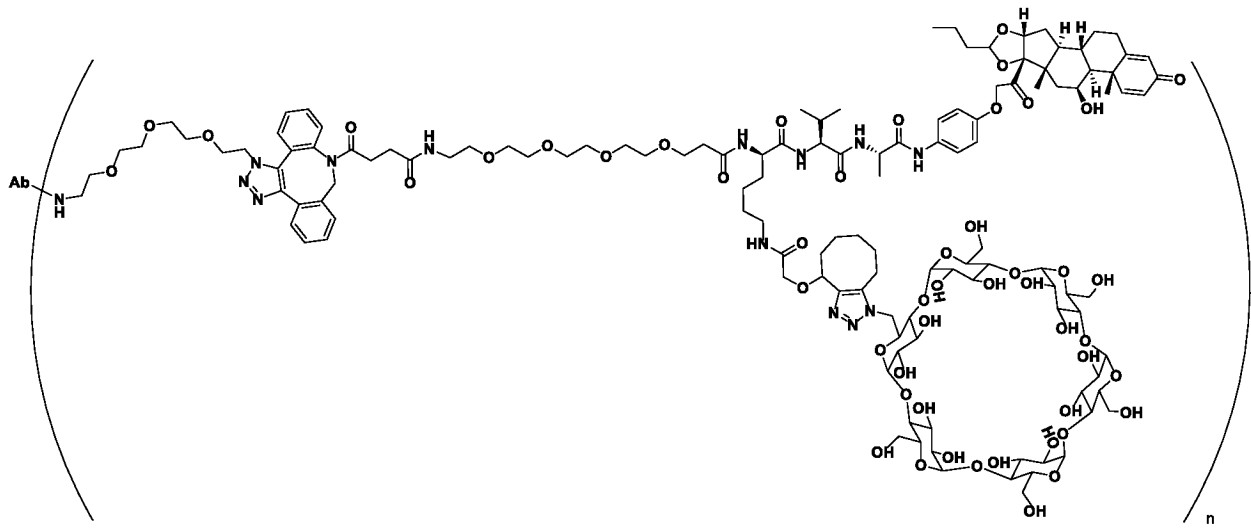
41. Соединение по п. 34, выбранное из группы, включающей:

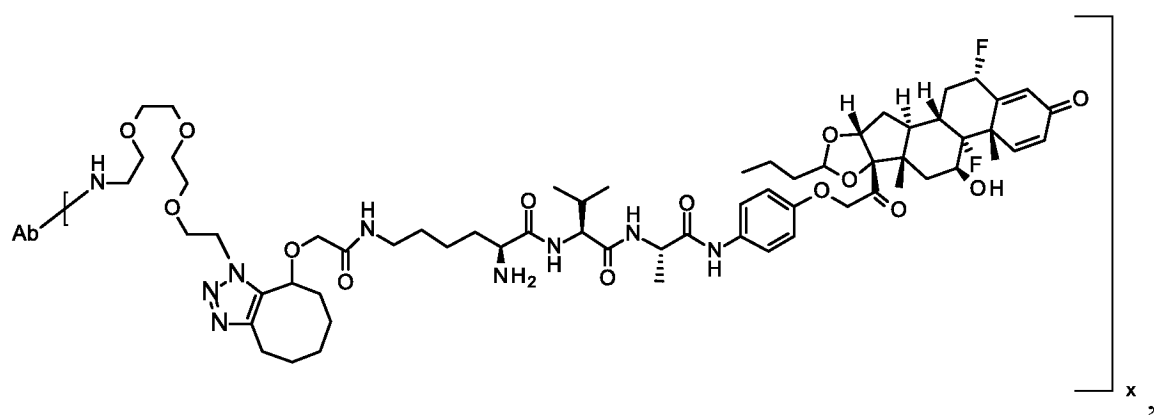
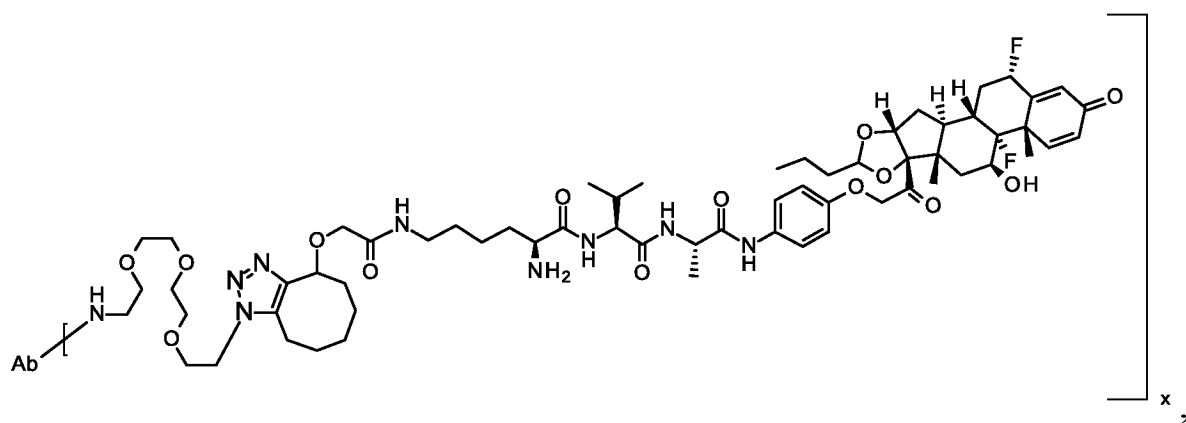
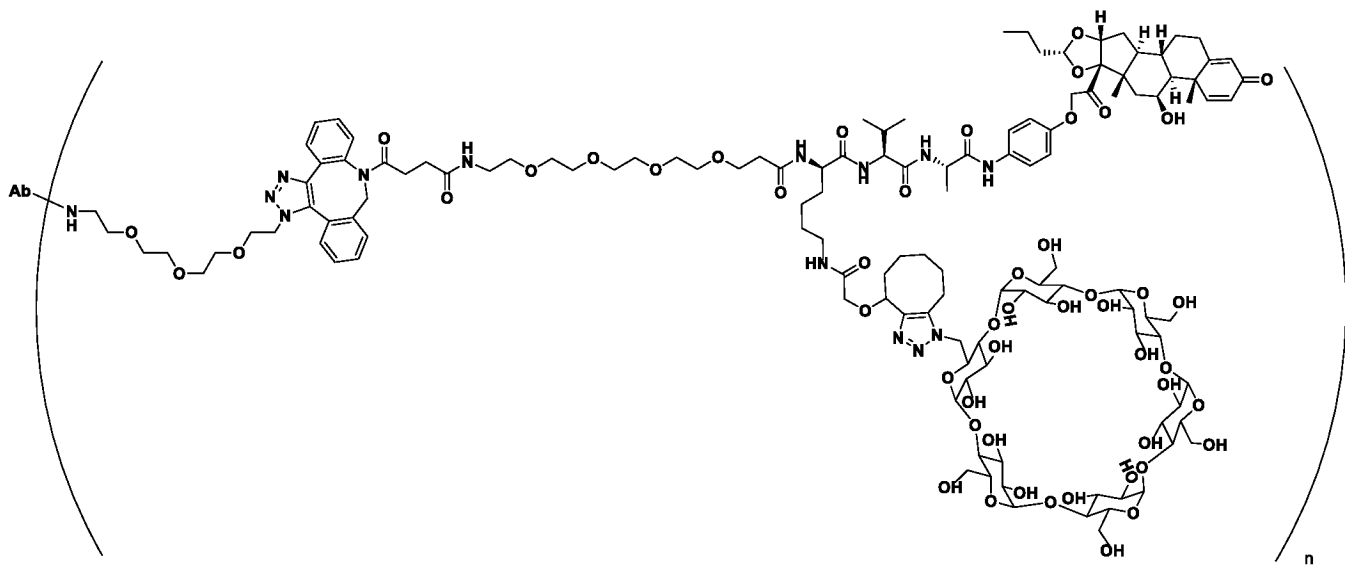


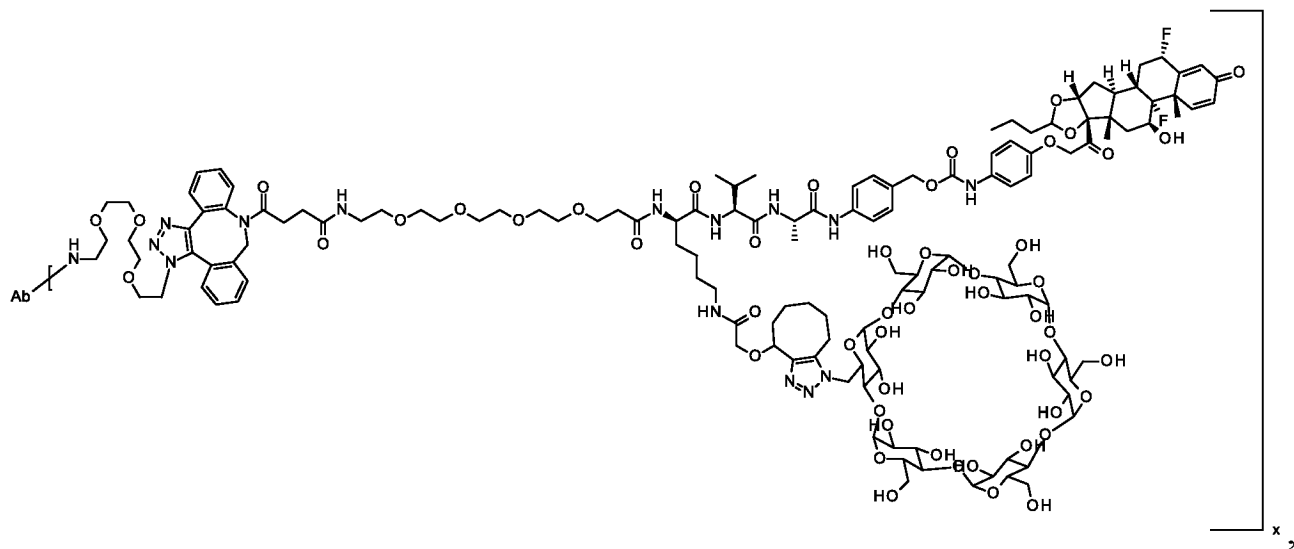
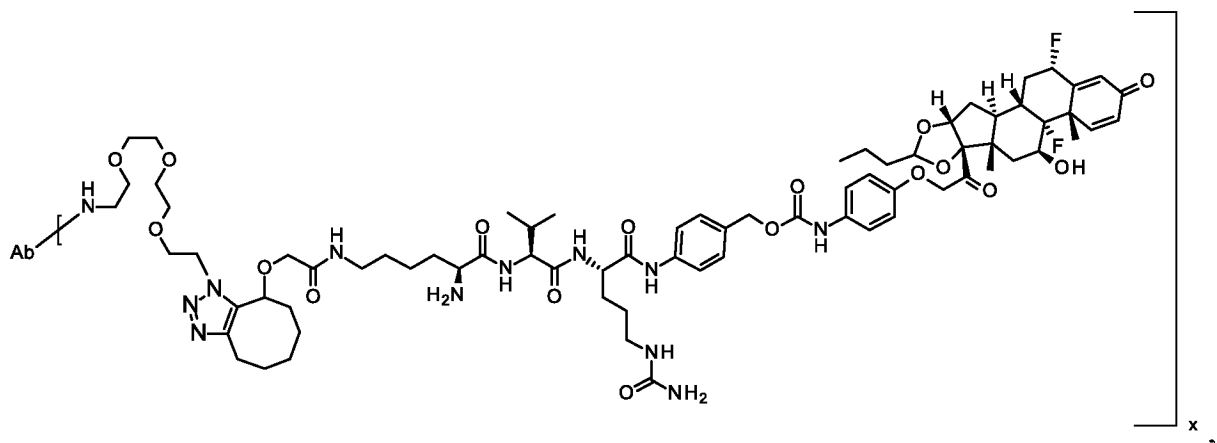
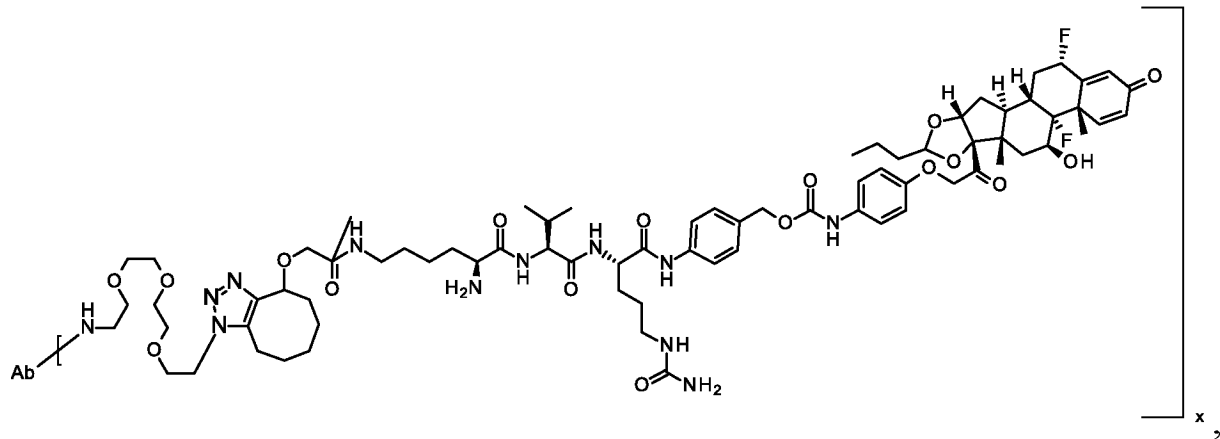


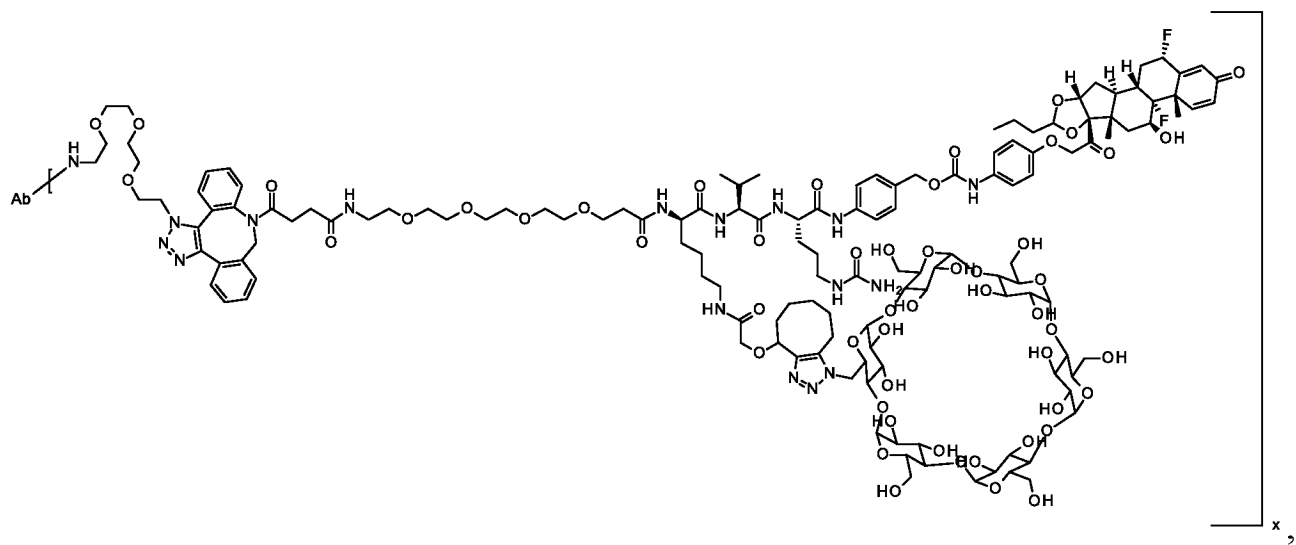
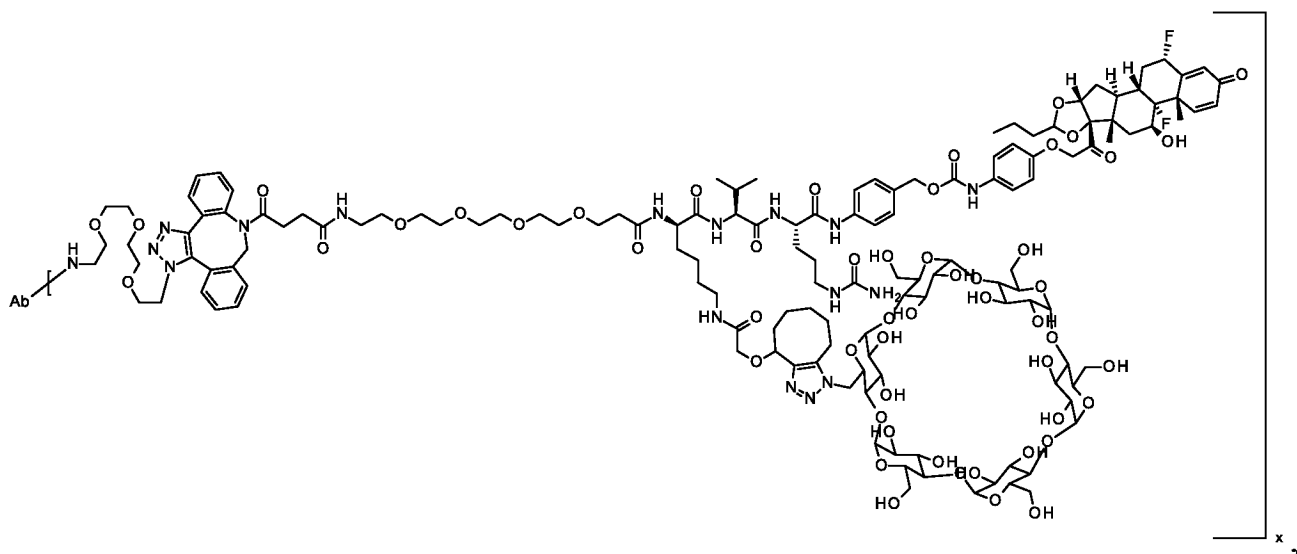
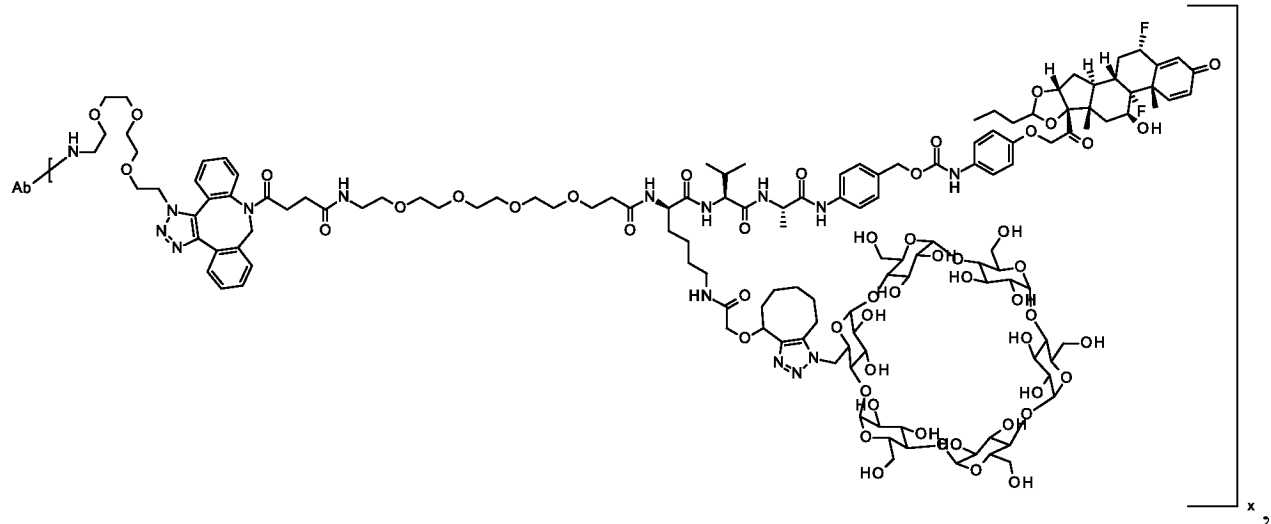


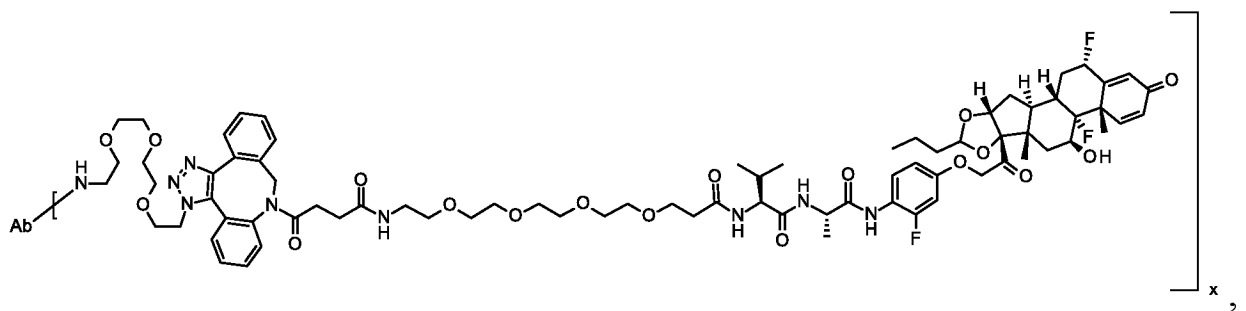
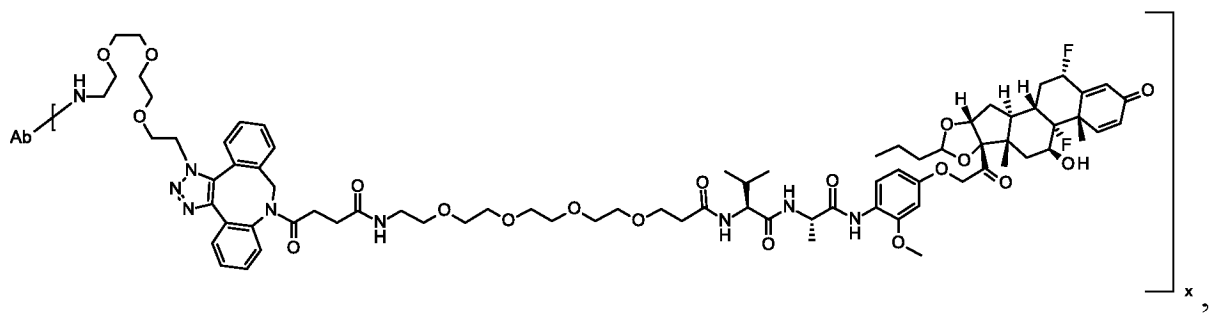
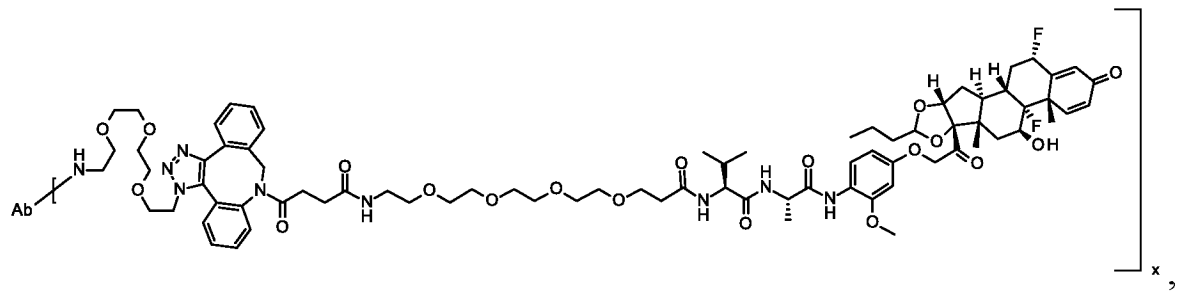
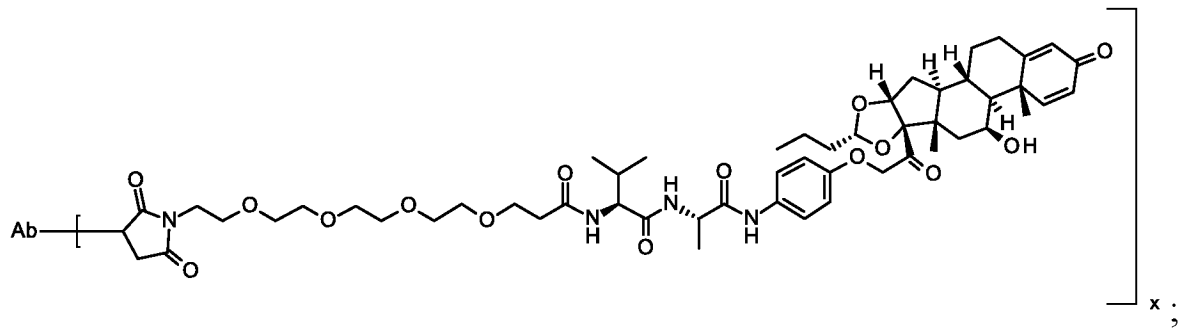


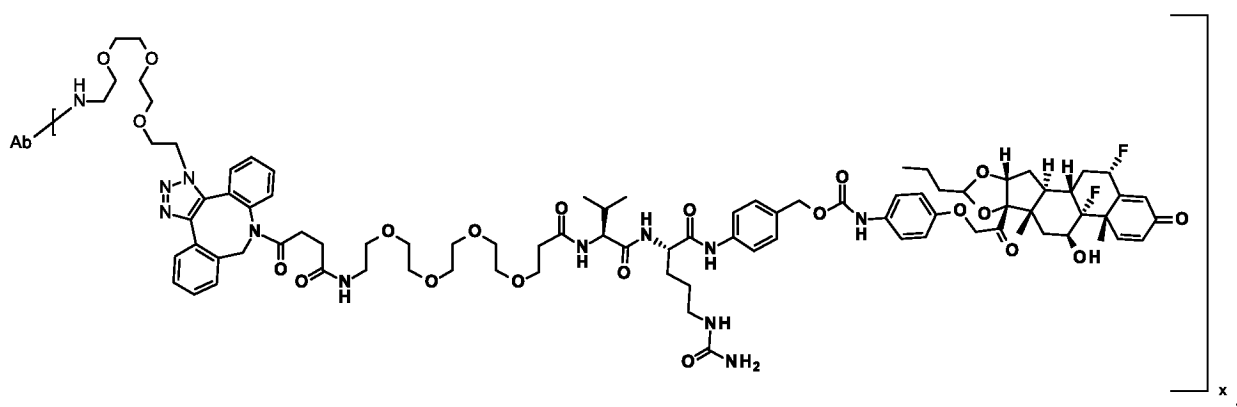
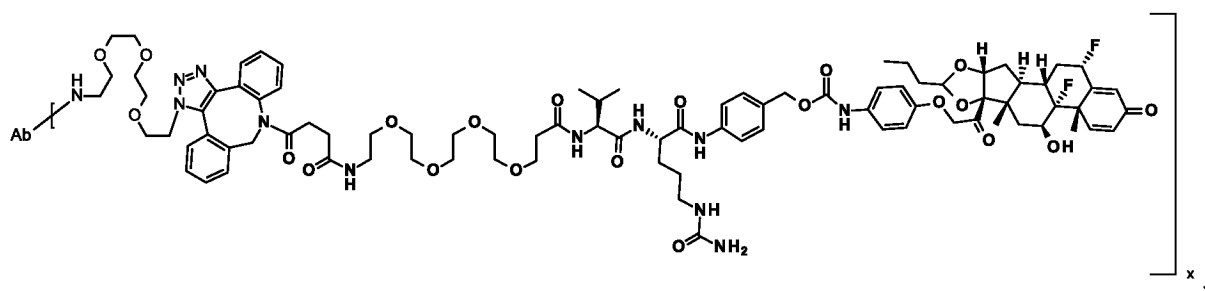
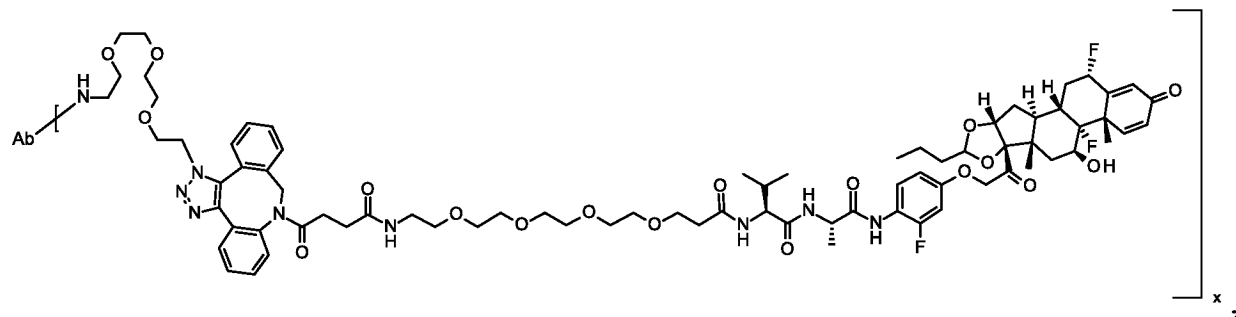












где x представляет собой целое число от 1 до 30; и n представляет собой целое число от 1 до 30;

или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или их стереоизомер.

42. Фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество соединения по любому из п.п. 1-27, и фармацевтически приемлемый носитель или терапевтически эффективное количество соединения по любому из п.п. 28-41 и фармацевтически приемлемый носитель.

43. Способ лечения заболевания, нарушения или состояния, связанного с передачей сигналов глюкокортикоидных рецепторов, включающий введение пациенту, страдающему упомянутым заболеванием, нарушением или состоянием,

терапевтически эффективного количества соединения по любому из п.п. 1-27 или соединения по любому из п.п. 28-41.

44. Способ по п. 43, где заболеванием, нарушением или состоянием является воспалительное заболевание, нарушение или состояние.

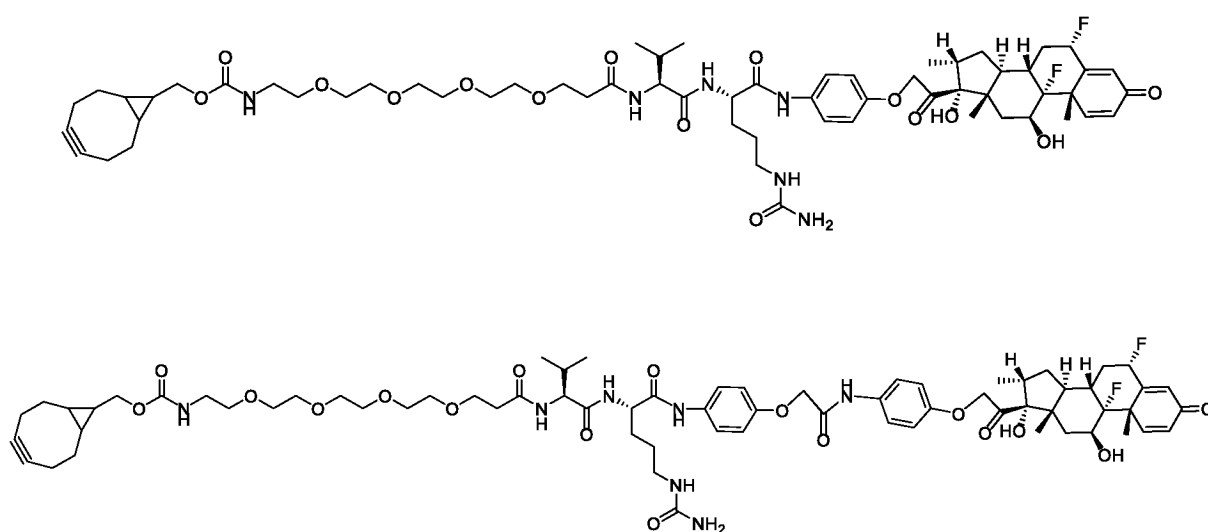
45. Способ по п. 44, где вводят соединение по любому из п.п. 26-27 или п.п. 38-39.

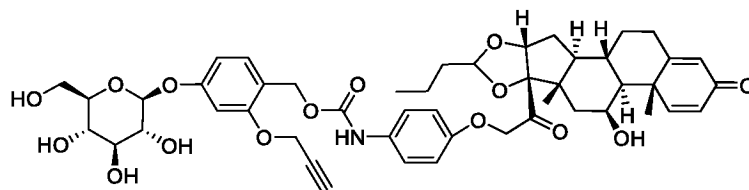
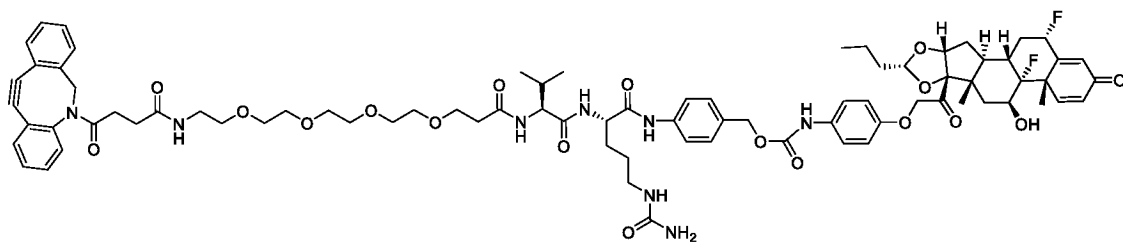
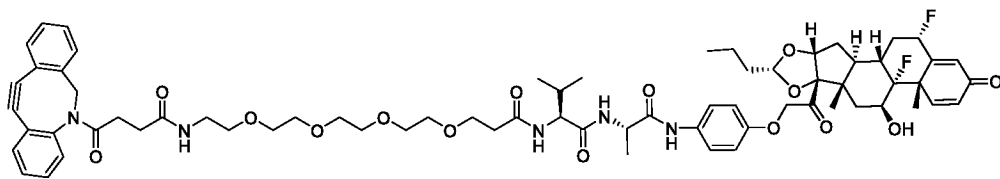
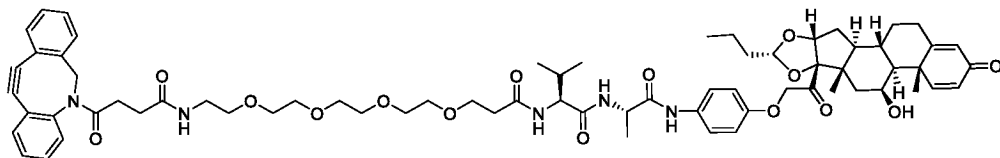
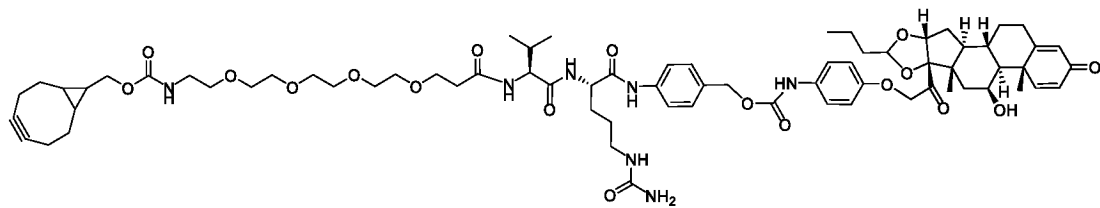
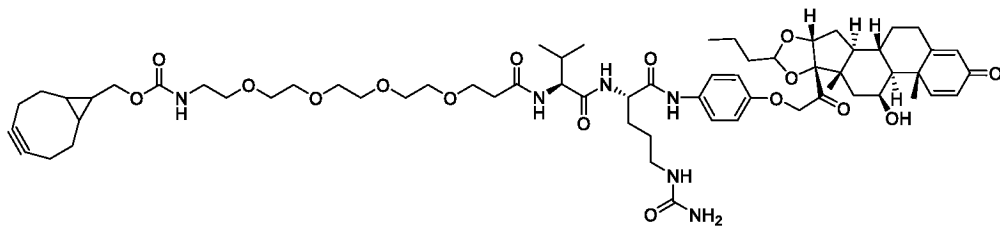
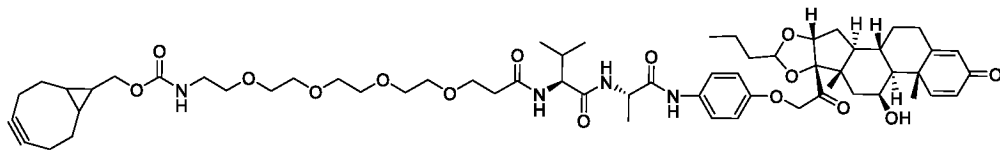
46. Способ по п. 45, где снижены побочные эффекты, связанные с введением неконъюгированной стероидной полезной нагрузки упомянутого соединения.

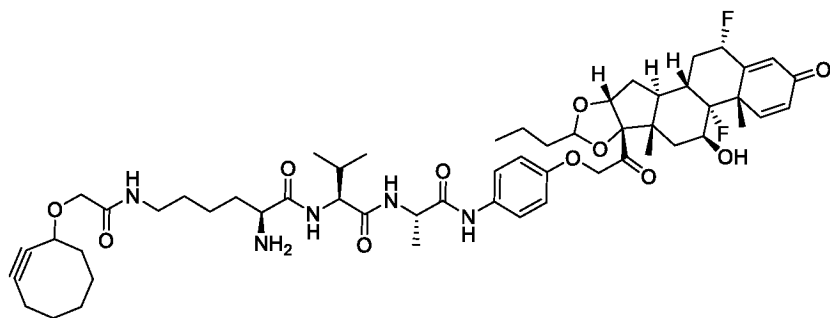
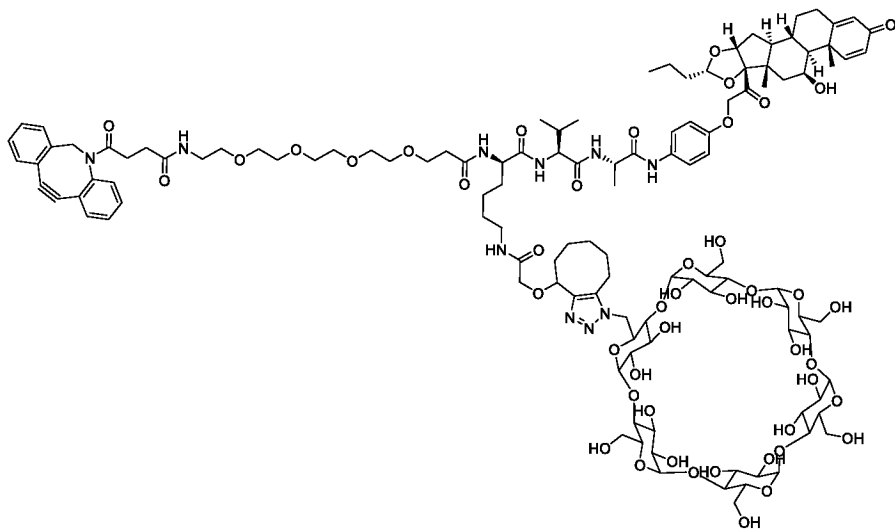
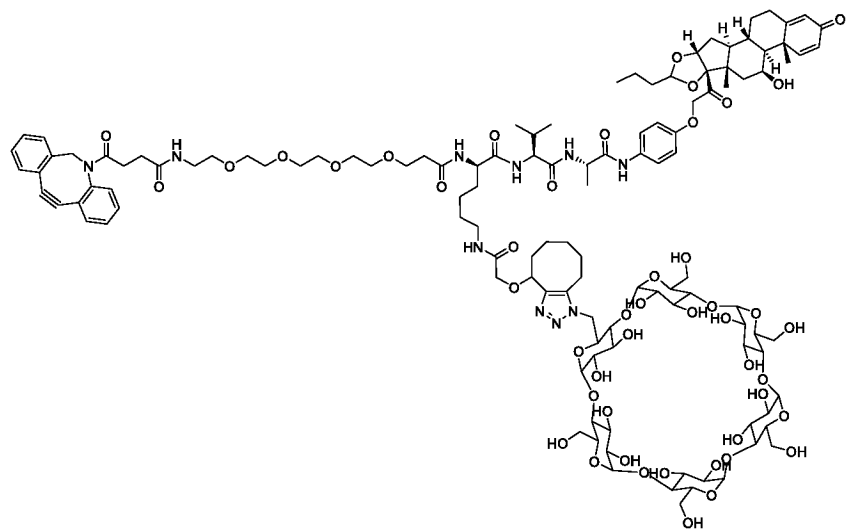
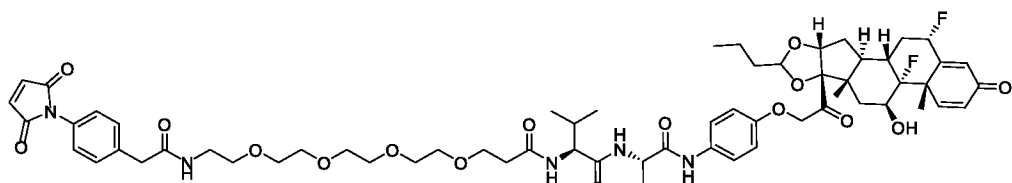
47. Способ доставки соединения по п.1 до клетки, включающий контактирование упомянутой клетки с протеин-стероидным конъюгатом, где упомянутый протеин включает антитело или его антиген-связывающий фрагмент, который связывает поверхностный антиген упомянутой клетки.

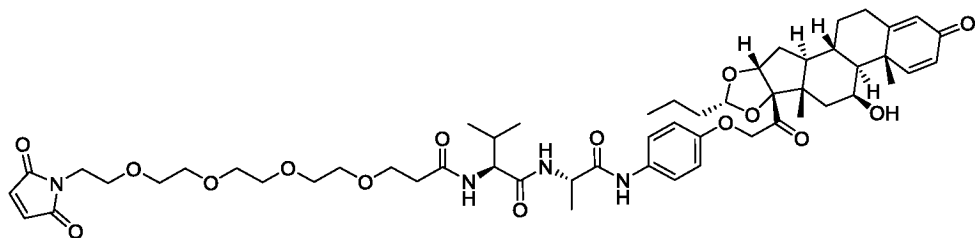
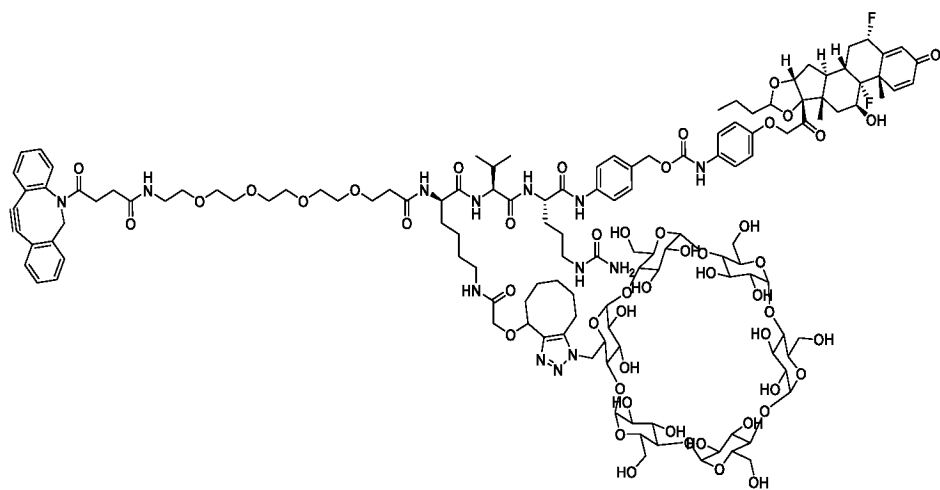
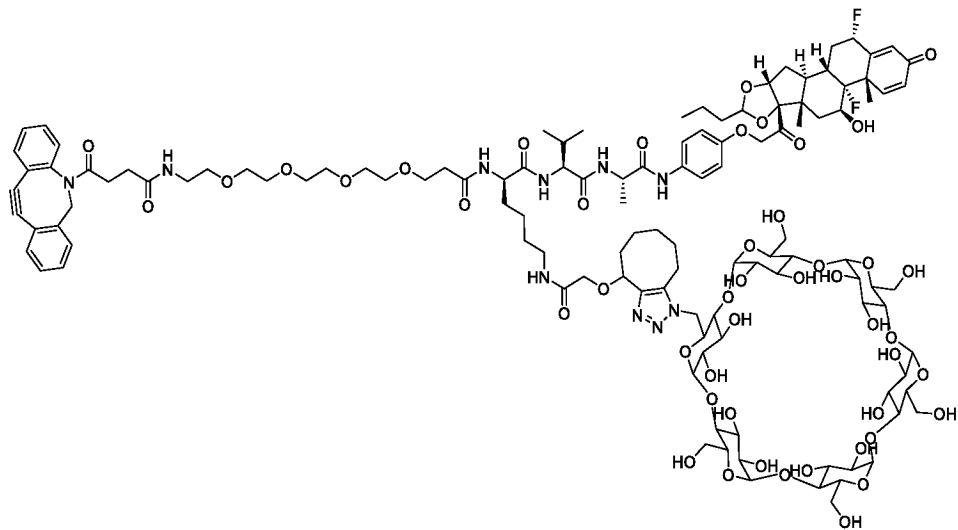
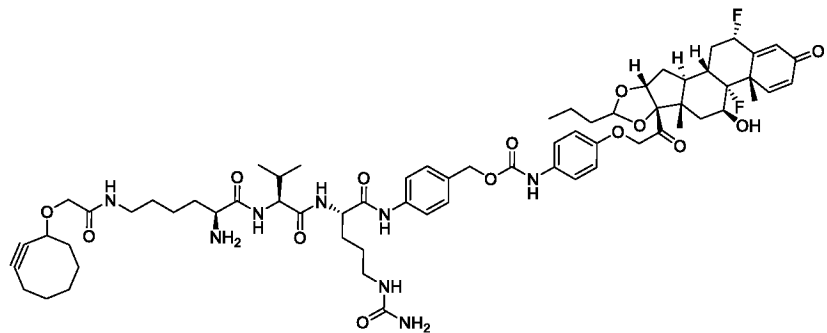
48. Линкерное соединение, содержащее полезную нагрузку, включающее соединение по любому из п.п 1-27, связанное с реакционноспособной группой посредством линкера.

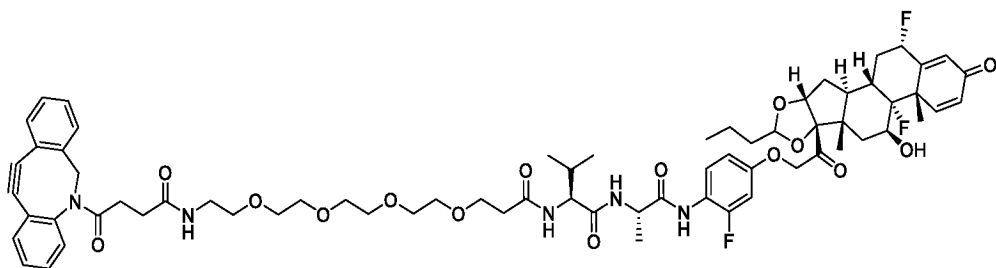
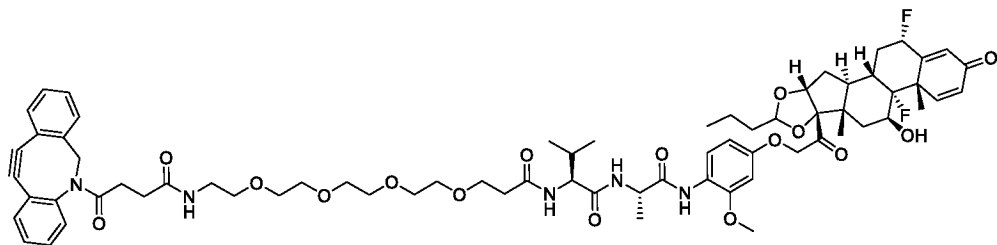
49. Линкерное соединение по п. 48, содержащее полезную нагрузку, выбранное из группы, включающей:



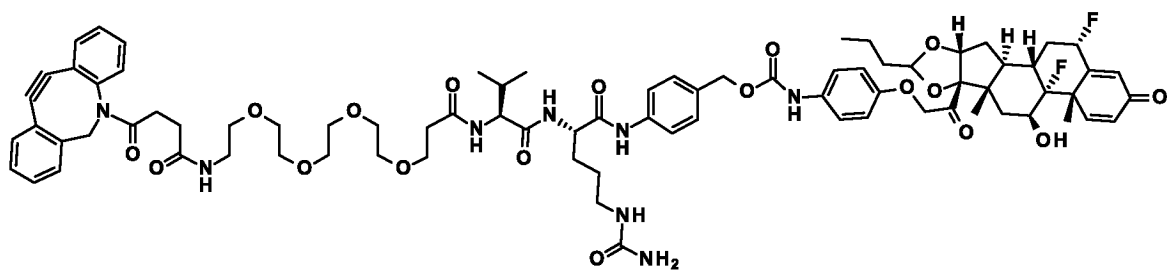


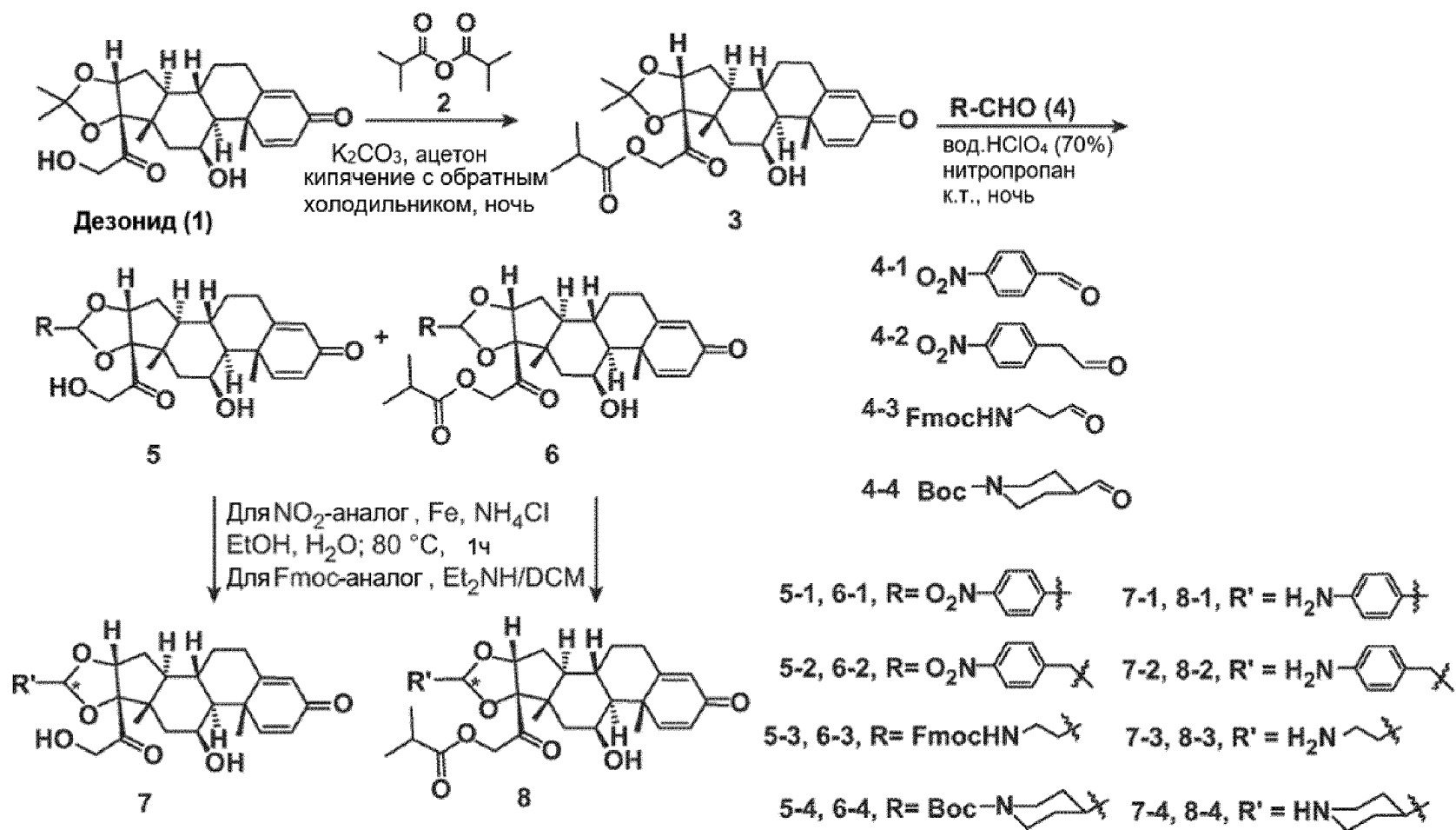




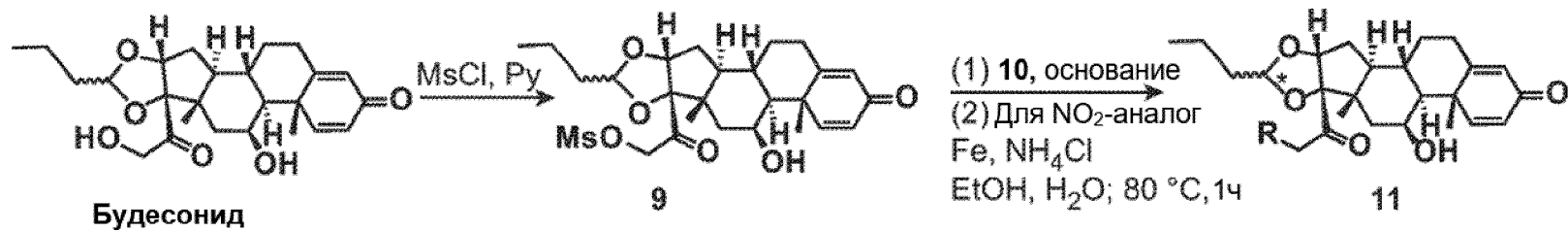


И



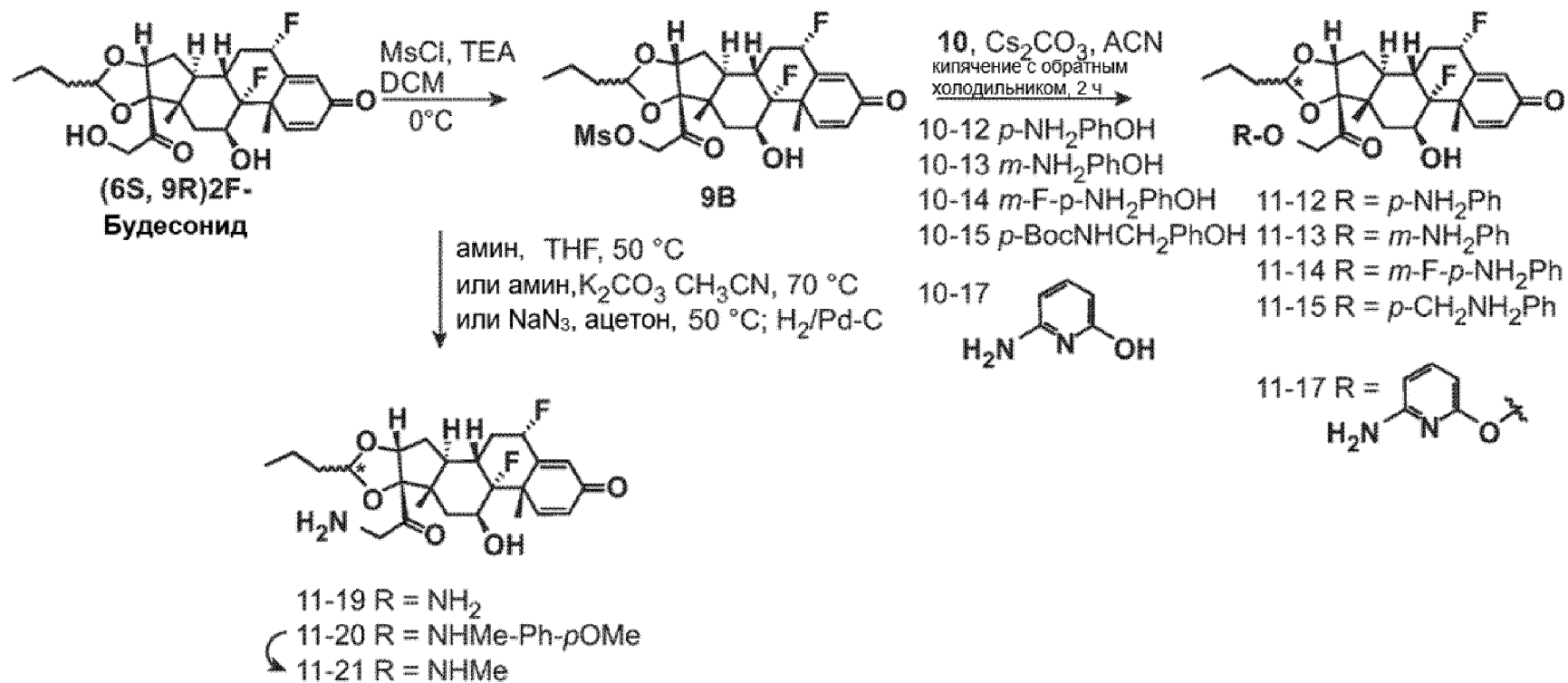


ФИГ. 1

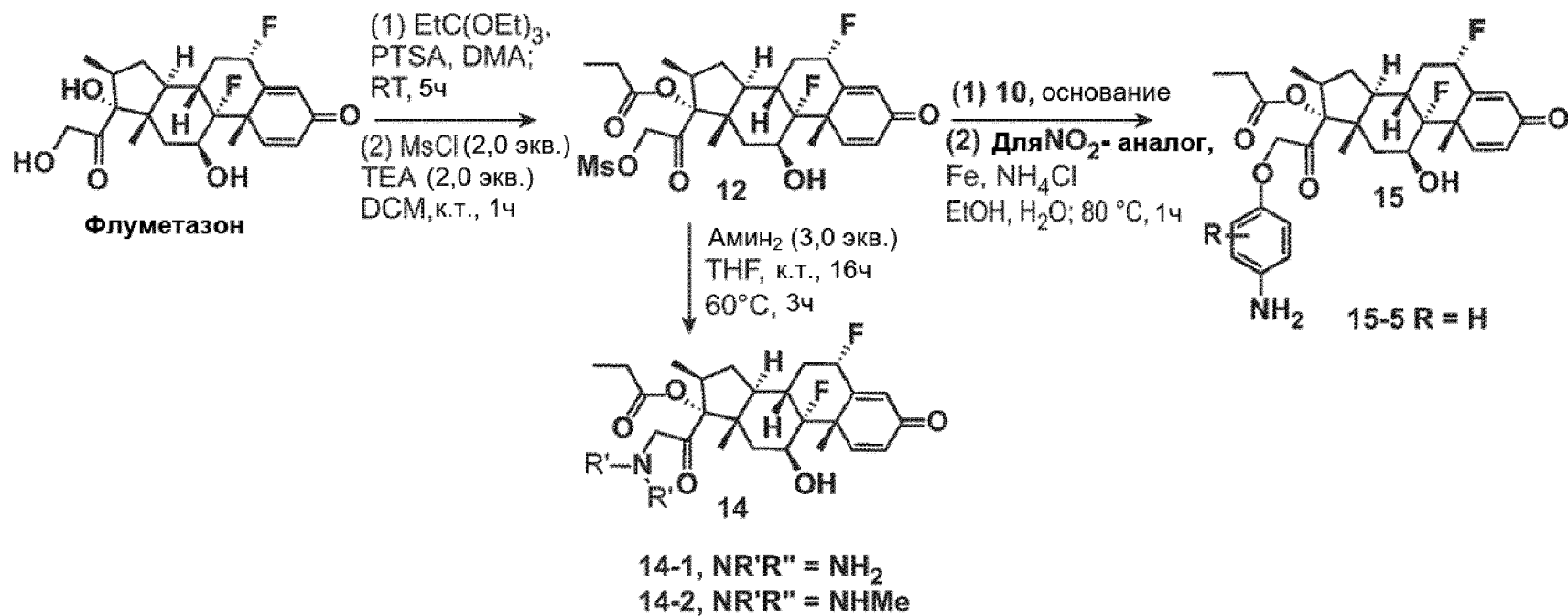


- | | |
|---|--|
| 10-1 NH ₃ | 11-1 R = NH ₂ |
| 10-2 NH ₂ Me | 11-2 R = N ₂ Me |
| 10-3 NHMe ₂ | 11-3 R = NMe ₂ |
| 10-4 HN | 11-4 R = HN |
| 10-5 <i>p</i> -NO ₂ -PhOH | 11-5 R = <i>p</i> -NH ₂ -PhO |
| 10-6 <i>m</i> -F- <i>p</i> -NO ₂ -PhOH | 11-6 R = <i>m</i> -F- <i>p</i> -NH ₂ -PhO |
| 10-7 <i>o</i> -F- <i>p</i> -NO ₂ -PhOH | 11-7 R = <i>o</i> -F- <i>p</i> -NH ₂ -PhO |
| 10-8 <i>p</i> -MeNH-PhOH | 11-8 R = <i>p</i> -MeNH-PhO |
| 10-10 <i>p</i> -F-PhOH | 11-10 R = <i>p</i> -F-PhO |
| 10-11 <i>p</i> -AcNH-PhOH | 11-11 R = <i>p</i> -AcNH-PhO |
| 10-16 <i>p</i> -OH-PhOH | 11-16 R = <i>p</i> -OH-PhO |
| 10-12 <i>p</i> -NH ₂ -PhOH | |

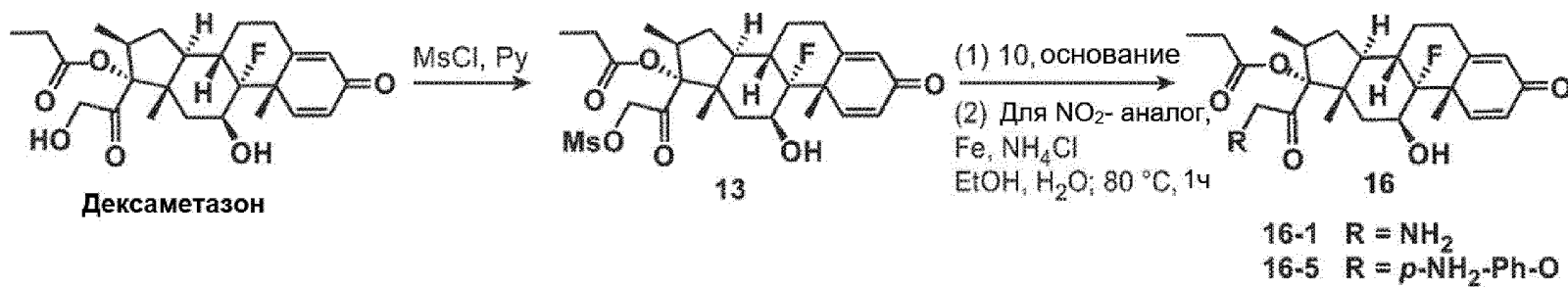
ФИГ. 2



ФИГ. 2 (Продолжение)

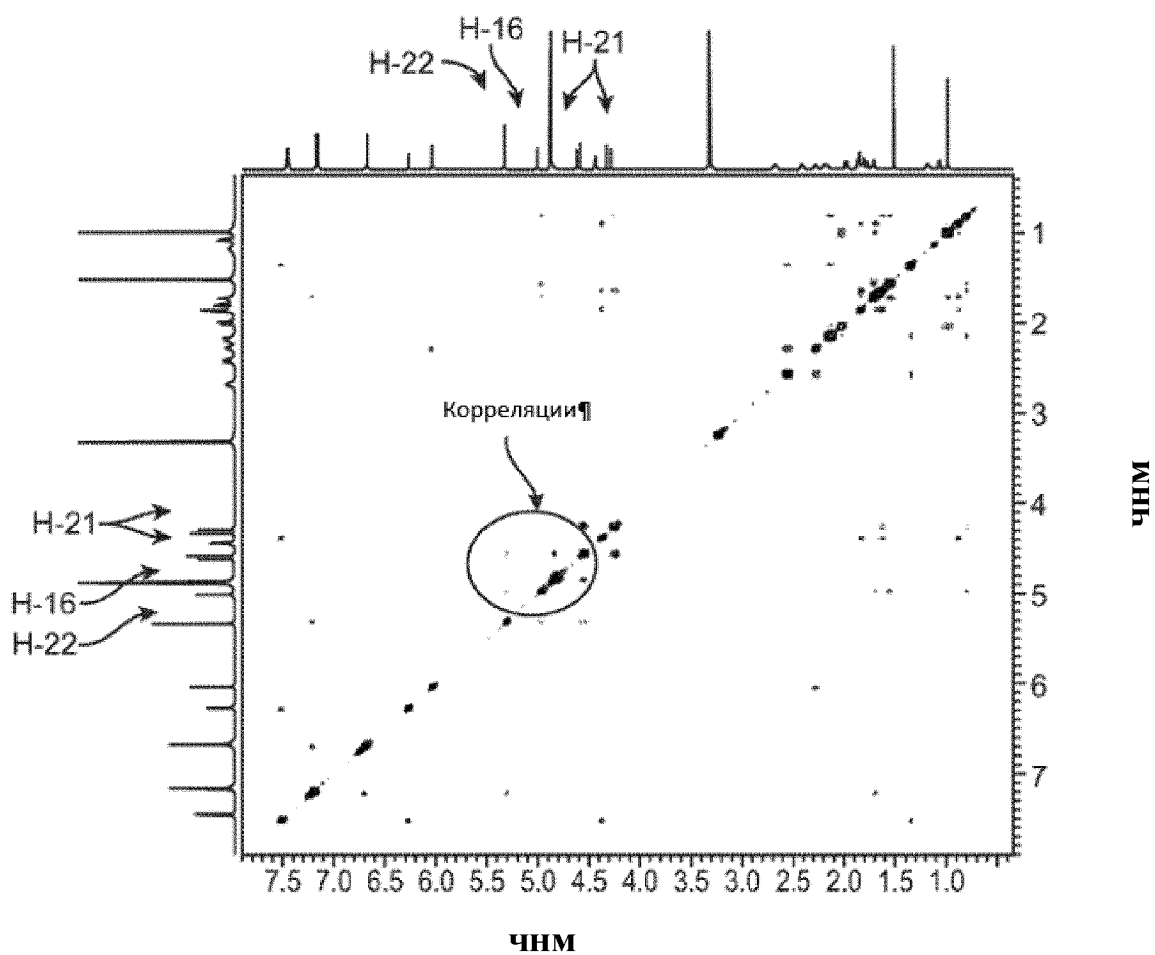
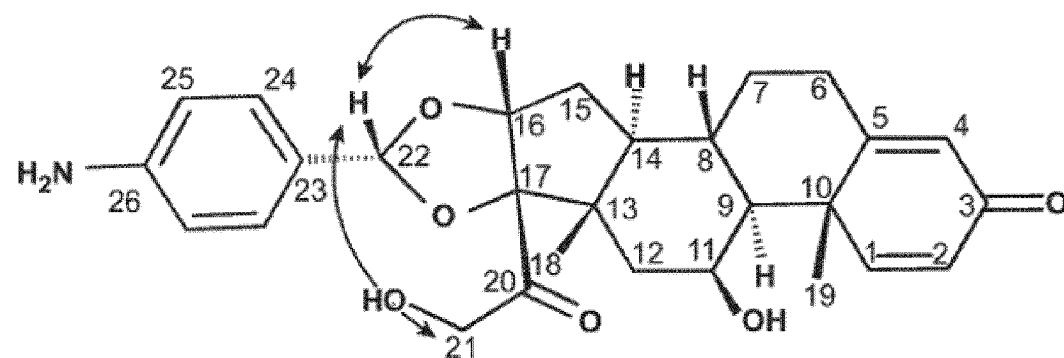


ФИГ. 3



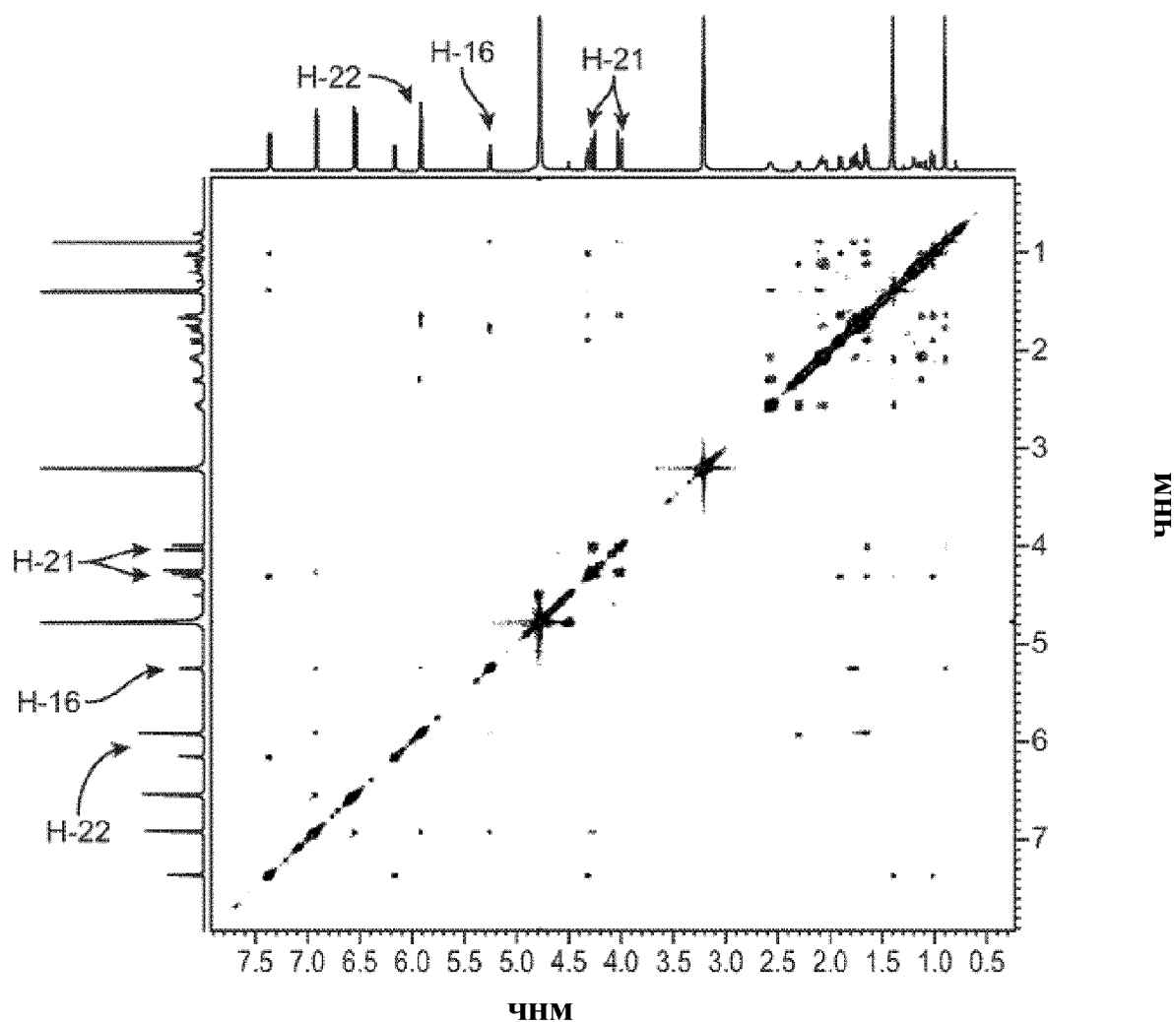
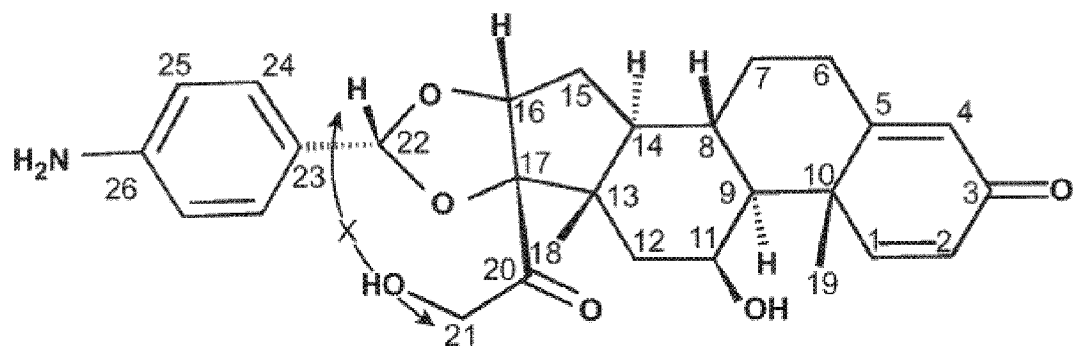
ФИГ. 4

6/45



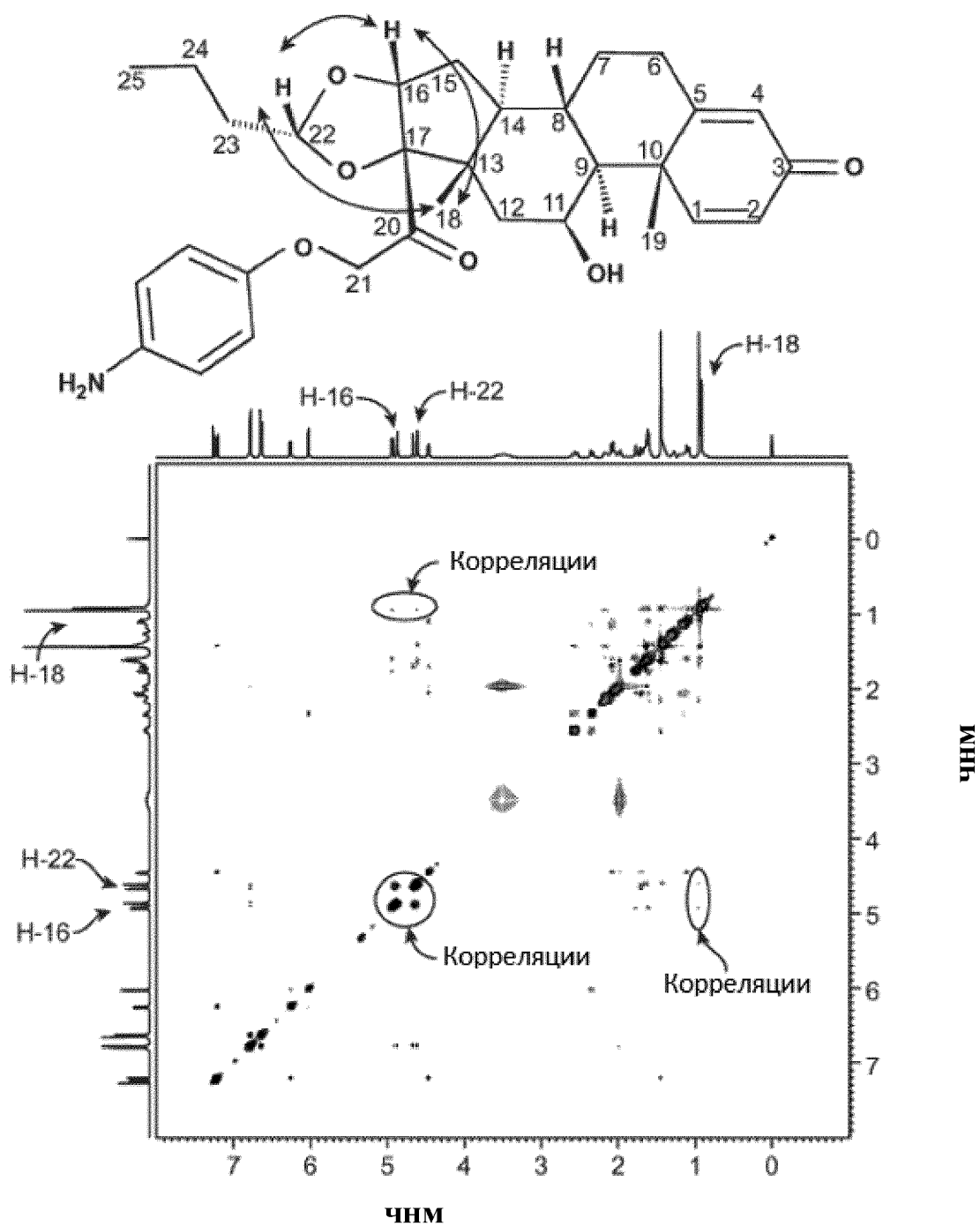
ФИГ. 5

7/45



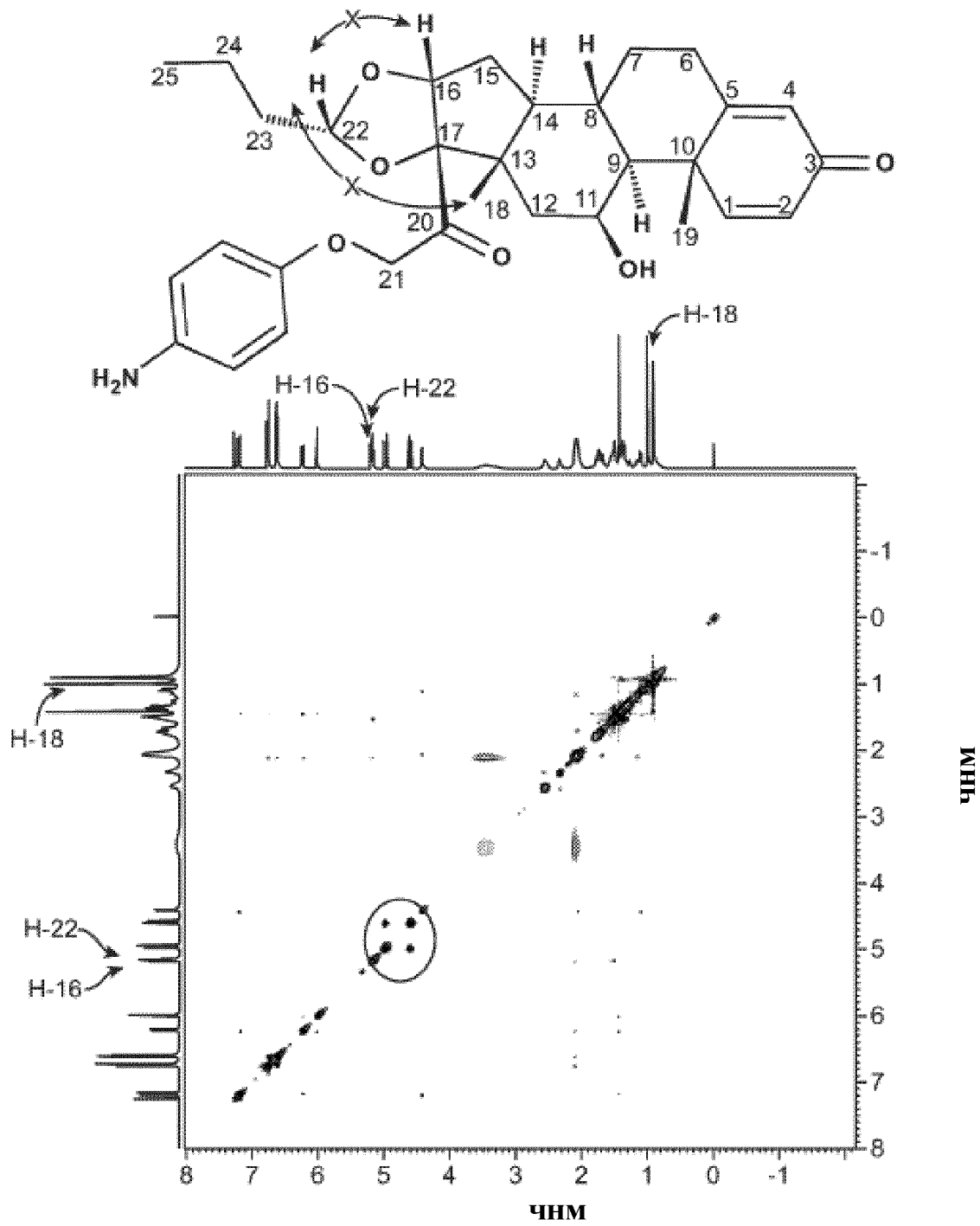
ФИГ. 6

8/45

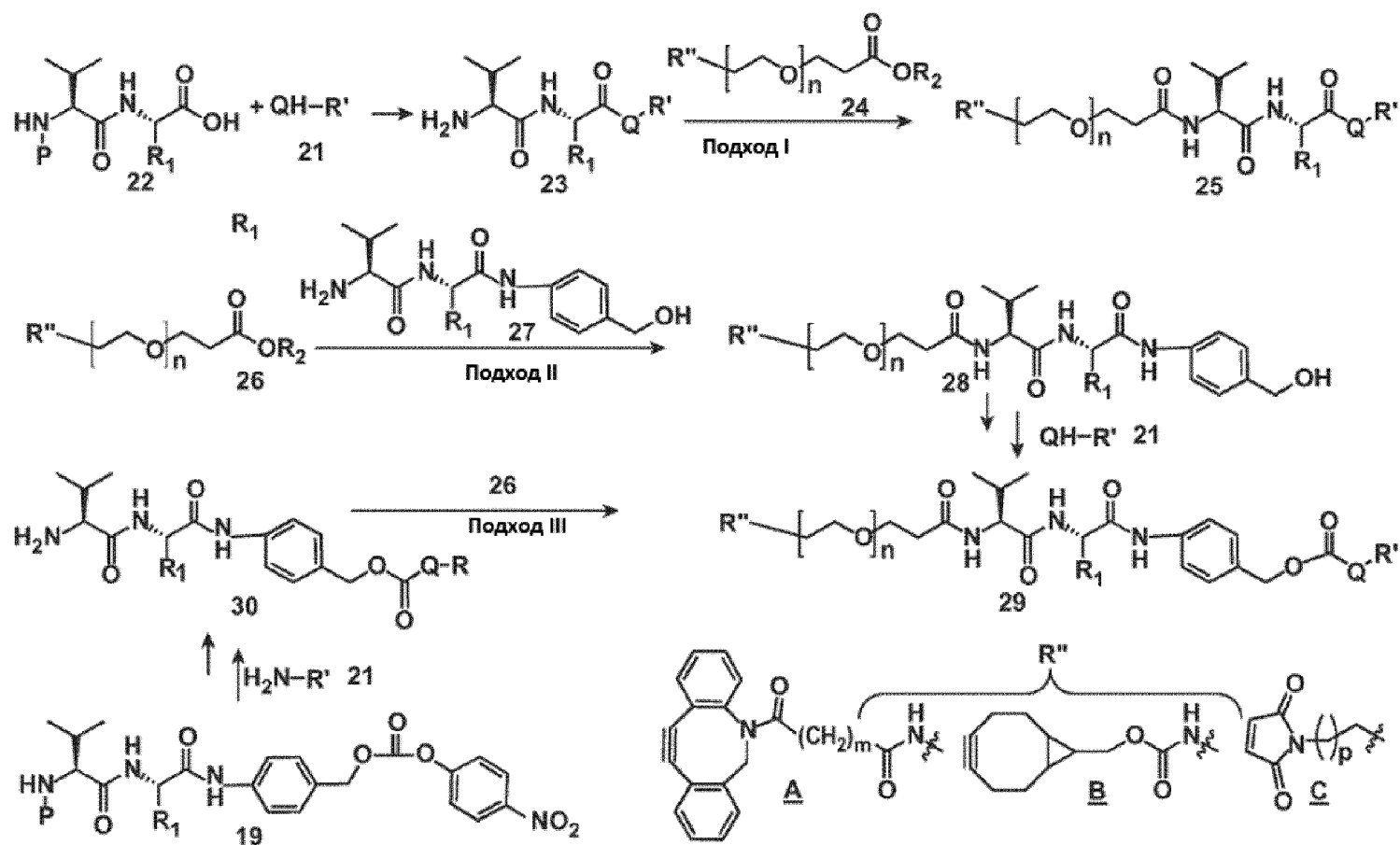


ФИГ. 7

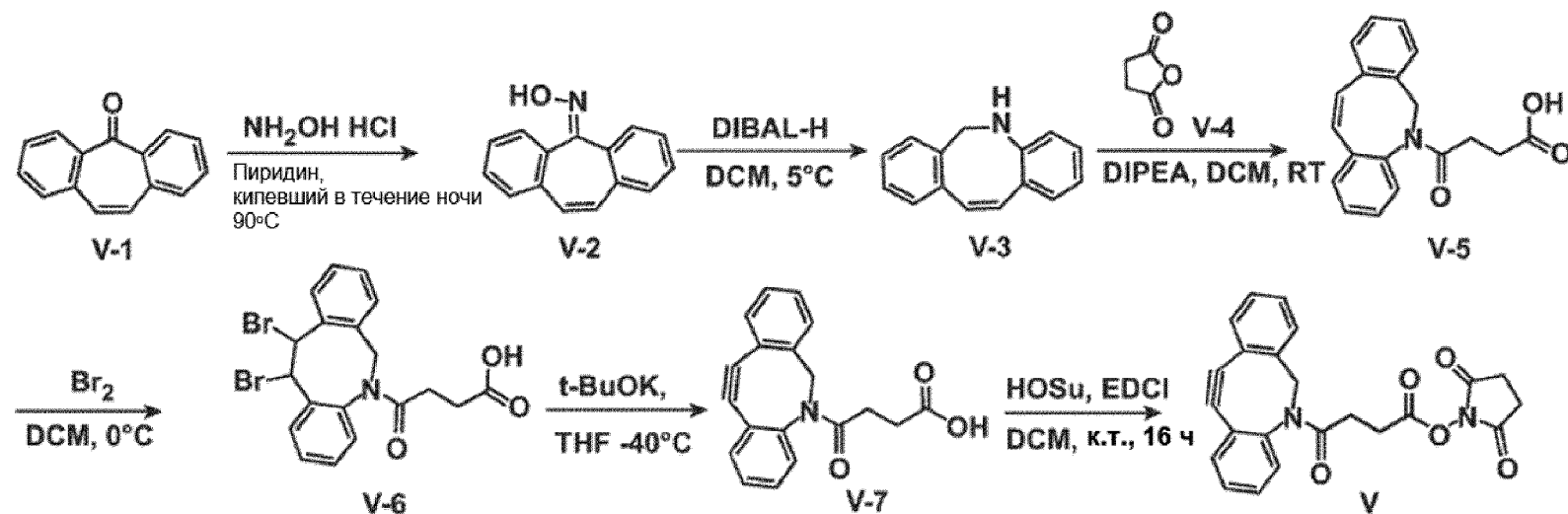
9/45



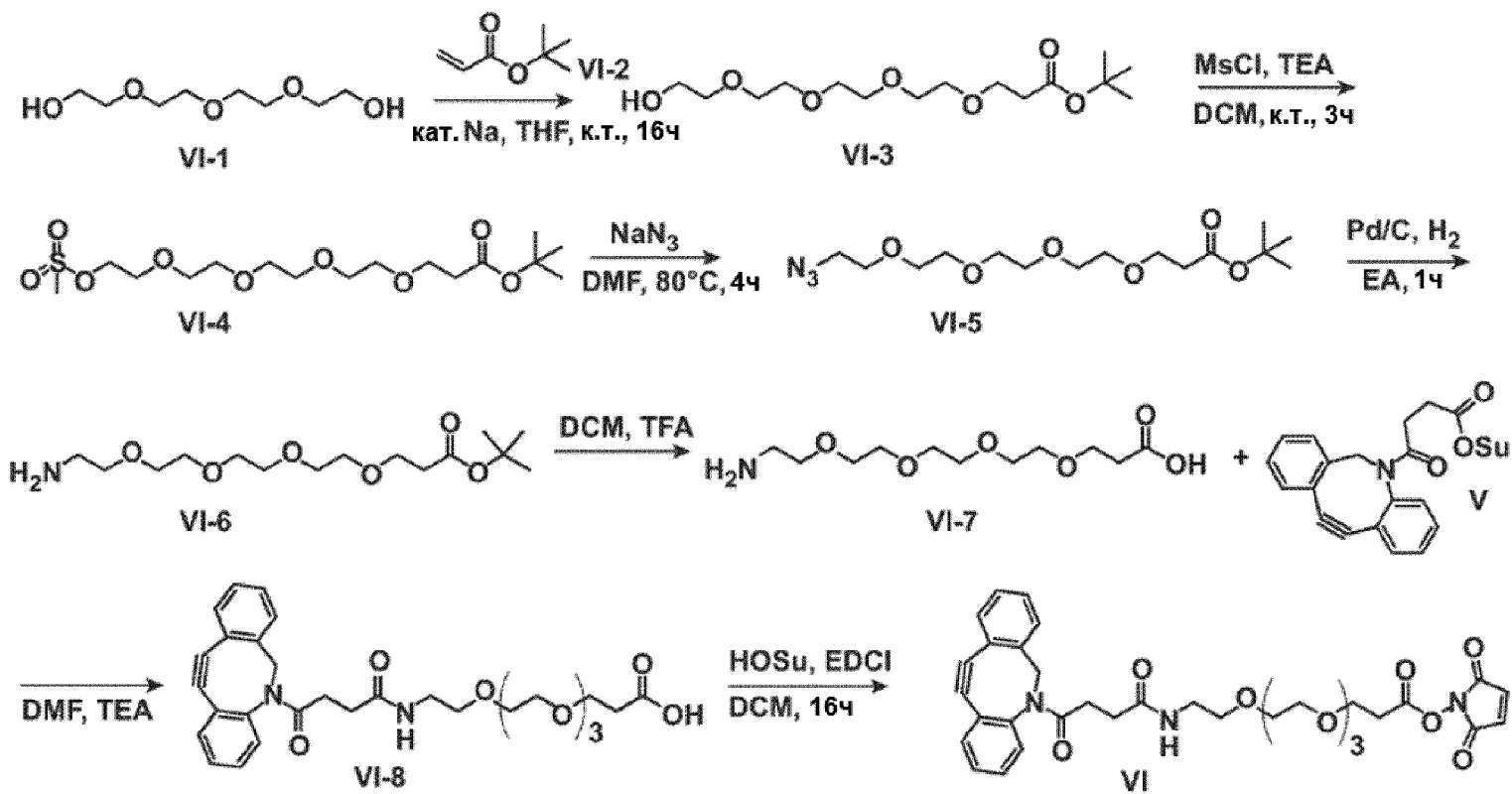
ФИГ. 8



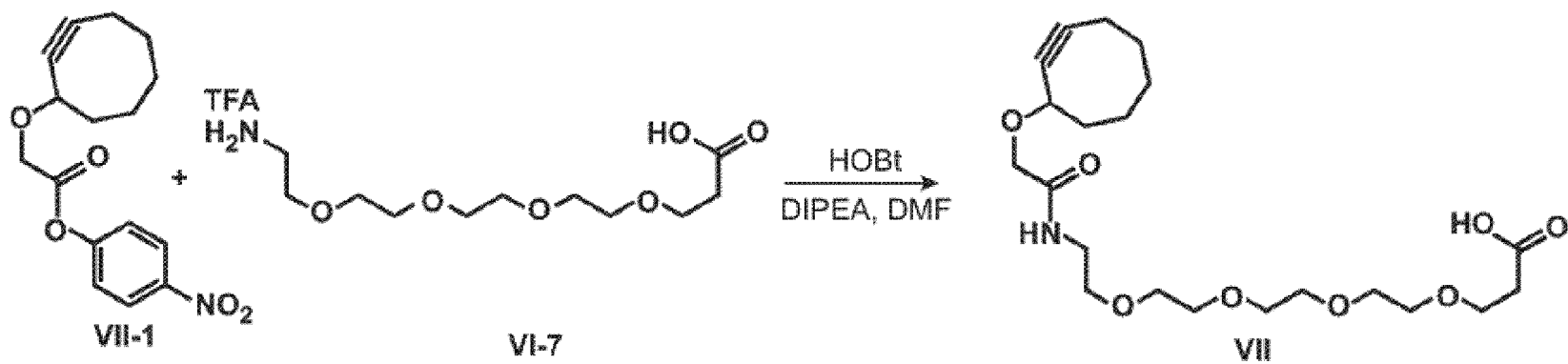
ФИГ. 9



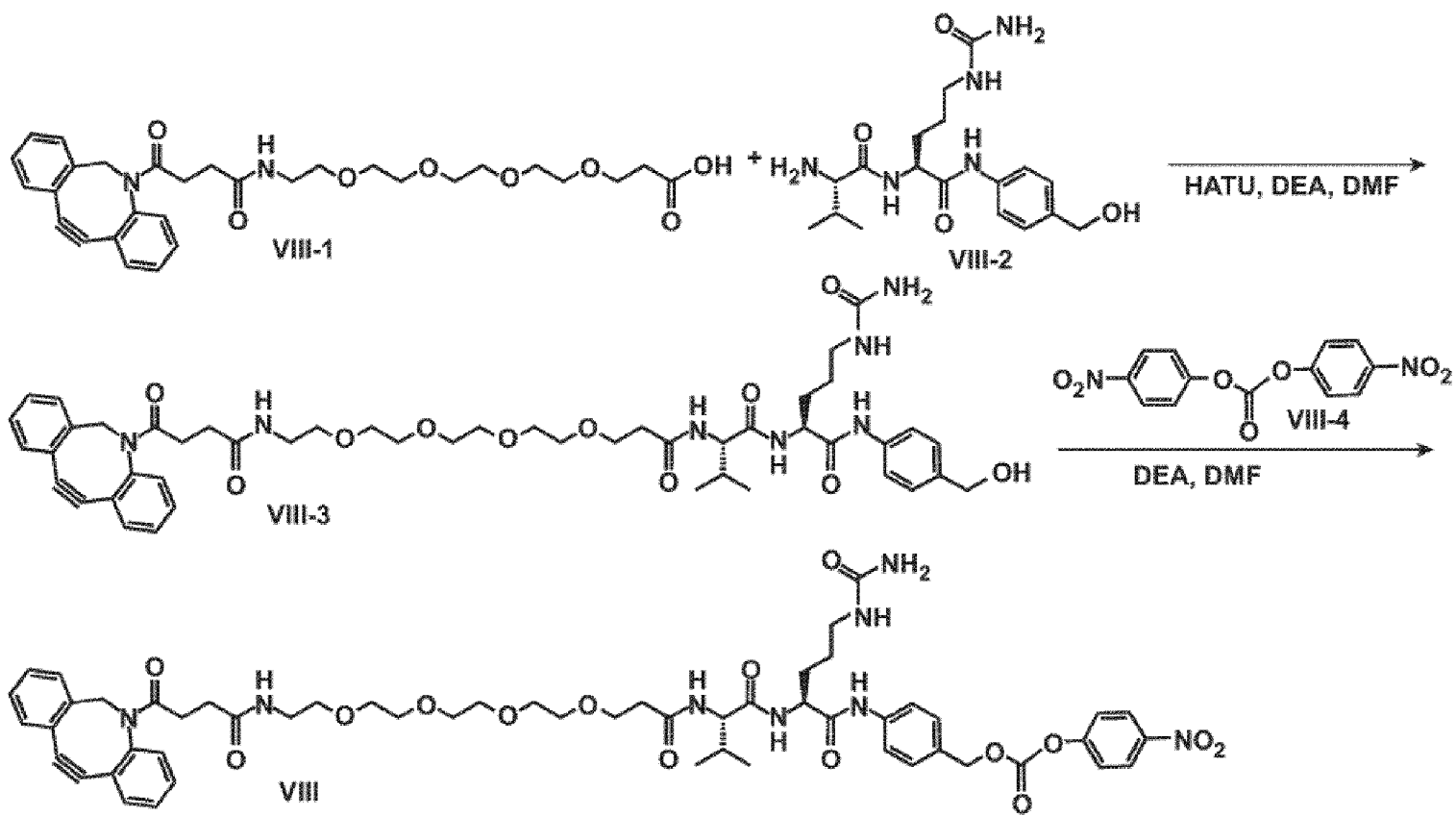
ФИГ. 10



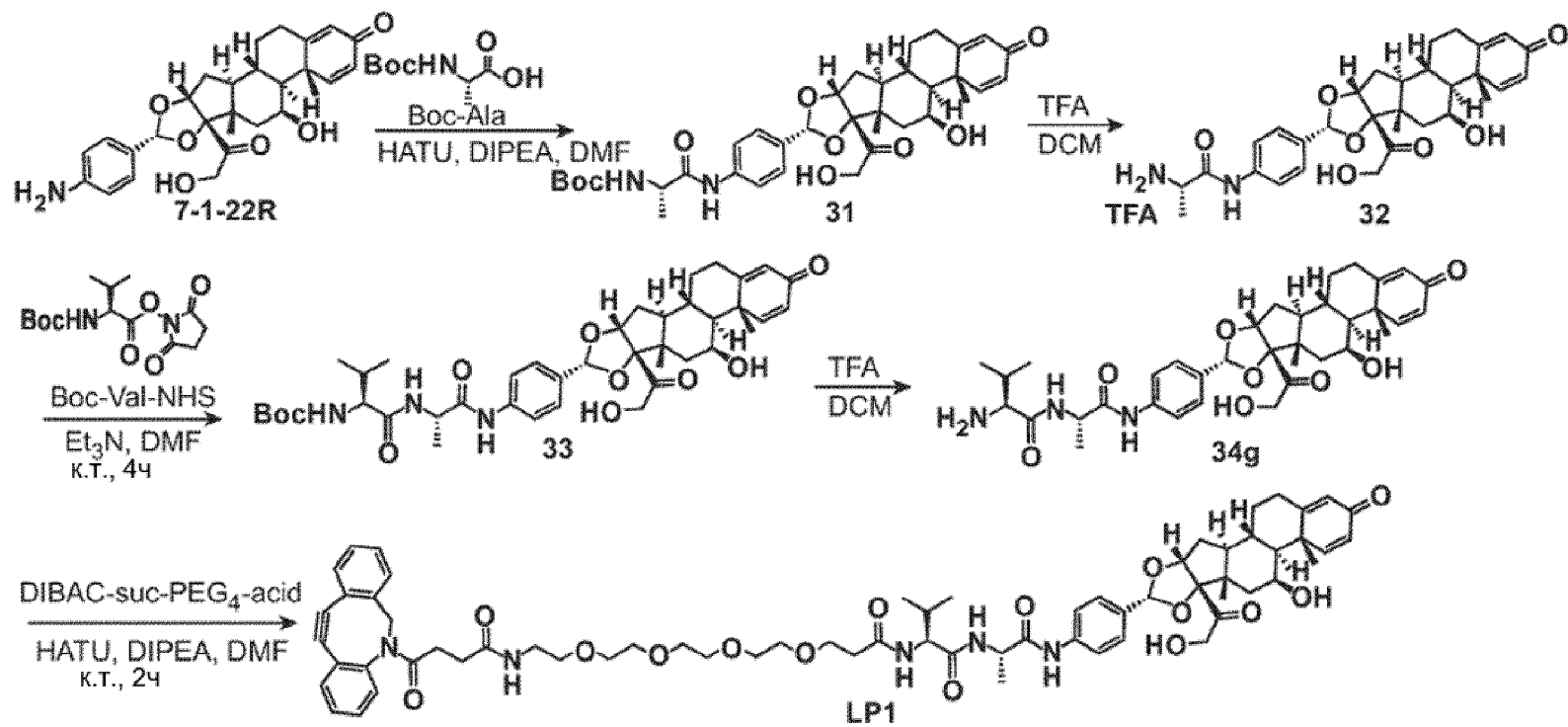
ФИГ. 11



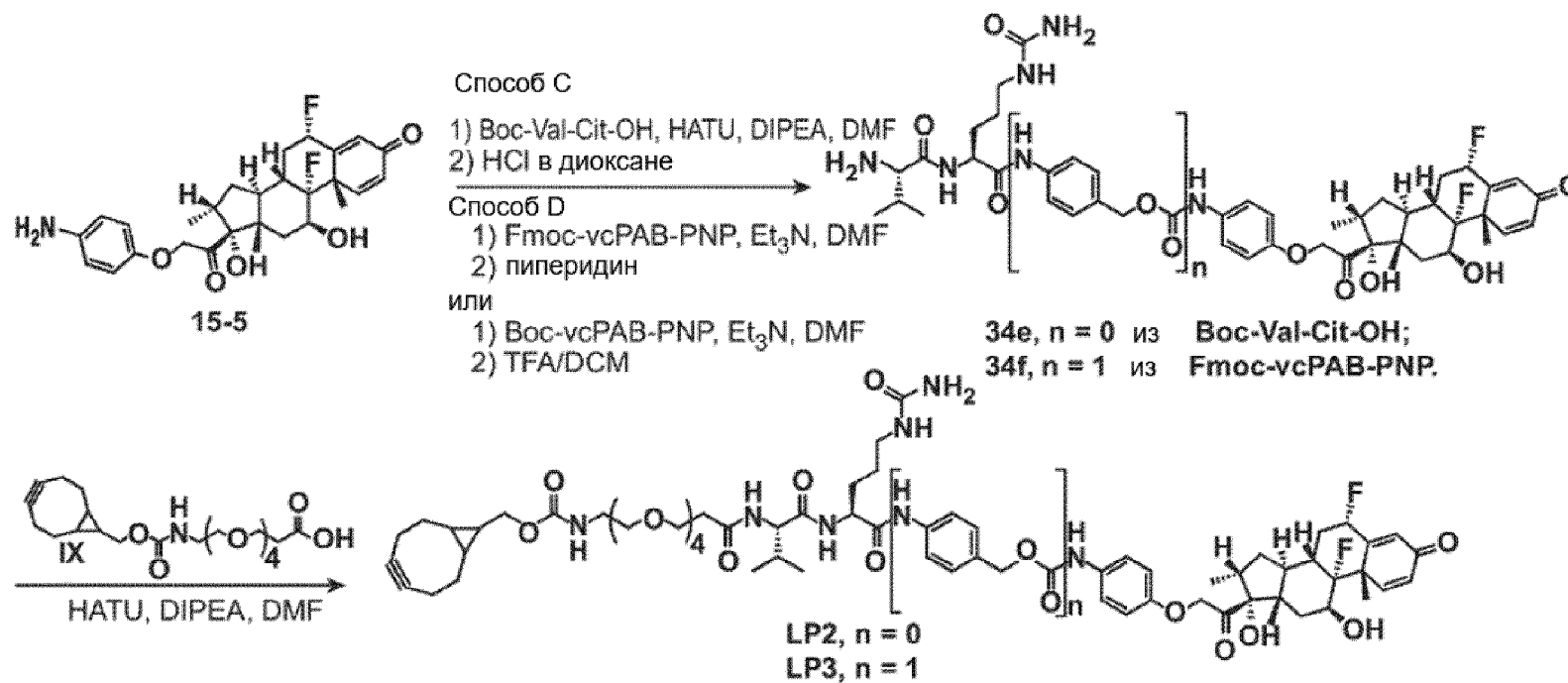
ФИГ. 12



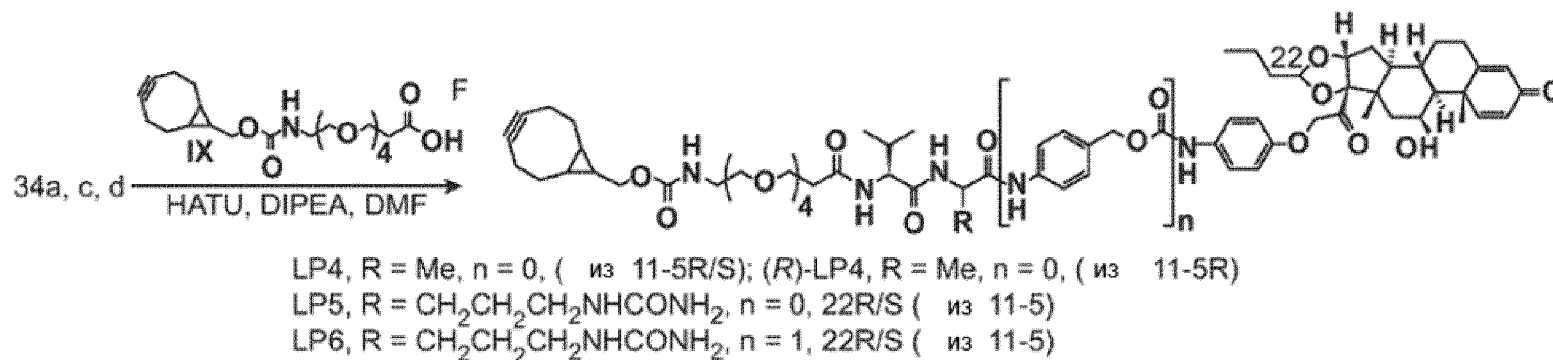
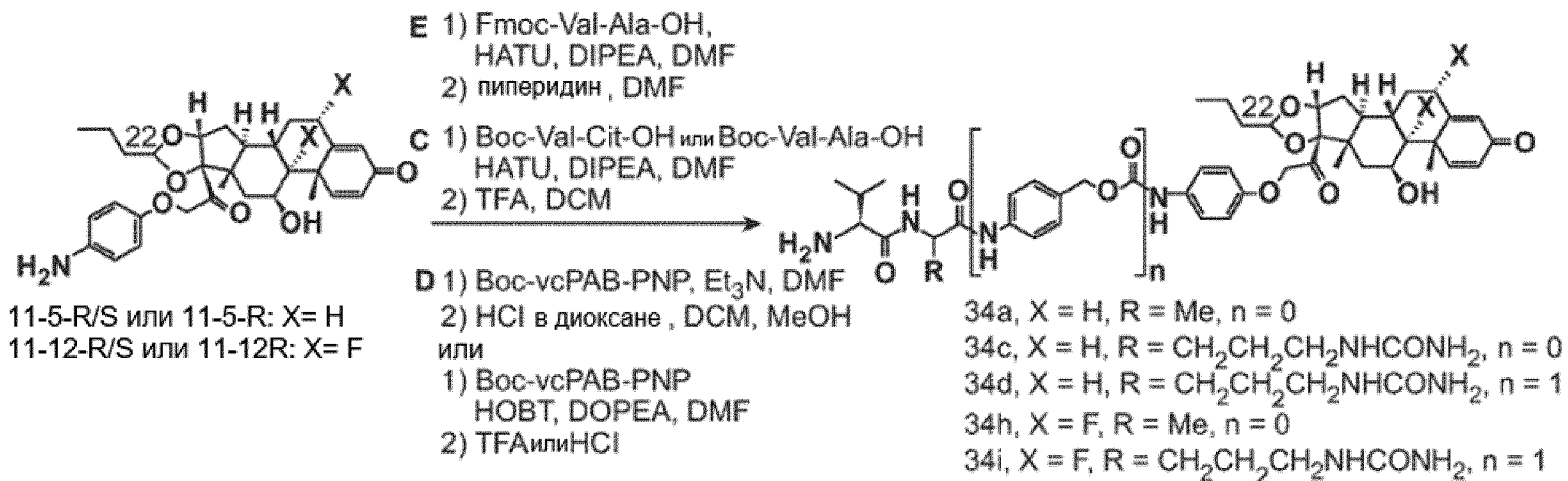
ФИГ. 13



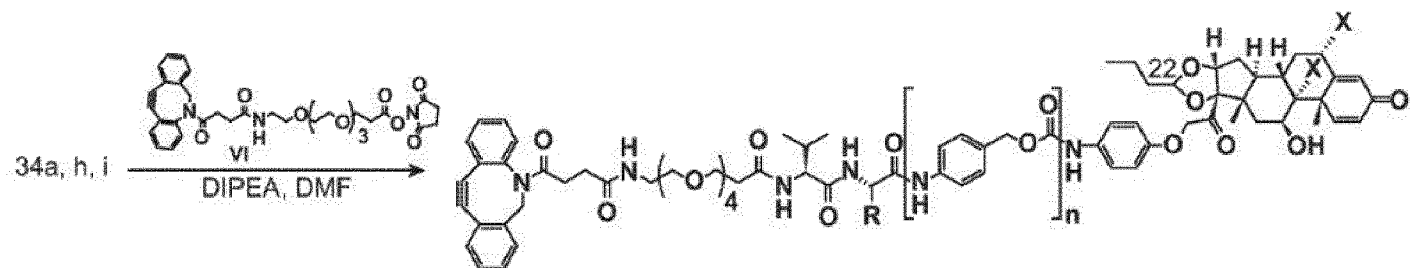
ФИГ. 14



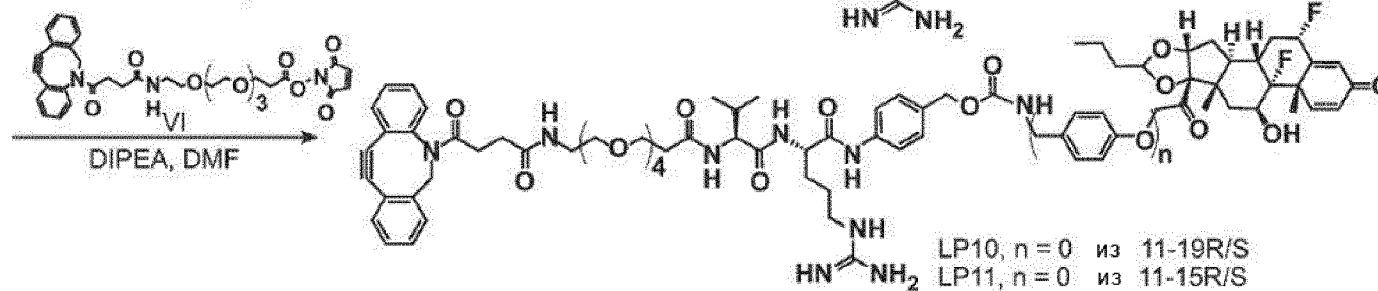
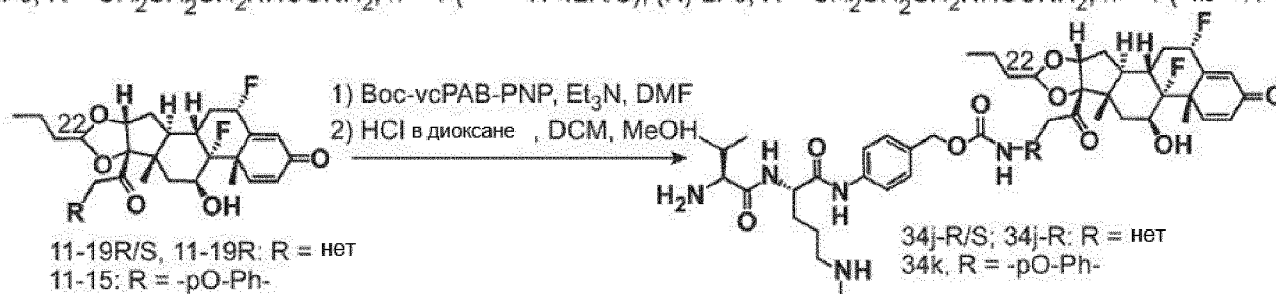
ФИГ. 15



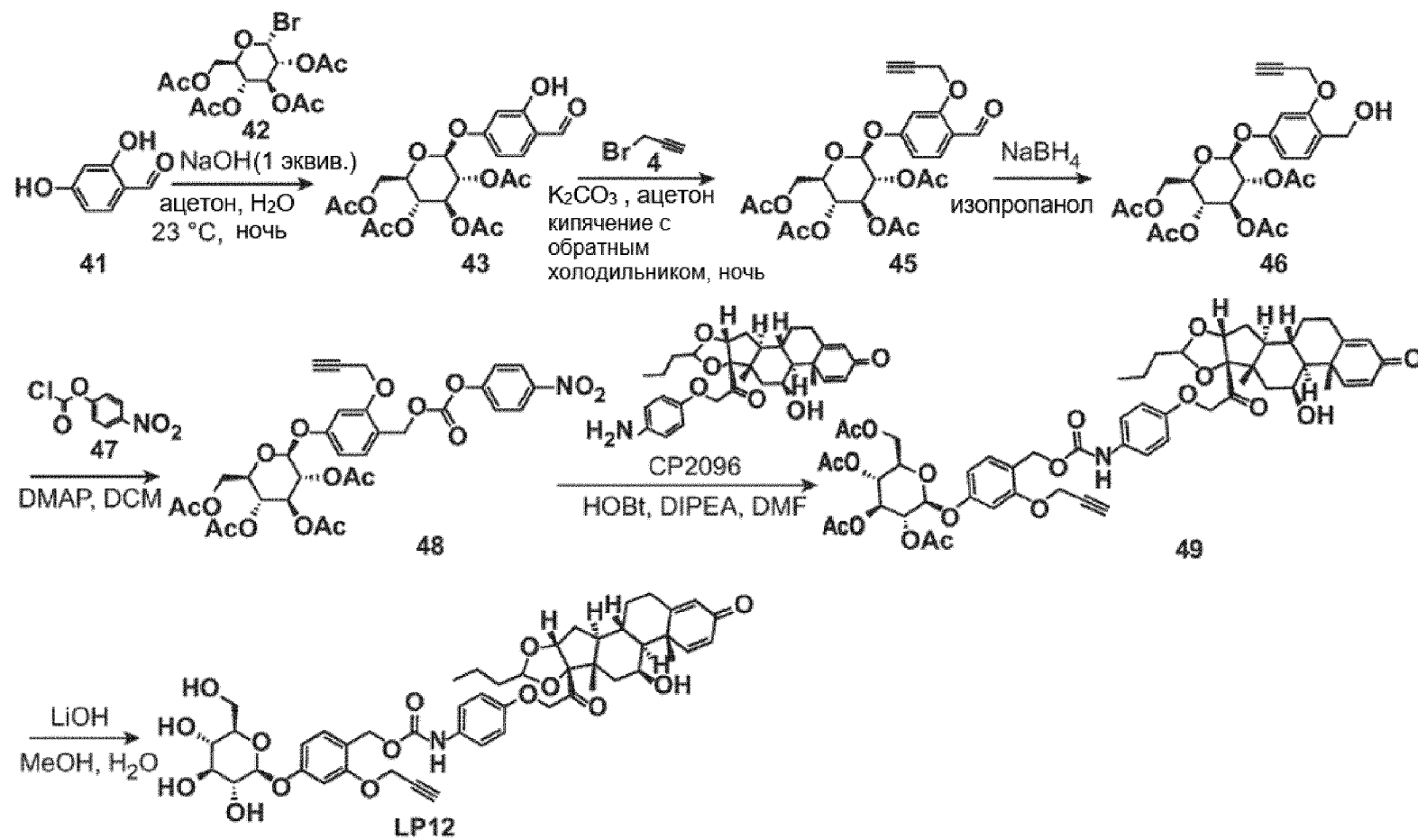
ФИГ. 16



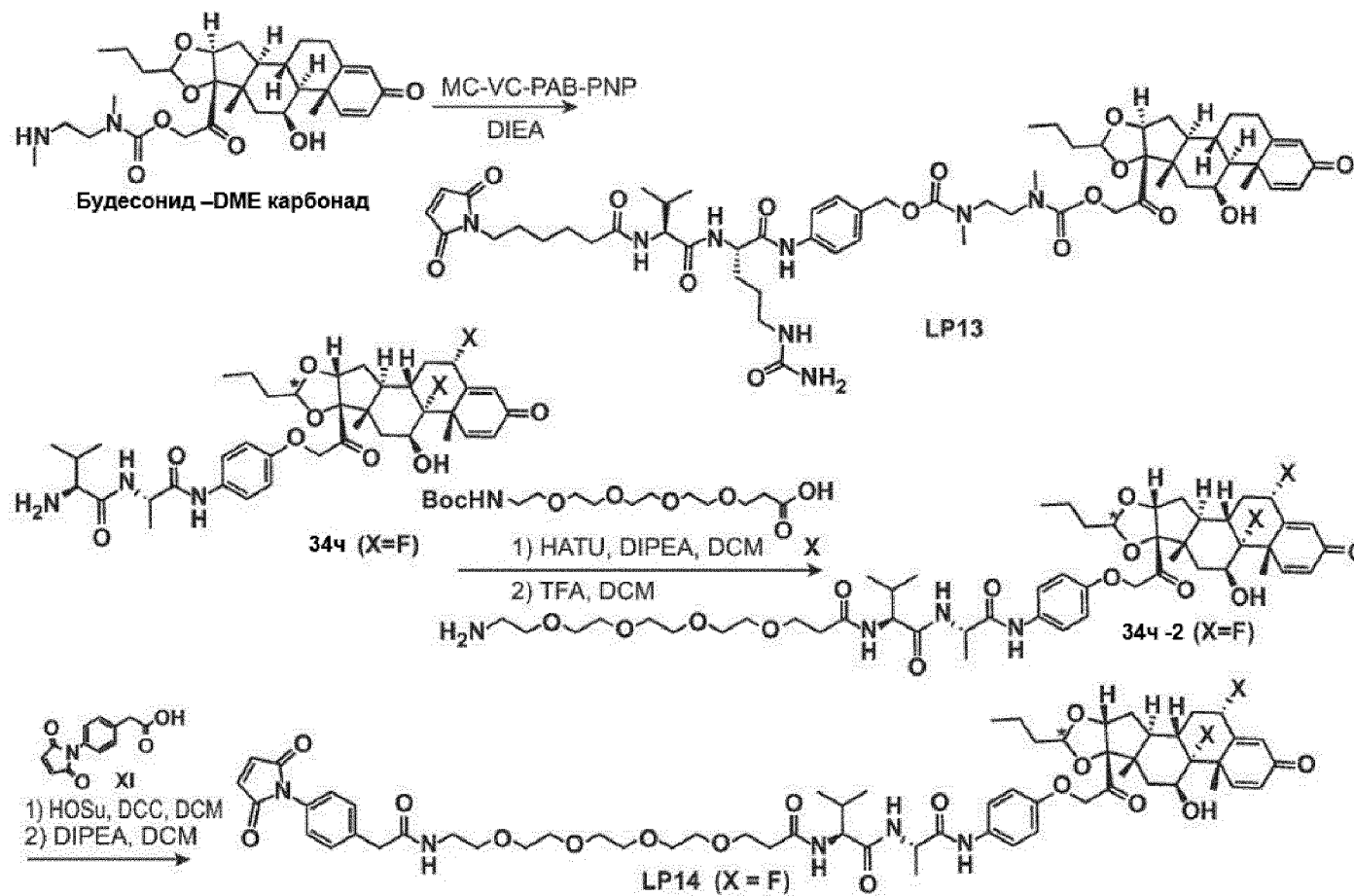
LP7, R = Me, X = H, n = 0 (из 11-5R/S); (R)-LP7, R = Me, X = H, n = 0 (из 11-5R)
 LP8, R = Me, X = F, n = 0 (из 11-12R/S); (R)-LP8, R = Me, X = F, n = 0 (из 11-12R)
 LP9, R = CH₂CH₂CH₂NHCONH₂, n = 1 (из 11-12R/S); (R)-LP9, R = CH₂CH₂CH₂NHCONH₂, n = 1 (из 11-12R)



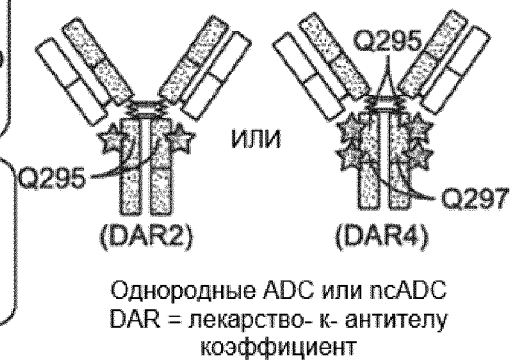
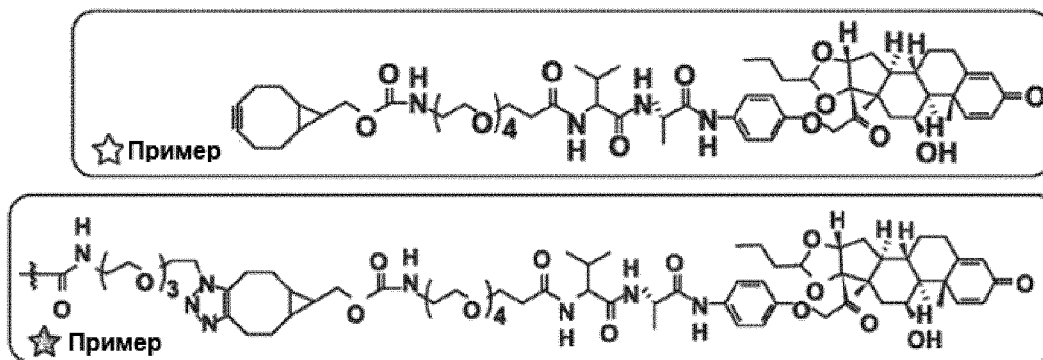
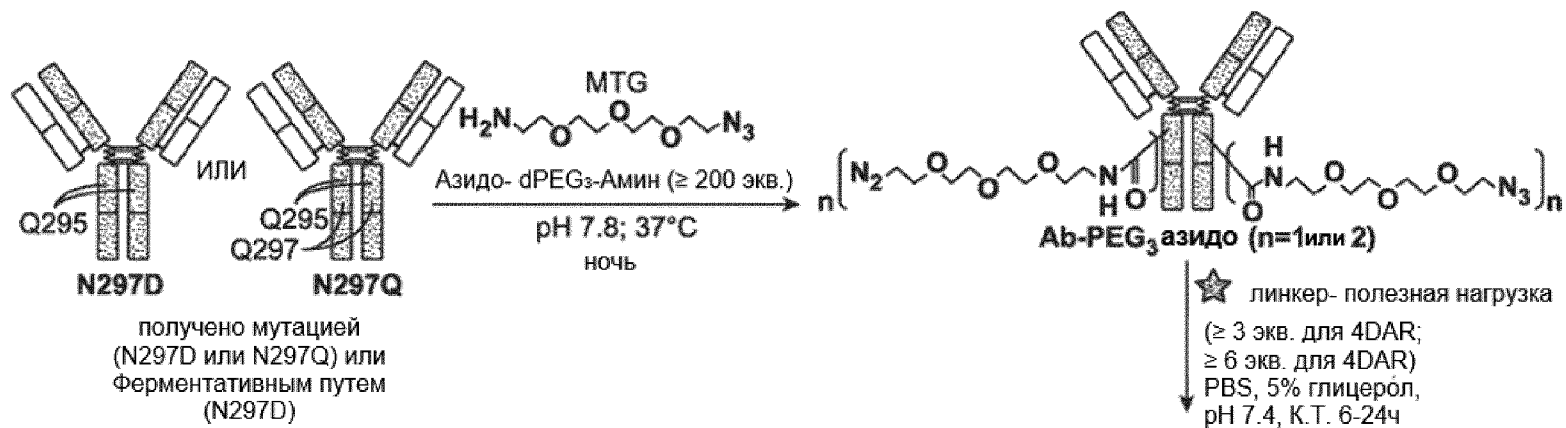
ФИГ. 16 (Продолжение)



ФИГ. 17

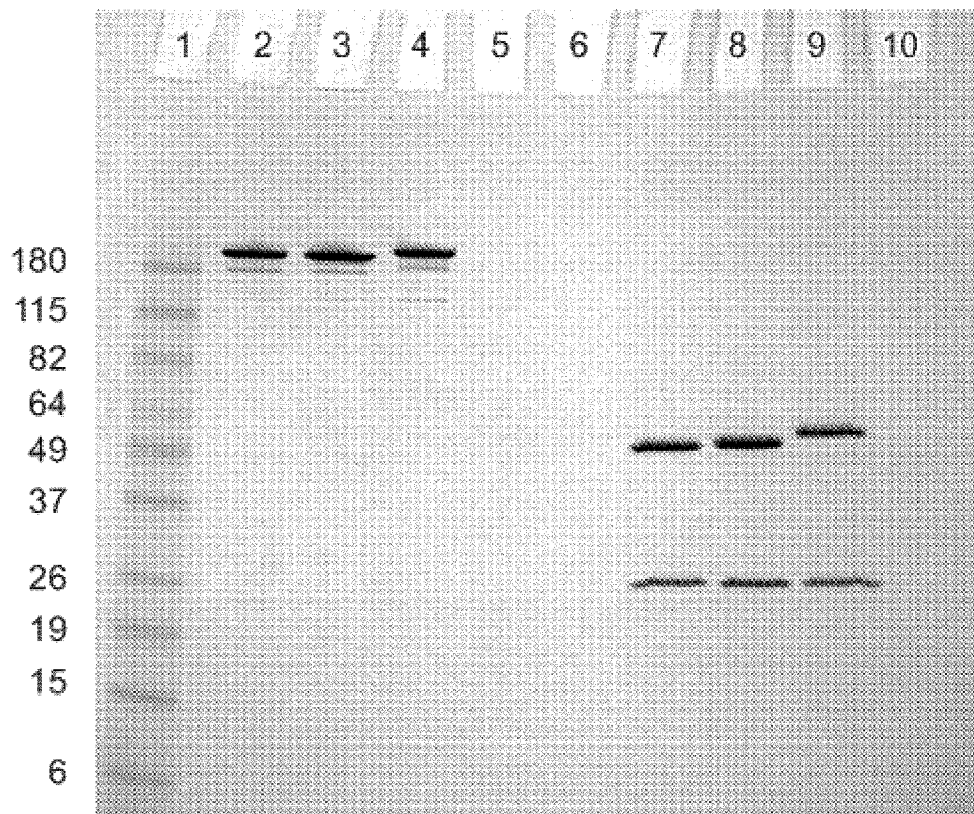


ФИГ. 18



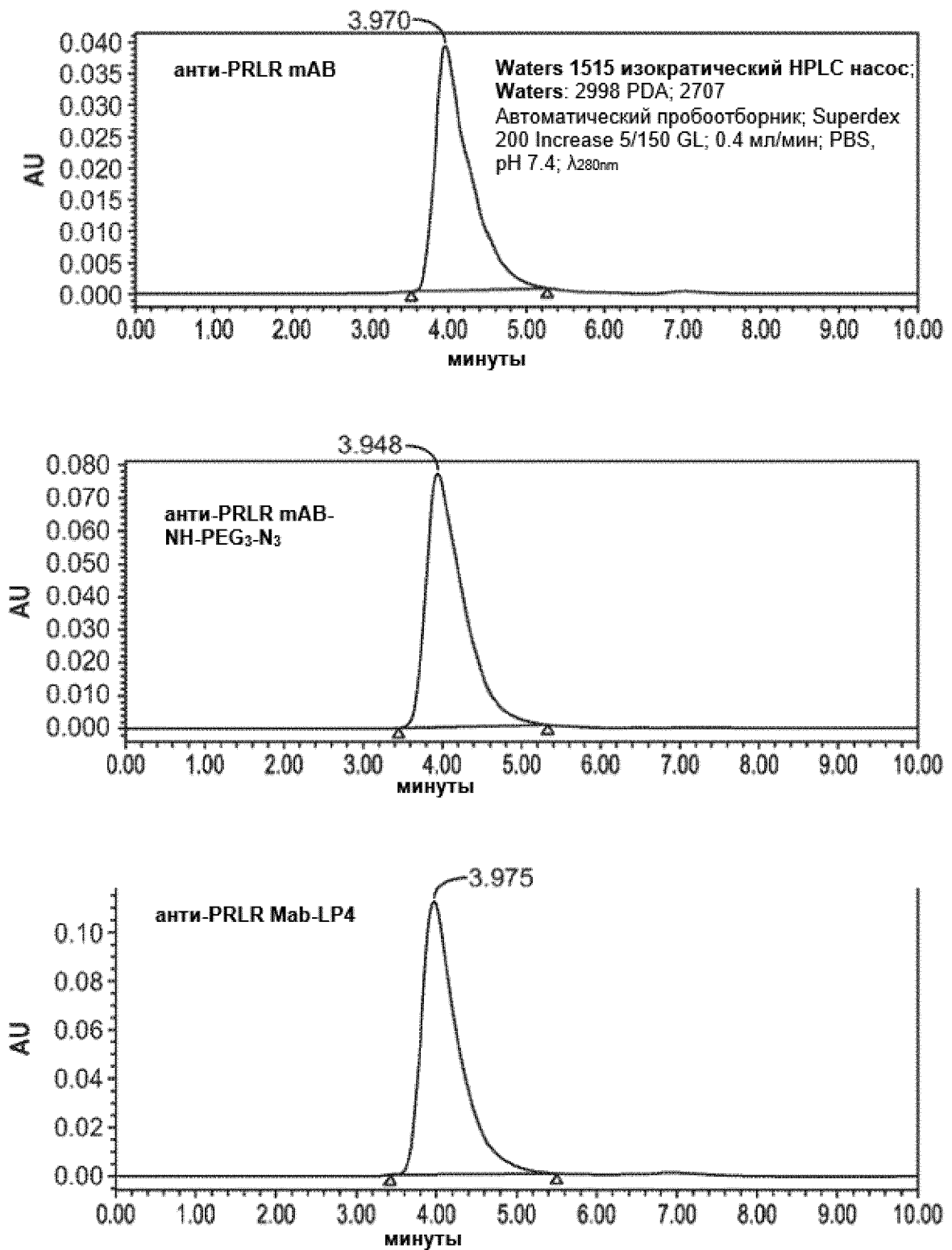
ФИГ. 19

22/45

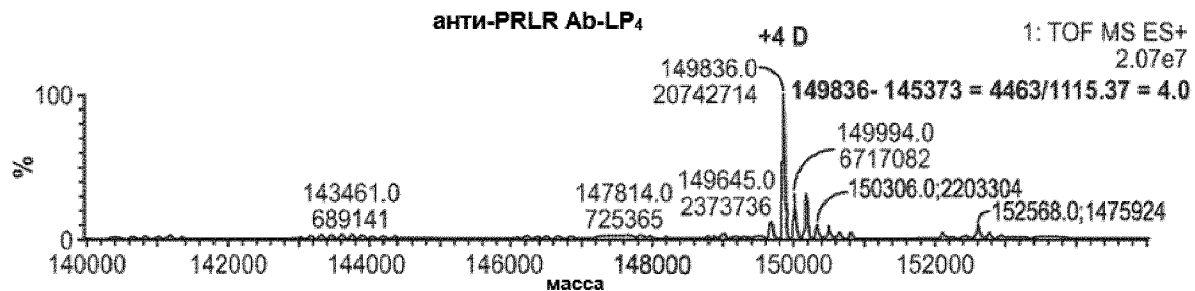
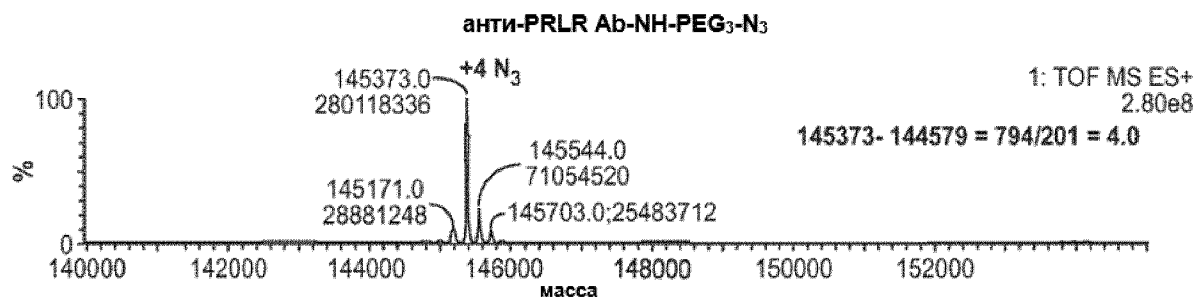
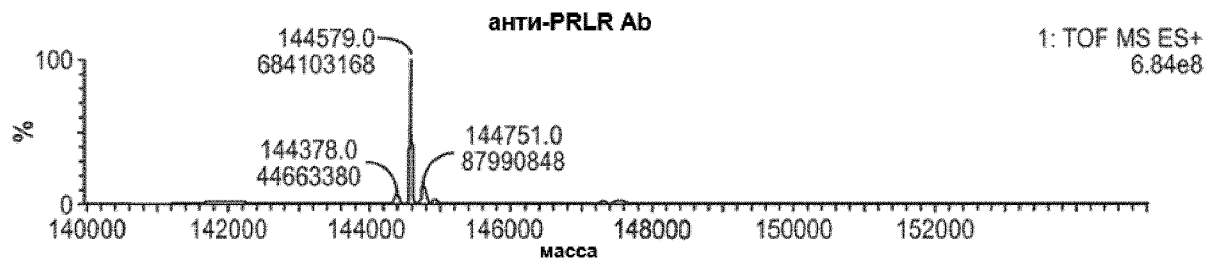


ФИГ. 20

23/45

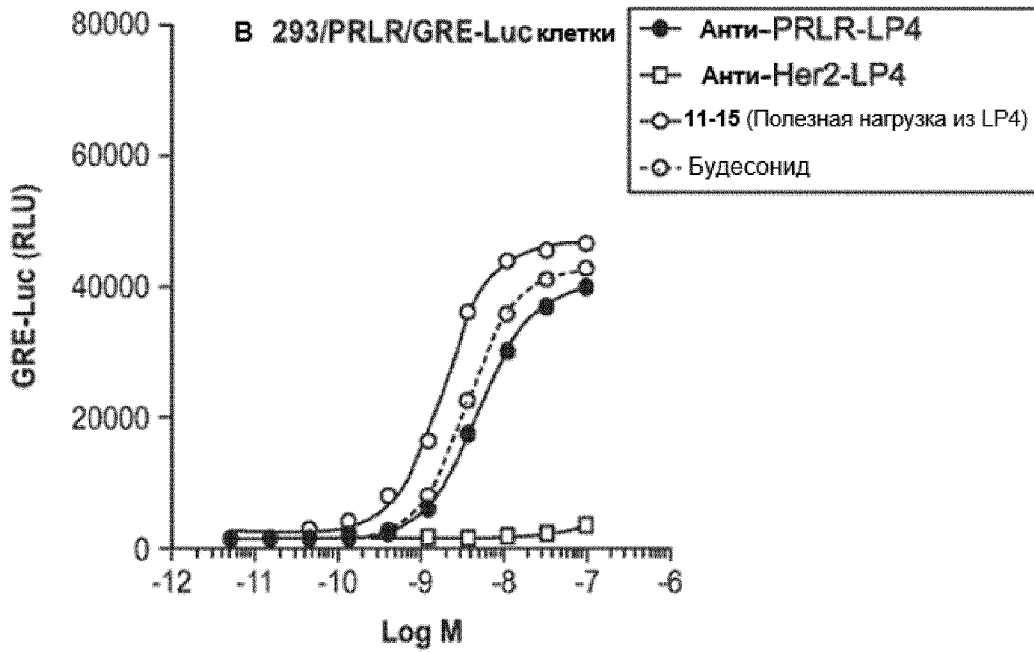


ФИГ. 21

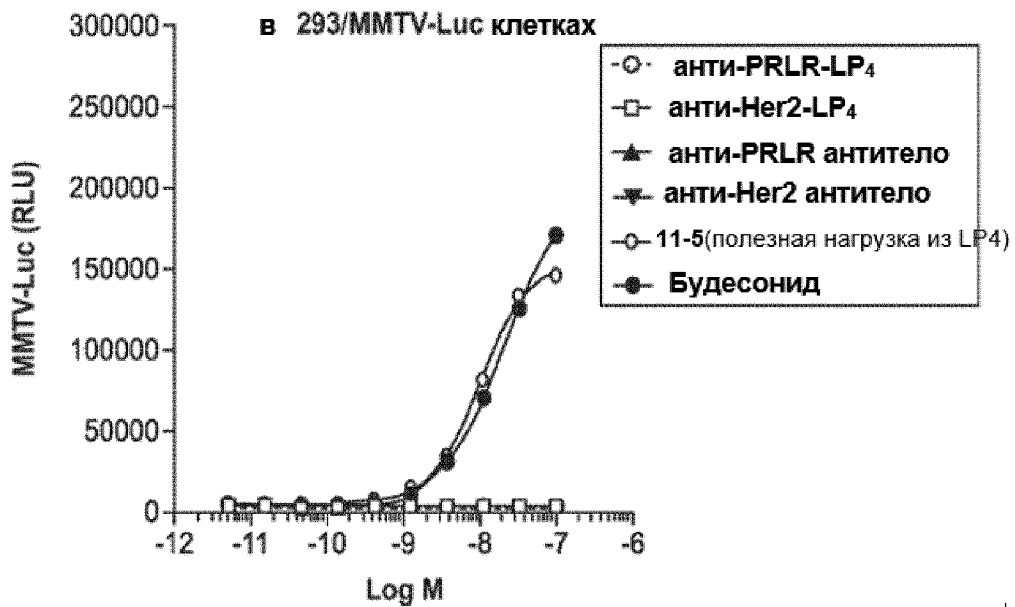


ФИГ. 22

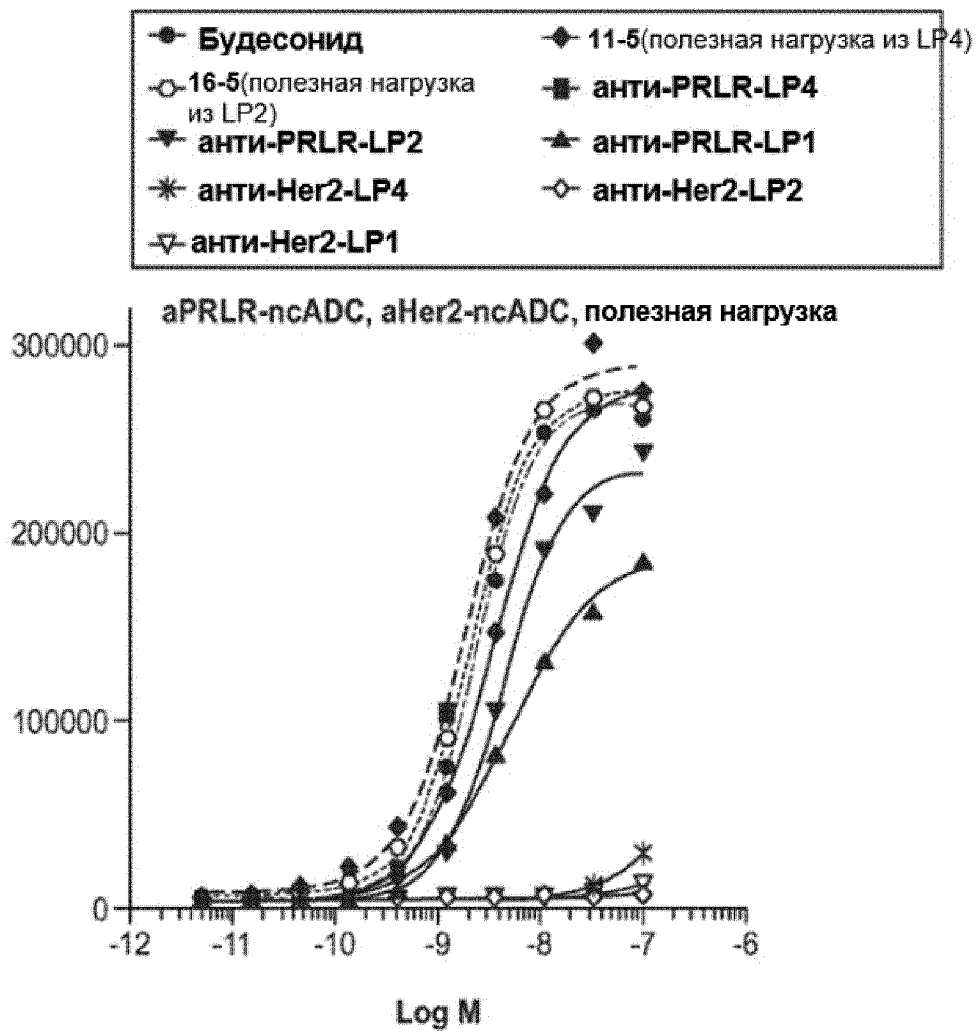
25/45



ФИГ. 23А



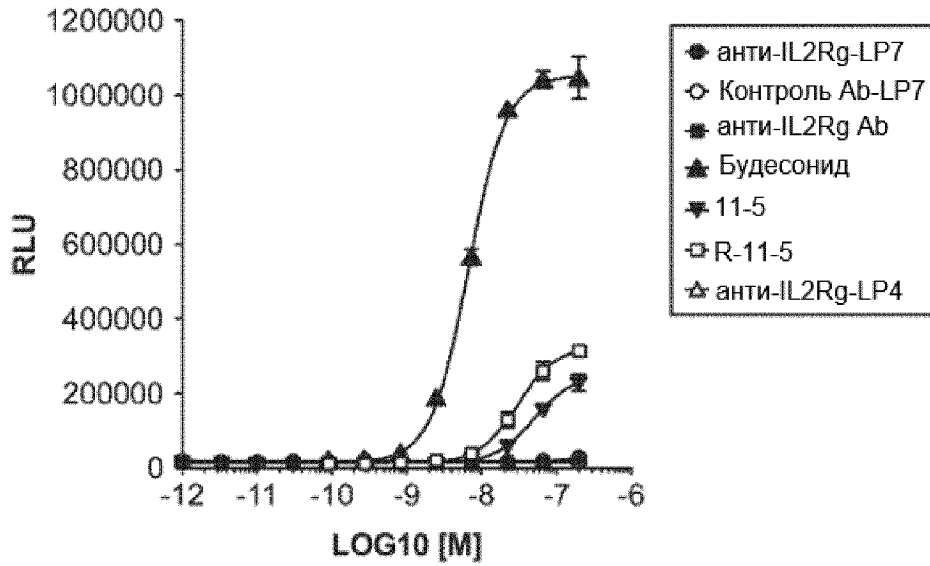
ФИГ. 23В



ФИГ. 24

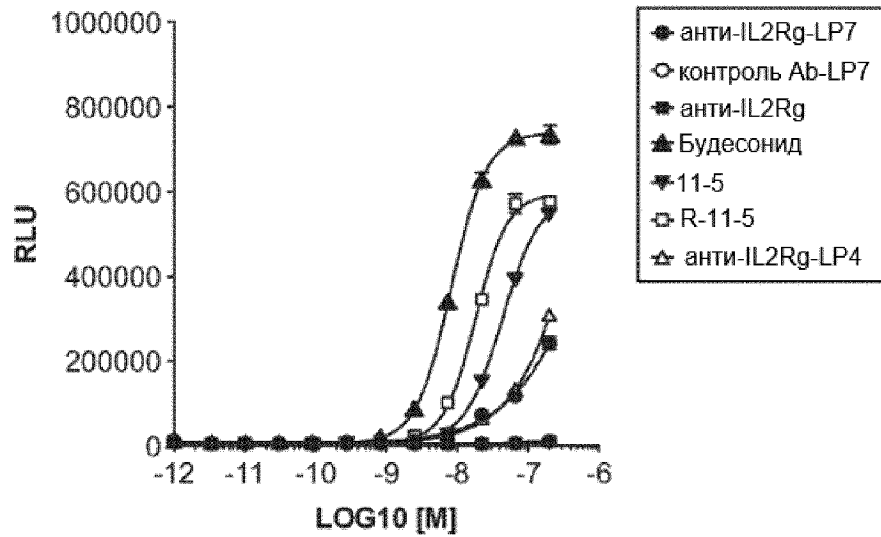
27/45

293/MMTV-luc/IL2Rg+IL7R - 24 ч



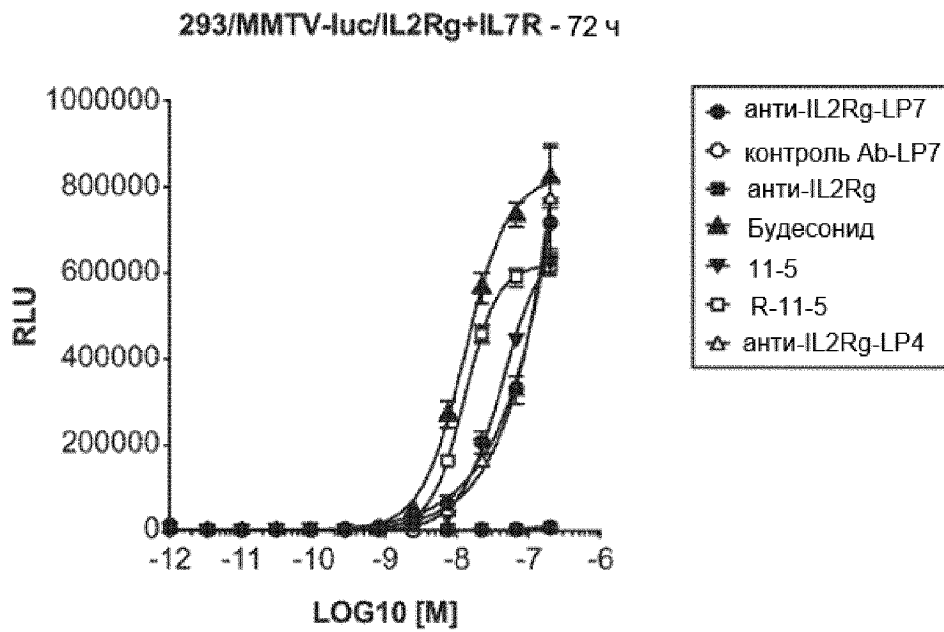
ФИГ. 25А

293/MMTV-luc/IL2Rg+IL7R - 48 ч

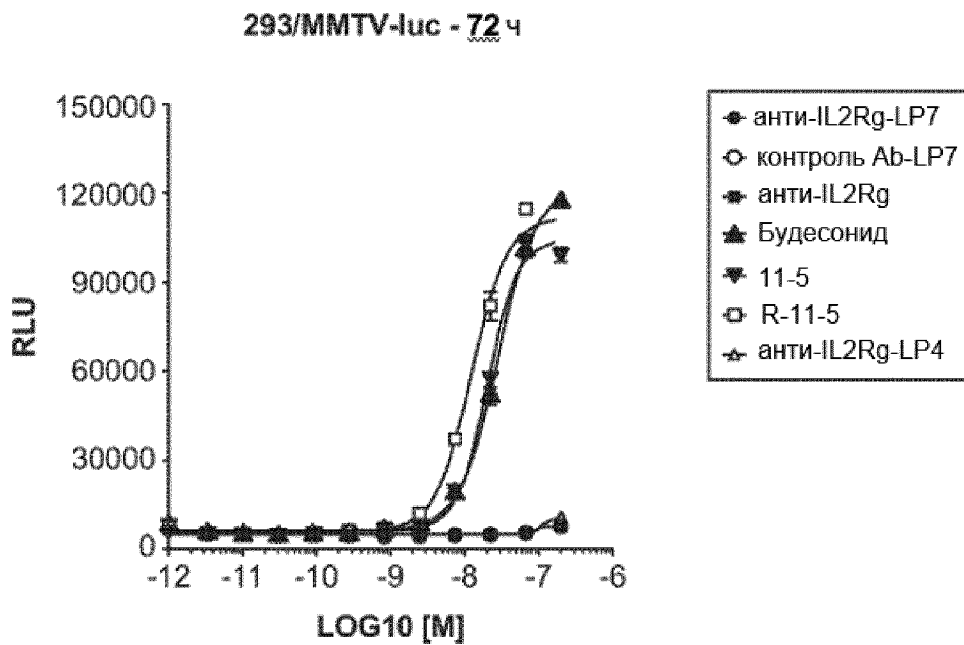


ФИГ. 25В

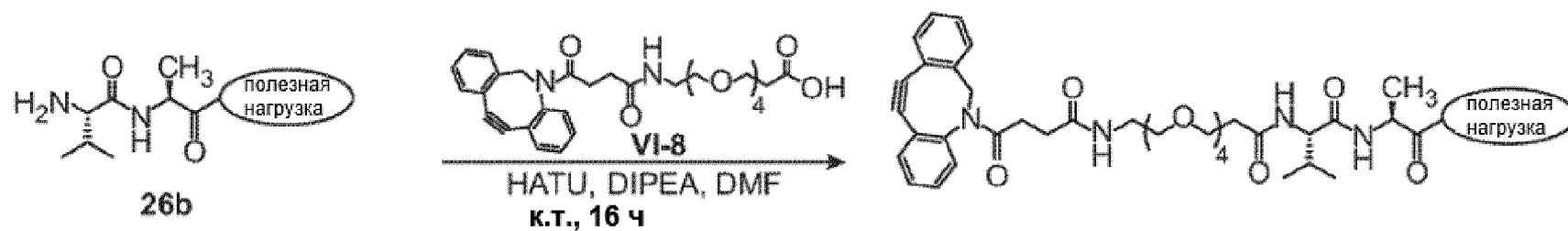
28/45



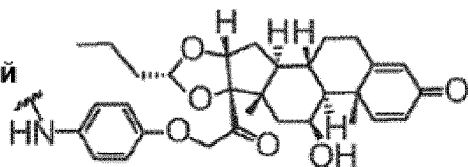
ФИГ. 25C



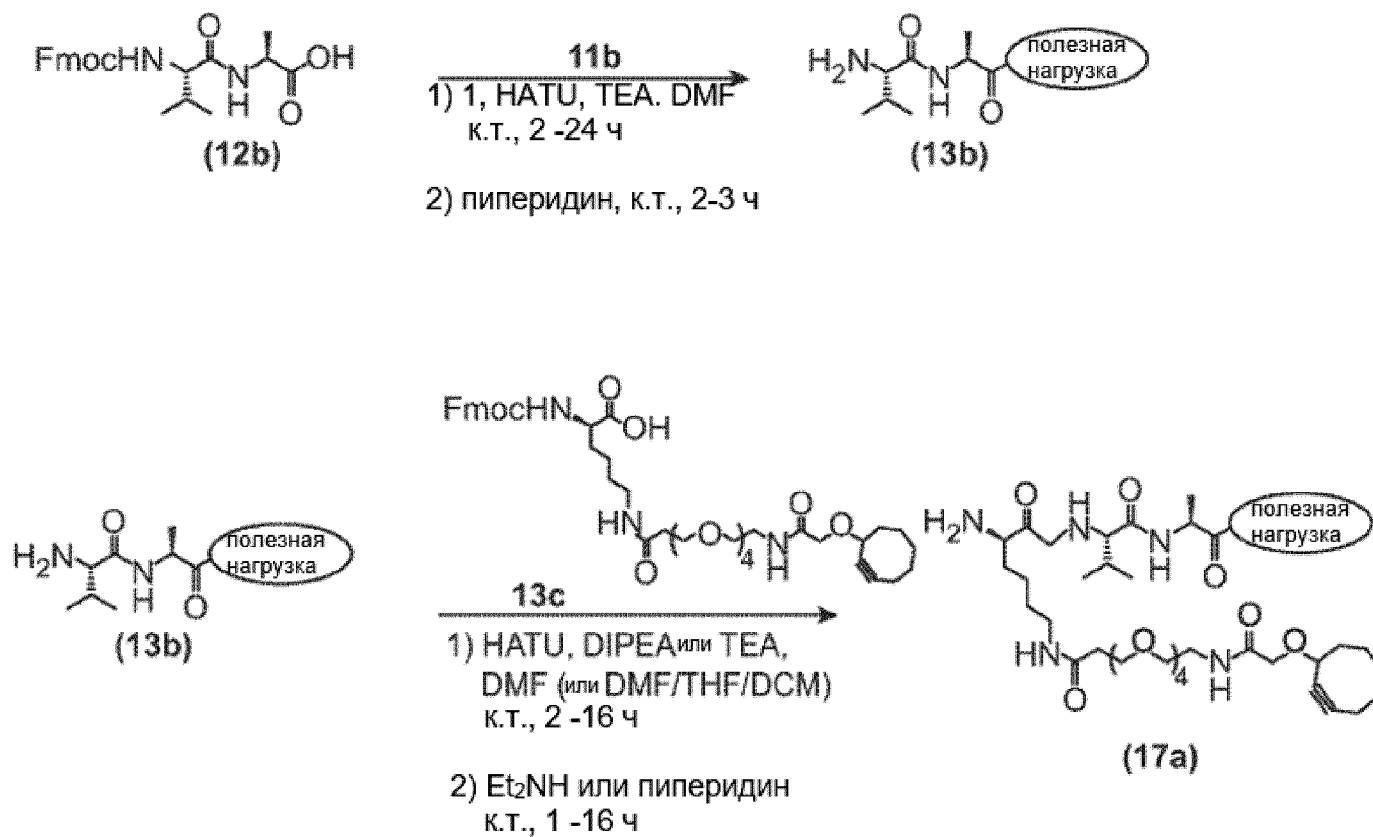
ФИГ. 25D



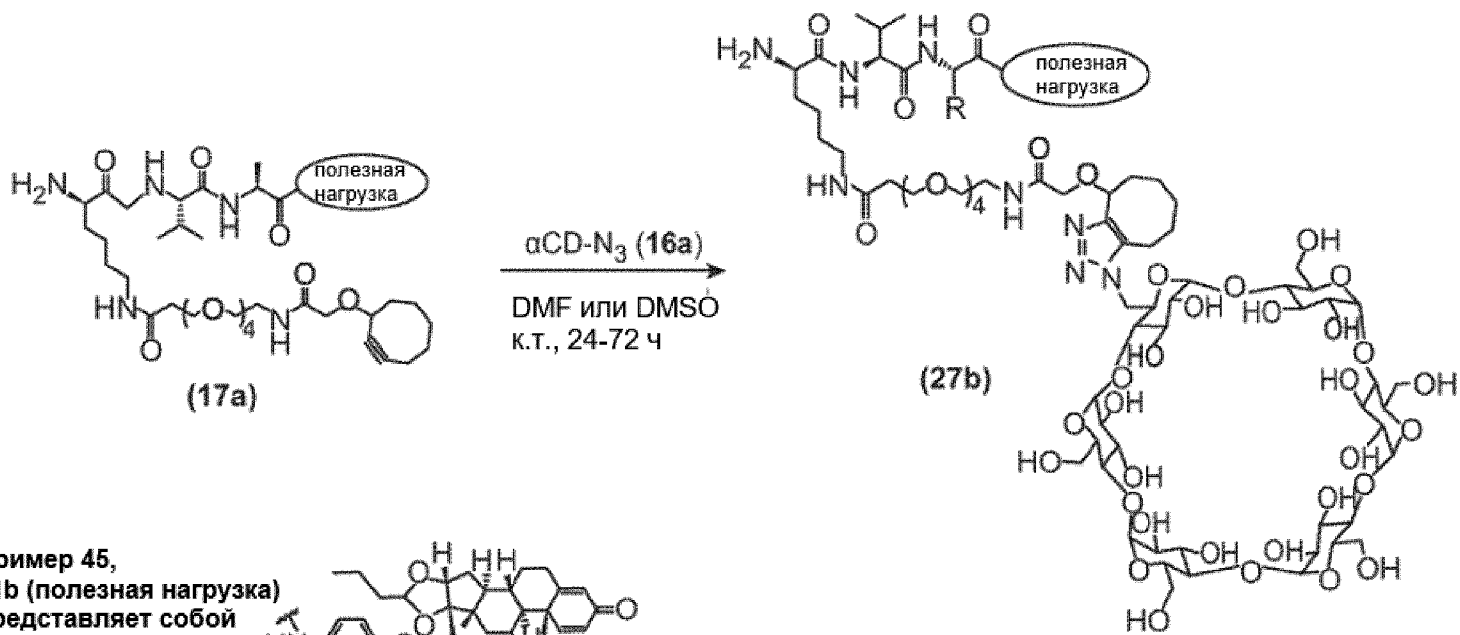
Пример 44,
полезная нагрузка
представляет собой



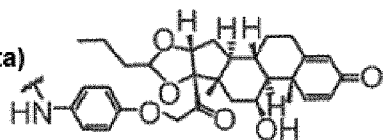
ФИГ. 26



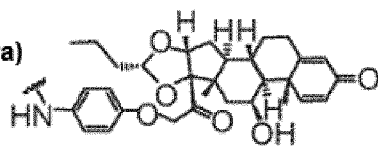
ФИГ. 27



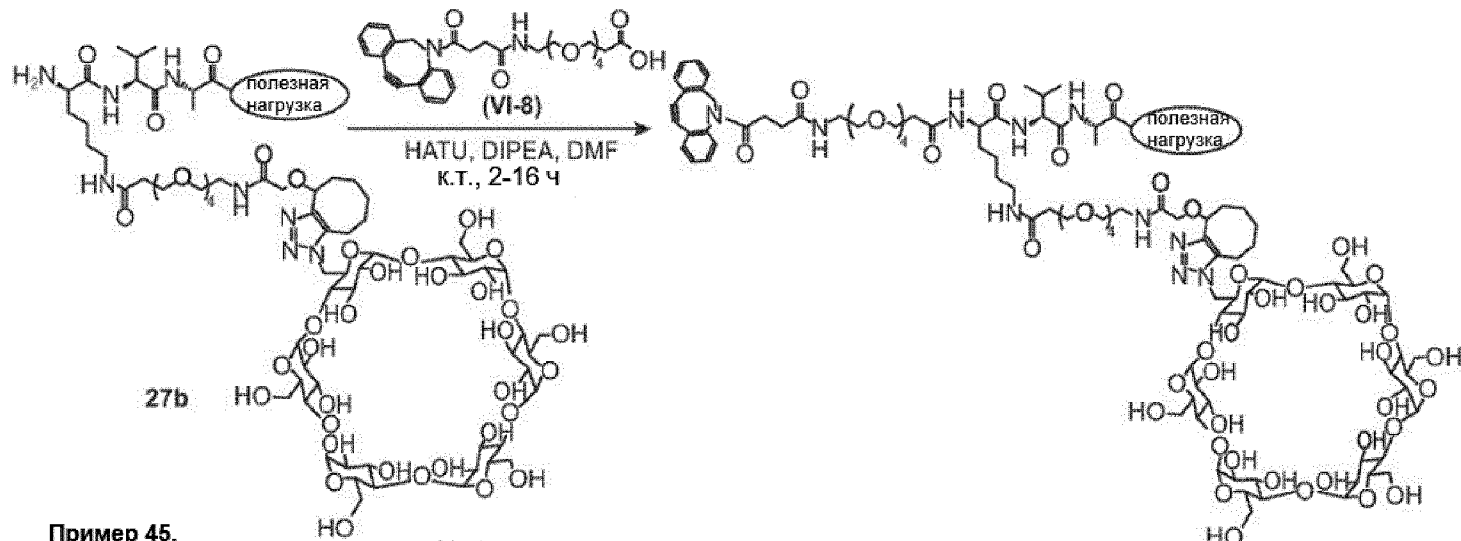
Пример 45,
 11b (полезная нагрузка)
 представляет собой



Пример 46,
 11b (полезная нагрузка)
 представляет собой

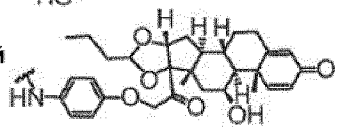


ФИГ. 27 (Продолжение)

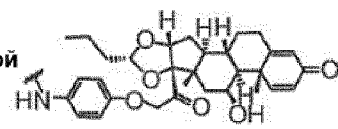


27b

Пример 45,
полезная нагрузка
представляет собой

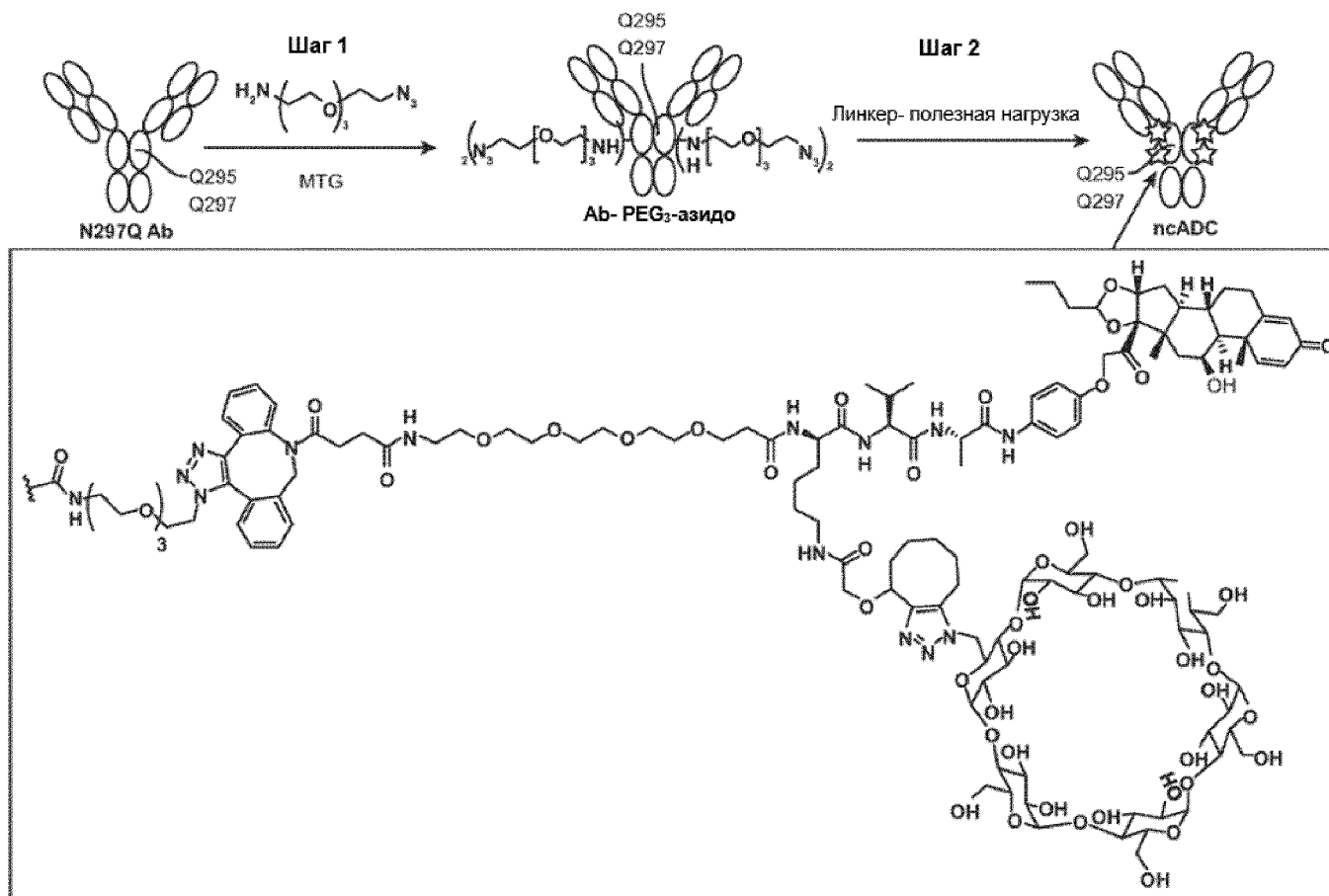


Пример 46,
полезная нагрузка
представляет собой



Линкер LP15 и LP16 в Примерах 45 и 46

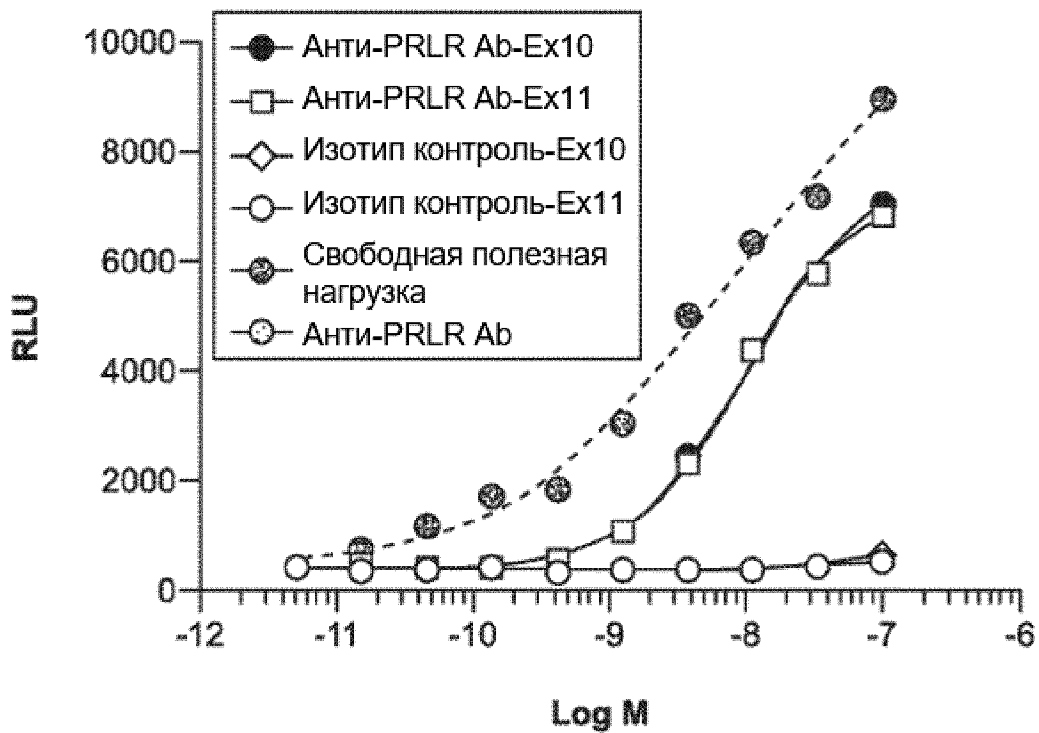
ФИГ. 28



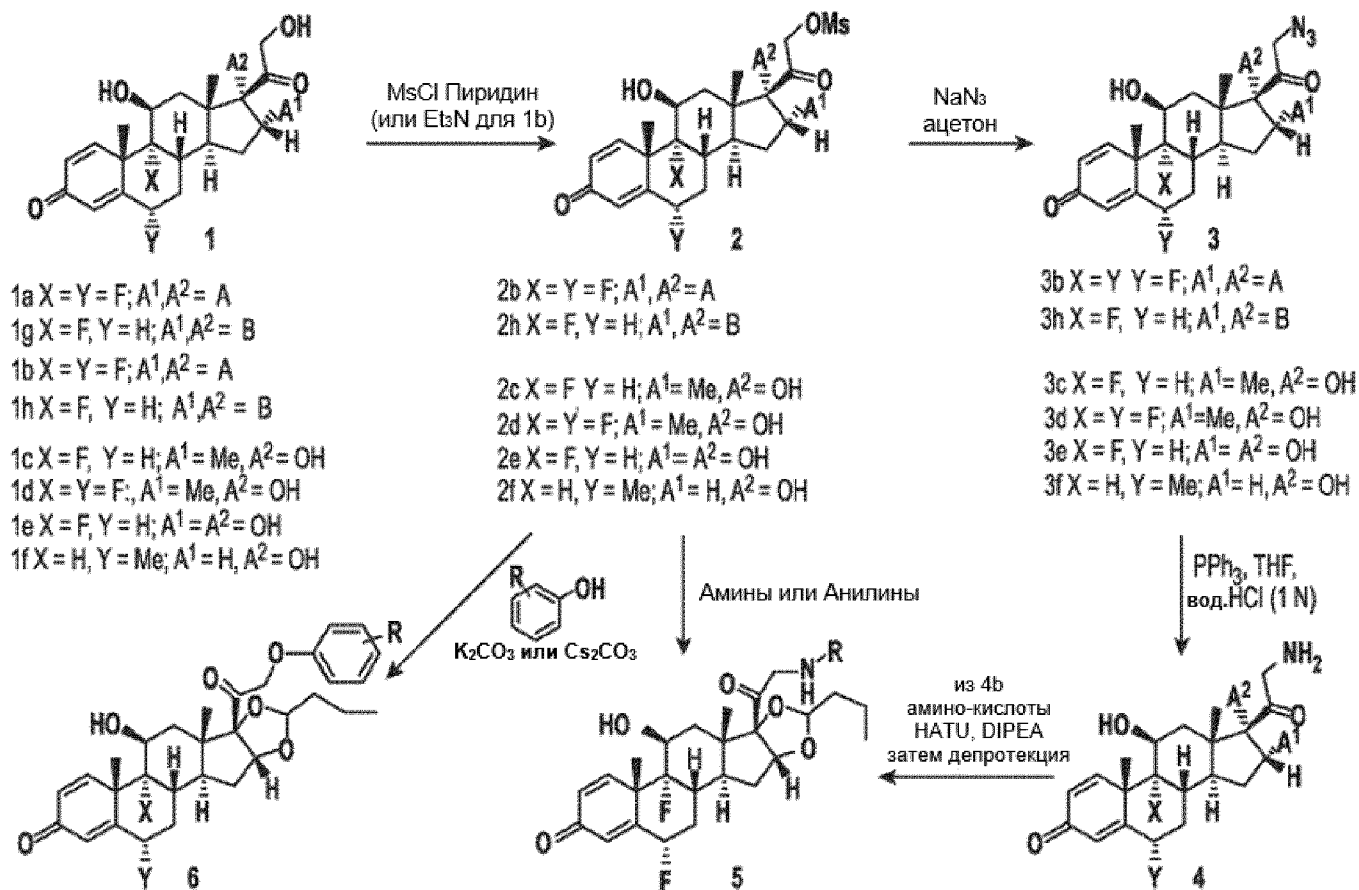
ФИГ. 29

34/45

72 ч

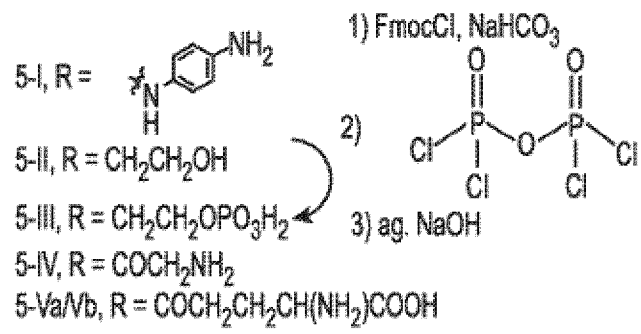
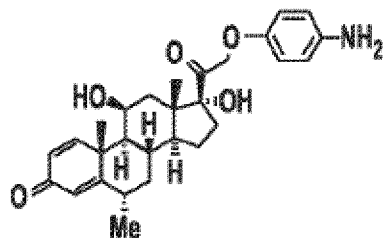


ФИГ. 30

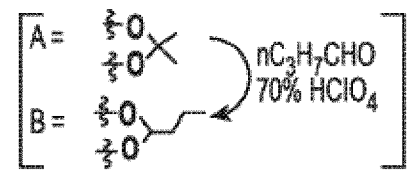


ФИГ. 31

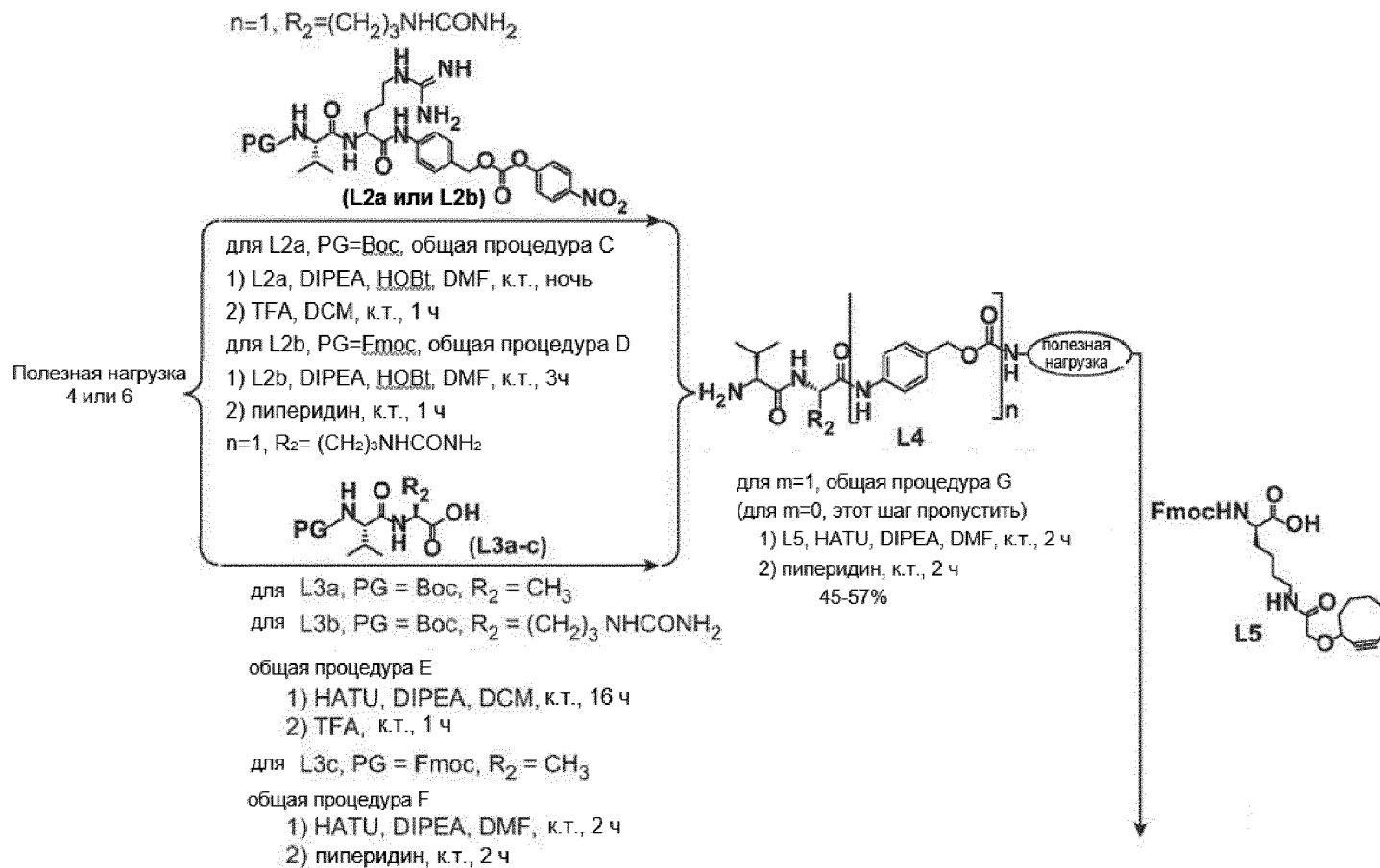
- 6-I, X = Y = F; R = 4-NH₂
 6-ID, X = Y = F; R = 2,3,5,6-D-4-NH₂
 6-II, X = Y = F; R = 3-MeO-4-NH₂
 6-III, X = Y = F; R = 3-F-4-NH₂
 6-IV, X = Y = F; R = 4-COOtBu
 6-V, X = Y = F; R = 4-COOH
 6-VI, X = Y = H; R = 4-NH₂
 6-VII



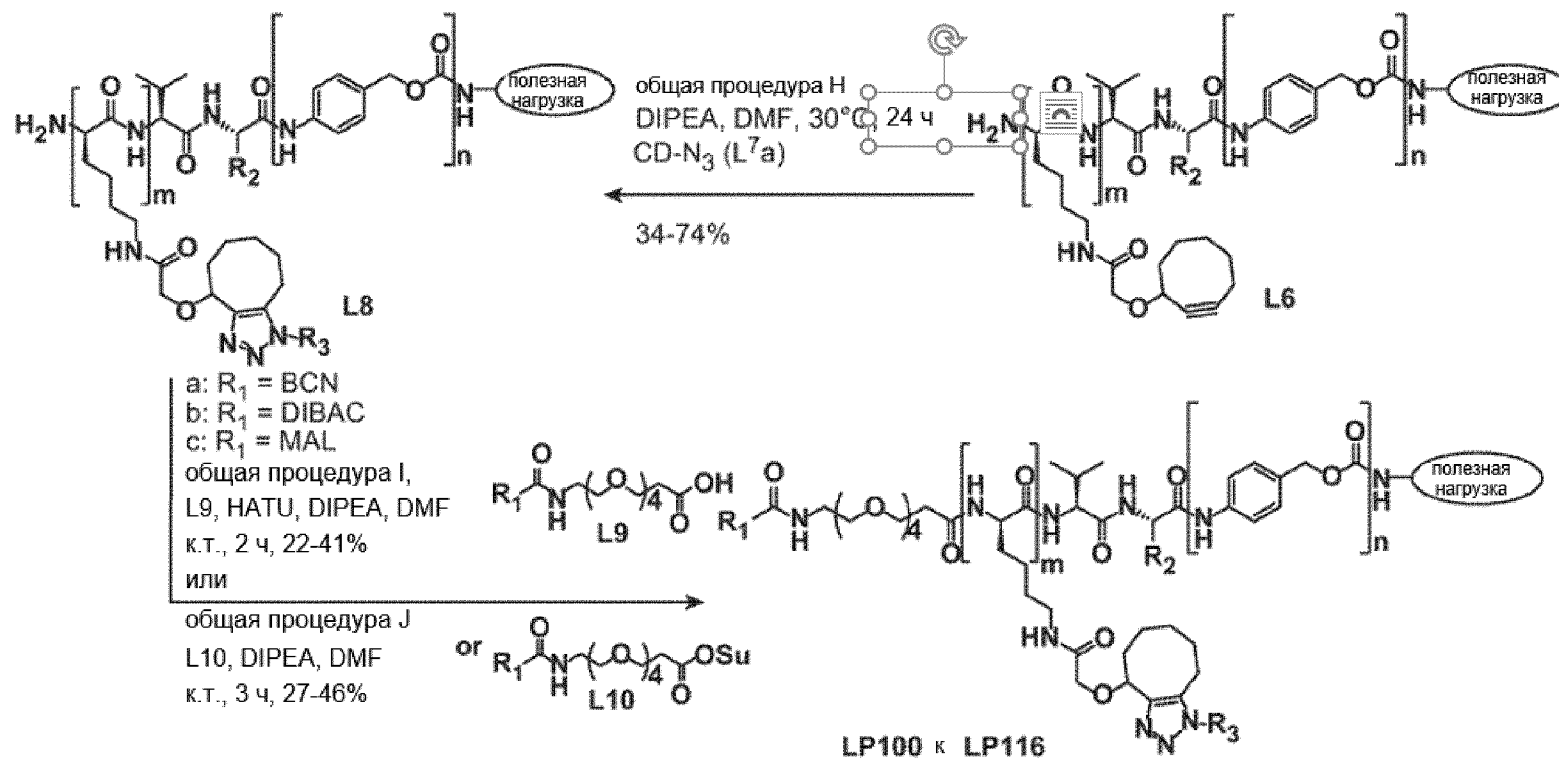
- 4b, X = Y = F; A¹, A² = A
 4h, X = F, Y = H; A¹, A² = B
 4c, X = F, Y = H; A¹ = Me, A² = OH
 4d, X = Y = F; A¹ = Me, A² = OH
 4e, X = F, Y = H; A¹ = A² = OH
 4f, X = H, Y = Me; A¹ = H, A² = OH



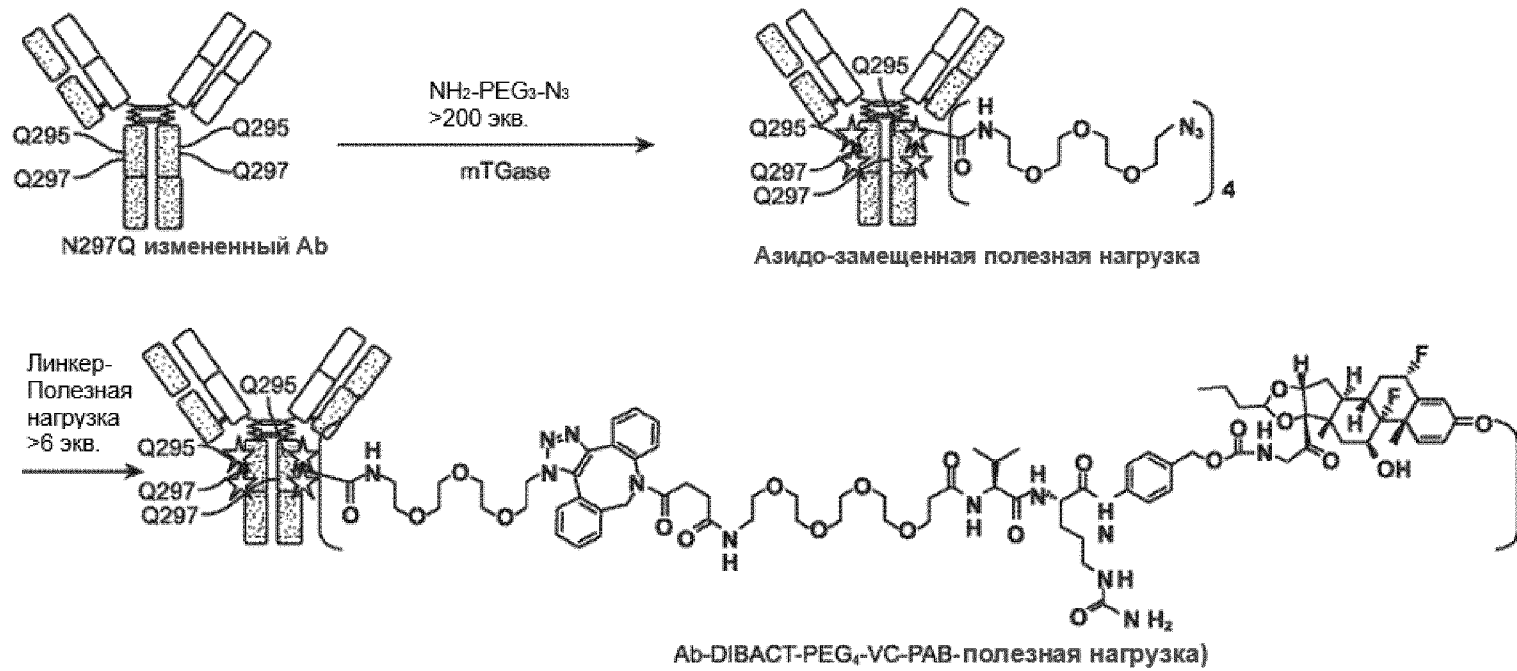
ФИГ. 31 (Продолжение)



ФИГ. 32

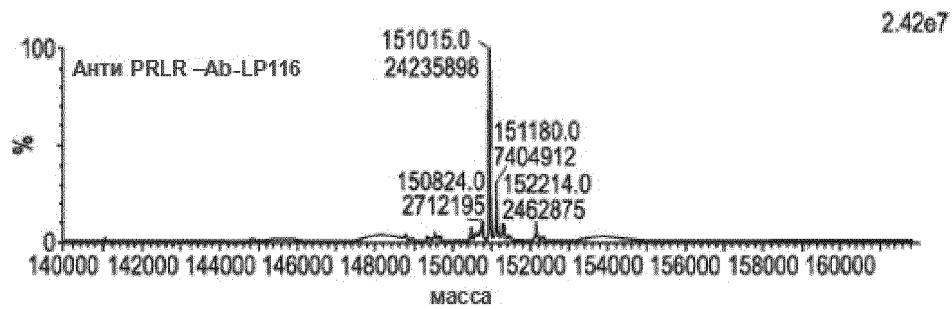
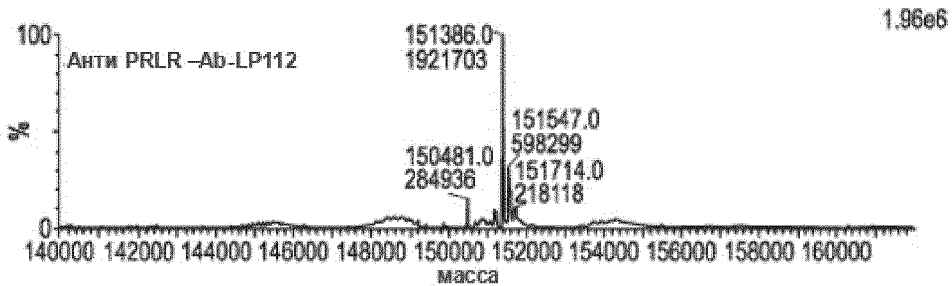
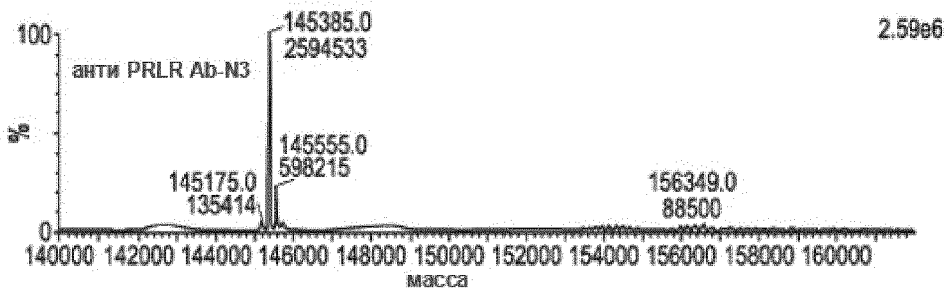
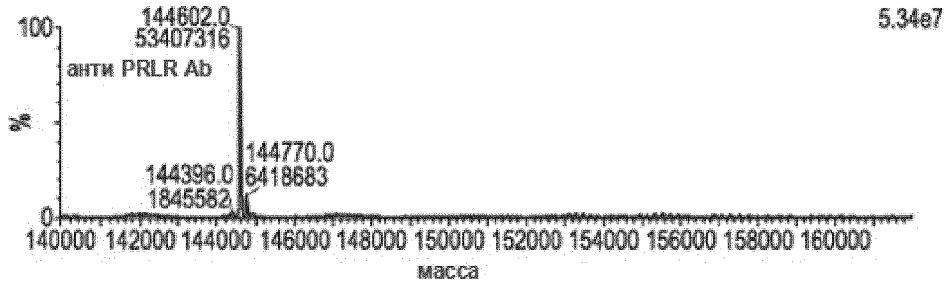


ФИГ. 32 (Продолжение)

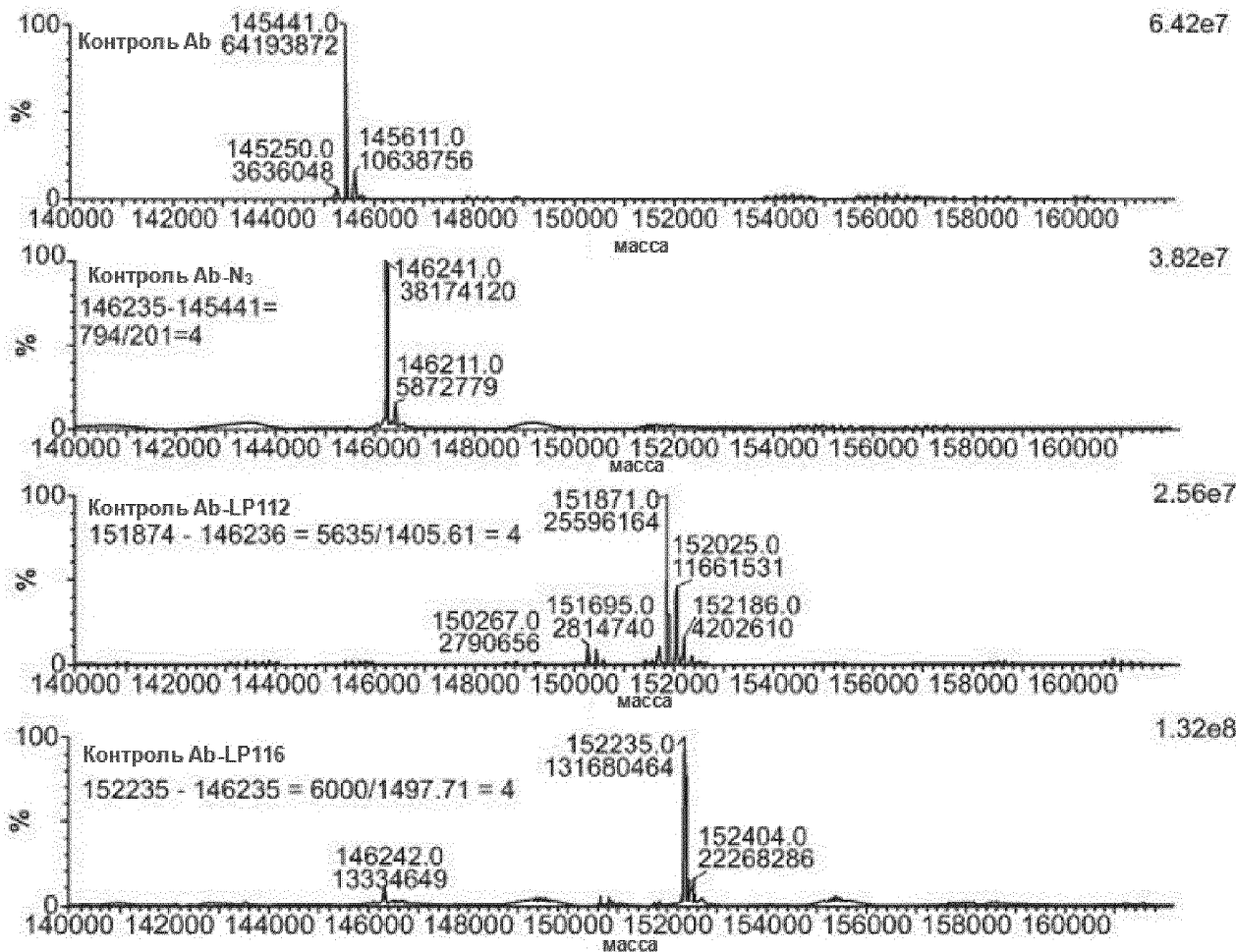


ФИГ. 33

40/45

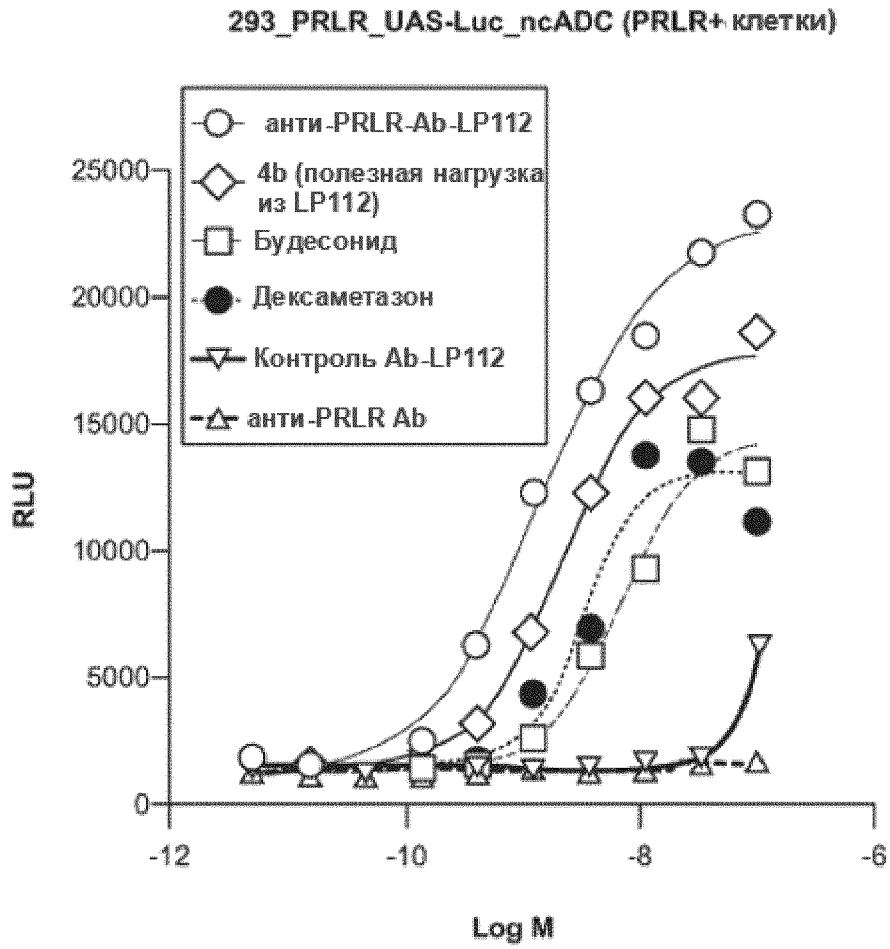


ФИГ. 34

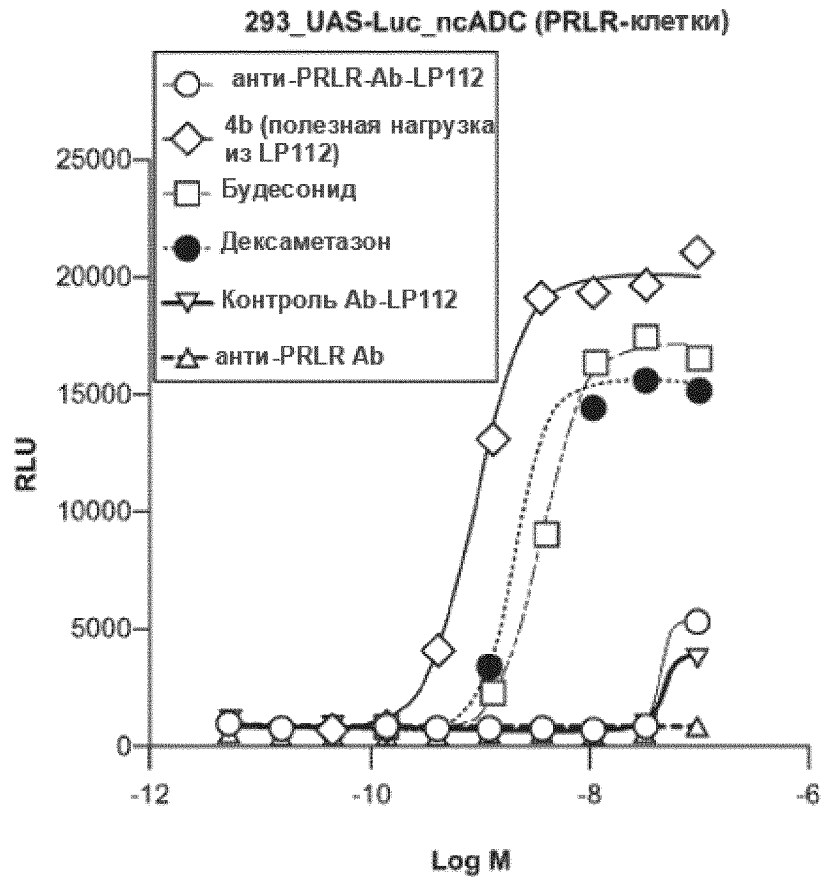


41/45

ФИГ. 35

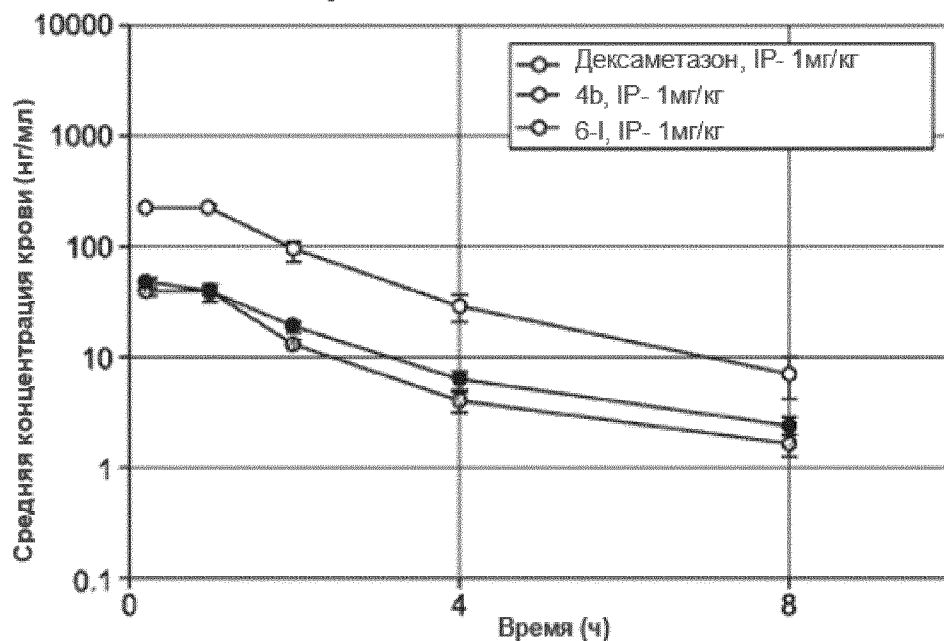


ФИГ. 36А



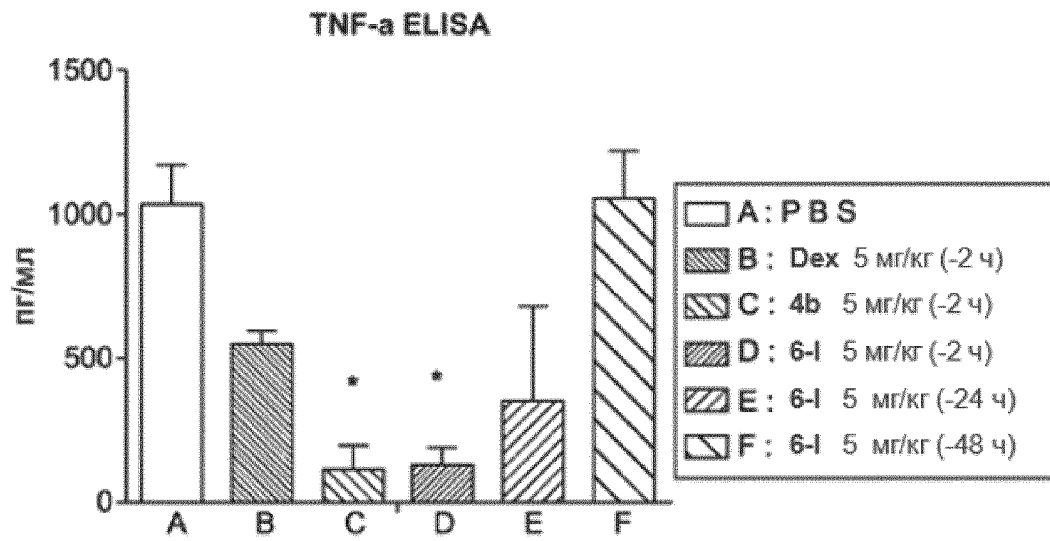
ФИГ. 36В

Среднее время концентрации крови профилей тестовых образцов 1 мг/кг у самцов мышей С57BL/6 мышей



Фармакокинетические параметры	Единица	Дексаметазон (IP, 1мг/кг у самцов мышей С57BL/6 мышей)			4b (IP, 1мг/кг у самцов мышей С57BL/6 мышей)			6-I (IP, 1мг/кг у самцов мышей С57BL/6 мышей)		
		Средн. знач-е	стандарт. отклон-е	коэфф. вариации %	Средн. знач-е	стандарт. отклон-е	коэфф. вариации %	Средн. знач-е	стандарт. отклон-е	коэфф. вариации %
T_{max}	ч	0.625	0.433	69.3	0.438	0.375	85.7	0.250	0.00	0.00
C_{max}	нг/мл	231	7.97	3.45	39.4	1.75	4.43	44.8	4.77	10.6
Терминал. $t_{1/2}$	ч	1.64	0.187	11.4	1.69	0.620	36.7	1.91	0.210	11.0
AUC_{last}	ч*нг/мл	545	60.6	11.1	84.6	7.71	9.12	107	13.6	12.7
AUC_{INF}	ч*нг/мл	562	67.2	11.9	89.2	8.20	9.19	113	14.1	12.5

ФИГ. 37А



TNF- α (pg/ml)	A: PBS	B: DEX 5 mg/kg (-2ч)	C: 4b 5 mg/kg (-2ч)	D: 6-I 5 mg/kg (-2ч)	E: 6-I 5 mg/kg (-24ч)	F: 6-I 5 mg/kg (-48ч)
2 ч	840.2	644.3	56.5	110.6	23.1	1280.1
	1293.6	508.5	10.4	30.8	997.3	1149.4
	968.6	487.1	274.8	240.8	55.4	750.0

ФИГ. 37В

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 11458100175	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2017/060434	International filing date (<i>day/month/year</i>) 7 November 2017 (07-11-2017)	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 8 November 2016 (08-11-2016)
Applicant REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 9 sheets.

It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- the international application in the language in which it was filed
 a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6*bis*(a)).

c. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title**,

- the text is approved as submitted by the applicant
 the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- the text is approved as submitted by the applicant
 the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. 33
 as suggested by the applicant
 as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
 as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
- b. none of the figures is to be published with the abstract

Box No. IV Text of the abstract (Continuation of item 5 of the first sheet)

Described herein protein steroid conjugates whereby a glucocorticoid compound is conjugated to a binding agent which is preferably an antibody. These are useful, for example, for the target-specific delivery of glucocorticoids (GCs) to cells.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2017/060434

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

24, 26(completely); 1-4, 10-14, 16, 19, 20, 22, 23, 25, 27-45(partially)

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2017/060434

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07J41/00 C07J71/00 A61K47/68
ADD.
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07J A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2009/085879 A2 (SCHERING CORP [US]; ANTHES JOHN C [US]; MCCORMICK KEVIN D [US]; HEY JO) 9 July 2009 (2009-07-09)	1-4, 39, 40
Y	page 1, paragraph 2 page 193; compound 564 page 245; compound 524 page 251; compound 580 ----- -/--	1-4, 10-14, 16, 19, 20, 22-45

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search 8 May 2018	Date of mailing of the international search report 18/05/2018
---	--

Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Watchorn, Peter
--	---

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2017/060434

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>WO 2009/085880 A2 (SCHERING CORP [US]; WANG HONGWU [US]; LIM YEON HEE [US]; LEE YOON JON) 9 July 2009 (2009-07-09)</p> <p>page 59; compound 525 page 77; compound 595 page 82; compound 459 page 1, paragraph 2</p> <p>-----</p>	<p>1-4, 10-14, 16,19, 20, 22-28, 39-41, 44,45</p>
A	<p>WO 2015/153401 A1 (MERCK SHARP & DOHME [US]; AMBRX INC [US]; GARBACCIO ROBERT M [US]; KER) 8 October 2015 (2015-10-08)</p> <p>claims 6, 10; figure 1 page 5, last paragraph</p> <p>-----</p>	<p>1-4, 10-14, 16,19, 20,22-45</p>
Y	<p>WO 2011/039511 A2 (CYTOGUIDE AS [DK]; GRAVERSEN NIELS JONAS HEILSKOV [DK]; SVENDSEN PIA []) 7 April 2011 (2011-04-07) claims 64, 65; figures 29, 30; examples 8,9,11</p> <p>-----</p>	<p>29-43</p>

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2017/060434

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2009085879	A2	09-07-2009	AR 069804 A1 17-02-2010
			CA 2710149 A1 09-07-2009
			CN 101970452 A 09-02-2011
			EP 2245042 A1 03-11-2010
			JP 2011507878 A 10-03-2011
			PE 15252009 A1 25-09-2009
			TW 200944540 A 01-11-2009
			US 2011182828 A1 28-07-2011
			WO 2009085879 A2 09-07-2009

WO 2009085880	A2	09-07-2009	AR 070040 A1 10-03-2010
			CA 2710240 A1 09-07-2009
			CN 102099368 A 15-06-2011
			EP 2235035 A2 06-10-2010
			JP 2011507879 A 10-03-2011
			PE 12152009 A1 14-08-2009
			TW 200940070 A 01-10-2009
			US 2011262368 A1 27-10-2011
			WO 2009085880 A2 09-07-2009

WO 2015153401	A1	08-10-2015	EP 3125943 A1 08-02-2017
			US 2017182181 A1 29-06-2017
			WO 2015153401 A1 08-10-2015

WO 2011039511	A2	07-04-2011	CN 102725002 A 10-10-2012
			CN 107095850 A 29-08-2017
			EP 2482854 A2 08-08-2012
			US 2012276193 A1 01-11-2012
			US 2017119790 A1 04-05-2017
			WO 2011039511 A2 07-04-2011

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 24, 26(completely); 1-4, 10-14, 16, 19, 20, 22, 23, 25, 27, 28, 39-41, 44, 45(partially)

Compounds of claim 1, wherein R3 represents -oxyaryl-NRaRb and the use thereof in methods of treating cancer or diseases relating to glucocorticoid receptor signalling as well as reactive derivatives thereof.

2. claims: 1-6, 39-41, 44, 45(all partially)

Compounds of claim 1, wherein R3 represents -OH and the use thereof in methods of treating cancer or diseases relating to glucocorticoid receptor signalling as well as reactive derivatives thereof.

3. claims: 1-6, 11, 13, 14, 16, 19, 28, 39-41, 44(all partially)

Compounds of claim 1, wherein R3 represents -Rz-C(0)-X- and the use thereof in methods of treating cancer or diseases relating to glucocorticoid receptor signalling as well as reactive derivatives thereof.

4. claims: 1-3, 13, 14, 16, 19, 20, 27, 39-41, 44(all partially)

Compounds of claim 1, wherein R3 represents -heteroalkyl and the use thereof in methods of treating cancer or diseases relating to glucocorticoid receptor signalling as well as reactive derivatives thereof.

5. claims: 1-3, 28, 39-41, 44(all partially)

Compounds of claim 1, wherein R3 represents -piperidinyl and the use thereof in methods of treating cancer or diseases relating to glucocorticoid receptor signalling as well as reactive derivatives thereof.

6. claims: 7-9, 15, 17, 18, 21(completely); 1-4, 11, 13, 14, 16, 19, 20, 27, 28, 39-41, 44, 45(partially)

Compounds of claim 1, wherein R3 represents -NRaRb and the use thereof in methods of treating cancer or diseases relating to glucocorticoid receptor signalling as well as reactive derivatives thereof.

7. claims: 1-3, 10-14, 16, 19, 20, 22, 23, 25, 27, 28, 39-41, 44(all partially)

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Compounds of claim 1, wherein R3 represents -Z-A(Rp)t and the use thereof in methods of treating cancer or diseases relating to glucocorticoid receptor signalling as well as reactive derivatives thereof.

8. claims: 29-43(partially)

Conjugates of glucocorticoid compounds according to claims 1-28 wherein R3 is -oxyaryl-NRaRb with binding agents (in particular immunoglobulins) and their use in methods of treating cancer or diseases relating to glucocorticoid receptor signalling and delivery of compounds of claims 1-28 to cells.

9. claims: 29-43(partially)

Conjugates of glucocorticoid compounds according to claims 1-28 wherein R3 is OH with binding agents (in particular immunoglobulins) and their use in methods of treating cancer or diseases relating to glucocorticoid receptor signalling and delivery of compounds of claims 1-28 to cells.

10. claims: 29-37, 39-43(all partially)

Conjugates of glucocorticoid compounds according to claims 1-28 wherein R3 is Rz-C(0)-X- with binding agents (in particular immunoglobulins) and their use in methods of treating cancer or diseases relating to glucocorticoid receptor signalling and delivery of compounds of claims 1-28 to cells.

11. claims: 29-36, 39-43(all partially)

Conjugates of glucocorticoid compounds according to claims 1-28 wherein R3 is heteroalkyl with binding agents (in particular immunoglobulins) and their use in methods of treating cancer or diseases relating to glucocorticoid receptor signalling and delivery of compounds of claims 1-28 to cells.

12. claims: 29-36, 39-43(all partially)

Conjugates of glucocorticoid compounds according to claims 1-28 wherein R3 is piperidiny1 with binding agents (in particular immunoglobulins) and their use in methods of treating cancer or diseases relating to glucocorticoid receptor signalling and delivery of compounds of claims 1-28 to cells.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

13. claims: 29-43(partially)

Conjugates of glucocorticoid compounds according to claims 1-28 wherein R3 is -NRaRb with binding agents (in particular immunoglobulins) and their use in methods of treating cancer or diseases relating to glucocorticoid receptor signalling and delivery of compounds of claims 1-28 to cells.

14. claims: 29-36, 39-43(all partially)

Conjugates of glucocorticoid compounds according to claims 1-28 wherein R3 is -Z-A(Rp)t with binding agents (in particular immunoglobulins) and their use in methods of treating cancer or diseases relating to glucocorticoid receptor signalling and delivery of compounds of claims 1-28 to cells.
