

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges
Eigentum

Internationales Büro

(43) Internationales
Veröffentlichungsdatum
26. Oktober 2012 (26.10.2012)



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2012/143499 A2

(51) Internationale Patentklassifikation:

A61K 47/48 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2012/057249

(22) Internationales Anmeldedatum:
20. April 2012 (20.04.2012)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:

11163467.1	21. April 2011 (21.04.2011)	EP
11163474.7	21. April 2011 (21.04.2011)	EP
11163472.1	21. April 2011 (21.04.2011)	EP
11163470.5	21. April 2011 (21.04.2011)	EP
11168557.4	1. Juni 2011 (01.06.2011)	EP
11168556.6	1. Juni 2011 (01.06.2011)	EP
11168559.0	1. Juni 2011 (01.06.2011)	EP
11168558.2	1. Juni 2011 (01.06.2011)	EP
11193621.7	14. Dezember 2011 (14.12.2011)	EP
11193623.3	14. Dezember 2011 (14.12.2011)	EP
11193609.2	14. Dezember 2011 (14.12.2011)	EP
11193618.3	14. Dezember 2011 (14.12.2011)	EP

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GMBH** [DE/DE]; Alfred-Nobel-Str. 10, 40789 Monheim (DE). **BAYER PHARMA AKTIENGESELLSCHAFT** [DE/DE]; Müllerstr. 178, 13353 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **LERCHEN, Hans-Georg** [DE/DE]; Stürderstr.3, 51375 Leverkusen (DE). **STELTE-LUDWIG, Beatrix** [DE/DE]; Görtzheide 10f, 42489 Wülfrath (DE). **GOLFIER, Sven** [DE/DE]; Reutlinger Str. 7a, 12247 Berlin (DE). **KOPITZ, Charlotte Christine** [DE/DE]; Brahestraße 21, 10589 Berlin (DE). **BEIER, Rudolf** [DE/DE]; Kiautschoustr. 1, 13353 Berlin (DE). **EL SHEIKH, Sherif** [DE/DE]; Kirchefeldstr. 8, 45219 Essen (DE). **HEISLER, Iring** [DE/DE]; Friedenshort 45b, 42369 Wuppertal (DE). **HARRENGA, Axel** [DE/DE]; Sadowastr. 17, 42115 Wuppertal (DE). **THIERAUCH, Karl-Heinz** [DE/DE];

Hochwildpfad 45, 14169 Berlin (DE). **SCHUHMACHER, Joachim** [DE/DE]; Lipkenskothen 31, 42113 Wuppertal (DE). **BRUDER, Sandra** [DE/DE]; Beethovenstr. 33, 51375 Leverkusen (DE). **GREVEN, Simone** [DE/DE]; Am Schneckenacker 45, 41541 Dormagen (DE). **LINDEN, Lars** [DE/DE]; Bruchstr. 72, 40235 Düsseldorf (DE). **WILLUDA, Jörg** [DE/DE]; Staerkstr 47a, 16548 Glienicke/ Nordbahn (DE). **MAHLERT, Christoph** [DE/DE]; Kranichweg 11, 42111 Wuppertal (DE). **PETRU, Heike** [DE/DE]; Richard-Sorge-Str. 72, 10249 Berlin (DE). **JÖRIBEN, Hannah** [DE/DE]; Steinbeck 48, 45239 Essen (DE). **BORKOWSKI, Sandra** [DE/DE]; Käthestr. 9, 16540 Hohen Neuendorf (DE).

(74) Gemeinsamer Vertreter: **BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GMBH**; Creative Campus Monheim, Geb. 4865, Alfred-Nobel-Str. 10, 40789 Monheim (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts (Regel 48 Absatz 2 Buchstabe g)

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: NOVEL BINDER-DRUG CONJUGATES (ADCS) AND THEIR USE

(54) Bezeichnung : NEUE BINDER-WIRKSTOFF KONJUGATE (ADCS) UND IHRE VERWENDUNG

(57) Abstract: The present application relates to novel, anti-mesothelin binder-drug conjugates (ADCs) of N,N-dialkyl auristatins, to effective metabolites of said ADCs, to methods for producing said ADCs, to the use of said ADCs for treating and/or preventing diseases, and to the use of said ADCs for producing pharmaceuticals for treating and/or preventing diseases, in particular hyperproliferative and/or angiogenic diseases, such as cancers. Such treatments can be carried out as monotherapy or in combination with other pharmaceuticals or additional therapeutic measures.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Anmeldung betrifft neue, gegen das Target Mesothelin gerichtete Binder-Wirkstoff-Konjugate (ADCs) von N,N-Dialkylauristatinen, wirksamer Metabolite dieser ADCs, Verfahren zur Herstellung dieser ADCs, die Verwendung dieser ADCs zur Behandlung und/oder Prävention von Krankheiten sowie die Verwendung dieser ADCs zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung und/oder Prävention von Krankheiten, insbesondere von hyperproliferativen und/oder angiogenen Erkrankungen wie beispielsweise Krebserkrankungen. Solche Behandlungen können als Monotherapie oder auch in Kombination mit anderen Arzneimitteln oder weiteren therapeutischen Massnahmen erfolgen.



WO 2012/143499 A2

- *mit dem Sequenzprotokollteil der Beschreibung (Regel 5 Absatz 2 Buchstabe a)*

Neue Binder-Wirkstoff Konjugate (ADCs) und ihre Verwendung

Die vorliegende Anmeldung betrifft neue, gegen das Target Mesothelin gerichtete Binder-Wirkstoff-Konjugate (ADCs) von N,N-Dialkylauristatinen, wirksamer Metabolite dieser ADCs, Verfahren zur Herstellung dieser ADCs, die Verwendung dieser ADCs zur Behandlung und/oder
5 Prävention von Krankheiten sowie die Verwendung dieser ADCs zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung und/oder Prävention von Krankheiten, insbesondere von hyperproliferativen und/oder angiogenen Erkrankungen wie beispielsweise Krebserkrankungen. Solche Behandlungen können als Monotherapie oder auch in Kombination mit anderen Arzneimitteln oder weiteren therapeutischen Maßnahmen erfolgen.

10 Krebserkrankungen sind die Folge unkontrollierten Zellwachstums verschiedenster Gewebe. In vielen Fällen dringen die neuen Zellen in bestehende Gewebe ein (invasives Wachstum), oder sie metastasieren in entfernte Organe. Krebserkrankungen treten in verschiedensten Organen auf und haben oft gewebespezifische Krankheitsverläufe. Daher beschreibt die Bezeichnung Krebserkrankung als Oberbegriff eine große Gruppe definierter Erkrankungen verschiedener Organe, Gewebe
15 und Zelltypen.

Tumore früher Stadien lassen sich gegebenenfalls durch chirurgische und radiotherapeutische Maßnahmen entfernen. Metastasierte Tumore können im Regelfall durch Chemotherapeutika nur palliativ therapiert werden. Ziel hierbei ist, die optimale Kombination aus einer Verbesserung der Lebensqualität und der Verlängerung der Lebenszeit zu erreichen.

20 Die meisten der heutzutage parenteral applizierten Chemotherapeutika sind oft nicht zielgerichtet auf das Tumorgewebe oder die Tumorzellen, sondern durch die systemische Gabe unspezifisch im Körper verteilt, d.h. auch an Orten, an denen eine Wirkstoffexposition unerwünscht ist, wie beispielsweise in gesunden Zellen, Geweben und Organen. Dies kann zu unerwünschten Nebenwirkungen bis hin zu gravierenden allgemein-toxischen Effekten führen, die dann den therapeutisch nutzbaren Dosisbereich des Wirkstoffs oftmals stark limitieren oder ein völliges Absetzen der
25 Medikation erfordern.

Die verbesserte und selektive Verfügbarkeit dieser Chemotherapeutika in der Tumorzelle oder dem direkt umgebenden Gewebe und die damit verbundene Wirksteigerung einerseits und Minimierung toxischer Nebeneffekte andererseits steht daher seit mehreren Jahren im Fokus bei der Entwicklung
30 neuer Chemotherapeutika. Viele Versuche wurden bislang unternommen, effiziente Methoden für die Wirkstoffeinbringung in die Zielzelle zu entwickeln. Die Optimierung der Assoziation zwischen Wirkstoff und intrazellulärem Ziel und die Minimierung der interzellulären Wirkstoffverteilung, beispielsweise zu Nachbarzellen, stellen jedoch nach wie vor eine schwierige Aufgabe dar.

Für die zielgerichtete Adressierung von Tumorgewebe und Tumorzellen sind beispielsweise monoklonale Antikörper geeignet. Die Bedeutung solcher Antikörper für die klinische Behandlung von Krebserkrankungen hat allgemein in den letzten Jahren erheblich zugenommen, basierend auf der Wirksamkeit solcher Agenzien wie Trastuzumab (Herceptin), Rituximab (Rituxan), Cetuximab (Erbitux) und Bevacizumab (Avastin), welche inzwischen für die Therapie einzelner, spezifischer Tumorerkrankungen zugelassen sind [siehe z.B. G. P. Adams und L. M. Weiner, *Nat. Biotechnol.* 23, 1147-1157 (2005)]. In Folge hiervon ist auch das Interesse an so genannten Immunokonjugaten wie beispielsweise den oben genannten ADCs deutlich gestiegen, in welchen ein internalisierender, gegen ein Tumor-assoziiertes Antigen gerichteter Antikörper auf kovalente Weise über eine Verknüpfungseinheit ("linker") mit einem cytotoxisch wirkenden Agens verbunden ist. Nach Einschleusung des ADCs in die Tumorzelle und anschließender Spaltung des Konjugats wird dann innerhalb der Tumorzelle entweder das cytotoxische Agens selbst oder ein anderer daraus gebildeter cytotoxisch wirksamer Metabolit freigesetzt, und kann dort seine Wirkung direkt und selektiv entfalten. Auf diesem Wege könnte die Schädigung von normalem Gewebe im Vergleich zu einer konventionellen Chemotherapie der Krebserkrankung in signifikant engeren Grenzen gehalten werden [siehe z.B. J. M. Lambert, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5, 543-549 (2005); A. M. Wu und P. D. Senter, *Nat. Biotechnol.* 23, 1137-1146 (2005); P. D. Senter, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 13, 235-244 (2009); L. Ducry und B. Stump, *Bioconjugate Chem.* 21, 5-13 (2010)].

Statt Antikörpern können auch Binder aus dem Wirkstoffbereich kleiner Moleküle als Binder verwendet werden, die selektiv an einen speziellen Zielort ("target"), wie beispielsweise an einen Rezeptor, binden [siehe z.B. E. Ruoslahti *et al.*, *Science* 279, 377-380 (1998); D. Karkan *et al.*, *PLoS ONE* 3 (6), e2469 (June 25, 2008)]. Bekannt sind auch Konjugate aus cytotoxischem Wirkstoff und adressierendem Ligand, die zwischen Ligand und Wirkstoff eine definierte Spaltstelle zur Freisetzung des Wirkstoffs aufweisen. Eine solche "Soll-Bruchstelle" kann beispielsweise in einer Peptidkette bestehen, die an einer bestimmten Stelle selektiv durch ein spezielles Enzym am Wirkort gespalten werden kann [siehe z.B. R. A. Firestone und L. A. Telan, US Patent Application US 2002/0147138].

Die Wirksamkeit monoklonaler Antikörper ist in verschiedenen Krebsarten erwiesen. So werden HERCEPTIN® und Erbitux® erfolgreich bei der Behandlung von HER2-positiven Brustkrebs bzw. EGFR-positiven Kolorektalkrebs eingesetzt.

Die Kopplung cytotoxischer Verbindungen an Antikörper bildet eine erweiterte Möglichkeit, um die Krebstherapie weiterhin zu verbessern, da diese Konjugate eine tumorspezifische Toxophoranreicherung ermöglichen und gleichzeitig die systemische Toxizität reduzieren. Hinsichtlich der Wirksamkeit und der Verträglichkeit wurden in klinischen Studien mit Brentuximab vedotin im Hodgkin Lymphom sowie Trastuzumab-DM1 bei Brustkrebs

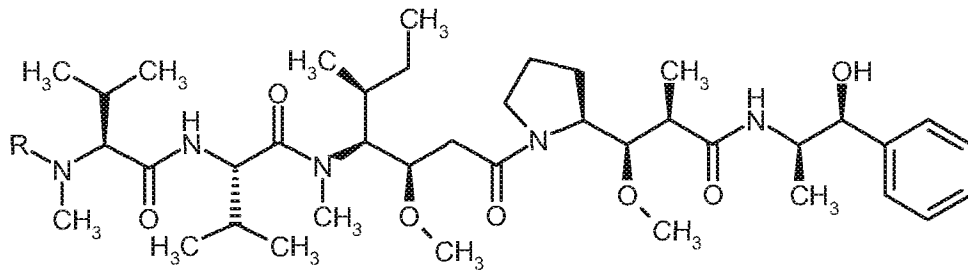
vielversprechende Ergebnisse erhalten, die die Entwicklung neuer Antikörper und neuer ADCs gegen weitere Tumorantigene unterstützen.

Das Mesothelin Vorläufer-Polypeptid ist ein Glykophosphatidylinositol (GPI) verankertes glykosyliertes Zelloberflächenprotein, welches proteolytisch gespalten wird in ein 30 kDa N-terminales sekretiertes Polypeptid (Megakaryozyten potenzierender Faktor, MPF) und ein 40 kDa C-terminales Polypeptid, das überwiegend GPI verankert an der Zellmembran vorliegt (Mesothelin) (Chang, K. and I. Pastan, Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, (1996) 93(1):136).

Aufgrund dieser Oberflächenexpression und der Überexpression in mehreren Tumorarten, insbesondere im Ovarialkarzinom, im Karzinom des Pankreas und bei Mesotheliomen sowie der stark limitierten Expression im Normalgewebe stellt Mesothelin ein geeignetes Antigen für eine monoklonale Antikörpertherapie dar. (Argani, P. et al., Clin. Cancer Res. (2001) 7(12): 3862; Hassan, R., et al., Clin. Cancer Res. (2004) 10(12 Pt 1):3937). Die genaue Funktion von Mesothelin ist bisher unbekannt, Mesothelin-Gen defiziente Mäuse zeigen keine augenscheinlichen anatomischen, hämatologischen oder die Fortpflanzung einschränkenden Auffälligkeiten (Bera, T.K. and I. Pastan, Mol. Cell. Biol. (2000) 20(8):2902). Mesothelin ist jedoch ein hochgradig variables Protein, welches posttranslationalen Modifikationen wie proteolytischem Verdau und Glykosylierungen unterliegt (Hassan, R., et al., Clin. Cancer Res. (2004) 10(12 Pt 1): 3937). Therapeutische Antikörper sollten demnach unabhängig von der individuellen Mesothelin Modifikationen ein invariantes Epitop erkennen. Antikörper können nach Ihren gewünschten Eigenschaften, wie z.B. invarianter Affinität oder Internalisierung selektiert werden, wobei die Verwendung monoklonaler Antikörper garantiert, dass diese Eigenschaften einerseits für alle Antikörper zutrifft und andererseits auch langfristig gleichbleibend produziert werden können.

Auristatin E (AE) und Monomethylauristatin E (MMAE) sind synthetische Analoga der Dolastatine, einer speziellen Gruppe von linearen Pseudopeptiden, welche ursprünglich aus marinen Quellen isoliert wurden und die zum Teil sehr potente cytotoxische Aktivität gegenüber Tumorzellen aufweisen [für eine Übersicht siehe z.B. G. R. Pettit, *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* 70, 1-79 (1997); G. R. Pettit *et al.*, *Anti-Cancer Drug Design* 10, 529-544 (1995); G. R. Pettit *et al.*, *Anti-Cancer Drug Design* 13, 243-277 (1998)].

- 4 -

Auristatin E (AE): R = CH₃

Monomethylauristatin E (MMAE): R = H

Allerdings besitzt MMAE den Nachteil einer vergleichsweise hohen systemischen Toxizität. Zur Verbesserung der Tumorselektivität wird MMAE insbesondere in Verbindung mit enzymatisch spaltbaren Valin-Citrullin-Linkern im ADC-Setting zur gezielteren Tumortherapie eingesetzt

5 [WO 2005/081711-A2; S. O. Doronina *et al.*, *Bioconjugate Chem.* **17**, 114-124 (2006)]. Nach proteolytischer Spaltung wird MMAE vorzugsweise intrazellulär aus entsprechenden ADCs freigesetzt.

MMAE ist jedoch bei einer Anwendung in Form von Binder-Wirkstoff-Konjugaten (ADCs) nicht kompatibel mit Verknüpfungseinheiten (Linkern) zwischen Binder und Wirkstoff, welche keine

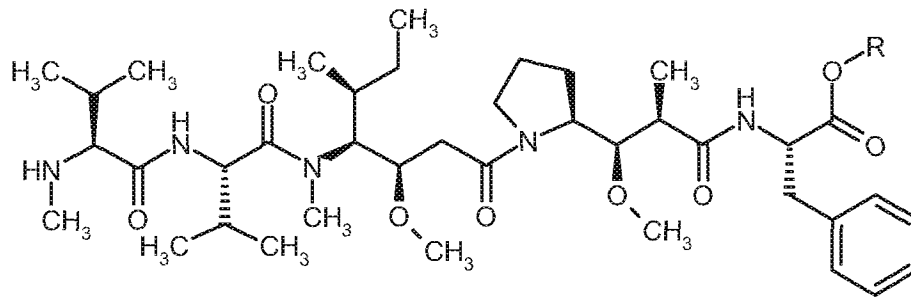
10 enzymatisch spaltbare Soll-Bruchstelle aufweisen [S. O. Doronina *et al.*, *Bioconjugate Chem.* **17**, 114-124 (2006)].

Monomethylauristatin F (MMAF) ist ein Auristatin-Derivat mit einer C-terminalen Phenylalanin-Einheit, das nur moderate anti-proliferative Wirkung im Vergleich zu MMAE aufweist. Dies ist sehr wahrscheinlich auf die freie Carboxylgruppe zurückzuführen, die aufgrund ihrer Polarität und

15 Ladung die Zellgängigkeit dieser Verbindung negativ beeinflusst. In diesem Zusammenhang wurde der Methyl ester von MMAF (MMAF-OMe) als ein neutral geladenes, zellgängiges Prodrug-Derivat beschrieben, das im Vergleich zu MMAF eine um mehrere Größenordnungen erhöhte *in vitro*-Cytotoxizität gegenüber verschiedenen Karzinoma-Zelllinien zeigt [S. O. Doronina *et al.*, *Bioconjugate Chem.* **17**, 114-124 (2006)]. Es ist anzunehmen, dass diese Wirkung durch MMAF selbst

20 hervorgerufen wird, das nach Aufnahme des Prodrugs in die Zellen schnell durch intrazelluläre Ester-Hydrolyse freigesetzt wird.

- 5 -



Monomethylauristatin F (MMAF): R = H

Monomethylauristatin F-methylester (MMAF-OMe): R = CH₃

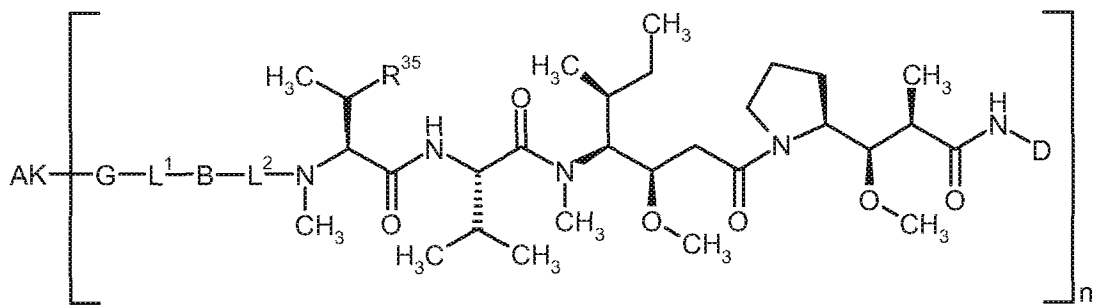
Wirkstoff-Verbindungen auf Basis von einfachen Ester-Derivaten unterliegen allgemein jedoch dem Risiko einer chemischen Instabilität infolge einer unspezifischen, vom vorgesehenen Wirkort unabhängigen Ester-Hydrolyse, beispielsweise durch im Blutplasma vorhandene Esterasen; dies
 5 kann die Anwendbarkeit solcher Verbindungen in der Therapie deutlich einschränken.

Monomethylauristatin F (MMAF) sowie verschiedene Ester- und Amid-Derivate hiervon wurden in WO 2005/081711-A2 offenbart. Weitere Auristatin-Analoga mit einer C-terminalen, amidisch substituierten Phenylalanin-Einheit sind in WO 01/18032-A2 beschrieben. In WO 02/088172-A2 und WO 2007/008603-A1 werden MMAF-Analoga beansprucht, welche Seitenketten-Modifikationen des Phenylalanins betreffen, und in WO 2007/008848-A2 solche, in denen die Carboxyl-
 10 gruppe des Phenylalanins modifiziert ist. Über den C-Terminus verknüpfte Auristatin-Konjugate wurden vor kurzem in WO 2009/117531-A1 beschrieben [siehe auch S. O. Doronina *et al.*, *Bioconjugate Chem.* 19, 1960-1963 (2008)].

Darüber hinaus sind Auristatin-Derivate wie MMAE und MMAF auch Substrate für Transporterproteine, welche von vielen Tumorzellen exprimiert werden, was zu einer Resistenzentwicklung gegenüber diesen Wirkstoffen führen kann.
 15

Aufgabe der vorliegenden Erfindung war die Bereitstellung neuer Binder-Wirkstoff-Konjugate (ADCs), die durch Kombination von neuen N,N-Dialkylauristatin-Derivaten mit neuartigen, geeigneten Linkern und Binder ein sehr attraktives Wirkprofil, wie beispielsweise hinsichtlich ihrer
 20 spezifischen Tumorwirkung und/oder des geringeren Potentials der intrazellulär gebildeten Metabolite als Substrat gegenüber Transporterproteinen, aufweisen, und sich daher zur Behandlung und/oder Prophylaxe von hyperproliferativen und/oder angiogenen Erkrankungen, wie beispielsweise Krebserkrankungen, eignen.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel
 25 (Ia)



(Ia),

in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 50 steht,

5 AK für einen Binder steht,

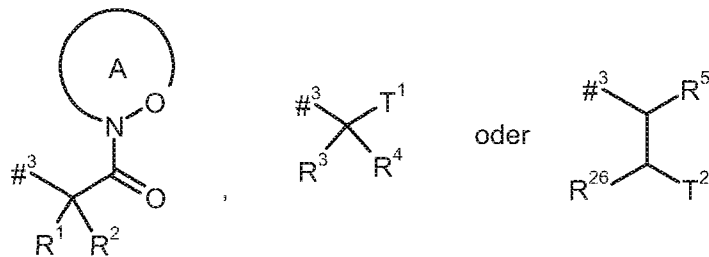
die Gruppe §-G-L¹-B-L²-§§ für einen Linker steht,

wobei

§ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe AK kennzeichnet und

§§ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

10 D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

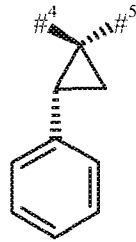
R¹ für Wasserstoff oder Methyl steht,

15 R² für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

- 7 -

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



5

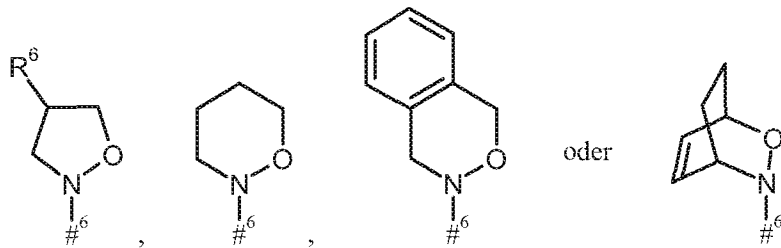
bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel

10



steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

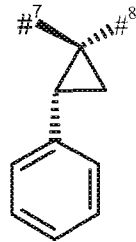
15

R³ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁴ für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

5 #⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

10 worin

R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

15 oder

R⁸ und R⁹ bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

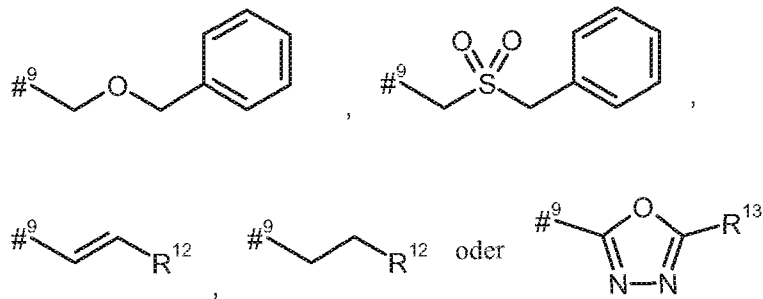
R¹⁰ für Benzoyl steht,

R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

20

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel

- 9 -



steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit $-\text{CHC}(\text{R}^{26})-\text{T}^2$ kennzeichnet,

R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-\text{S}(\text{O})_2\text{OH}$ substituiert sein kann,

5

R¹³ für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

R²⁶ für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

T² für Phenyl, Benzyl, 1*H*-Indol-3-yl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

10 R³⁵ für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Erfindungsgemäße Verbindungen sind die Verbindungen der Formel (Ia) und (I) und deren Salze, Solvate und Solvate der Salze, die von Formel (Ia) und (I) umfassten Verbindungen der nachfolgend genannten Formeln und deren Salze, Solvate und Solvate der Salze sowie die von Formel (Ia) und (I) umfassten, nachfolgend als Ausführungsbeispiele genannten Verbindungen und deren Salze, Solvate und Solvate der Salze, soweit es sich bei den von Formel (Ia) und (I) umfassten, nachfolgend genannten Verbindungen nicht bereits um Salze, Solvate und Solvate der Salze handelt.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in Abhängigkeit von ihrer Struktur in unterschiedlichen stereoisomeren Formen existieren, d.h. in Gestalt von Konfigurationsisomeren oder gegebenenfalls auch als Konformationsisomere (Enantiomere und/oder Diastereomere, einschließlich solcher bei Atropisomeren). Die vorliegende Erfindung umfasst deshalb die Enantiomeren und Diastereomeren und ihre jeweiligen Mischungen. Aus solchen Mischungen von Enantiomeren und/oder Diastereomeren lassen sich die stereoisomer einheitlichen Bestandteile in bekannter Weise

20

isolieren; vorzugsweise werden hierfür chromatographische Verfahren verwendet, insbesondere die HPLC-Chromatographie an achiraler bzw. chiraler Phase.

Sofern die erfindungsgemäßen Verbindungen in tautomeren Formen vorkommen können, umfasst die vorliegende Erfindung sämtliche tautomere Formen.

- 5 Die vorliegende Erfindung umfasst auch alle geeigneten isotopischen Varianten der erfindungsgemäßen Verbindungen. Unter einer isotopischen Variante einer erfindungsgemäßen Verbindung wird hierbei eine Verbindung verstanden, in welcher mindestens ein Atom innerhalb der erfindungsgemäßen Verbindung gegen ein anderes Atom der gleichen Ordnungszahl, jedoch mit einer anderen Atommasse als der gewöhnlich oder überwiegend in der Natur vorkommenden
- 10 Atommasse ausgetauscht ist. Beispiele für Isotope, die in eine erfindungsgemäße Verbindung inkorporiert werden können, sind solche von Wasserstoff, Kohlenstoff, Stickstoff, Sauerstoff, Phosphor, Schwefel, Fluor, Chlor, Brom und Iod, wie ^2H (Deuterium), ^3H (Tritium), ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{32}P , ^{33}P , ^{33}S , ^{34}S , ^{35}S , ^{36}S , ^{18}F , ^{36}Cl , ^{82}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{129}I und ^{131}I . Bestimmte isotopische Varianten einer erfindungsgemäßen Verbindung, wie insbesondere solche, bei denen ein oder
- 15 mehrere radioaktive Isotope inkorporiert sind, können von Nutzen sein beispielsweise für die Untersuchung des Wirkmechanismus oder der Wirkstoff-Verteilung im Körper; aufgrund der vergleichsweise leichten Herstell- und Detektierbarkeit sind hierfür insbesondere mit ^3H - oder ^{14}C -Isotopen markierte Verbindungen geeignet. Darüber hinaus kann der Einbau von Isotopen, wie beispielsweise von Deuterium, zu bestimmten therapeutischen Vorteilen als Folge einer größeren
- 20 metabolischen Stabilität der Verbindung führen, wie beispielsweise eine Verlängerung der Halbwertszeit im Körper oder eine Reduktion der erforderlichen Wirkdosis; solche Modifikationen der erfindungsgemäßen Verbindungen können daher gegebenenfalls auch eine bevorzugte Ausführungsform der vorliegenden Erfindung darstellen. Isotopische Varianten der erfindungsgemäßen Verbindungen können nach den dem Fachmann bekannten Verfahren hergestellt werden, so
- 25 beispielsweise nach den weiter unten beschriebenen Methoden und den bei den Ausführungsbeispielen wiedergegebenen Vorschriften, indem entsprechende isotopische Modifikationen der jeweiligen Reagenzien und/oder Ausgangsverbindungen eingesetzt werden.

- Als Salze sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung physiologisch unbedenkliche Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen bevorzugt. Umfasst sind auch Salze, die für pharmazeutische
- 30 Anwendungen selbst nicht geeignet sind, jedoch beispielsweise für die Isolierung oder Reinigung der erfindungsgemäßen Verbindungen verwendet werden können.

- Physiologisch unbedenkliche Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen umfassen Säureadditionssalze von Mineralsäuren, Carbonsäuren und Sulfonsäuren, z.B. Salze der Chlorwasserstoffsäure, Bromwasserstoffsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Methansulfonsäure, Ethansulfonsäure, Benzolsulfonsäure, Toluolsulfonsäure, Naphthalindisulfonsäure, Essigsäure, Trifluoressig-
- 35

säure, Propionsäure, Milchsäure, Weinsäure, Äpfelsäure, Zitronensäure, Fumarsäure, Maleinsäure und Benzoesäure.

Physiologisch unbedenkliche Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen umfassen auch Salze üblicher Basen, wie beispielhaft und vorzugsweise Alkalimetallsalze (z.B. Natrium- und Kaliumsalze), Erdalkalisalze (z.B. Calcium- und Magnesiumsalze) und Ammoniumsalze, abgeleitet von
5 Ammoniak oder organischen Aminen mit 1 bis 16 C-Atomen, wie beispielhaft und vorzugsweise Ethylamin, Diethylamin, Triethylamin, Ethyldiisopropylamin, Monoethanolamin, Diethanolamin, Triethanolamin, Dicyclohexylamin, Dimethylaminoethanol, Prokain, Dibenzylamin, *N*-Methylpiperidin, *N*-Methylmorpholin, Arginin, Lysin und 1,2-Ethylendiamin.

10 Als Solvate werden im Rahmen der Erfindung solche Formen der erfindungsgemäßen Verbindungen bezeichnet, welche in festem oder flüssigem Zustand durch Koordination mit Lösungsmittelmolekülen einen Komplex bilden. Hydrate sind eine spezielle Form der Solvate, bei denen die Koordination mit Wasser erfolgt. Als Solvate sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung Hydrate bevorzugt.

15 Außerdem umfasst die vorliegende Erfindung auch Prodrugs der erfindungsgemäßen Verbindungen. Der Begriff "Prodrugs" bezeichnet hierbei Verbindungen, welche selbst biologisch aktiv oder inaktiv sein können, jedoch während ihrer Verweilzeit im Körper zu erfindungsgemäßen Verbindungen umgesetzt werden (beispielsweise metabolisch oder hydrolytisch).

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung haben die Substituenten, soweit nicht anders spezifiziert,
20 die folgende Bedeutung:

(C₁-C₄)-Alkyl steht im Rahmen der Erfindung für einen linearen oder verzweigten Alkylrest mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen. Beispielhaft und vorzugsweise seien genannt: Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, Isopropyl, *n*-Butyl, Isobutyl, 1-Methylpropyl und *tert.*-Butyl.

(C₁-C₄)-Alkylcarbonyl steht im Rahmen der Erfindung für einen linearen oder verzweigten
25 Alkylrest mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen, der über eine Carbonylgruppe verknüpft ist. Beispielhaft und vorzugsweise seien genannt: Methylcarbonyl, Ethylcarbonyl, *n*-Propylcarbonyl, Isopropylcarbonyl, *n*-Butylcarbonyl, Isobutylcarbonyl, 1-Methylpropylcarbonyl und *tert.*-Butylcarbonyl.

Alkandiyl steht im Rahmen der Erfindung für einen linearen, α,ω -divalenten Alkylrest mit der
30 jeweils angegebenen Zahl von Kohlenstoffatomen. Beispielhaft und vorzugsweise seien genannt: Methylen, Ethan-1,2-diyl (1,2-Ethylen), Propan-1,3-diyl (1,3-Propylen), Butan-1,4-diyl (1,4-Butylen), Pentan-1,5-diyl (1,5-Pentylen), Hexan-1,6-diyl (1,6-Hexylen), Heptan-1,7-diyl (1,7-

Hexylen), Octan-1,8-diyl (1,8-Octylen), Nonan-1,9-diyl (1,9-Nonylen), Decan-1,10-diyl (1,10-Decylen).

(C₃-C₇)-Cycloalkyl bzw. 3- bis 7-gliedriger Carbocyclus steht im Rahmen der Erfindung für eine monocyclische, gesättigte Cycloalkylgruppe mit 3 bis 7 Kohlenstoffatomen. Beispielfhaft und vorzugsweise seien genannt: Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl und Cycloheptyl.

Die Seitengruppe einer α -Aminosäure in der Bedeutung von R¹⁹ umfasst sowohl die Seitengruppen der natürlich vorkommenden α -Aminosäuren als auch die Seitengruppen von Homologen und Isomeren dieser α -Aminosäuren. Die α -Aminosäure kann hierbei sowohl in der L- als auch in der D-Konfiguration oder auch als Gemisch der L- und D-Form vorliegen. Als Seitengruppen seien beispielhaft genannt: Methyl (Alanin), Propan-2-yl (Valin), Propan-1-yl (Norvalin), 2-Methylpropan-1-yl (Leucin), 1-Methylpropan-1-yl (Isoleucin), Butan-1-yl (Norleucin), *tert.*-Butyl (2-*tert.*-Butylglycin), Phenyl (2-Phenylglycin), Benzyl (Phenylalanin), p-Hydroxybenzyl (Tyrosin), Indol-3-ylmethyl (Tryptophan), Imidazol-4-ylmethyl (Histidin), Hydroxymethyl (Serin), 2-Hydroxyethyl (Homoserin), 1-Hydroxyethyl (Threonin), Mercaptomethyl (Cystein), Methylthiomethyl (*S*-Methylcystein), 2-Mercaptoethyl (Homocystein), 2-Methylthioethyl (Methionin), Carbamoylmethyl (Asparagin), 2-Carbamoylethyl (Glutamin), Carboxymethyl (Asparaginsäure), 2-Carboxyethyl (Glutaminsäure), 4-Aminobutan-1-yl (Lysin), 4-Amino-3-hydroxybutan-1-yl (Hydroxylysin), 3-Aminopropan-1-yl (Ornithin), 2-Aminoethyl (2,4-Diaminobuttersäure), Aminomethyl (2,3-Diaminopropionsäure), 3-Guanidinopropan-1-yl (Arginin), 3-Ureidopropan-1-yl (Citrullin). Bevorzugte α -Aminosäure-Seitengruppen in der Bedeutung von R¹⁹ sind Methyl (Alanin), Propan-2-yl (Valin), 2-Methylpropan-1-yl (Leucin), Benzyl (Phenylalanin), Imidazol-4-ylmethyl (Histidin), Hydroxymethyl (Serin), 1-Hydroxyethyl (Threonin), 4-Aminobutan-1-yl (Lysin), 3-Aminopropan-1-yl (Ornithin), 2-Aminoethyl (2,4-Diaminobuttersäure), Aminomethyl (2,3-Diaminopropionsäure), 3-Guanidinopropan-1-yl (Arginin). Bevorzugt ist jeweils die L-Konfiguration.

Ein 4- bis 7-gliedriger Heterocyclus steht im Rahmen der Erfindung für einen monocyclischen, gesättigten Heterocyclus mit insgesamt 4 bis 7 Ringatomen, der ein oder zwei Ring-Heteroatome aus der Reihe N, O, S, SO und/oder SO₂ enthält und über ein Ring-Kohlenstoffatom oder gegebenenfalls ein Ring-Stickstoffatom verknüpft ist. Bevorzugt ist ein 5- bis 7-gliedriger Heterocyclus mit ein oder zwei Ring-Heteroatomen aus der Reihe N, O und/oder S, besonders bevorzugt ein 5- oder 6-gliedriger Heterocyclus mit ein oder zwei Ring-Heteroatomen aus der Reihe N und/oder O. Beispielfhaft seien genannt: Azetidinyl, Oxetanyl, Pyrrolidinyl, Pyrazolidinyl, Tetrahydrofuranyl, Thiolanyl, Piperidinyl, Piperazinyl, Tetrahydropyranyl, Tetrahydrothiopyranyl, Morpholinyl, Thiomorpholinyl, Hexahydroazepinyl und Hexahydro-1,4-diazepinyl. Bevorzugt sind Pyrrolidinyl, Tetrahydrofuranyl, Piperidinyl, Piperazinyl, Tetrahydropyranyl und Morpholinyl.

In der Formel der Gruppe, für die A, B, B¹, D, G, L¹, L², L⁴, L⁶, R¹, R², R³, R⁴ bzw. R⁵ stehen kann, steht der Endpunkt der Linie, an dem das Zeichen #⁶, *, **, #³, #¹, #², ##¹, ##², ##³, ##⁴, ##⁵, ##⁶, ##⁷, ##⁸, ***, ****, #⁴, #⁵, #⁶, #⁷, #⁸ bzw. #⁹ steht, nicht für ein Kohlenstoffatom beziehungsweise eine CH₂-Gruppe, sondern ist Bestandteil der Bindung zu dem jeweils bezeichneten Atom, an das A, B, B¹, D, G, L¹, L², L⁴, L⁶, R¹, R², R³, R⁴ bzw. R⁵ gebunden ist.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung gilt, dass für alle Reste, die mehrfach auftreten, deren Bedeutung unabhängig voneinander ist. Wenn Reste in den erfindungsgemäßen Verbindungen substituiert sind, können die Reste, soweit nicht anders spezifiziert, ein- oder mehrfach substituiert sein. Eine Substitution mit einem oder mit zwei gleichen oder verschiedenen Substituenten ist bevorzugt. Besonders bevorzugt ist die Substitution mit einem Substituenten.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung haben die verwendeten Begriffe, soweit nicht anders spezifiziert, die folgende Bedeutung:

Der Begriff „Linker“ wird im breitesten Sinne als eine chemische Einheit verstanden, die eine kovalente Bindung oder eine Anreihung von Atomen umfasst, die einen Binder an einen Wirkstoff kovalent knüpft. Vorzugsweise wird der Begriff „Linker“ als eine Anreihung von Atomen im Sinne der vorliegenden Erfindung verstanden, die einen Binder an einen Wirkstoff kovalent knüpft. Darüber hinaus können Linker beispielsweise divalente chemische Einheiten, wie Alkyldiyle, Aryldiyle, Heteroaryldiyle, Heterocyclidiyle, Dicarbonsäureester, Dicarbonsäureamide darstellen.

Der Begriff „Binder“ wird im breitesten Sinne als ein Molekül verstanden, welches an ein Zielmolekül, das auf einer bestimmten, mit dem Binder-Wirkstoffkonjugat zu adressierenden Zielzellen-Population vorhanden ist, bindet. Der Begriff Binder ist in seiner breitesten Auslegung zu verstehen und umfasst z.B. auch Lektine, Proteine die bestimmte Zuckerketten binden können, oder Phospholipid-bindende Proteine. Solche Binder umfassen beispielsweise hochmolekulare Proteine (Bindeproteine), Polypeptide oder Peptide (Bindepeptide), nicht-peptidische (z.B. Aptamere (US5,270,163) Übersichtsartikel von Keefe AD., et al., Nat. Rev. Drug Discov. 2010; 9:537-550), oder Vitamine) und alle anderen zellbindenden Moleküle oder Substanzen. Bindeproteine sind z.B. Antikörper und Antikörperfragmente oder Antikörpermimetika wie z.B. Affibodies, Adnectins, Anticalins, DARPins, Avimers, Nanobodies (Übersichtsartikel von Gebauer M. et al., Curr. Opinion in Chem. Biol. 2009; 13:245-255; Nuttall S.D. et al., Curr. Opinion in Pharmacology 2008; 8:608-617). Bindepeptide sind z.B. Liganden eines Liganden-Rezeptorspaars, wie z.B. VEGF des Liganden-Rezeptorspaars VEGF/KDR, wie Transferrin des Liganden-Rezeptorspaars Transferrin/Transferrin-Rezeptor oder Cytokine/Cytokin-Rezeptor, wie TNFalpha des Liganden-Rezeptorspaars TNFalpha/TNFalpha Rezeptor.

Als Binder sind erfindungsgemäß bevorzugt (insbesondere humane, monoklonale) Antikörper oder Antigen-bindende Antikörperfragmente, die an Mesothelin binden. Im Falle von anti-Mesothelin-Antikörpern ist n , also die Anzahl an Toxophormolekülen pro Antikörpermolekül, vorzugsweise in dem Bereich von 1 bis 10, besonders bevorzugt 2 bis 8.

- 5 Ein „Zielmolekül“ wird im breitesten Sinne als ein Molekül verstanden, welches in der Zielzellenpopulation vorhanden ist, und kann ein Protein (z.B. ein Rezeptor eines Wachstumsfaktors) oder ein nicht-peptidisches Molekül sein (z.B. ein Zucker oder Phospholipid). Bevorzugt ist es ein Rezeptor oder ein Antigen.

Der Begriff „extrazelluläres“ Zielmolekül beschreibt ein an die Zelle gebundenes Zielmolekül, 10 welches sich auf der Außenseite einer Zelle befindet oder den Teil eines Zielmoleküls, welcher sich auf der Außenseite einer Zelle befindet, d.h. ein Binder kann an einer intakten Zelle an sein extrazelluläres Zielmolekül binden. Ein extrazelluläres Zielmolekül kann in der Zellmembran verankert sein oder Bestandteil der Zellmembran sein. Der Fachmann kennt Verfahren, um extrazelluläre Zielmoleküle zu identifizieren. Für Proteine kann dies über eine Bestimmung der 15 Transmembrandomäne(n) und die Orientierung des Proteins in der Membran geschehen. Diese Angaben sind in der Regel in Proteindatenbanken (z.B. SwissProt) hinterlegt.

Der Begriff „Krebs-Zielmolekül“ beschreibt ein Zielmolekül, welches auf einer oder mehreren Krebszellarten im Vergleich zu nicht-Krebszellen des gleichen Gewebetypus vermehrt vorhanden 20 ist. Bevorzugt ist das Krebs-Zielmolekül auf einer oder mehreren Krebszellarten im Vergleich zu nicht-Krebszellen des gleichen Gewebetypus selektiv vorhanden, wobei selektiv eine mindestens zweifache Anreicherung auf Krebszellen im Vergleich zu nicht-Krebszellen des gleichen Gewebetypus beschreibt (ein „selektives Krebs-Zielmolekül“). Die Verwendung von Krebs-Zielmolekülen erlaubt die selektive Therapie von Krebszellen mit den erfindungsgemäßen Konjugaten.

25 Der Binder kann über eine Bindung mit dem Linker verknüpft werden. Aus der Literatur sind verschiedene Möglichkeiten der kovalenten Kopplung (Konjugation) von organischen Molekülen an Antikörper bekannt. Die Verknüpfung des Binders kann mittels eines Heteroatoms des Binders erfolgen. Erfindungsgemäße Heteroatome des Binders, die zur Verknüpfung verwendet werden können sind Schwefel (in einer Ausführungsform via einer Sulfhydrylgruppe des Binders), 30 Sauerstoff (erfindungsgemäß mittels einer Carboxyl oder Hydroxylgruppe des Binders) und Stickstoff (in einer Ausführungsform via einer primären oder sekundären Amingruppe oder Amidgruppe des Binders). Erfindungsgemäß bevorzugt ist die Konjugation der Toxophore an den Antikörper über ein oder mehrere Schwefelatome von Cystein-Resten des Antikörpers und/oder über ein oder mehrere NH-Gruppen von Lysin-Resten des Antikörpers. Diese Heteroatome können 35 im natürlichen Binder vorhanden sein oder durch chemische oder molekularbiologische Methoden

eingeführt werden. Erfindungsgemäß hat die Verknüpfung des Binders mit dem Toxophor nur einen geringen Einfluß auf die Bindeaktivität des Binders zum Zielmolekül. In einer bevorzugten Ausführungsform hat die Verknüpfung keinen Einfluß auf die Bindeaktivität des Binders zum Zielmolekül.

5 Der Begriff "Antikörper" wird gemäß der vorliegenden Erfindung in seinem breitesten Sinne verstanden und umfasst Immunglobulinmoleküle, beispielsweise intakte oder modifizierte monoklonale Antikörper, polyklonale Antikörper oder multispezifische Antikörper (z.B. bispezifische Antikörper). Ein Immunglobulinmolekül umfasst bevorzugt ein Molekül mit vier Polypeptidketten, zwei schwere Ketten (H Ketten) und zwei leichte Ketten (L Ketten), welche
10 typischerweise durch Disulfidbrücken verknüpft sind. Jede schwere Kette umfasst eine variable Domäne der schweren Kette (abgekürzt VH) und konstante Domäne der schweren Kette. Die konstante Domäne der schweren Kette kann beispielsweise drei Domänen CH1, CH2 und CH3 umfassen. Jede leichte Kette umfasst eine variable Domäne (abgekürzt VL) und eine konstante Domäne. Die konstante Domäne der leichten Kette umfasst eine Domäne (abgekürzt CL). Die VH
15 und VL Domänen können weiter unterteilt werden in Regionen mit Hypervariabilität, auch Komplementaritäts-bestimmende Regionen genannt („complementarity determining region“, abgekürzt CDR) und Regionen mit geringerer Sequenzvariabilität („framework region“, abgekürzt FR). Jede VH und VL Region setzt sich typischerweise aus drei CDRs und bis zu vier FRs zusammen. Beispielsweise vom Aminotermius zum Carboxyterminus in der folgenden
20 Reihenfolge FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Ein Antikörper kann aus jeder dafür geeigneten Spezies erhalten werden z.B. Kaninchen, Lama, Kamel, Maus, oder Ratte. In einer Ausführungsform ist der Antikörper humanen oder murinen Ursprungs. Ein Antikörper kann z.B. human, humanisiert oder chimär sein.

Der Begriff „monoklonaler“ Antikörper bezeichnet Antikörper, die aus einer Population
25 substantiell homogener Antikörper erhalten wurden, d.h. individuelle Antikörper der Population sind bis auf natürlich auftretende Mutationen, welche in geringfügiger Anzahl auftreten können, identisch. Monoklonale Antikörper erkennen mit hoher Spezifität eine einzige antigene Bindestelle. Der Begriff monoklonaler Antikörper bezieht sich nicht auf ein bestimmtes Herstellungsverfahren.

Der Begriff „intakter“ Antikörper bezieht sich auf Antikörper, die sowohl eine Antigen-bindende
30 Domäne als auch die konstante Domäne der leichten und schweren Kette umfassen. Die konstante Domäne kann eine natürlich vorkommende Domäne sein, oder eine Variante davon, bei der mehrere Aminosäurepositionen verändert wurden.

Der Begriff „modifizierter intakter“ Antikörper bezieht sich auf intakte Antikörper, die mit einem
35 weiteren Polypeptid oder Protein, welche nicht von einem Antikörper stammen, über ihren Aminotermius oder Carboxyterminus mittels einer kovalenten Bindung (z.B. einer

Peptidverknüpfung) fusioniert wurden. Des Weiteren können Antikörper dahingehend modifiziert werden, dass an definierten Stellen reaktive Cysteine eingeführt werden, um die Kopplung an ein Toxophor zu erleichtern (siehe Junutula et al. *Nat Biotechnol.* 2008 Aug;26(8):925-32).

Der Begriff „humaner“ Antikörper bezeichnet Antikörper, die aus einem Menschen erhalten werden können oder synthetische humane Antikörper sind. Ein „synthetischer“ humaner Antikörper ist ein Antikörper, der in Teilen oder als ganzes von synthetischen Sequenzen in silico erhältlich ist, die auf der Analyse humaner Antikörpersequenzen basieren. Ein humaner Antikörper kann z.B. durch eine Nukleinsäure kodiert sein, die aus einer Bibliothek von Antikörpersequenzen, die humanen Ursprungs sind, isoliert wurde. Ein Beispiel solcher Antikörper ist in Söderlind et al., *Nature Biotech.* 2000, 18:853-856 zu finden.

Der Begriff „humanisierter“ oder „chimärer“ Antikörper beschreibt Antikörper, die aus einem nicht-humanen und einem humanen Sequenzanteil bestehen. Bei diesen Antikörpern wird ein Teil der Sequenzen des humanen Immunglobulins (Rezipient) durch Sequenzanteile eines nicht-humanen Immunglobulins (Donor) ersetzt. Der Donor ist in vielen Fällen ein murines Immunglobulin. Bei humanisierten Antikörpern werden Aminosäuren der CDR des Rezipienten durch Aminosäuren des Donors ersetzt. Manchmal werden auch noch Aminosäuren des Frameworks durch korrespondierende Aminosäuren des Donors ersetzt. In machen Fällen enthält der humanisierte Antikörper Aminosäuren, die weder im Rezipient noch im Donor enthalten waren und die während der Optimierung des Antikörpers eingefügt wurden. Bei chimären Antikörpern werden die variablen Domänen des Donor-Immunglobulins mit den konstanten Regionen eines humanen Antikörpers fusioniert.

Der Begriff Komplementaritäts-bestimmende Region (CDR) wie er hier verwendet wird, bezieht sich auf diejenigen Aminosäuren einer variablen Antikörperdomäne, die für die Bindung an das Antigen notwendig sind. Jede variable Region hat typischerweise drei CDR Regionen, welche als CDR1, CDR2 und CDR3 bezeichnet werden. Jede CDR Region kann Aminosäuren nach der Definition von Kabat und/oder Aminosäuren eines Hypervariablen Loops definiert nach Chotia umfassen. Die Definition nach Kabat umfasst zum Beispiel die Region von ungefähr Aminosäureposition 24 – 34 (CDR1), 50 – 56 (CDR2) und 89 – 97 (CDR3) der variablen leichten Kette und 31 – 35 (CDR1), 50 – 65 (CDR2) und 95 – 102 (CDR3) der variablen schweren Kette (Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)). Die Definition nach Chotia umfasst zum Beispiel die Region von ungefähr Aminosäureposition 26 – 32 (CDR1), 50 – 52 (CDR2) und 91 – 96 (CDR3) der variablen leichten Kette und 26 – 32 (CDR1), 53 – 55 (CDR2) und 96 – 101 (CDR3) der variablen schweren Kette Chothia and Lesk; *J Mol Biol* 196: 901-917 (1987)). In

manchen Fällen kann eine CDR Aminosäuren aus einer CDR Region definiert nach Kabat und Chotia umfassen.

Abhängig von der Aminosäure-Sequenz der konstanten Domäne der schweren Kette können Antikörper in verschiedene Klassen eingeteilt werden. Es gibt fünf Hauptklassen von intakten Antikörpern: IgA, IgD, IgE, IgG und IgM, wobei mehrere davon in weitere Unterklassen aufgegliedert werden können. (Isotypen), z.B. IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 und IgA2. Die konstante Domäne der schweren Kette, die zu den unterschiedlichen Klassen korrespondieren, werden als [alpha/α], [delta/δ], [epsilon/ε], [gamma/γ] und [my/μ] bezeichnet. Sowohl die dreidimensionale Struktur als auch die Untereinheitenstruktur von Antikörpern sind bekannt.

10 Der Begriff „funktionales Fragment“ oder „antigen-bindendes Antikörperfragment“ eines Antikörpers/Immunglobulins ist definiert als ein Fragment eines Antikörpers/Immunglobulins (z.B. die variable Domänen eines IgG), welches die Antigen-Bindedomänen des Antikörpers/Immunglobulins noch umfasst. Die „Antigen-Bindedomäne“ eines Antikörpers umfasst typischerweise eine oder mehrere Hypervariable Regionen eines Antikörpers, z.B. die CDR, CDR2 und/oder CDR3 Region. Allerdings kann auch die „Framework“ oder die „Gerüst“ Region eines Antikörpers zur Bindung des Antikörpers an das Antigen eine Rolle spielen. Die Framework Region bildet das Gerüst für die CDRs. Vorzugsweise umfasst die Antigen-Bindedomäne mindestens die Aminosäuren 4 bis 103 der variablen leichten Kette und Aminosäure 5 bis 109 der variablen schweren Kette, bevorzugter die Aminosäure 3 bis 107 der variablen leichten Kette und 4 bis 111 der variablen schweren Kette, besonders bevorzugt sind die kompletten variablen leichten und schweren Ketten, also Aminosäure 1 – 109 der VL und 1 bis 113 der VH (Nummerierung nach WO97/08320).

„Funktionale Fragmente“ oder „antigen-bindende Antikörperfragmente“ der Erfindung umfassen nicht abschliessend Fab, Fab', F(ab')₂ und Fv Fragmente, Diabodies, Single Domain Antibodies (DABs), lineare Antikörper, Einzelketten Antikörper (single-chain Fv, abgekürzt scFv); und multispezifische, wie z.B. bi- und tri-spezifische, Antikörper, gebildet aus Antikörperfragmenten C. A. K Borrebaeck, editor (1995) Antibody Engineering (Breakthroughs in Molecular Biology), Oxford University Press; R. Kontermann & S. Duebel, editors (2001) Antibody Engineering (Springer Laboratory Manual), Springer Verlag). Andere Antikörper als „multi-spezifische“ oder „multi-funktionale“ sind solche mit identischen Bindestellen. Multispezifische Antikörper können spezifisch für unterschiedliche Epitope eines Antigens sein oder spezifisch für Epitope von mehr als einem Antigen sein (siehe z.B. WO 93/17715; WO 92/08802; WO 91/00360; WO 92/05793; Tutt, et al., 1991, J. Immunol. 147:60-69; U. S. Pat. Nos. 4,474,893; 4,714,681; 4,925,648; 5,573,920; 5,601,819; oder Kostelny et al., 1992, J. Immunol. 148: 1547-1553). Ein F(ab')₂ oder Fab Molekül kann so konstruiert werden, dass die Zahl der intermolekularen Disulfid-

Interaktionen, die zwischen den ChI und den CL Domänen stattfindet, reduziert oder oder komplett verhindert werden kann.

„Funktionale Fragmente“ oder „antigen-bindende Antikörperfragmente“ können mit einem weiteren Polypeptid oder Protein, welche nicht von einem Antikörper stammen, über ihren
5 Aminoterminus oder Carboxyterminus mittels einer kovalenten Bindung (z.B. einer Peptidverknüpfung) fusioniert werden. Des Weiteren können Antikörper und antigen-bindende Fragmente dahingehend modifiziert werden, dass an definierten Stellen reaktive Cysteine eingeführt werden, um die Kopplung an ein Toxophor zu erleichtern (siehe Junutula et al. Nat Biotechnol. 2008 Aug;26(8):925-32).

10 Polyklonale Antikörper können durch für den Durchschnittsfachmann bekannte Methoden hergestellt werden. Monoklonale Antikörper können durch für den Durchschnittsfachmann bekannte Methoden hergestellt werden (Köhler und Milstein, Nature, 256, 495-497, 1975). Humane bzw. humanisierte monoklonale Antikörper können durch für den Durchschnittsfachmann bekannte Methoden hergestellt werden (Olsson et al., Meth Enzymol. 92, 3-16 bzw. Cabilly et al
15 US 4,816,567 oder Boss et al US 4,816,397).

Der Durchschnittsfachmann kennt vielfältige Methoden, um humane Antikörper und deren Fragmente herzustellen, wie beispielsweise mittels transgener Mäuse (N Lonberg und D Huszar, Int Rev Immunol. 1995;13(1):65-93) oder Phage Display Technologien (Clackson et al., Nature. 1991 Aug 15;352(6336):624-8). Antikörper der Erfindung können aus rekombinanten
20 Antikörperbibliotheken erhalten werden, die z.B. auf den Aminosäuresequenzen einer Vielzahl von Antikörpern besteht, die aus einer großen Anzahl gesunder Freiwilliger erstellt wurden. Antikörper können auch mittels bekannter rekombinanter DNS-Technologien hergestellt werden. Die Nukleinsäuresequenz eines Antikörpers kann durch Routinesequenzierung erhalten werden, oder ist aus öffentlich zugänglichen Datenbanken erhältlich.

25 Ein „isolierter“ Antikörper oder Binder wurde von anderen Bestandteilen der Zelle gereinigt. Kontaminierende Bestandteile einer Zelle, welche mit einer diagnostischen oder therapeutischen Verwendung interferieren können, sind z.B. Enzyme, Hormone, oder andere peptidische- oder nicht-peptidische Bestandteile einer Zelle. Bevorzugt ist ein Antikörper oder Binder, der zu mehr als 95 Gew-% bezogen auf den Antikörper bzw. Binder aufgereinigt wurde (bestimmt durch z.B.
30 Lowry Verfahren, UV-Vis Spektroskopie oder durch SDS-Kapillargelelektrophorese). Ausserdem bevorzugt ist ein Antikörper, der soweit aufgereinigt wurde, dass mindestens 15 Aminosäuren des Aminoterminus oder einer internen Aminosäuresequenz bestimmt werden können, oder zur Homogenität aufgereinigt wurde, wobei die Homogenität bestimmt wird durch SDS-PAGE unter reduzierenden oder nicht-reduzierenden Bedingungen (die Detektion kann mittels Coomassie Blau

Anfärbung oder bevorzugt durch Silberfärbung bestimmt werden). Jedoch wird ein Antikörper normalerweise durch einen oder mehrere Reinigungsschritte hergestellt.

Der Begriff „spezifische Bindung“ oder „bindet spezifisch“ bezieht sich auf einen Antikörper oder Binder, der an ein vorbestimmtes Antigen/Zielmolekül bindet. Spezifische Bindung eines Antikörpers oder Binders beschreibt typischerweise einen Antikörper bzw. Binder mit einer Affinität von mindestens 10^{-7} M (als K_d-Wert; also vorzugsweise solche mit kleineren K_d-Werten als 10^{-7} M), wobei der Antikörper bzw. Binder eine mindestens zweifach höhere Affinität zum vorbestimmten Antigen/Zielmolekül als zu einem nicht-spezifischen Antigen/Zielmolekül hat (z.B. Rinder Serumalbumin, oder Casein), welches nicht das vorbestimmte Antigen/Zielmolekül oder ein eng verwandtes Antigen/Zielmolekül ist.

Antikörper, welche spezifisch gegen ein Krebszell-Antigen sind, können vom Durchschnittsfachmann mittels ihm bekannter Verfahren hergestellt werden (wie z.B. rekombinante Expression) oder kommerziell erworben werden (wie z.B. von Merck KGaA, Deutschland). Beispiele bekannter kommerziell erhältlicher Antikörper in der Krebstherapie sind Erbitux® (Cetuximab, Merck KGaA), Avastin® (Bevacizumab, Roche) und Herceptin® (Trastuzumab, Genentech). Trastuzumab ist ein rekombinanter humanisierter monoklonaler Antikörper vom IgG1kappa Typ, welcher mit hoher Affinität in einem Zell-basierten Assay (K_d = 5 nM) die extrazelluläre Domäne des humanen epidermalen Wachstumsrezeptors bindet. Der Antikörper wird rekombinant in CHO-Zellen hergestellt.

Die Verbindungen der Formel (I) stellen eine Untergruppe der Verbindungen der Formel (Ia) dar.

Bevorzugter Gegenstand der Erfindung sind Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia), in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 50 steht,

AK für AK₁ oder AK₂ steht

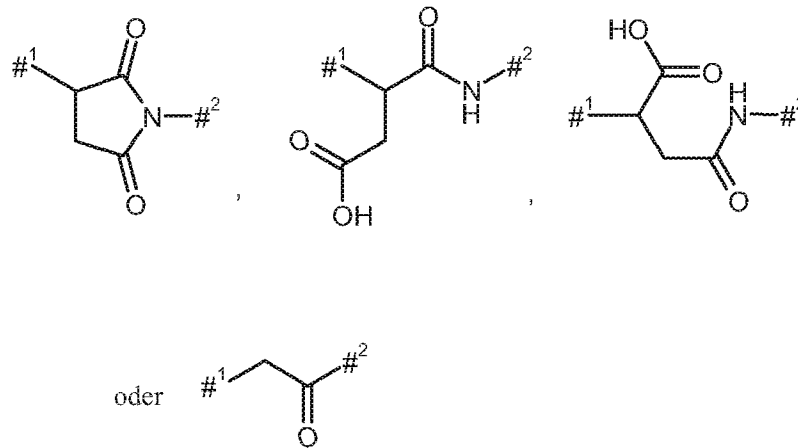
wobei

AK₁ für einen Binder (vorzugsweise einen anti-Mesothelin-Antikörper), der über ein Schwefelatom des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

AK₂ für einen Binder (vorzugsweise einen anti-Mesothelin-Antikörper), der über ein Stickstoffatom des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für den Fall, dass AK = AK₁ ist, für eine Gruppe der Formel

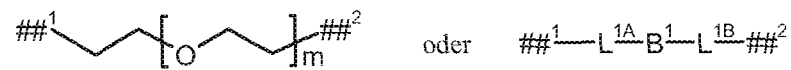
- 20 -



steht, wobei

#¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Schwefelatom des Binders kennzeichnet,#² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,

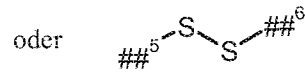
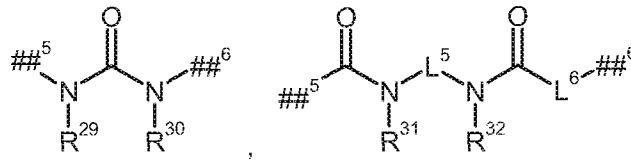
5 oder

für den Fall, dass AK = AK₂ ist, für Carbonyl steht,L¹ für eine Bindung, lineares (C₁-C₁₀)-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel

steht, wobei

10 m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,L^{1A} für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl steht,B¹ für eine Gruppe der Formel



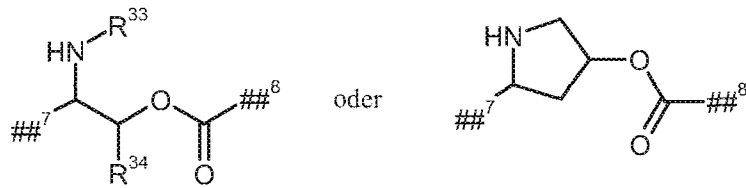
steht, worin

##⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1A} kennzeichnet,

##⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1B} kennzeichnet,

5 L⁵ für eine Bindung oder (C₂-C₄)-Alkandiyl steht,

L⁶ für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

##⁷ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

10 ##⁸ die Verknüpfungsstelle mit L^{1B} kennzeichnet,

R³³ für Wasserstoff, (C₁-C₄)-Alkylcarbonyl, tert.-Butyloxycarbonyl oder Benzyloxycarbonyl steht,

R³⁴ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R²⁹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

15 R³⁰ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

R²⁹ und R³⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

- 22 -

R^{31} für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R^{32} für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

R^{31} und R^{32} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

5

L^{1B} für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl steht,

und

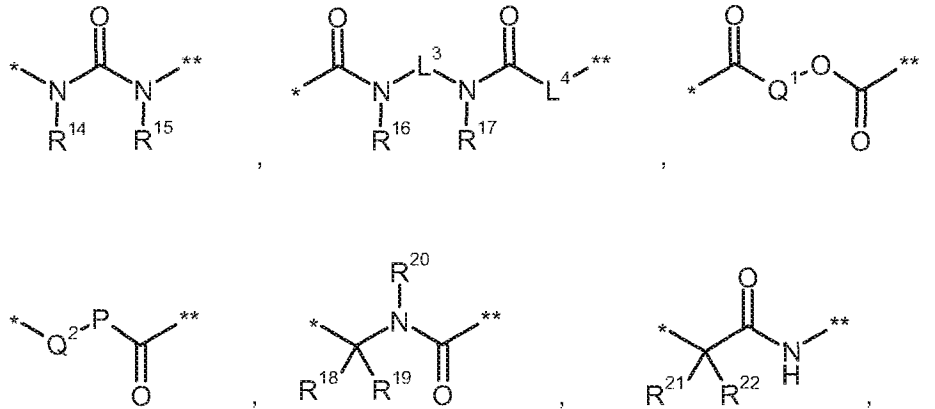
wobei (C₁-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substituiert sein kann,

10

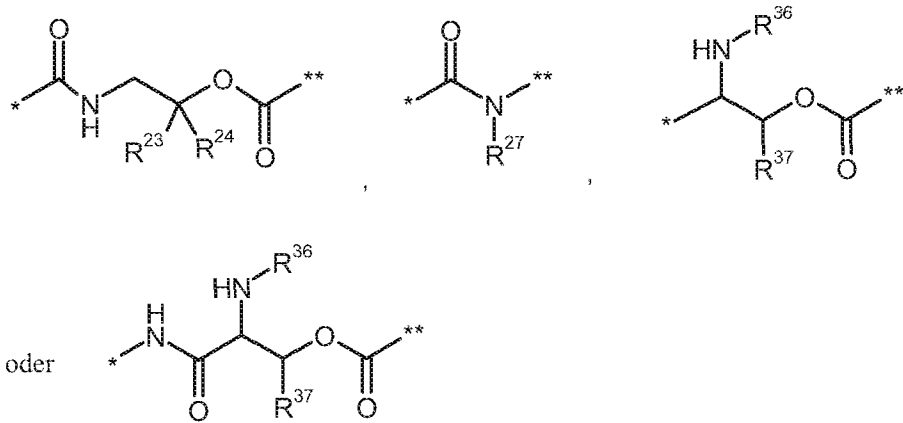
und

wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



15



steht, wobei

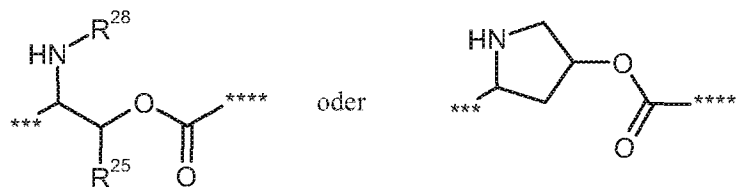
* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

5 P für O oder NH steht,

L^3 für eine Bindung oder (C_2-C_4) -Alkandiyl steht,

L^4 für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

10 *** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

**** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

R^{25} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{28} für Wasserstoff, (C_1-C_4) -Alkylcarbonyl, tert.-Butyloxycarbonyl oder Benzyloxycarbonyl steht,

15 Q^1 für einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht,

Q^2 für einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus oder einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht,

- 24 -

R¹⁴ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R¹⁵ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

5 R¹⁴ und R¹⁵ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R¹⁶ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R¹⁷ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

10 R¹⁶ und R¹⁷ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R¹⁸ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R¹⁹ für Wasserstoff oder die Seitengruppe einer natürlichen α -Aminosäure oder ihrer Homologe oder Isomere steht,

R²⁰ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

15 oder

R¹⁹ und R²⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinyling bilden,

R²¹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²² für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

20 oder

R²¹ und R²² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus bilden,

R²³ für (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²⁴ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

25 R²⁷ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

- 25 -

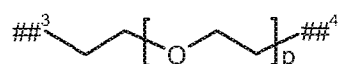
R³⁶ für Wasserstoff, (C₁-C₄)-Alkylcarbonyl, tert.-Butyloxycarbonyl oder Benzyloxy carbonyl steht,

R³⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

5 R³⁶ und R³⁷ bilden zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinring,

L² für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

10 p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

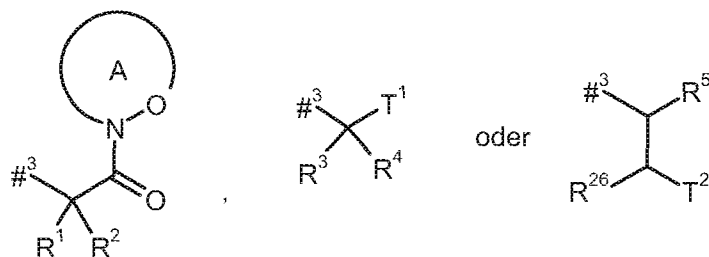
##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

wobei (C₂-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substituiert sein kann,

15 und

wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

D für eine Gruppe der Formel



20

steht, wobei

- 26 -

#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

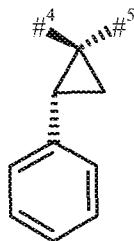
R¹ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R² für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

5

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



10

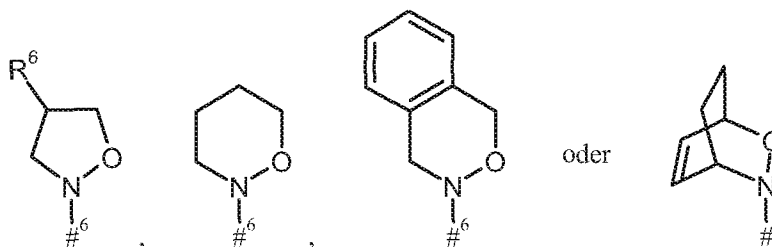
bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel

15



steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

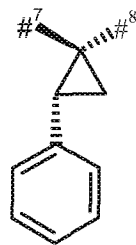
- 27 -

R³ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁴ für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

5 oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

10 #⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

15 worin

R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

20 oder

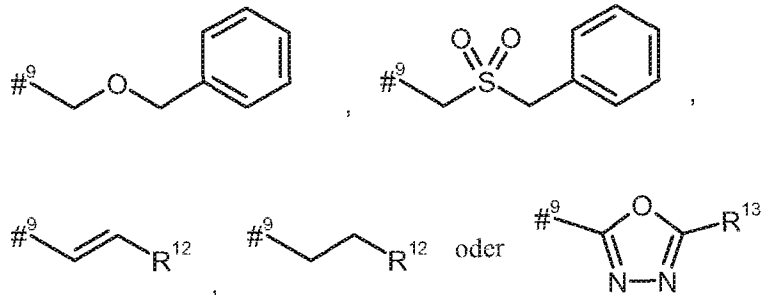
R⁸ und R⁹ bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R¹⁰ für Benzoyl steht,

- 28 -

R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



5 steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit $-CHC(R^{26})-T^2$ kennzeichnet,

R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-S(O)_2OH$ substituiert sein kann,

10 R¹³ für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

R²⁶ für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

T² für Phenyl, Benzyl, 1*H*-Indol-3-yl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

R³⁵ für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

15 Bevorzugter Gegenstand der Erfindung sind Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia), in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 50 steht,

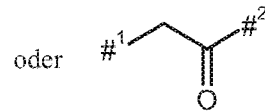
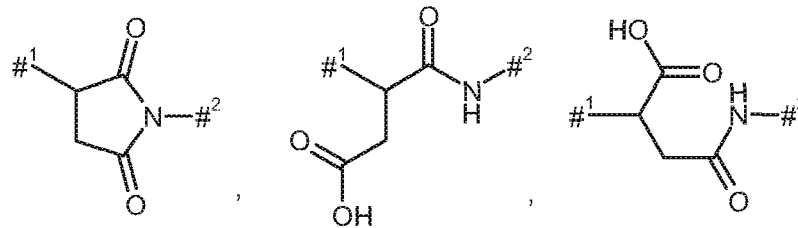
AK für AK₁ oder AK₂ steht

wobei

20 AK₁ für einen Binder, der über ein Schwefelatom des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

AK₂ für einen Binder, der über ein Stickstoffatom des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für den Fall, dass AK = AK₁ ist, für eine Gruppe der Formel



5 steht, wobei

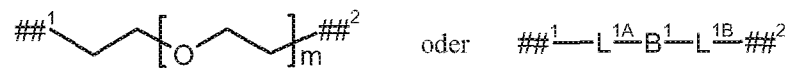
#¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Schwefelatom des Binders kennzeichnet,

#² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,

oder

für den Fall, dass AK = AK₂ ist, für Carbonyl steht,

10 L¹ für eine Bindung, lineares (C₁-C₁₀)-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel



steht, wobei

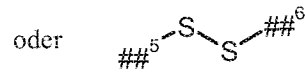
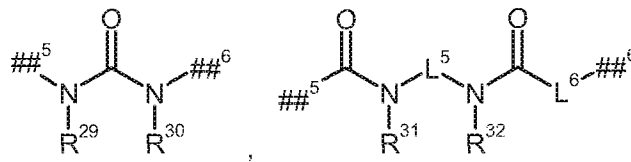
m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

15 ##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

L^{1A} für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl steht,

B¹ für eine Gruppe der Formel



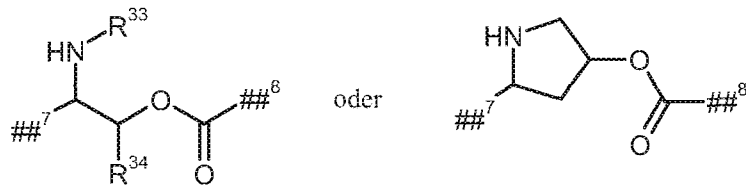
steht, worin

##⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1A} kennzeichnet,

##⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1B} kennzeichnet,

5 L⁵ für eine Bindung oder (C₂-C₄)-Alkandiyl steht,

L⁶ für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

##⁷ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

10 ##⁸ die Verknüpfungsstelle mit L^{1B} kennzeichnet,

R³³ für Wasserstoff, (C₁-C₄)-Alkylcarbonyl, tert.-Butyloxycarbonyl oder Benzyloxycarbonyl steht,

R³⁴ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R²⁹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

15 R³⁰ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

R²⁹ und R³⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R³¹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R³² für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

R³¹ und R³² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

5

L^{1B} für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl steht,

und

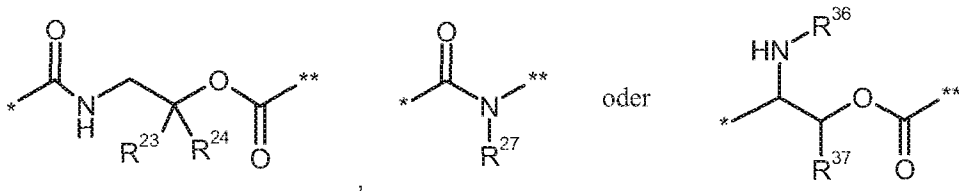
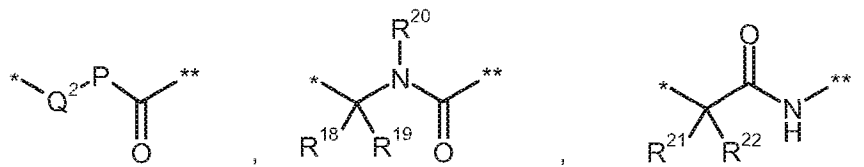
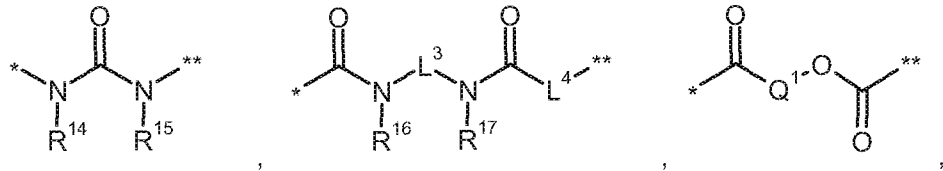
wobei (C₁-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substituiert sein kann,

10

und

wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



15

steht, wobei

- 32 -

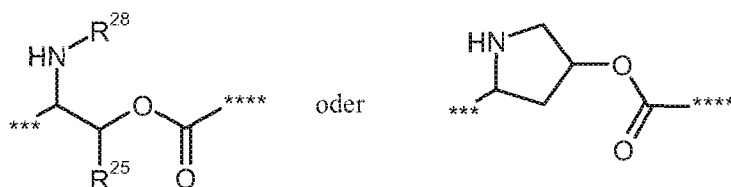
* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

P für O oder NH steht,

L³ für eine Bindung oder (C₂-C₄)-Alkandiyl steht,

5 L⁴ für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

**** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

10 R²⁵ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R²⁸ für Wasserstoff, (C₁-C₄)-Alkylcarbonyl, tert.-Butyloxycarbonyl oder Benzyloxycarbonyl steht,

Q¹ für einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht,

15 Q² für einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus oder einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht,

R¹⁴ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R¹⁵ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

20 R¹⁴ und R¹⁵ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R¹⁶ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R¹⁷ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

R¹⁶ und R¹⁷ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R¹⁸ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

5 R¹⁹ für Wasserstoff oder die Seitengruppe einer natürlichen α -Aminosäure oder ihrer Homologe oder Isomere steht,

R²⁰ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

10 R¹⁹ und R²⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinyrning bilden,

R²¹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²² für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

15 R²¹ und R²² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus bilden,

R²³ für (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²⁴ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²⁷ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

20 R³⁶ für Wasserstoff, (C₁-C₄)-Alkylcarbonyl, tert.-Butyloxycarbonyl oder Benzyloxy carbonyl steht,

R³⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

R³⁶ und R³⁷ bilden zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinring,

25 L² für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel

- 34 -



steht, wobei

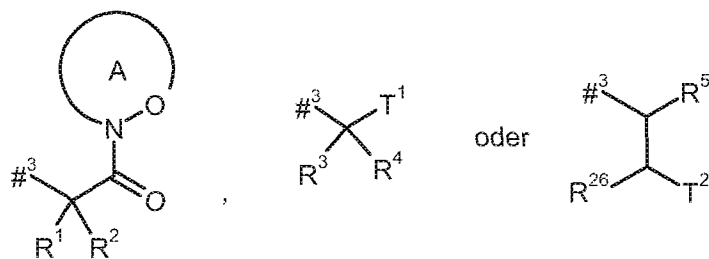
p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,5 ##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,wobei (C₂-C₁₀)-Alkandiyli mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substituiert sein kann,

und

10 wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyli-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

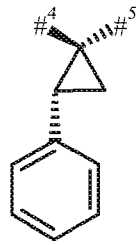
15 ##³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,R¹ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R² für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

20 oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

- 35 -

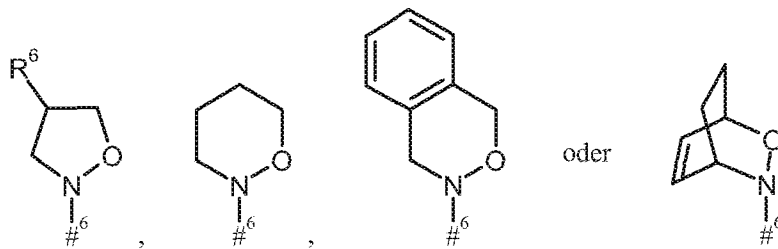


bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

5 #⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



steht, worin

10 #⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzoyloxy steht,

R³ für Wasserstoff oder Methyl steht,

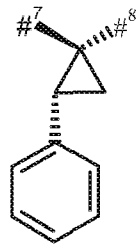
R⁴ für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenyl-ethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

15

oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

- 36 -



bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

5 #⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

10 R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

oder

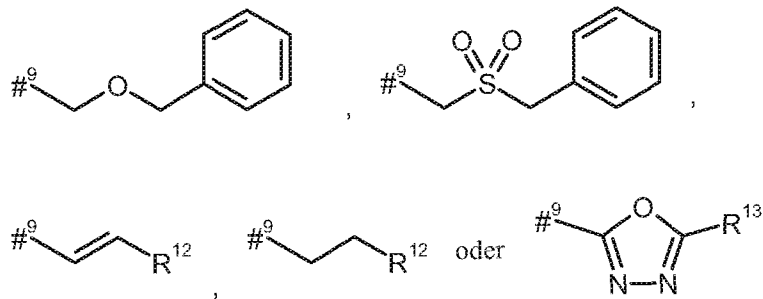
15 R⁸ und R⁹ bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R¹⁰ für Benzoyl steht,

R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel

- 37 -



steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit $-\text{CHC}(\text{R}^{26})-\text{T}^2$ kennzeichnet,

5 R^{12} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-\text{S}(\text{O})_2\text{OH}$ substituiert sein kann,

R^{13} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

R^{26} für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

T^2 für Phenyl, Benzyl, *1H*-Indol-3-yl oder *1H*-Indol-3-ylmethyl steht,

10 R^{35} für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugter Gegenstand der Erfindung sind Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia), in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 20 steht,

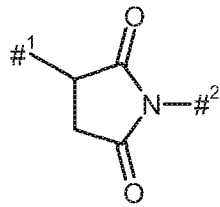
15 AK für AK_1 oder AK_2 steht

wobei

AK_1 für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

20 AK_2 für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für den Fall, dass $AK = AK_1$ ist, für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

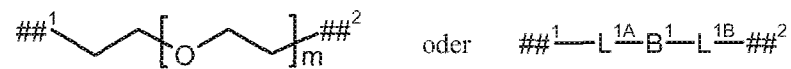
#¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

5 #² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,

oder

für den Fall, dass $AK = AK_2$ ist, für Carbonyl steht,

L¹ für eine Bindung, lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel



10 steht, wobei

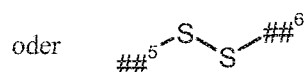
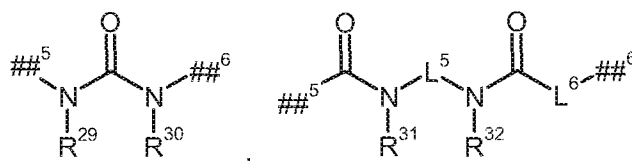
m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

L^{1A} für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl steht,

15 B¹ für eine Gruppe der Formel



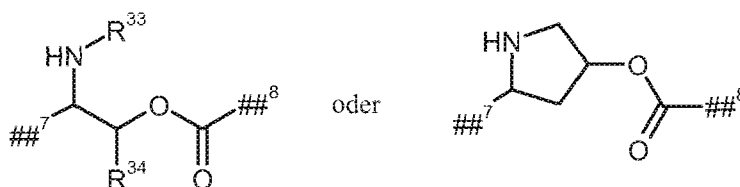
steht, worin

##⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1A} kennzeichnet,

##⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1B} kennzeichnet,

L⁵ für eine Bindung steht,

5 L⁶ für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

##⁷ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

##⁸ die Verknüpfungsstelle mit L^{1B} kennzeichnet,

10 R³³ für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

R³⁴ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R²⁹ für Wasserstoff steht,

R³⁰ für Wasserstoff steht,

R³¹ für Wasserstoff oder Methyl steht,

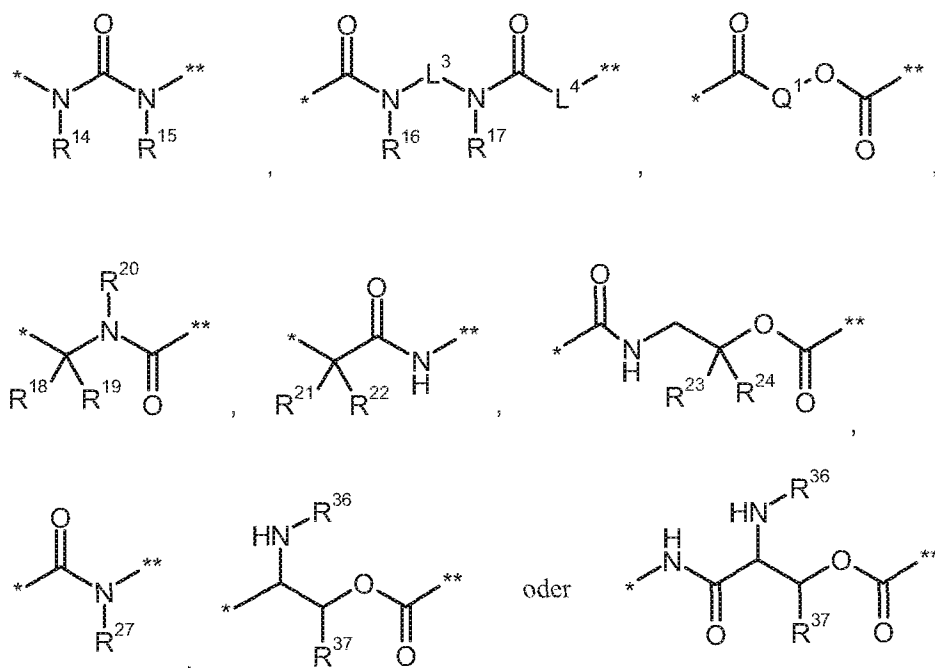
15 R³² für Wasserstoff oder Methyl steht,

L^{1B} für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl steht,

und

wobei (C₂-C₆)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



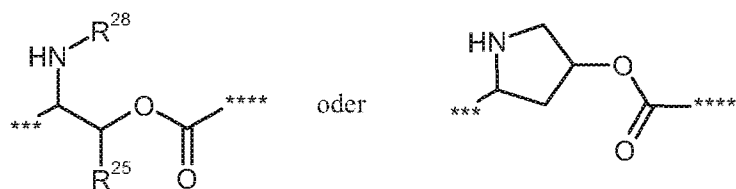
steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

5 L³ für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht,

L⁴ für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

10 **** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

R²⁵ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R²⁸ für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

Q¹ für einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht,

R¹⁴ für Wasserstoff steht,

R¹⁵ für Wasserstoff steht,

R¹⁶ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R¹⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

5 oder

R¹⁶ und R¹⁷ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Piperazinyling bilden,

R¹⁸ für Wasserstoff steht,

10 R¹⁹ für Wasserstoff, Methyl, Propan-2-yl, 2-Methylpropan-1-yl oder 1-Methylpropan-1-yl steht,

R²⁰ für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

R¹⁹ und R²⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinyling bilden,

15 R²¹ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R²² für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

R²¹ und R²² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Cyclopropyling bilden,

20 R²³ für Methyl steht,

R²⁴ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R²⁷ für Wasserstoff steht,

R³⁶ für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

R³⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

25 oder

- 42 -

R^{36} und R^{37} bilden zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinring,

L^2 für lineares (C_2 - C_6)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



5 steht, wobei

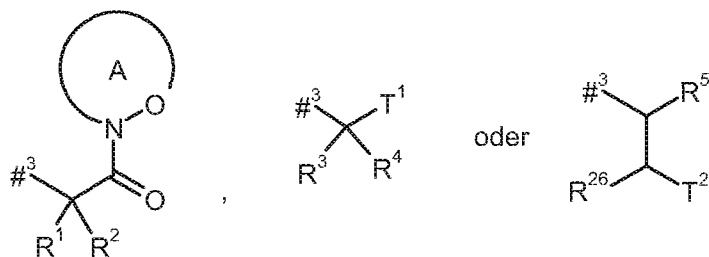
p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

$##^3$ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

$##^4$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

wobei (C_2 - C_{10})-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

10 D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

$##^3$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

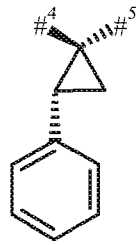
R^1 für Wasserstoff steht,

15 R^2 für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-yl-methyl steht,

oder

R^1 und R^2 zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

- 43 -

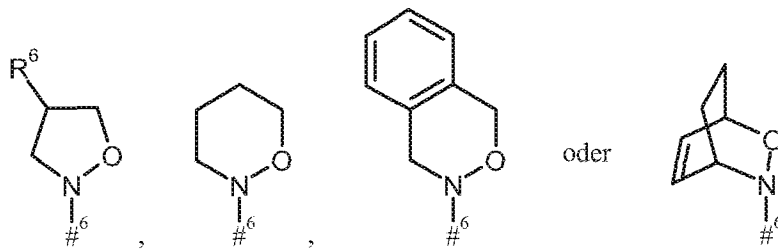


bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

5 #⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



steht, worin

10 #⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

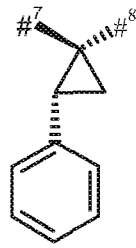
R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R³ für Wasserstoff steht,

R⁴ für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-yl-methyl steht,

15 oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

5 #⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

10 R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

oder

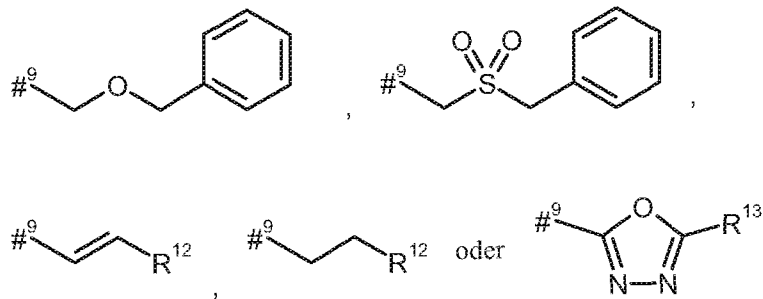
15 R⁸ und R⁹ bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R¹⁰ für Benzoyl steht,

R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel

- 45 -



steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit $-\text{CHC}(\text{R}^{26})-\text{T}^2$ kennzeichnet,

5 R^{12} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-\text{S}(\text{O})_2\text{OH}$ substituiert sein kann,

R^{13} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

R^{26} für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

T^2 für Phenyl, Benzyl, *1H*-Indol-3-yl oder *1H*-Indol-3-ylmethyl steht,

10 R^{35} für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugter Gegenstand der Erfindung sind Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia), in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 20 steht,

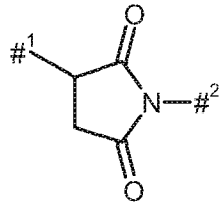
15 AK für AK_1 oder AK_2 steht

wobei

AK_1 für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

20 AK_2 für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für den Fall, dass $AK = AK_1$ ist, für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

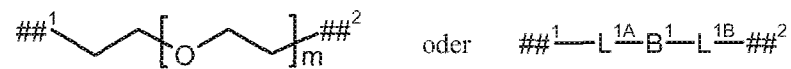
#¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

5 #² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,

oder

für den Fall, dass $AK = AK_2$ ist, für Carbonyl steht,

L¹ für eine Bindung, lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel



10 steht, wobei

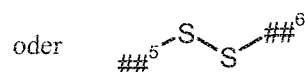
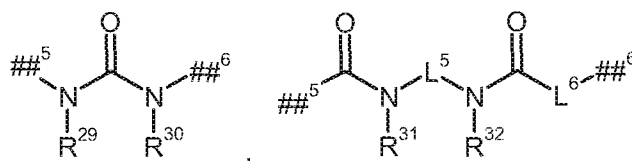
m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

L^{1A} für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl steht,

15 B¹ für eine Gruppe der Formel



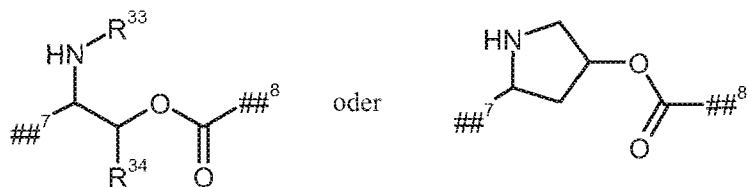
steht, worin

##⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1A} kennzeichnet,

##⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1B} kennzeichnet,

L⁵ für eine Bindung steht,

5 L⁶ für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

##⁷ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

##⁸ die Verknüpfungsstelle mit L^{1B} kennzeichnet,

10 R³³ für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

R³⁴ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R²⁹ für Wasserstoff steht,

R³⁰ für Wasserstoff steht,

R³¹ für Wasserstoff oder Methyl steht,

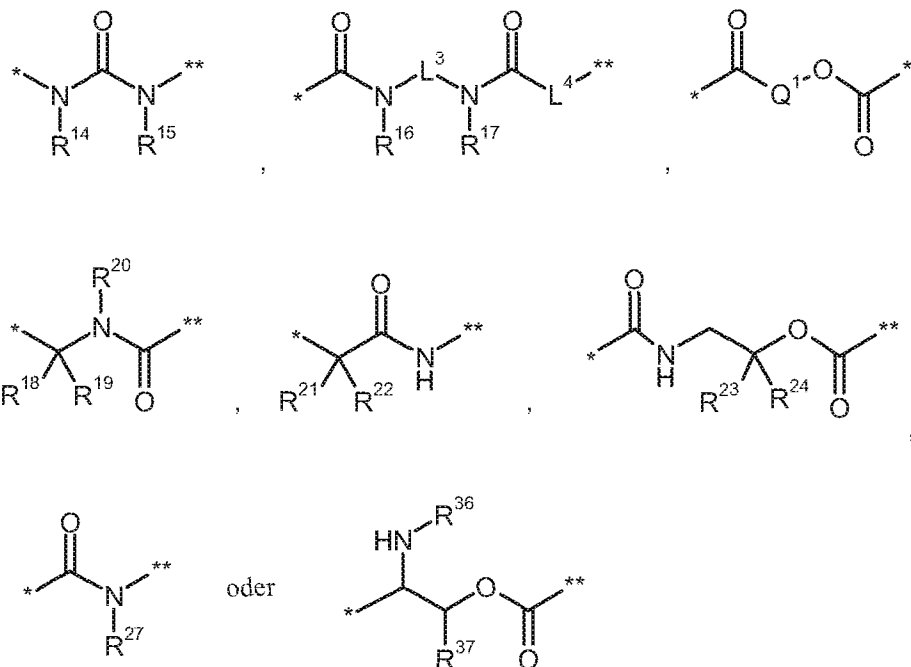
15 R³² für Wasserstoff oder Methyl steht,

L^{1B} für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl steht,

und

wobei (C₂-C₆)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



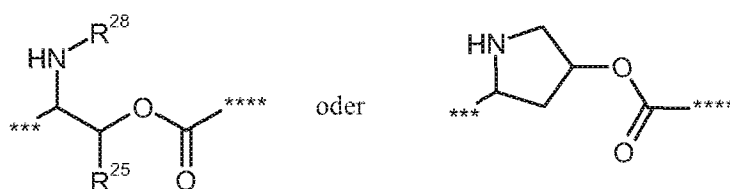
steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

5 L³ für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht,

L⁴ für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

10 **** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

R²⁵ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R²⁸ für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

Q¹ für einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht,

R¹⁴ für Wasserstoff steht,

R¹⁵ für Wasserstoff steht,

R¹⁶ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R¹⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

5 oder

R¹⁶ und R¹⁷ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Piperazinyling bilden,

R¹⁸ für Wasserstoff steht,

10 R¹⁹ für Wasserstoff, Methyl, Propan-2-yl, 2-Methylpropan-1-yl oder 1-Methylpropan-1-yl steht,

R²⁰ für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

R¹⁹ und R²⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinyling bilden,

15 R²¹ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R²² für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

R²¹ und R²² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Cyclopropyling bilden,

20 R²³ für Methyl steht,

R²⁴ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R²⁷ für Wasserstoff steht,

R³⁶ für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

R³⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

25 oder

- 50 -

R^{36} und R^{37} bilden zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinring,

L^2 für lineares (C_2 - C_6)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



5 steht, wobei

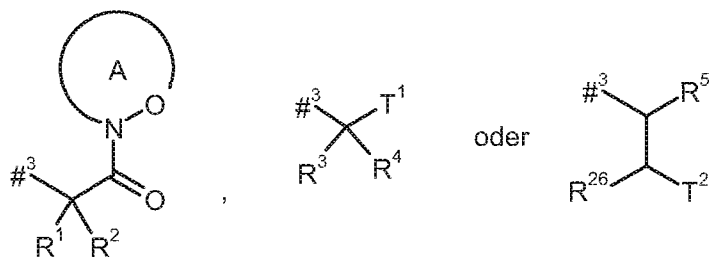
p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

$##^3$ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

$##^4$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

wobei (C_2 - C_{10})-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

10 D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

$##^3$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

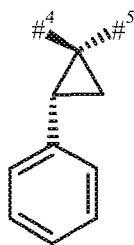
R^1 für Wasserstoff steht,

15 R^2 für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-yl-methyl steht,

oder

R^1 und R^2 zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

- 51 -

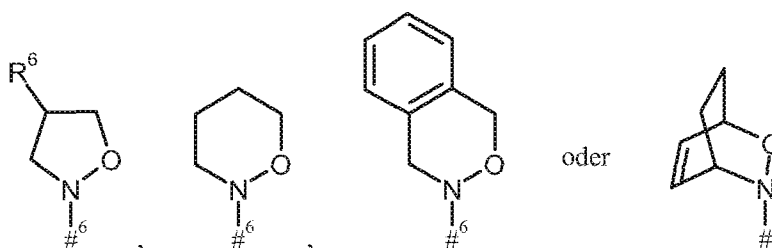


bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

5 #⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



steht, worin

10 #⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

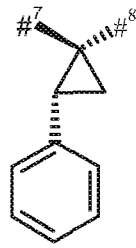
R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzoyloxy steht,

R³ für Wasserstoff steht,

R⁴ für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

15 oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

5 #⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

10 R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

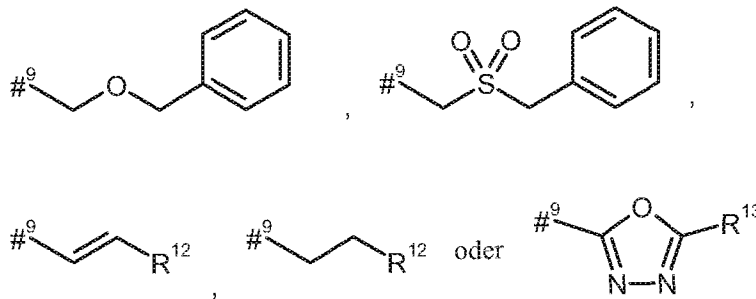
oder

15 R⁸ und R⁹ bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R¹⁰ für Benzoyl steht,

R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

#^9 die Verknüpfungsstelle mit $\text{-CHC(R}^{26}\text{)-T}^2$ kennzeichnet,

R^{12} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $\text{-S(O)}_2\text{OH}$ substituiert sein kann,

5

R^{13} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

R^{26} für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

T^2 für Phenyl, Benzyl, *1H*-Indol-3-yl oder *1H*-Indol-3-ylmethyl steht,

10 R^{35} für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugter Gegenstand der Erfindung sind Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia), in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 10 steht,

15 AK für AK_1 oder AK_2 steht

wobei

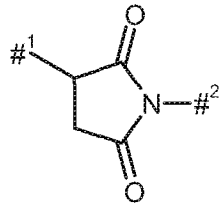
AK_1 für einen Antikörper, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers MF-Ta, die variable leichte und variable schwere Kette des Antikörpers MF-Ta oder die leichte und schwere Kette des Antikörpers MF-Ta umfasst, steht, der über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

20

AK_2 für einen Antikörper, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers MF-Ta, die variable leichte und variable schwere Kette des Antikörpers MF-Ta oder die leichte

und schwere Kette des Antiköpers MF-Ta umfasst, steht, der über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für den Fall, dass $AK = AK_1$ ist, für eine Gruppe der Formel



5 steht, wobei

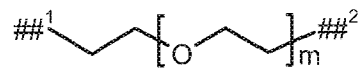
#¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

#² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,

oder

für den Fall, dass $AK = AK_2$ ist, für Carbonyl steht,

10 L¹ für eine Bindung, lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel



steht, wobei

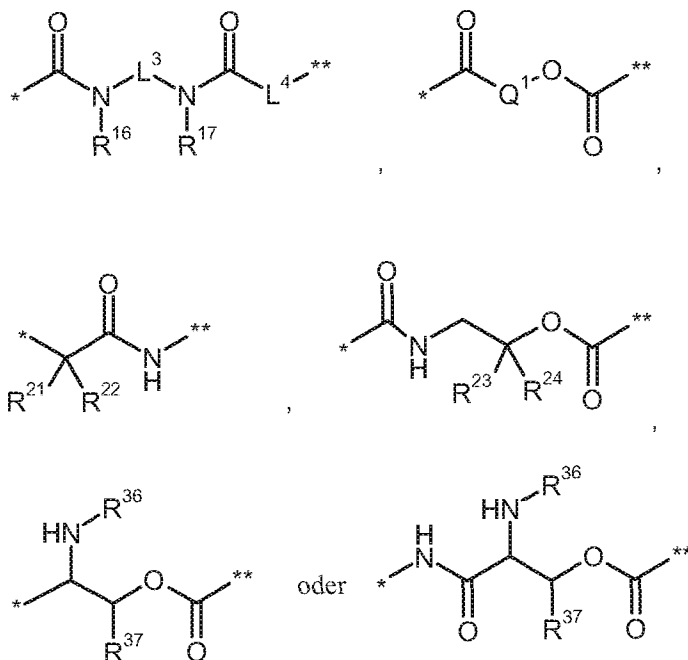
m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

15 ##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

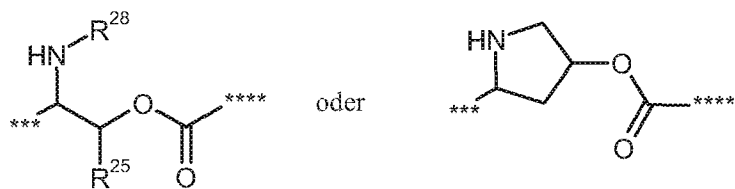
wobei (C₂-C₆)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

- * die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,
- ** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,
- 5 L³ für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht,
- L⁴ für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

- *** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,
- 10 **** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,
- R²⁵ für Methyl steht,
- R²⁸ für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,
- Q¹ für Piperidin-1,4-diyl steht,

- 56 -

R¹⁶ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R¹⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

5 R¹⁶ und R¹⁷ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen
Piperazinyling bilden,

R²¹ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R²² für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

10 R²¹ und R²² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen
Cyclopropyling bilden,

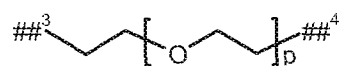
R²³ für Methyl steht,

R²⁴ für Wasserstoff steht,

R³⁶ für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

R³⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

15 L² für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

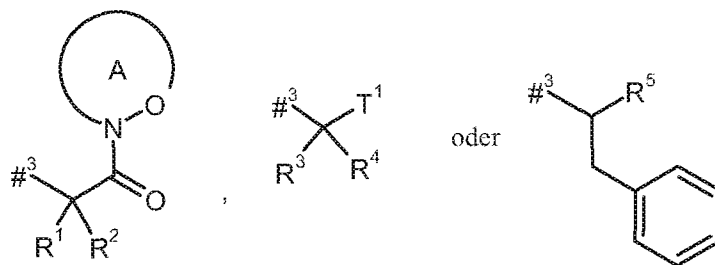
p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

20 ##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel

- 57 -



steht, wobei

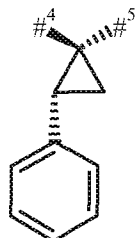
#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R¹ für Wasserstoff steht,

5 R² für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-yl-methyl steht,

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



10

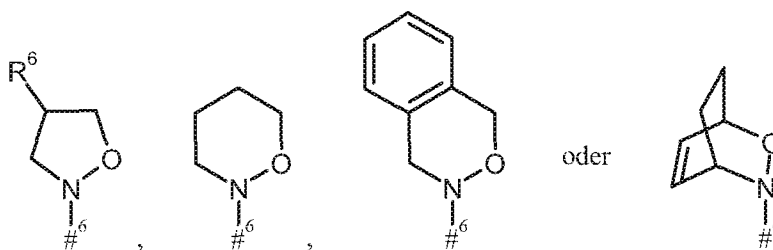
bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

15 der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel

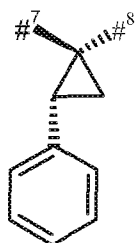
- 58 -



steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,5 R³ für Wasserstoff steht,R⁴ für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

10

bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,15 T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

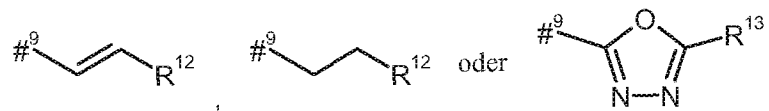
- 59 -

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

5 R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit -CHCH₂Phenyl kennzeichnet,

10 R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel -S(O)₂OH substituiert sein kann,

R¹³ für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

R³⁵ für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

15 Bevorzugter Gegenstand der Erfindung sind Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia), in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 10 steht,

AK für AK₁ oder AK₂ steht

wobei

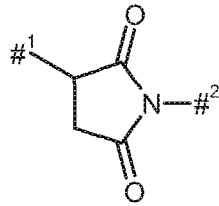
20 AK₁ für einen Antikörper, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers MF-Ta, die variable leichte und variable schwere Kette des Antikörpers MF-Ta oder die leichte und schwere Kette des Antikörpers MF-Ta umfasst, steht, der über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

25 AK₂ für einen Antikörper, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers MF-Ta, die variable leichte und variable schwere Kette des Antikörpers MF-Ta oder die leichte

- 60 -

und schwere Kette des Antiköpers MF-Ta umfasst, steht, der über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für den Fall, dass $AK = AK_1$ ist, für eine Gruppe der Formel



5 steht, wobei

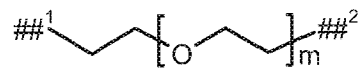
#¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

#² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,

oder

für den Fall, dass $AK = AK_2$ ist, für Carbonyl steht,

10 L¹ für eine Bindung, lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel



steht, wobei

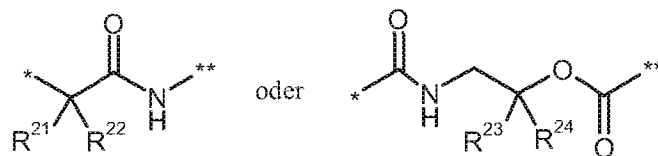
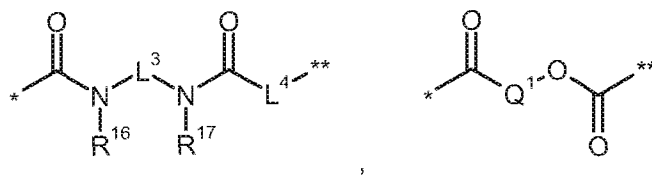
m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

15 ##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

wobei (C₂-C₆)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



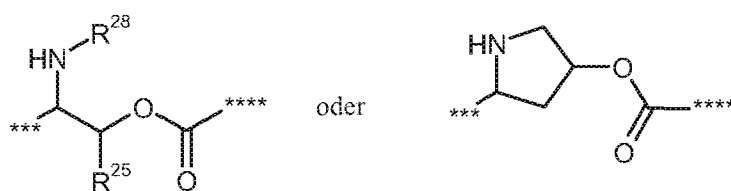
steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

5 L³ für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht,

L⁴ für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

10 **** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

R²⁵ für Methyl steht,

R²⁸ für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

Q¹ für Piperidin-1,4-diyl steht,

R¹⁶ für Wasserstoff oder Methyl steht,

15 R¹⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

- 62 -

R^{16} und R^{17} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Piperazinyling bilden,

R^{21} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{22} für Wasserstoff oder Methyl steht,

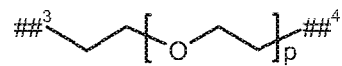
5 oder

R^{21} und R^{22} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Cyclopropyling bilden,

R^{23} für Methyl steht,

R^{24} für Wasserstoff steht,

10 L^2 für lineares (C_2 - C_6)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



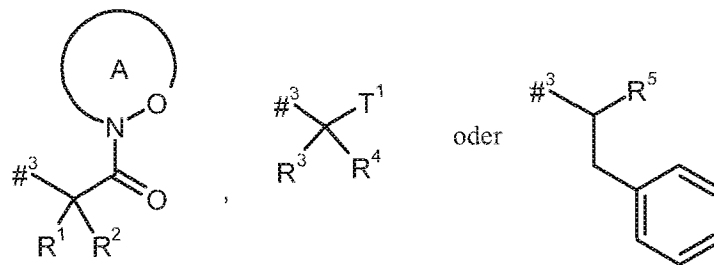
steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

$##^3$ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

15 $##^4$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

$##^3$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

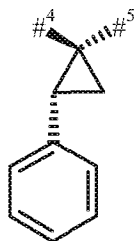
20 R^1 für Wasserstoff steht,

- 63 -

R² für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

5 R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

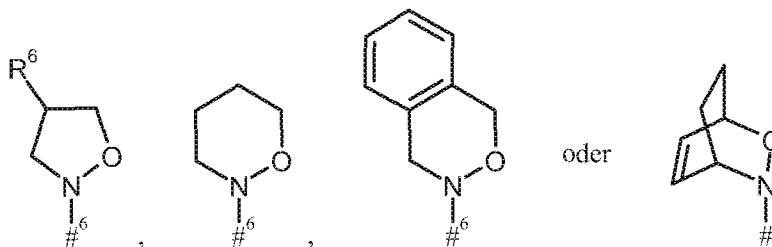


bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

10 #⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



steht, worin

15 #⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

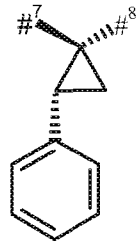
R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R³ für Wasserstoff steht,

R⁴ für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

5 #⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

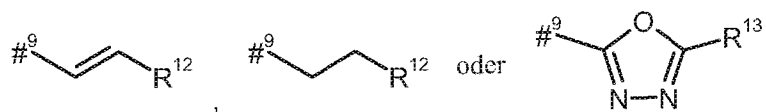
10 R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

15 R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit -CHCH₂Phenyl kennzeichnet,

20 R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel -S(O)₂OH substituiert sein kann,

- 65 -

R^{13} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

R^{35} für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

5 Bevorzugter Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia) wie oben angegeben, in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 10 steht,

AK für AK_2 steht,

wobei

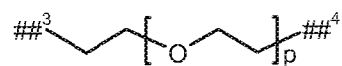
10 AK_2 für einen Antikörper, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers MF-Ta, die variable leichte und variable schwere Kette des Antikörpers MF-Ta oder die leichte und schwere Kette des Antikörpers MF-Ta umfasst, steht, der über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für Carbonyl steht,

15 L^1 für eine Bindung, steht,

B für eine Bindung steht,

L^2 für lineares (C_3 - C_6)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

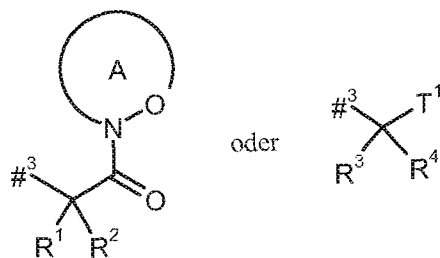
20 p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##^3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##^4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel

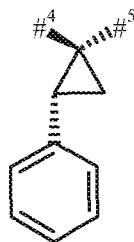
- 66 -



steht, wobei

#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,R¹ für Wasserstoff steht,5 R² für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

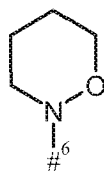
oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

10 bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

15 der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel

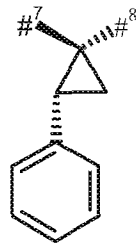


- 67 -

steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,R³ für Wasserstoff steht,R⁴ für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

5 oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

bilden, worin

10 #⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷ oder -C(=O)-NR⁸R⁹ steht,

worin

15 R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,R⁸ für Wasserstoff steht,R⁹ für Wasserstoff oder Benzyl steht,R³⁵ für Methyl steht,

20 sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugter Gegenstand der Erfindung sind Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia), in welcher

- 68 -

n für eine Zahl von 1 bis 10 steht,

AK für AK₂ steht

wobei

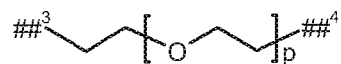
5 AK₂ für einen Antikörper, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers MF-Ta, die variable leichte und variable schwere Kette des Antikörpers MF-Ta oder die leichte und schwere Kette des Antikörpers MF-Ta umfasst, steht, der über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für Carbonyl steht,

L¹ für eine Bindung, steht,

10 B für eine Bindung steht,

L² für lineares (C₃-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



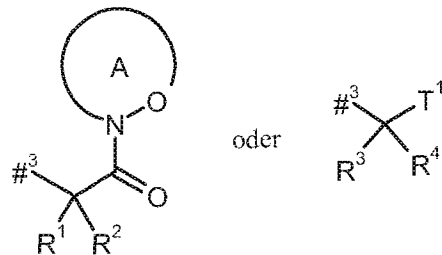
steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

15 ##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

20 ##³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

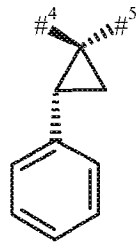
R¹ für Wasserstoff steht,

- 69 -

R² für Benzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



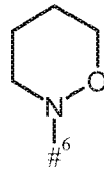
5

bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

10 der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

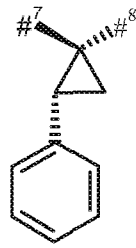
15 R³ für Wasserstoff steht,

R⁴ für Benzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

- 70 -



bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

5 #⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷ oder -C(=O)-NR⁸R⁹ steht,

worin

R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

10 R⁸ für Wasserstoff steht,

R⁹ für Wasserstoff oder Benzyl steht,

R³⁵ für Methyl steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

15 Bevorzugter Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia) wie oben angegeben, in welcher

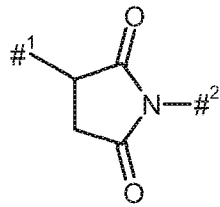
n für eine Zahl von 1 bis 10 steht,

AK für AK₁ steht,

wobei

20 AK₁ für einen Antikörper, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers MF-Ta, die variable leichte und variable schwere Kette des Antikörpers MF-Ta oder die leichte und schwere Kette des Antikörpers MF-Ta umfasst, steht, der über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für eine Gruppe der Formel

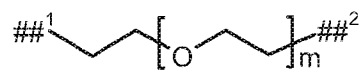


steht, wobei

#¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

5 #² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,

L¹ für eine Bindung, lineares (C₃-C₅)-Alkandiyl oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

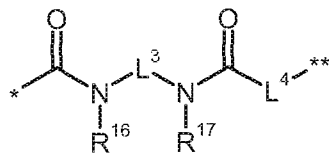
m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

10 ##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

wobei (C₃-C₅)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



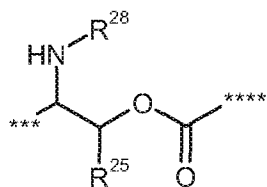
15 steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

L³ für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht,

L⁴ für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

5 **** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

R²⁵ für Methyl steht,

R²⁸ für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

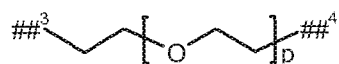
R¹⁶ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R¹⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

10 oder

R¹⁶ und R¹⁷ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Piperazinyling bilden,

L² für lineares (C₃-C₅)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



15 steht, wobei

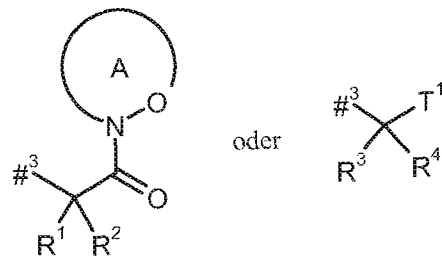
p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel

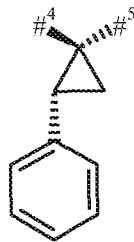
- 73 -



steht, wobei

#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,R¹ für Wasserstoff steht,5 R² für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

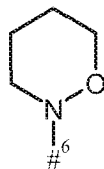
oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

10 bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

15 der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel

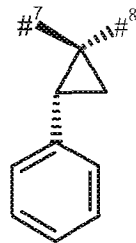


- 74 -

steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,R³ für Wasserstoff steht,R⁴ für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

5 oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

bilden, worin

10 #⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷ oder -C(=O)-NR⁸R⁹ steht,

worin

15 R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,R⁸ für Wasserstoff steht,R⁹ für Wasserstoff oder Benzyl steht,R³⁵ für Methyl steht,

20 sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugter Gegenstand der Erfindung sind Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia), in welcher

- 75 -

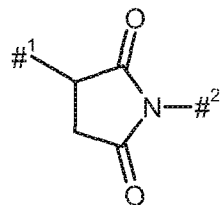
n für eine Zahl von 1 bis 10 steht,

AK für AK_1 steht

wobei

5 AK_1 für einen Antikörper, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers MF-Ta, die variable leichte und variable schwere Kette des Antikörpers MF-Ta oder die leichte und schwere Kette des Antikörpers MF-Ta umfasst, steht, der über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für eine Gruppe der Formel

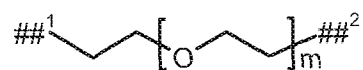


10 steht, wobei

$\#^1$ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

$\#^2$ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^1 kennzeichnet,

L^1 für eine Bindung, lineares (C_3 - C_5)-Alkandiyl oder eine Gruppe der Formel



15 steht, wobei

m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

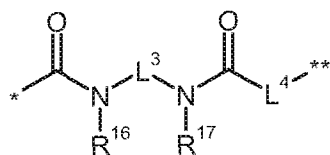
$##^1$ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

$##^2$ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

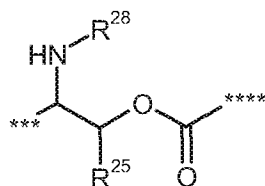
wobei (C_3 - C_5)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

20 B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel

- 76 -



steht, wobei

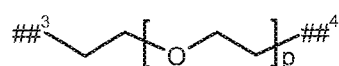
* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,5 L³ für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht,L⁴ für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel

steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

10 **** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,R²⁵ für Methyl steht,R²⁸ für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,R¹⁶ für Wasserstoff oder Methyl steht,R¹⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

15 oder

R¹⁶ und R¹⁷ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Piperazinyling bilden,L² für lineares (C₃-C₅)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel

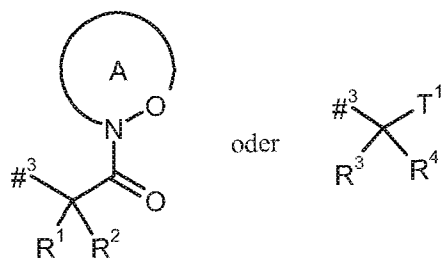
- 77 -

steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

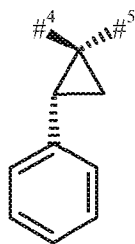
5 D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,R¹ für Wasserstoff steht,10 R² für Benzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

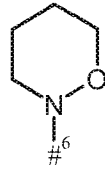
R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

15 bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

- 78 -

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



steht, worin

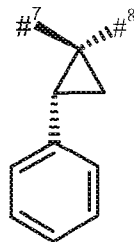
5 #⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R³ für Wasserstoff steht,

R⁴ für Benzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

10 R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

15 #⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷ oder -C(=O)-NR⁸R⁹ steht,

worin

R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

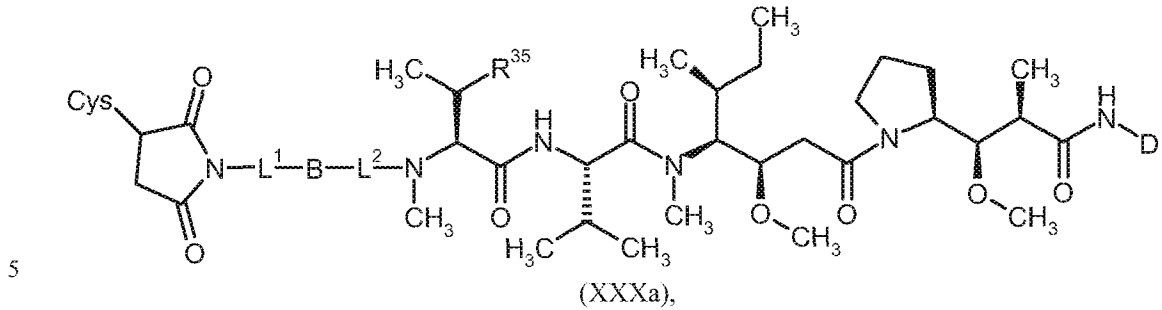
20 R⁸ für Wasserstoff steht,

R⁹ für Wasserstoff oder Benzyl steht,

R³⁵ für Methyl steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

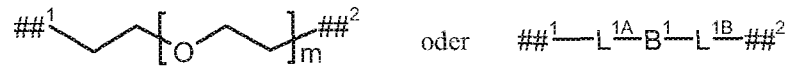
Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Verbindungen der Formel (XXXa)



in welcher

Cys für einen Cystein-Rest steht, der über das Schwefelatom der Seitenkette an ein Kohlenstoffatom des Succinimids gebunden ist,

10 L¹ für eine Bindung, lineares (C₁-C₁₀)-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel



steht, wobei

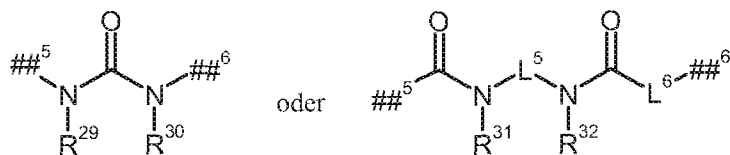
m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

15 ##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

L^{1A} für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl steht,

B¹ für eine Gruppe der Formel



steht, worin

##⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1A} kennzeichnet,

##⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1B} kennzeichnet,

L⁵ für eine Bindung oder (C₂-C₄)-Alkandiyl steht,

5 L⁶ für eine Bindung steht,

R²⁹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R³⁰ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

10 R²⁹ und R³⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5-
oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R³¹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R³² für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

15 R³¹ und R³² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5-
oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

L^{1B} für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl steht,

und

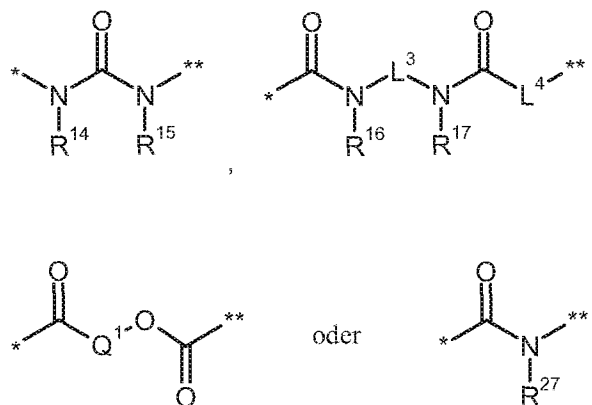
wobei (C₁-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt
aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substituiert sein kann,

20 und

wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation
zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome
zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel

- 81 -



steht, wobei

- * die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,
- ** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,
- 5 P für O oder NH steht,
- L³ für eine Bindung oder (C₂-C₄)-Alkandiyl steht,
- L⁴ für eine Bindung steht,
- Q¹ für einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht,
- Q² für einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus oder einen 4- bis 7-gliedrigen
10 Heterocyclus steht,
- R¹⁴ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
- R¹⁵ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
- oder
- R¹⁴ und R¹⁵ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-
15 gliedrigen Heterocyclus bilden,
- R¹⁶ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
- R¹⁷ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
- oder

- 82 -

R¹⁶ und R¹⁷ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R¹⁸ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

5 R¹⁹ für Wasserstoff oder die Seitengruppe einer natürlichen α -Aminosäure oder ihrer Homologe oder Isomere steht,

R²⁰ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

R¹⁹ und R²⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinyling bilden,

10 R²¹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²² für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

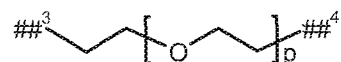
R²¹ und R²² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus bilden,

15 R²³ für (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²⁴ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²⁷ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

L² für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



20 steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

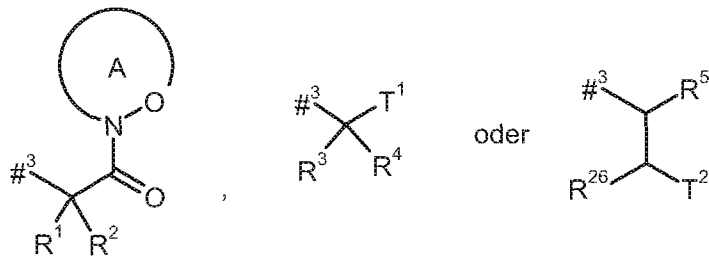
##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

wobei (C₂-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substituiert sein kann,

und

5 wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

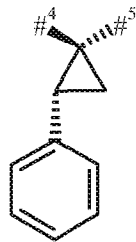
10 #³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R¹ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R² für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

15 oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

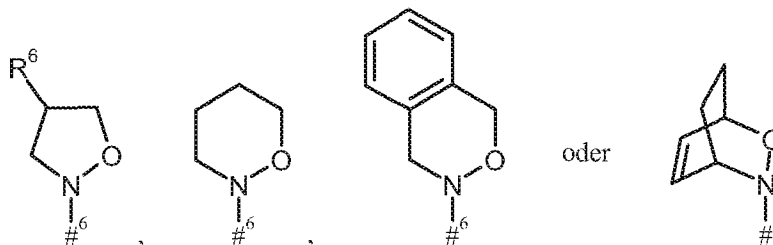
- 84 -

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel

5



steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

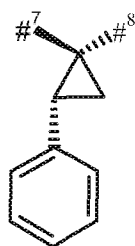
R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

10 R³ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁴ für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

15 R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

20

- 85 -

#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

5 R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

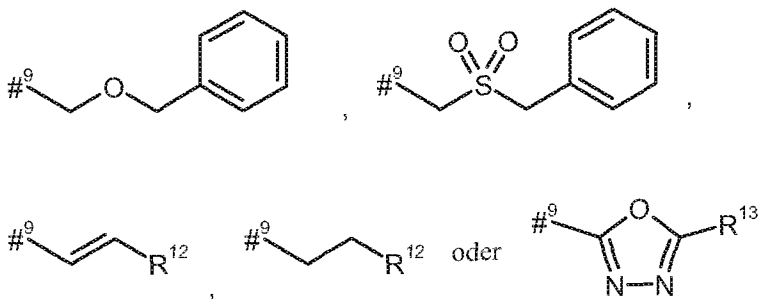
oder

10 R⁸ und R⁹ bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R¹⁰ für Benzoyl steht,

R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

15 R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit -CHC(R²⁶)-T² kennzeichnet,

20 R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel -S(O)₂OH substituiert sein kann,

R¹³ für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

- 86 -

R²⁶ für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

T² für Phenyl, Benzyl, 1*H*-Indol-3-yl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

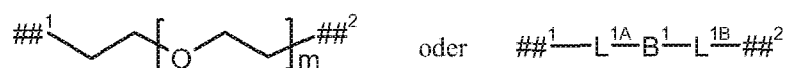
R³⁵ für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

5 Bevorzugt im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind weiterhin auch Verbindungen der Formel (XXXa), in welcher

Cys für einen Cystein-Rest steht, der über das Schwefelatom der Seitenkette über ein Kohlenstoffatom des Succinimids gebunden ist, steht

L¹ für eine Bindung, lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel



steht, wobei

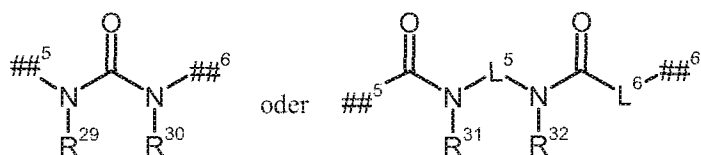
m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

15 L^{1A} für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl steht,

B¹ für eine Gruppe der Formel



steht, worin

##⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1A} kennzeichnet,

20 ##⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1B} kennzeichnet,

L⁵ für eine Bindung steht,

- 87 -

L^6 für eine Bindung steht,

R^{29} für Wasserstoff steht,

R^{30} für Wasserstoff steht,

R^{31} für Wasserstoff oder Methyl steht,

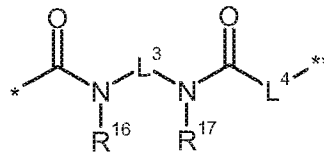
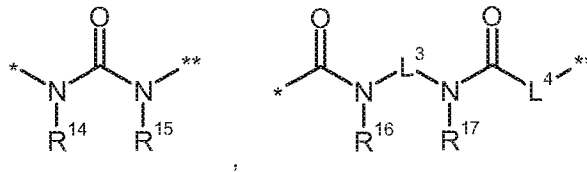
5 R^{32} für Wasserstoff oder Methyl steht,

L^{1B} für lineares (C_2 - C_6)-Alkandiyl steht,

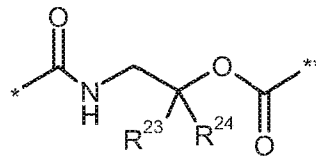
und

wobei (C_2 - C_6)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



oder



10

steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

L^3 für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht,

15 L^4 für eine Bindung steht,

R^{14} für Wasserstoff steht,

R^{15} für Wasserstoff steht,

R^{16} für Wasserstoff oder Methyl steht,

- 88 -

R¹⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

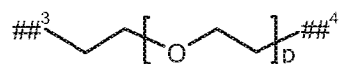
oder

R¹⁶ und R¹⁷ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, Piperazinyling bilden,

5 R²³ für Methyl steht,

R²⁴ für Wasserstoff oder Methyl steht,

L² für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



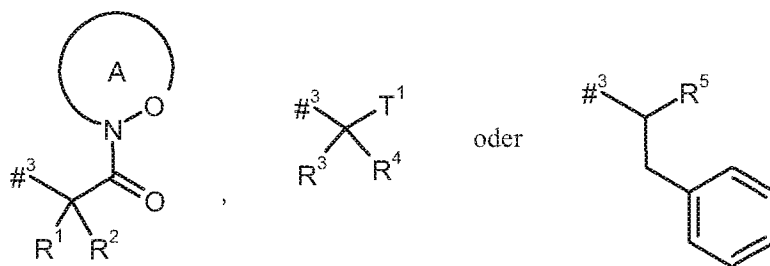
steht, wobei

10 p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



15 steht, wobei

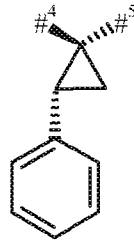
#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R¹ für Wasserstoff steht,

R² für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-yl-methyl steht,

20 oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

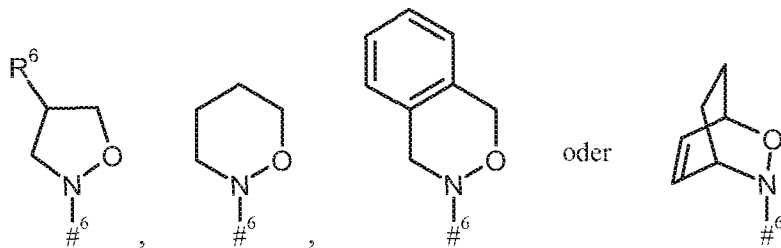


bilden, worin

5 #⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



10

steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

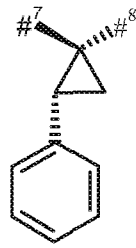
R³ für Wasserstoff steht,

15 R⁴ für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-yl-methyl steht,

oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

- 90 -



bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

5 #⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

10 R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

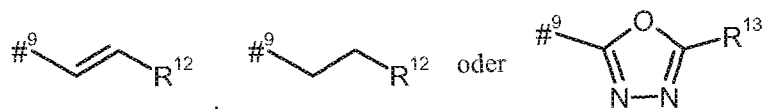
oder

15 R⁸ und R⁹ bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R¹⁰ für Benzoyl steht,

R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



20

steht, worin

- 91 -

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit –CHCH₂Phenyl kennzeichnet,

R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel –S(O)₂OH substituiert sein kann,

R¹³ für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

5

R³⁵ für Methyl oder Hydroxy steht,

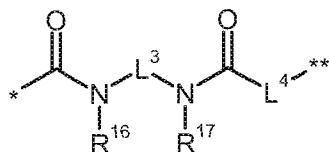
sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Besonders bevorzugt im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind weiterhin auch Verbindungen der Formel (XXXa), in welcher

10 Cys für einen Cystein-Rest steht, der über das Schwefelatom der Seitenkette über ein Kohlenstoffatom des Succinimids gebunden ist, steht

L¹ für eine Bindung oder lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl steht,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



15 steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

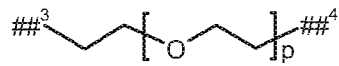
L³ für eine Bindung steht,

L⁴ für eine Bindung steht,

20 R¹⁶ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R¹⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

L² für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



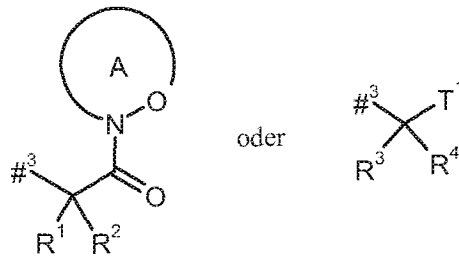
steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

5 ##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

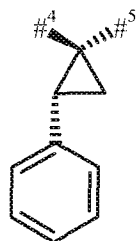
#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

10 R¹ für Wasserstoff steht,

R² für Benzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



15

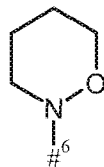
bilden, worin

- 93 -

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

5 der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



steht, worin

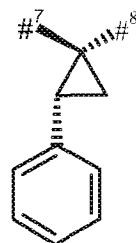
#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R³ für Wasserstoff steht,

10 R⁴ für Benzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



15 bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷ oder -C(=O)-NR⁸R⁹ steht,

20 worin

- 94 -

R⁷ für Wasserstoff steht,R⁸ für Wasserstoff steht,R⁹ für Wasserstoff steht,R³⁵ für Methyl steht,

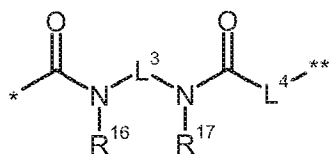
5 sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugter Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Verbindungen der Formel (XXXa) wie oben angegeben, in welcher

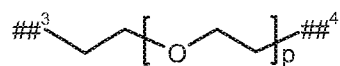
Cys für einen Cystein-Rest steht, der über das Schwefelatom der Seitenkette über ein Kohlenstoffatom des Succinimids gebunden ist, steht

10 L¹ für eine Bindung oder lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl steht,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,15 ** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,L³ für eine Bindung steht,L⁴ für eine Bindung steht,R¹⁶ für Wasserstoff oder Methyl steht,R¹⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,20 L² für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel

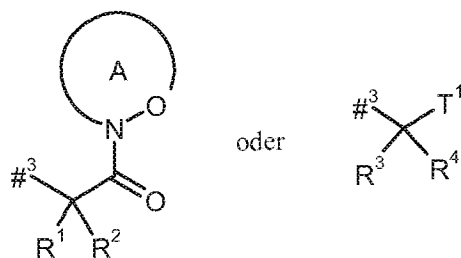
- 95 -

steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

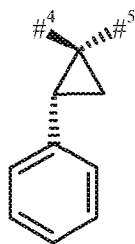
5 D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,R¹ für Wasserstoff steht,10 R² für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

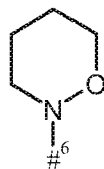
R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

15 bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

- 96 -

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



steht, worin

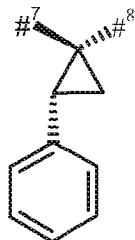
5 #⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R³ für Wasserstoff steht,

R⁴ für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

10 R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

15 #⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷ oder -C(=O)-NR⁸R⁹ steht,

worin

R⁷ für Wasserstoff steht,

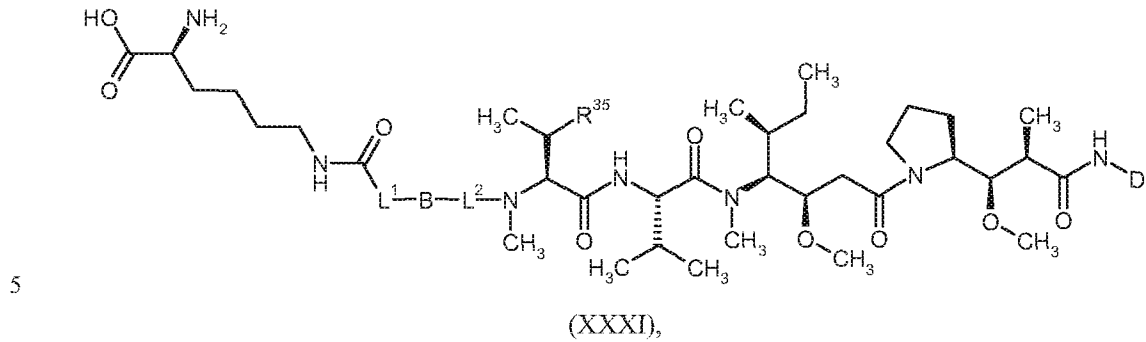
R⁸ für Wasserstoff steht,

R⁹ für Wasserstoff steht,

R³⁵ für Methyl steht,

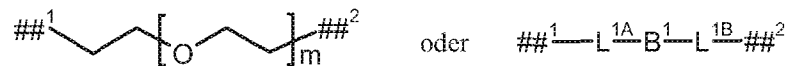
sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Verbindungen der Formel (XXXI)



in welcher

L¹ für eine Bindung, lineares (C₁-C₁₀)-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel



10 steht, wobei

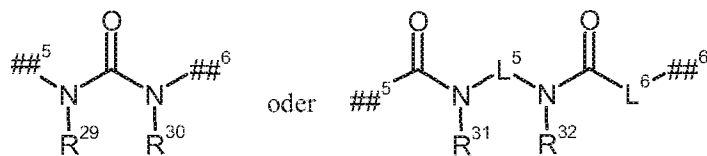
m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

L^{1A} für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl steht,

15 B¹ für eine Gruppe der Formel

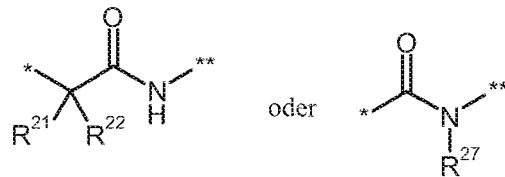
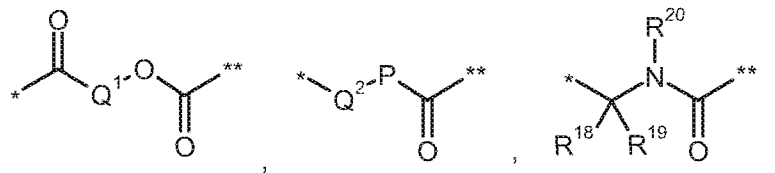


steht, worin

- 98 -

- ##⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1A} kennzeichnet,
##⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1B} kennzeichnet,
L⁵ für eine Bindung oder (C₂-C₄)-Alkandiyl steht,
L⁶ für eine Bindung steht,
5 R²⁹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
R³⁰ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
oder
R²⁹ und R³⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5-
oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,
10 R³¹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
R³² für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
oder
R³¹ und R³² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5-
oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,
15 L^{1B} für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl steht,
und
wobei (C₁-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt
aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substituiert sein kann,
und
20 wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation
zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome
zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,
B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel

- 99 -



steht, wobei

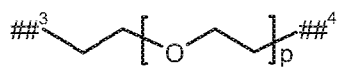
- * die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,
- ** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,
- 5 P für O oder NH steht,
- Q¹ für einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht,
- Q² für einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus oder einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht,
- R¹⁸ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
- 10 R¹⁹ für Wasserstoff oder die Seitengruppe einer natürlichen α -Aminosäure oder ihrer Homologe oder Isomere steht,
- R²⁰ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
- oder
- R¹⁹ und R²⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen
- 15 Pyrrolidinytring bilden,
- R²¹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
- R²² für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
- oder

- 100 -

R^{21} und R^{22} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus bilden,

R^{27} für Wasserstoff oder (C_1 - C_4)-Alkyl steht,

L^2 für lineares (C_2 - C_{10})-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



5

steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##^3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##^4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

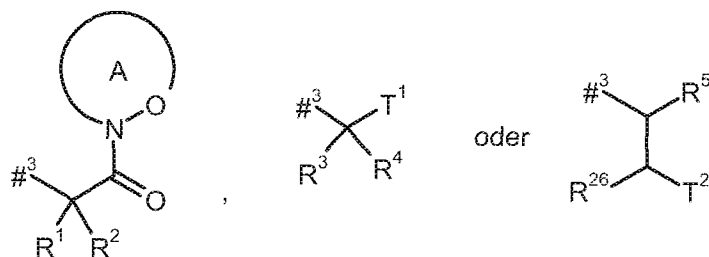
10 wobei (C_2 - C_{10})-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substituiert sein kann,

und

wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem (C_3 - C_6)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

15

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

##^3 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

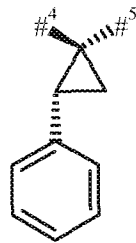
20

R^1 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R² für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

- 5 R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

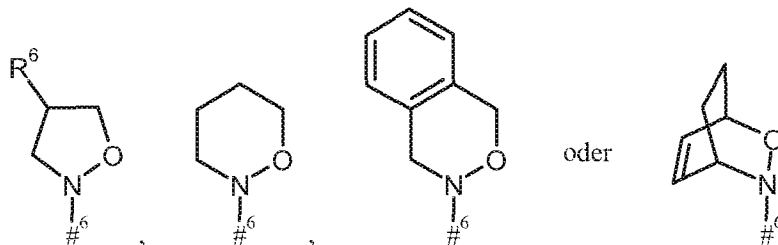


bilden, worin

- 10 #⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



- 15 steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

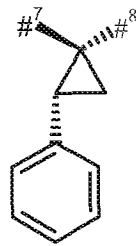
R³ für Wasserstoff oder Methyl steht,

- 102 -

R⁴ für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

5 R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

10 #⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

15 R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

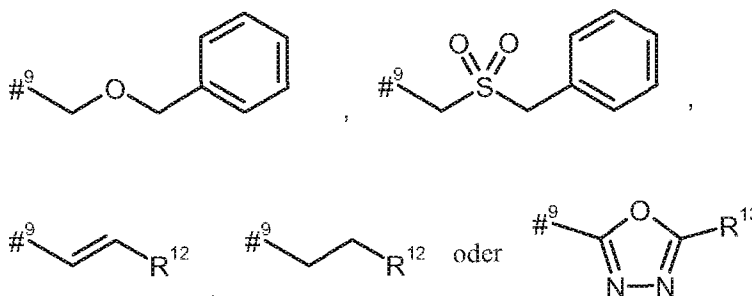
oder

20 R⁸ und R⁹ bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R¹⁰ für Benzoyl steht,

R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



5 steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit $-CHC(R^{26})-T^2$ kennzeichnet,

R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-S(O)_2OH$ substituiert sein kann,

10 R¹³ für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

R²⁶ für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

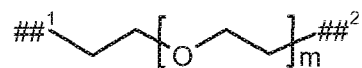
T² für Phenyl, Benzyl, 1*H*-Indol-3-yl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

R³⁵ für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

15 Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Verbindungen der Formel (XXXI), in welcher

L¹ für eine Bindung, lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

20 m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

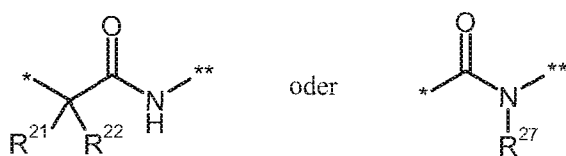
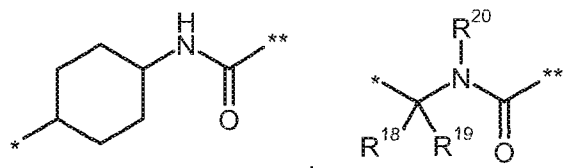
- 104 -

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

wobei (C₂-C₆)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



5

steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

R¹⁸ für Wasserstoff steht,

10 R¹⁹ für Methyl, Propan-2-yl, 2-Methylpropan-1-yl oder 1-Methylpropan-1-yl steht,

R²⁰ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

R¹⁹ und R²⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinyling bilden,

15 R²¹ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R²² für Wasserstoff oder Methyl steht,

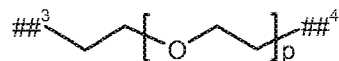
oder

R²¹ und R²² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Cyclopropyl-Ring bilden,

- 105 -

R^{27} für Wasserstoff oder Methyl steht,

L^2 für lineares (C_2 - C_6)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

5 p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

$##^3$ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

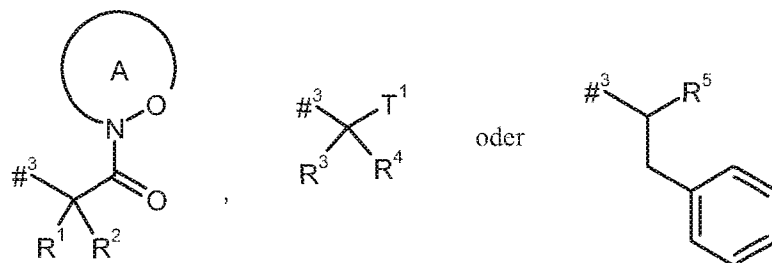
$##^4$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

wobei (C_2 - C_{10})-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

und

10 wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

D für eine Gruppe der Formel



15 steht, wobei

$##^3$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

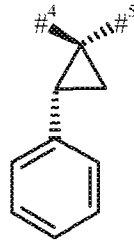
R^1 für Wasserstoff steht,

R^2 für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-yl-methyl steht,

20 oder

- 106 -

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

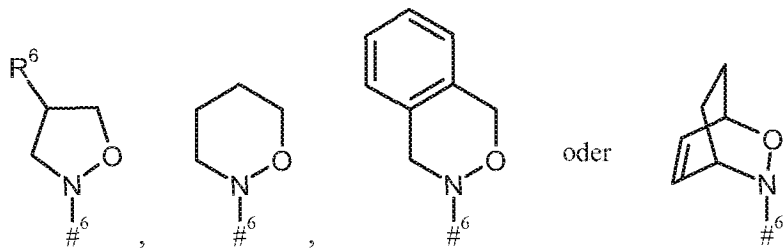


bilden, worin

5 #⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



10

steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

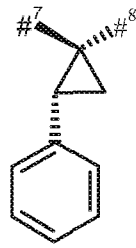
R³ für Wasserstoff steht,

15 R⁴ für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-yl-methyl steht,

oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

- 107 -



bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

5 #⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

10 R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

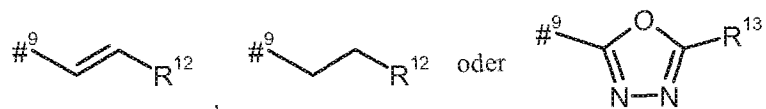
oder

15 R⁸ und R⁹ bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R¹⁰ für Benzoyl steht,

R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



20

steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit –CHCH₂Phenyl kennzeichnet,

R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel –S(O)₂OH substituiert sein kann,

R¹³ für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

5

R³⁵ für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Besonders bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Verbindungen der Formel (XXXI), in welcher

10 L¹ für eine Bindung steht,

B für eine Bindung steht,

L² für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



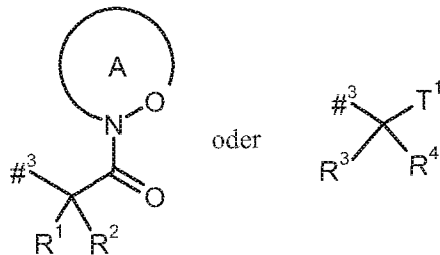
steht, wobei

15 p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



20 steht, wobei

#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

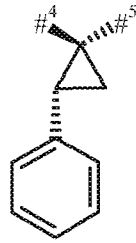
- 109 -

R¹ für Wasserstoff steht,

R² für Benzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

5 R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

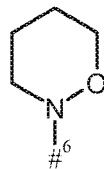


bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

10 #⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocycclus der Formel



steht, worin

15 #⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

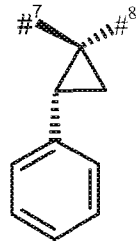
R³ für Wasserstoff steht,

R⁴ für Benzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

- 110 -

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

5 #⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷ oder -C(=O)-NR⁸R⁹ steht,

worin

10 R⁷ für Wasserstoff steht,

R⁸ für Wasserstoff steht,

R⁹ für Wasserstoff steht,

R³⁵ für Methyl steht,

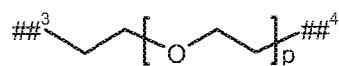
sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

15 Bevorzugter Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Verbindungen der Formel (XXXI) wie oben angegeben, in welcher

L¹ für eine Bindung steht,

B für eine Bindung steht,

L² für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



20

steht, wobei

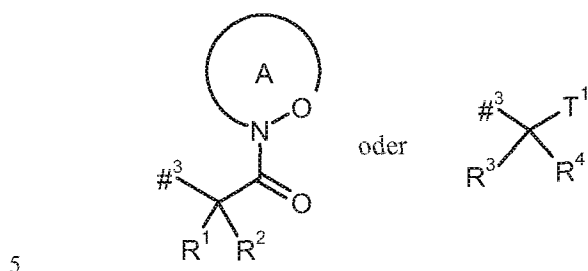
- 111 -

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

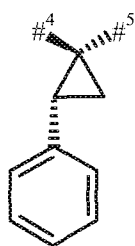
#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R¹ für Wasserstoff steht,

R² für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

10 oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



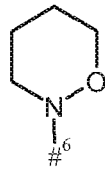
bilden, worin

15 #⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclen der Formel

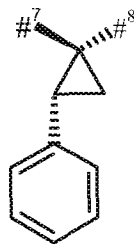
- 112 -



steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,5 R³ für Wasserstoff steht,R⁴ für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

10

bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,15 T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷ oder -C(=O)-NR⁸R⁹ steht,

worin

R⁷ für Wasserstoff steht,R⁸ für Wasserstoff steht,R⁹ für Wasserstoff steht,

R³⁵ für Methyl steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Besonders bevorzugt sind folgende Verbindungen der Formeln (XXXa) und (XXXI) ausgewählt aus der Gruppe:

5 *N*-[6-(3-{{(2*R*)-2-Amino-2-carboxyethyl}sulfanyl}-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)hexyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{{(1*S*)-1-carboxy-2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid,

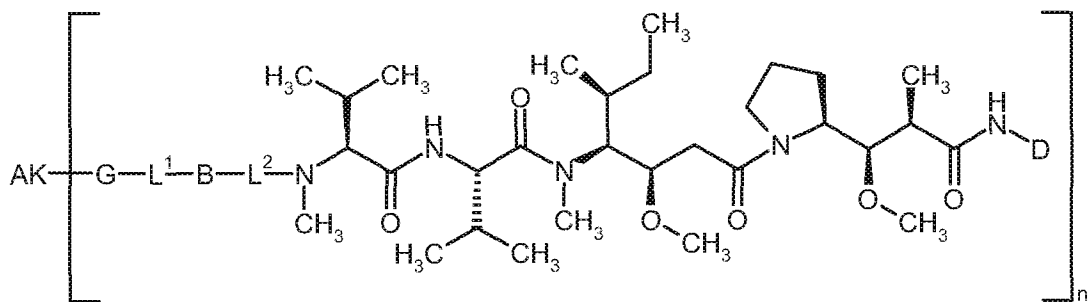
10 *N*-[6-(3-{{(2*R*)-2-Amino-2-carboxyethyl}sulfanyl}-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)hexyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{{(2*S*)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid,

15 *N*-(6-{{(5*S*)-5-Amino-5-carboxypentyl}amino}-6-oxohexyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{{(2*S*)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat,

N-(6-{{(5*S*)-5-Amino-5-carboxypentyl}amino}-6-oxohexyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{{(1*S*)-1-carboxy-2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid,

20 sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (I)



(I),

25 in welcher

- 114 -

n für eine Zahl von 1 bis 50 steht,

AK für einen Binder steht,

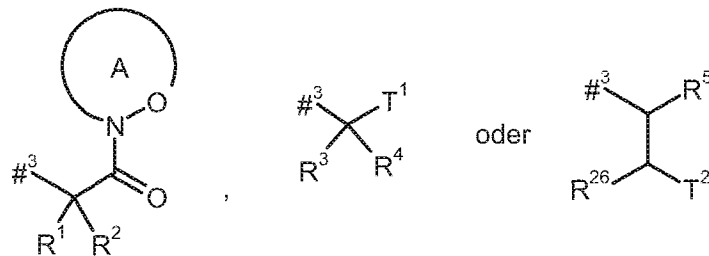
die Gruppe §-G-L¹-B-L²-§§ für einen Linker steht,

wobei

5 § die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe AK kennzeichnet und

§§ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

10 #³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

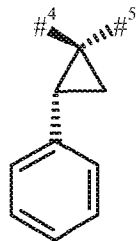
R¹ für Wasserstoff steht,

R² für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine

15 (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

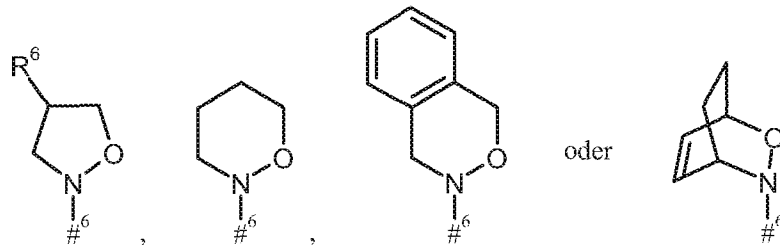
- 115 -

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel

5



steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

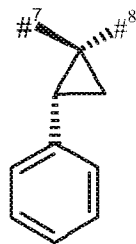
R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

10 R³ für Wasserstoff steht,

R⁴ für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



15

bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

- 116 -

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

5

R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

oder

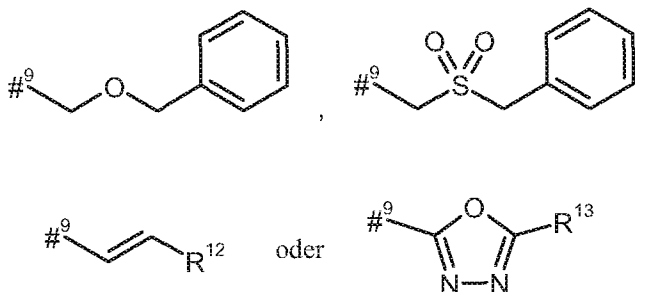
10

R⁸ und R⁹ bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R¹⁰ für Benzoyl steht,

R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



15

steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit -CHC(R²⁶)-T² kennzeichnet,

R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel -S(O)₂OH substituiert sein kann,

20

R¹³ für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

R²⁶ für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

- 117 -

T² für Phenyl, Benzyl, 1*H*-Indol-3-yl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugter Gegenstand der Erfindung sind Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (I), in welcher

5 n für eine Zahl von 1 bis 50 steht,

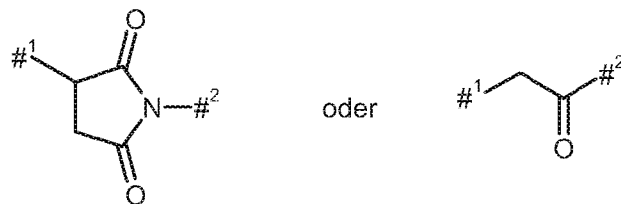
AK für AK₁ oder AK₂ steht

wobei

AK₁ für einen Binder, der über ein Schwefelatom des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

10 AK₂ für einen Binder, der über ein Stickstoffatom des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für den Fall, dass AK = AK₁ ist, für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

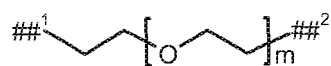
15 #¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Schwefelatom des Binders kennzeichnet,

#² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,

oder

für den Fall, dass AK = AK₂ ist, für Carbonyl steht,

L¹ für eine Bindung, lineares (C₁-C₁₀)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



20

steht, wobei

m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

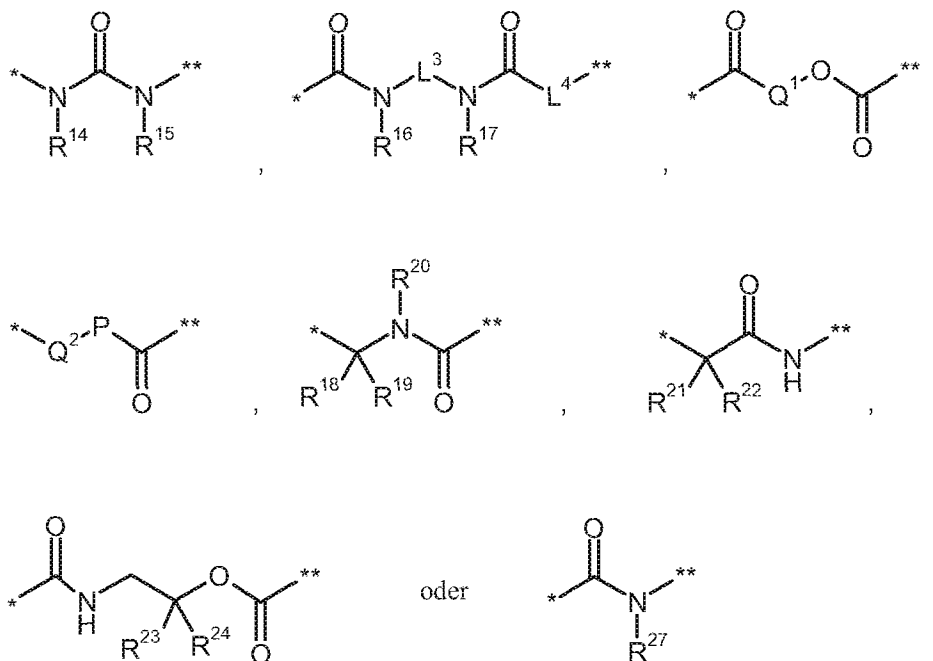
##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

wobei (C₁-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

5 und

wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



10

steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,

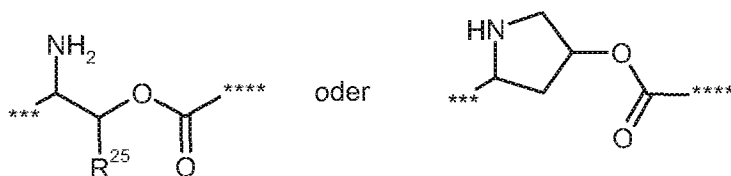
** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

P für O oder NH steht,

15 L³ für eine Bindung oder (C₂-C₄)-Alkandiyl steht,

L⁴ für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel

- 119 -



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

**** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,5 R²⁵ für Wasserstoff oder Methyl steht,Q¹ für einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht,Q² für einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus oder einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht,R¹⁴ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,10 R¹⁵ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

R¹⁴ und R¹⁵ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,R¹⁶ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,15 R¹⁷ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

R¹⁶ und R¹⁷ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,R¹⁸ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,20 R¹⁹ für Wasserstoff oder die Seitengruppe einer natürlichen α -Aminosäure oder ihrer Homologe oder Isomere steht,R²⁰ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

- 120 -

R¹⁹ und R²⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinyling bilden,

R²¹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²² für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

5 oder

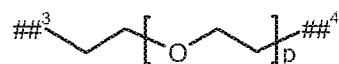
R²¹ und R²² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus bilden,

R²³ für (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²⁴ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

10 R²⁷ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

L² für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

15 ##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

wobei (C₂-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

und

20 wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

D die oben angegebenen Bedeutungen aufweist,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugter Gegenstand der Erfindung sind Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (I),

in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 50 steht,

5 AK für AK₁ oder AK₂ steht

wobei

AK₁ für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht und über ein Schwefelatom an die Gruppe G gebunden sind,

10 AK₂ für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht und über ein Stickstoffatom an die Gruppe G gebunden sind,

G, L¹, B, L² und D die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugter Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (I), in welcher

15 n für eine Zahl von 1 bis 20 steht,

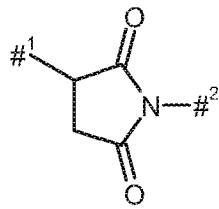
AK für AK₁ oder AK₂ steht

wobei

20 AK₁ für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

AK₂ für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für den Fall, dass AK = AK₁ ist, für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

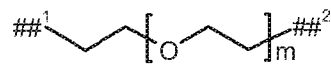
#¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

#² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,

5 oder

für den Fall, dass AK = AK₂ ist, für Carbonyl steht,

L¹ für eine Bindung, lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

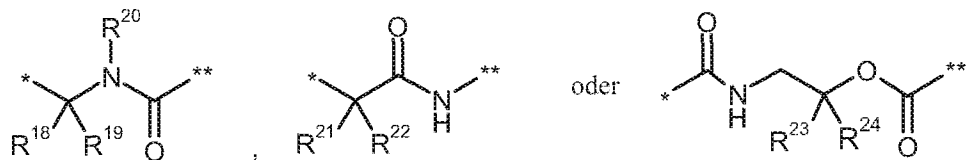
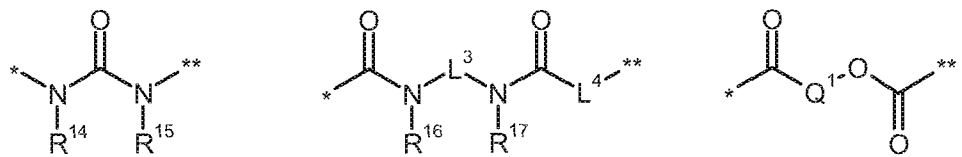
10 m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

wobei (C₂-C₆)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



15

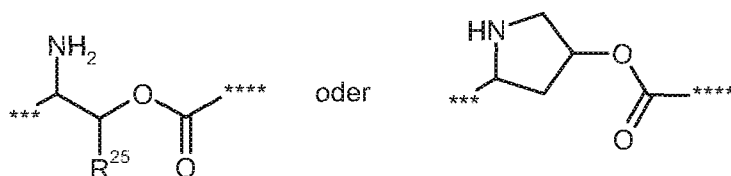
steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

L^3 für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht,

5 L^4 für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

**** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

10 R^{25} für Methyl steht,

Q^1 für einen 4- bis 6-gliedrigen Carbocyclus oder Piperidin-1,4-diyl steht,

R^{14} für Wasserstoff steht,

R^{15} für Wasserstoff steht,

R^{16} für Wasserstoff oder Methyl steht,

15 R^{17} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

R^{16} und R^{17} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Piperazinyling bilden,

R^{18} für Wasserstoff steht,

20 R^{19} für Wasserstoff, Methyl, Propan-2-yl, 2-Methylpropan-1-yl oder 1-Methylpropan-1-yl steht,

R^{20} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

R¹⁹ und R²⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinring bilden,

R²¹ für Wasserstoff oder Methyl steht,

5 R²² für Wasserstoff oder Methyl steht,

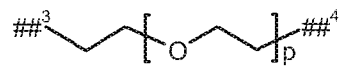
oder

R²¹ und R²² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Cyclopropylring bilden,

R²³ für Methyl steht,

10 R²⁴ für Wasserstoff oder Methyl steht,

L² für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

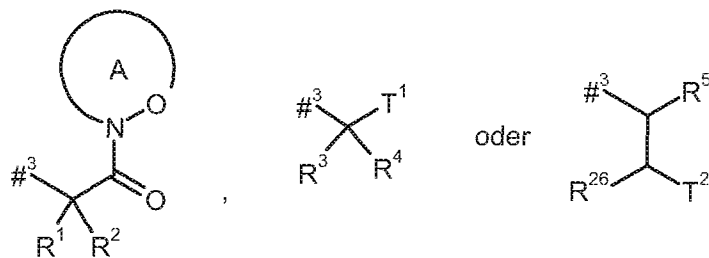
p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

15 ##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

wobei (C₂-C₆)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

D für eine Gruppe der Formel



20 steht, wobei

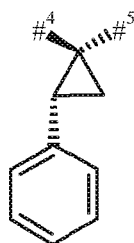
#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R¹ für Wasserstoff steht,

R² für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

- 5 R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



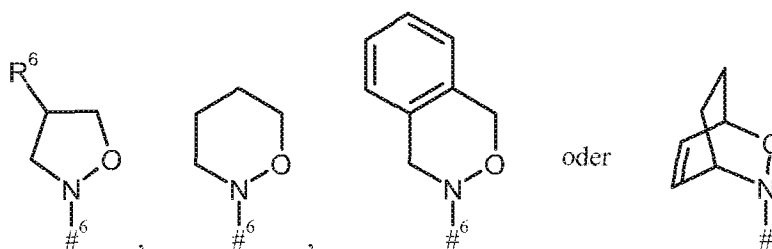
bilden, worin

10

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



15

steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

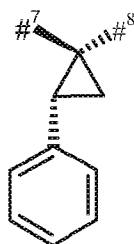
R³ für Wasserstoff steht,

- 126 -

R⁴ für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



5

bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

10 T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

15 R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

oder

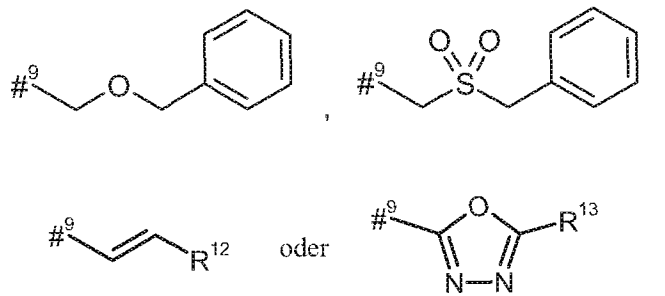
R⁸ und R⁹ bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

20 R¹⁰ für Benzoyl steht,

R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

- 127 -

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit $-\text{CHC}(\text{R}^{26})-\text{T}^2$ kennzeichnet,

5 R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-\text{S}(\text{O})_2\text{OH}$ substituiert sein kann,

R¹³ für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

R²⁶ für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

10 T² für Phenyl, Benzyl, 1*H*-Indol-3-yl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Besonders bevorzugter Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (I), in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 10 steht,

15 AK für AK₁ oder AK₂ steht

wobei

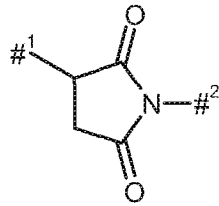
AK₁ für einen Antikörper, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers MF-Ta, die variable leichte und variable schwere Kette des Antikörpers MF-Ta oder die leichte und schwere Kette des Antikörpers MF-Ta umfasst, steht, der über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

20

AK₂ für einen Antikörper, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers MF-Ta, die variable leichte und variable schwere Kette des Antikörpers MF-Ta oder die leichte

und schwere Kette des Antiköpers MF-Ta umfasst, steht, der über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für den Fall, dass $AK = AK_1$ ist, für eine Gruppe der Formel



5 steht, wobei

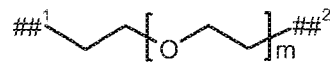
#¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

#² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,

oder

für den Fall, dass $AK = AK_2$ ist, für Carbonyl steht,

10 L¹ für eine Bindung, lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

m für eine Zahl 2 oder 3 steht,

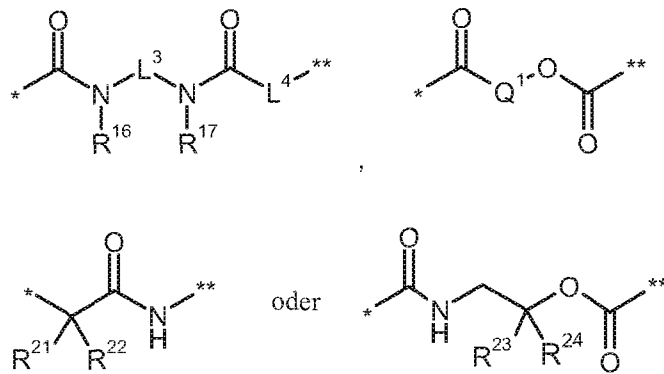
##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

15 ##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

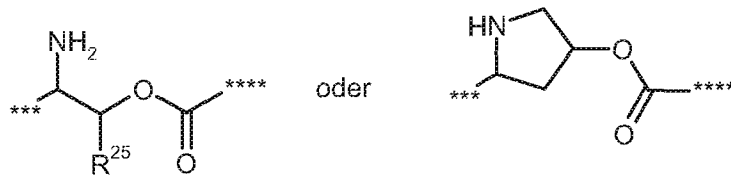
wobei (C₂-C₆)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel

- 129 -



steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,5 L^3 für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht, L^4 für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel

steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

10 **** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet, R^{25} für Methyl steht, Q^1 für Piperidin-1,4-diyl steht, R^{16} für Wasserstoff oder Methyl steht, R^{17} für Wasserstoff oder Methyl steht,

15 oder

 R^{16} und R^{17} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Piperazinytring bilden,

- 130 -

R^{21} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{22} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

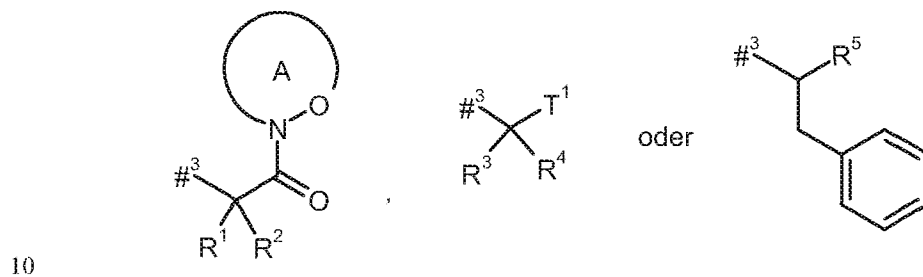
5 R^{21} und R^{22} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Cyclopropyrling bilden,

R^{23} für Methyl steht,

R^{24} für Wasserstoff steht,

L^2 für lineares (C_2 - C_6)-Alkandiyl steht,

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

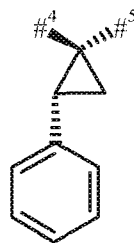
$\#^3$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff steht,

R^2 für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

15 oder

R^1 und R^2 zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



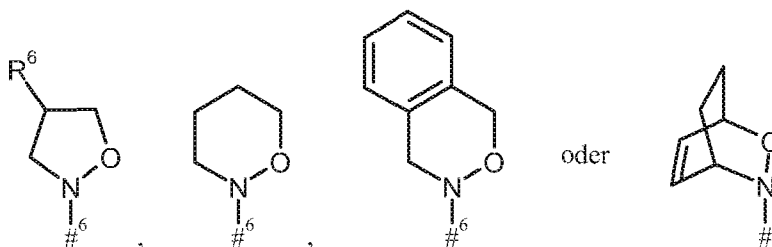
- 131 -

bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

5 der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

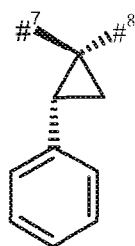
10 R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R³ für Wasserstoff steht,

R⁴ für Benzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

15 R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

- 132 -

#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

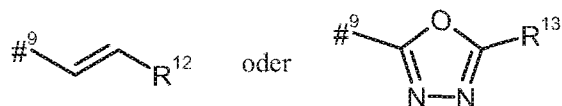
5

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

10 R⁵ für Wasserstoff oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit -CHC(R²⁶)Phenyl kennzeichnet,

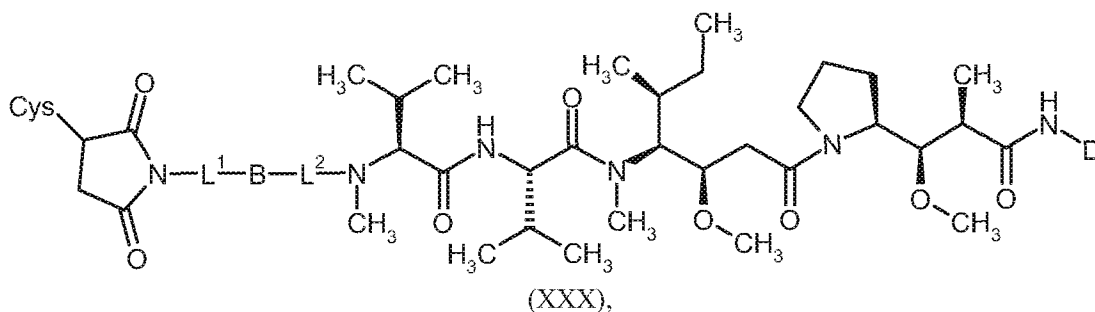
R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel -S(O)₂OH substituiert sein kann,

15

R¹³ für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Verbindungen der Formel (XXX)

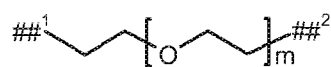


20

in welcher

Cys für einen Cystein-Rest steht, der über das Schwefelatom der Seitenkette an ein Kohlenstoffatom des Succinimids gebunden ist,

L¹ für eine Bindung, lineares (C₁-C₁₀)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



5

steht, wobei

m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

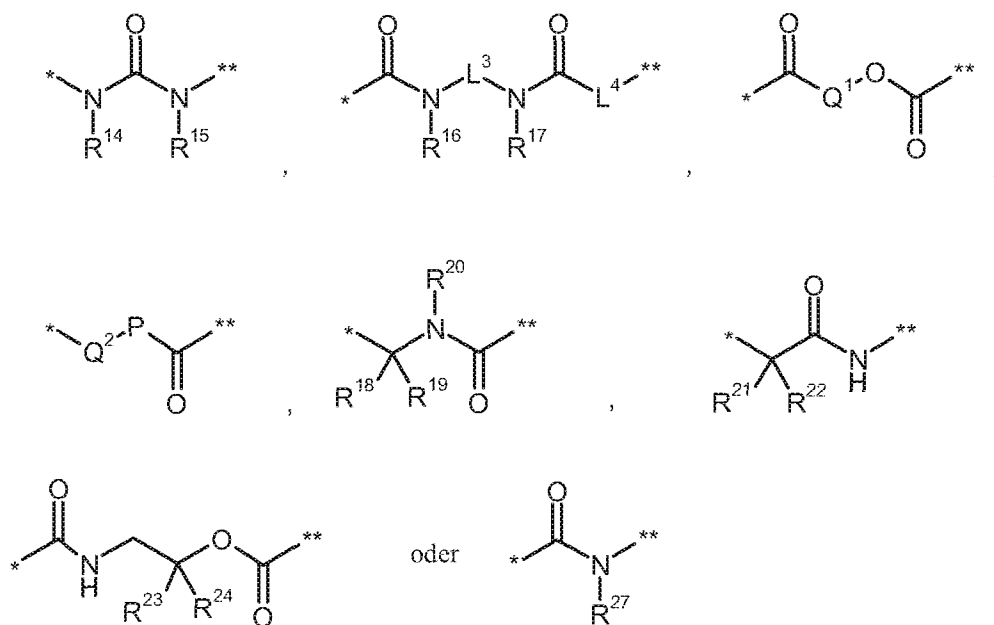
##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

10 wobei (C₁-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

und

wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

15 B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

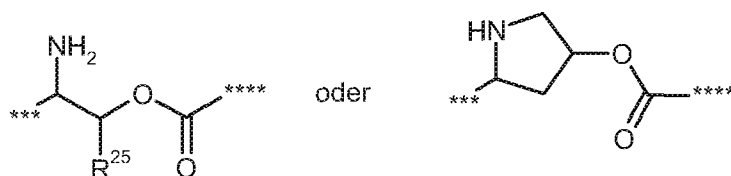
* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

P für O oder NH steht,

5 L³ für eine Bindung, oder (C₂-C₄)-Alkandiyl steht,

L⁴ für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

10 **** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

R²⁵ für Wasserstoff oder Methyl steht,

Q¹ für einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus oder einen 4- bis 7-gliedrigen Aza-Heterocyclus steht,

15 Q² für einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus oder einen 4- bis 7-gliedrigen Aza-Heterocyclus steht,

R¹⁴ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R¹⁵ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

20 R¹⁴ und R¹⁵ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R¹⁶ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R¹⁷ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

- 135 -

oder

R¹⁶ und R¹⁷ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R¹⁸ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

5 R¹⁹ für Wasserstoff oder die Seitengruppe einer natürlichen α -Aminosäure oder ihrer Homologe oder Isomere steht,

R²⁰ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

10 R¹⁹ und R²⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinyrning bilden,

R²¹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²² für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

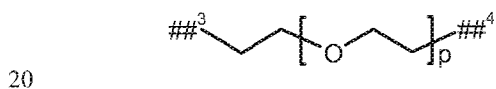
15 R²¹ und R²² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus bilden,

R²³ für (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²⁴ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²⁷ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

L² für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

- 136 -

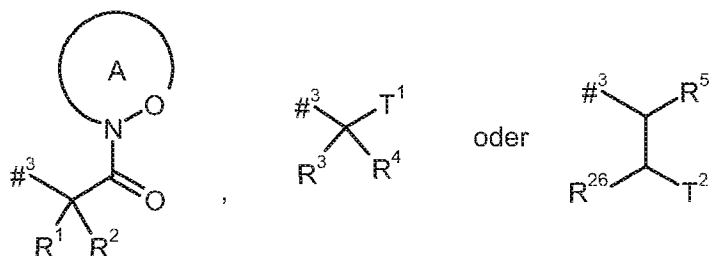
wobei (C₂-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

und

wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

5

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

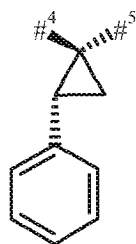
#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

10 R¹ für Wasserstoff steht,

R² für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



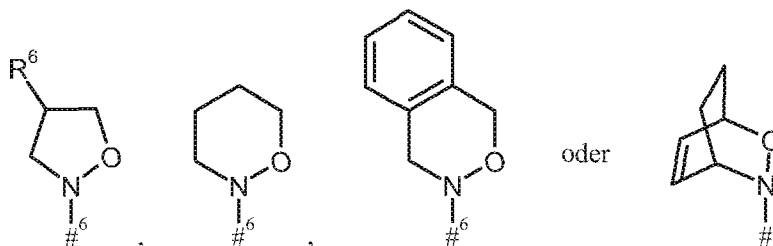
15

bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



steht, worin

5 $\#^6$ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

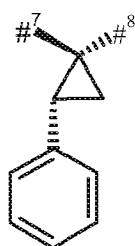
R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R^3 für Wasserstoff steht,

R^4 für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

10 R^3 und R^4 zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

15 $\#^7$ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

$\#^8$ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T^1 kennzeichnet,

T^1 für eine Gruppe der Formel $-C(=O)-OR^7$, $-C(=O)-NR^8R^9$, $-C(=O)-NH-NH-R^{10}$ oder $-CH_2-O-R^{11}$ steht,

worin

- 138 -

R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

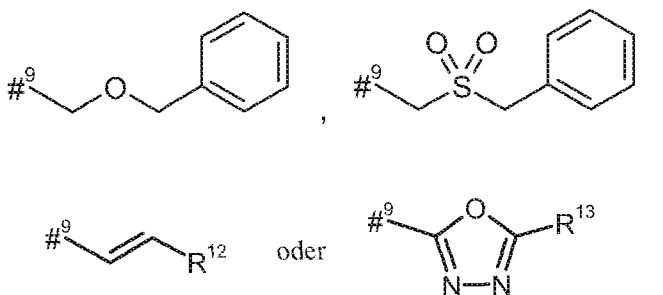
5 oder

R⁸ und R⁹ bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R¹⁰ für Benzoyl steht,

10 R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit $-\text{CHC}(\text{R}^{26})-\text{T}^2$ kennzeichnet,

15 R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-\text{S}(\text{O})_2\text{OH}$ substituiert sein kann,

R¹³ für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

R²⁶ für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

20 T² für Phenyl, Benzyl, *1H*-Indol-3-yl oder *1H*-Indol-3-ylmethyl steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

- 140 -

R¹⁵ für Wasserstoff steht,

R¹⁶ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R¹⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

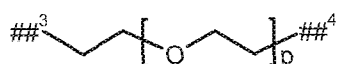
oder

5 R¹⁶ und R¹⁷ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Piperazinyling bilden,

R²³ für Methyl steht,

R²⁴ für Wasserstoff oder Methyl steht,

L² für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



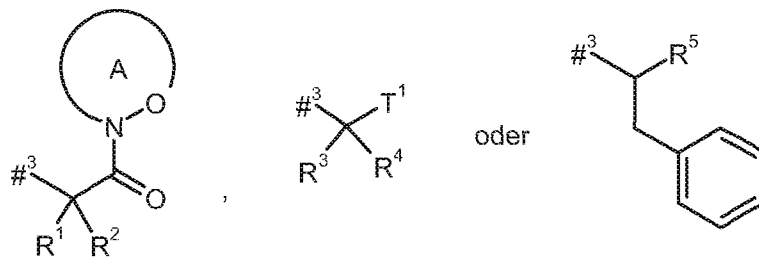
steht, wobei

p für eine Zahl 2 oder 3 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

15 D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

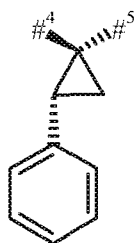
#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R¹ für Wasserstoff steht,

20 R² für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



5

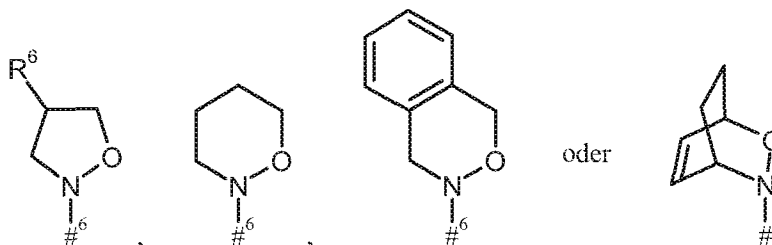
bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel

10



steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

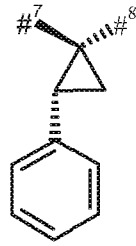
15

R³ für Wasserstoff steht,

R⁴ für Benzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

5 #⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

10 R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

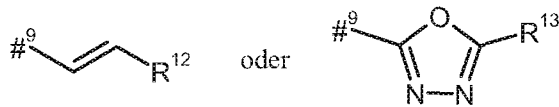
R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

R¹⁰ für Benzoyl steht,

15 R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R⁵ für Wasserstoff oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit -CHC(R²⁶)Phenyl kennzeichnet,

20 R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel -S(O)₂OH substituiert sein kann,

- 143 -

R^{13} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

5

Bevorzugt im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (Ia), in
10 welcher

$n = 1-20$, besonders bevorzugt $n = 1-10$ und ganz besonders bevorzugt $n = 2-8$ bedeutet.

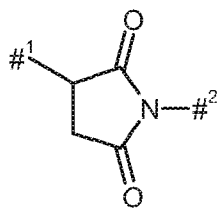
Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (Ia), in
welcher

AK für AK_1 steht

15 wobei

AK_1 für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für eine Gruppe der Formel



20

steht, wobei

$\#^1$ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

$\#^2$ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^1 kennzeichnet,

und

n, L¹, B, L², D und R³⁵ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

5 Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (Ia), in welcher

AK für AK₂ steht

wobei

10 AK₂ für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für Carbonyl steht,

und

n, L¹, B, L², D und R³⁵ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

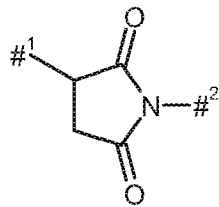
15 Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (Ia), in welcher

AK für AK₁ steht

wobei

20 AK₁ für einen Antikörper, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers MF-Ta, die variable leichte und variable schwere Kette des Antikörpers MF-Ta oder die leichte und schwere Kette des Antikörpers MF-Ta umfasst, steht, der über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

#¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

#² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,

5 und

n, L¹, B, L², D und R³⁵ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (Ia), in welcher

10 AK für AK₂ steht

wobei

AK₂ für einen Antikörper, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers MF-Ta, die variable leichte und variable schwere Kette des Antikörpers MF-Ta oder die leichte und schwere Kette des Antikörpers MF-Ta umfasst, steht, der über die NH-Seiten-
 15 gruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für Carbonyl steht,

und

n, L¹, B, L², D und R³⁵ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

20 Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Verbindungen der allgemeinen Formel (Ia), in welcher

AK für AK₂ steht

wobei

- 146 -

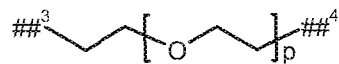
AK₂ für einen Antikörper, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers MF-Ta, die variable leichte und variable schwere Kette des Antikörpers MF-Ta oder die leichte und schwere Kette des Antikörpers MF-Ta umfasst, steht, der über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

5 G für Carbonyl steht,

L¹ für eine Bindung, steht,

B für eine Bindung steht,

L² für lineares (C₃-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



10 steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

###³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

###⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

n, D und R³⁵ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

15 sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Verbindungen der allgemeinen Formel (Ia), in welcher

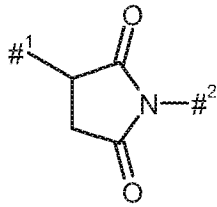
AK für AK₁ steht

wobei

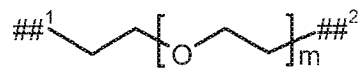
20 AK₁ für einen Antikörper, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers MF-Ta, die variable leichte und variable schwere Kette des Antikörpers MF-Ta oder die leichte und schwere Kette des Antikörpers MF-Ta umfasst, steht, der über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für eine Gruppe der Formel

- 147 -



steht, wobei

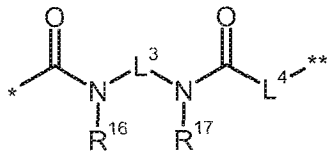
#¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,#² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,5 L¹ für eine Bindung, lineares (C₃-C₅)-Alkandiyl oder eine Gruppe der Formel

steht, wobei

m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,10 ##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,wobei (C₃-C₅)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

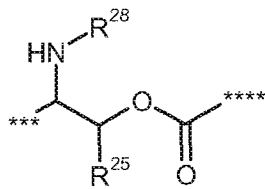
B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

15 * die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,L³ für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht,L⁴ für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel

- 148 -

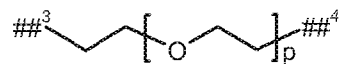


steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

**** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,5 R²⁵ für Methyl steht,R²⁸ für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,R¹⁶ für Wasserstoff oder Methyl steht,R¹⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

10 R¹⁶ und R¹⁷ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Piperazinyling bilden,L² für lineares (C₃-C₅)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel

steht, wobei

15 p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

und

n, D und R³⁵ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

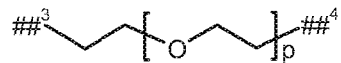
20 sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Verbindungen der Formel (Ia), (XXXa) und (XXXI), in welcher

L¹ für eine Bindung, steht,

B für eine Bindung steht,

5 L² für lineares (C₃-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

10 ##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

und

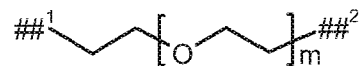
n, AK, Cys, G, D und R³⁵ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Verbindungen der Formel (Ia), in

15 welcher

L¹ für lineares (C₁-C₁₀)-Alkandiyl oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

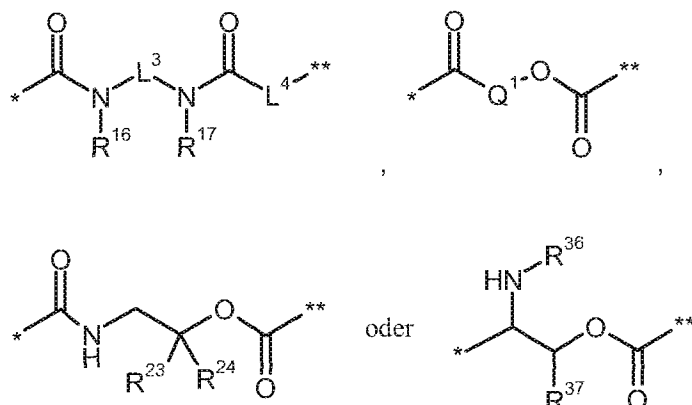
m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

20 ##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

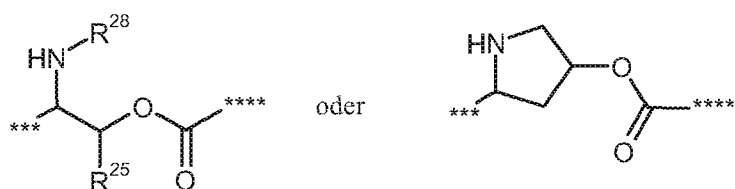
wobei (C₁-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substituiert sein kann,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

- * die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,
- 5 ** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,
- L^3 für eine Bindung oder (C_2-C_4) -Alkandiyl steht,
- L^4 für eine Gruppe der Formel



steht, worin

- 10 *** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,
- **** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,
- R^{25} für Wasserstoff oder Methyl steht,
- R^{28} für Wasserstoff, (C_1-C_4) -Alkylcarbonyl, tert.-Butyloxycarbonyl oder Benzylloxycarbonyl steht,
- 15 Q^1 für einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht,
- R^{16} für Wasserstoff oder (C_1-C_4) -Alkyl steht,

- 151 -

R¹⁷ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

R¹⁶ und R¹⁷ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

5 R²³ für (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²⁴ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

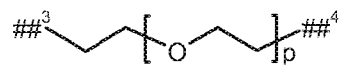
R³⁶ für Wasserstoff, (C₁-C₄)-Alkylcarbonyl, tert.-Butyloxycarbonyl oder Benzyloxy carbonyl steht,

R³⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

10 oder

R³⁶ und R³⁷ bilden zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinring,

L² für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



15 steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

wobei (C₂-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt
20 aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substituiert sein kann,

und

n, AK, G, D und R³⁵ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

- 153 -

**** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

R^{25} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{28} für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

R^{16} für Wasserstoff oder Methyl steht,

5 R^{17} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

R^{16} und R^{17} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Piperazinyling bilden,

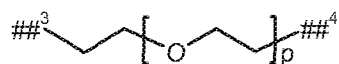
R^{36} für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

10 R^{37} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

R^{36} und R^{37} bilden zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinring,

L^2 für lineares (C_2 - C_6)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

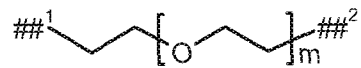
20 und

n, AK, G, D und R^{35} die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (Ia), in welcher

L¹ für eine Bindung, lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

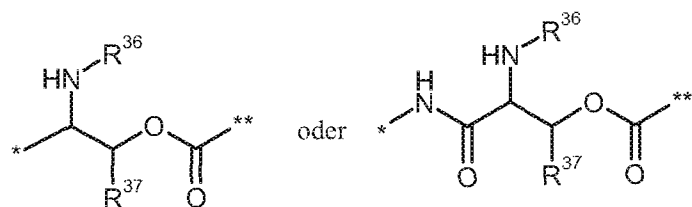
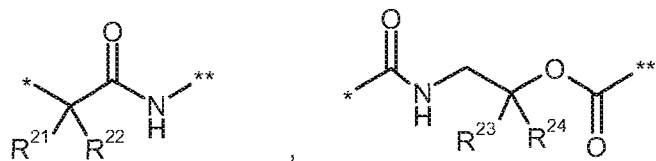
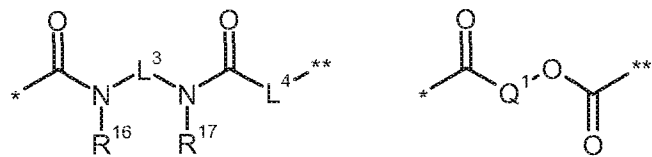
m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

5 ##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

wobei (C₂-C₆)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



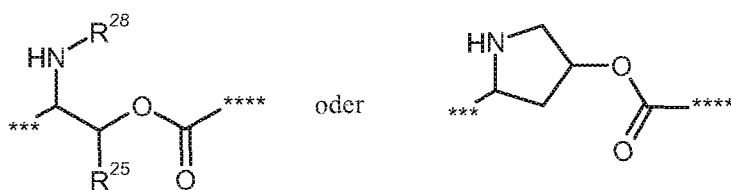
10 steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

L³ für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht,

L⁴ für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

**** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

5 R^{25} für Methyl steht,

R^{28} für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

Q^1 für Piperidin-1,4-diyl steht,

R^{16} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{17} für Wasserstoff oder Methyl steht,

10 oder

R^{16} und R^{17} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Piperazinyling bilden,

R^{21} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{22} für Wasserstoff oder Methyl steht,

15 oder

R^{21} und R^{22} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Cyclopropyling bilden,

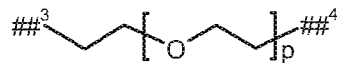
R^{23} für Methyl steht,

R^{24} für Wasserstoff steht,

20 R^{36} für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

R^{37} für Wasserstoff oder Methyl steht,

L^2 für lineares (C_2 - C_6)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

5 ##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

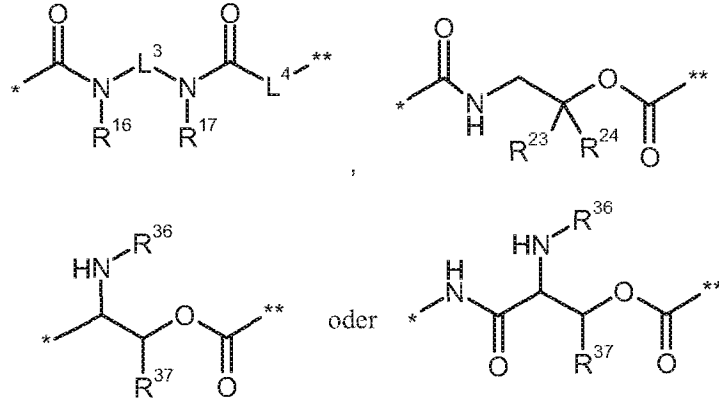
sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (Ia), in welcher

L¹ für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl steht,

10 wobei (C₂-C₆)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



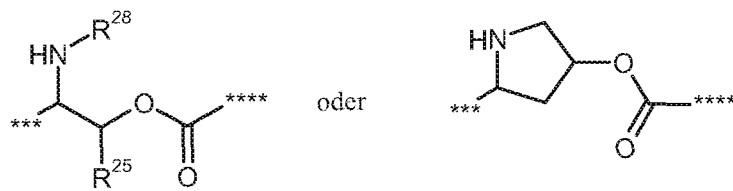
steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,

15 ** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

L³ für eine Bindung steht,

L⁴ für eine Gruppe der Formel



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

**** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

5

R²⁵ für Methyl steht,

R²⁸ für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

R¹⁶ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R¹⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R²³ für Methyl steht,

10

R²⁴ für Wasserstoff steht,

R³⁶ für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

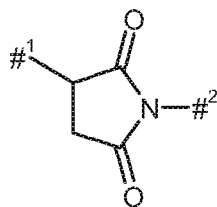
R³⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

L² für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

15 Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (Ia) und (XXXa), in welcher

G für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

- 159 -

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

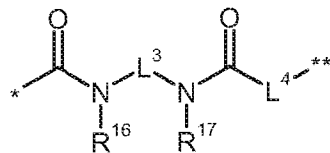
und

n, AK₁, Cys, D, R¹⁶ und R¹⁷ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

5 sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (Ia) und (XXXa), in welcher

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



10 steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

L³ für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht,

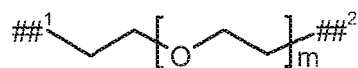
L⁴ für eine Bindung steht,

15 n, AK, Cys, G, L¹, L², D, R¹⁶, R¹⁷ und R³⁵ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (Ia), (XXXa) und (XXXI), in welcher

L¹ für eine Bindung, lineares (C₃-C₅)-Alkandiyl oder eine Gruppe der Formel



20

steht, wobei

m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

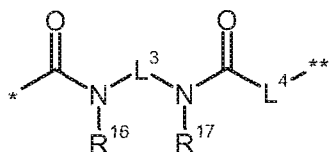
- 160 -

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

wobei (C₃-C₅)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



5

steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

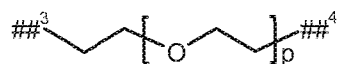
L³ für eine Bindung steht,

10 L⁴ für eine Bindung

R¹⁶ für Wasserstoff steht,

R¹⁷ für Wasserstoff steht,

L² für lineares (C₃-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



15 steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

n, AK, Cys, G, D und R³⁵ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

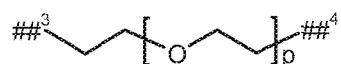
20 sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (Ia), (XXXa) und (XXXI), in welcher

L¹ für eine Bindung steht,

B für eine Bindung steht,

5 L² für lineares (C₃-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

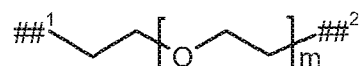
10 ##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

n, AK, Cys, G, D und R³⁵ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (Ia), (XXXa) und (XXXI), in welcher

15 L¹ für lineares (C₃-C₅)-Alkandiyl oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

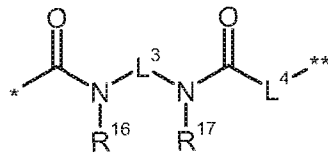
m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

20 ##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

wobei (C₃-C₅)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

B für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

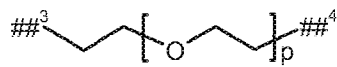
5 L^3 für eine Bindung steht,

L^4 für eine Bindung

R^{16} für Wasserstoff steht,

R^{17} für Wasserstoff steht,

L^2 für lineares (C_3 - C_6)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



10

steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

15 n, AK, Cys, G, D und R^{35} die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (Ia), in welcher

n für eine Zahl von 2 bis 8, vorzugsweise 2 bis 5, steht,

20 AK für AK_1 oder AK_2 steht

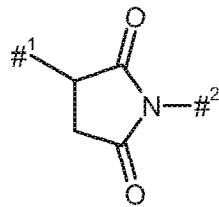
wobei

- 163 -

AK₁ für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

5 AK₂ für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für den Fall, dass AK = AK₁ ist, für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

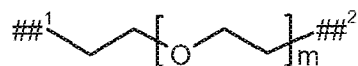
10 #¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

#² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,

oder

für den Fall, dass AK = AK₂ ist, für Carbonyl steht,

L¹ für eine Bindung, lineares (C₃-C₅)-Alkandiyl oder eine Gruppe der Formel



15

steht, wobei

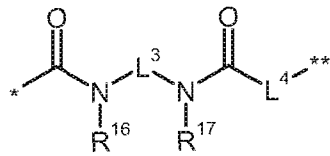
m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

20 wobei (C₃-C₅)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

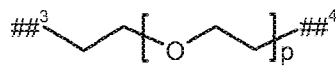
5 L^3 für eine Bindung steht,

L^4 für eine Bindung

R^{16} für Wasserstoff steht,

R^{17} für Wasserstoff steht,

L^2 für lineares (C_3 - C_6)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



10

steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

15 und

D und R^{35} die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (Ia), in welcher

20 n für eine Zahl von 2 bis 8, vorzugsweise 2 bis 5, steht,

AK für AK_1 oder AK_2 steht

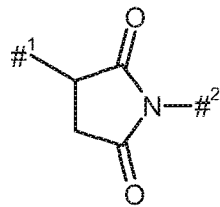
- 165 -

wobei

AK₁ für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

5 AK₂ für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für den Fall, dass AK = AK₁ ist, für eine Gruppe der Formel



10 steht, wobei

#¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

#² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,

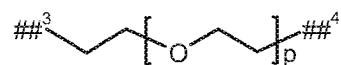
oder

für den Fall, dass AK = AK₂ ist, für Carbonyl steht,

15 L¹ für eine Bindung steht,

B für eine Bindung steht,

L² für lineares (C₃-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

20 p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

- 166 -

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D und R³⁵ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (Ia), in
5 welcher

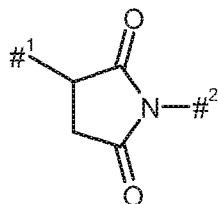
n für eine Zahl von 2 bis 8, vorzugsweise 2 bis 5, steht,

AK für AK₁ steht,

wobei

AK₁ für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der
10 bzw. das an Mesothelin bindet und über das Schwefelatom eines Cystein-Restes
des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für eine Gruppe der Formel

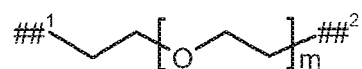


steht, wobei

15 #¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

#² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,

L¹ für lineares (C₃-C₅)-Alkandiyl oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

20 m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

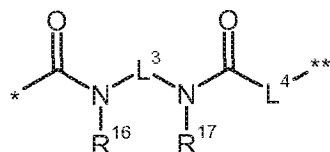
##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

- 167 -

##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

wobei (C₃-C₃)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

B für eine Gruppe der Formel



5 steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

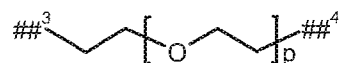
L³ für eine Bindung steht,

L⁴ für eine Bindung

10 R¹⁶ für Wasserstoff steht,

R¹⁷ für Wasserstoff steht,

L² für lineares (C₃-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

15 p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

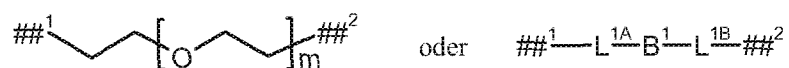
##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D und R³⁵ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

20 Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (Ia), in welcher

L¹ für eine Bindung, lineares (C₃-C₅)-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel



steht, wobei

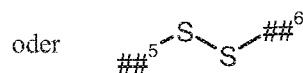
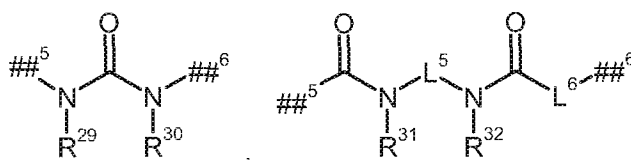
m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

5 ##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

L^{1A} für lineares (C₃-C₆)-Alkandiyl steht,

B¹ für eine Gruppe der Formel



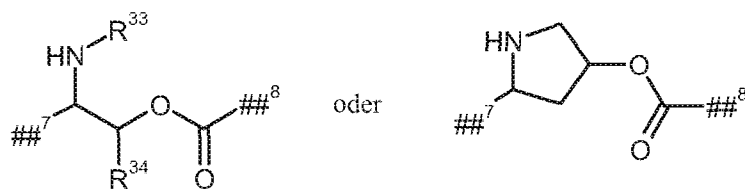
10 steht, worin

##⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1A} kennzeichnet,

##⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1B} kennzeichnet,

L⁵ für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht,

L⁶ für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



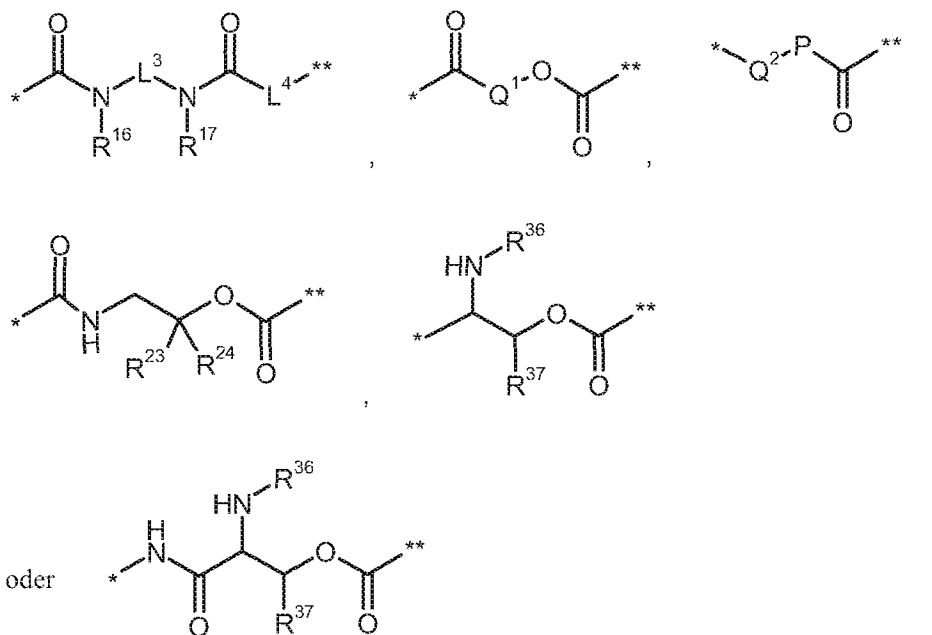
15

steht, worin

- 169 -

- ##⁷ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,
 ##⁸ die Verknüpfungsstelle mit L^{1B} kennzeichnet,
 R³³ für Wasserstoff, (C₁-C₄)-Alkylcarbonyl oder tert.-Butyloxy-carbonyl steht,
 5 R³⁴ für Wasserstoff oder Methyl steht,
 R²⁹ für Wasserstoff oder Methyl steht,
 R³⁰ für Wasserstoff oder Methyl steht,
 R³¹ für Wasserstoff oder Methyl steht,
 R³² für Wasserstoff oder Methyl steht,
 10 L^{1B} für lineares (C₃-C₆)-Alkandiyl steht,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel

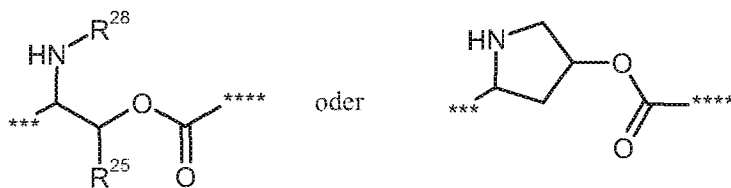


- steht, wobei
 15 * die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,
 ** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,
 P für O steht,

- 170 -

L³ für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht,

L⁴ für eine Gruppe der Formel



steht, worin

5 *** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

**** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

R²⁵ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R²⁸ für Wasserstoff, (C₁-C₄)-Alkylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

Q¹ für einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht,

10 Q² für einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclycus oder einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht,

R¹⁶ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R¹⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R²³ für (C₁-C₄)-Alkyl steht,

15 R²⁴ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

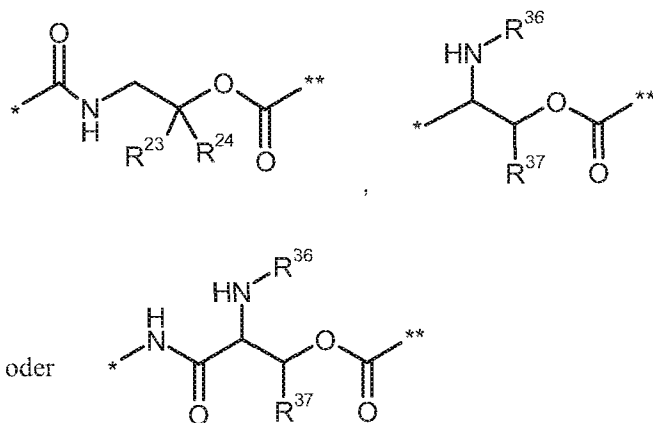
R³⁶ für Wasserstoff, (C₁-C₄)-Alkylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

R³⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

20 R³⁶ und R³⁷ bilden zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinring,

L² für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



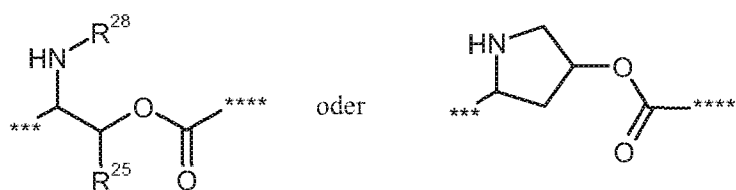
steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

5 L³ für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht,

L⁴ für eine Gruppe der Formel



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

10 **** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

R²⁵ für Methyl steht,

R²⁸ für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

Q¹ für Piperidin-1,4-diyl steht,

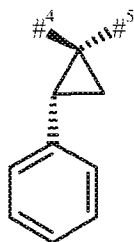
R¹⁶ für Wasserstoff oder Methyl steht,

15 R¹⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R²³ für Methyl steht,

- 174 -

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

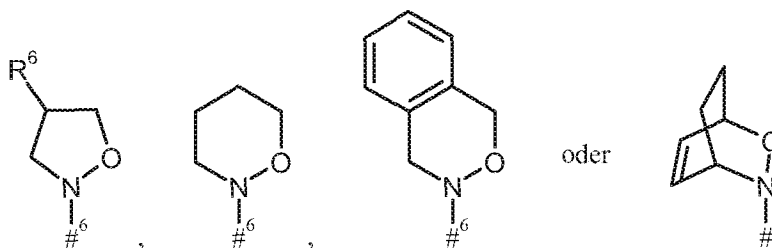


bilden, worin

5 #⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



10

steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

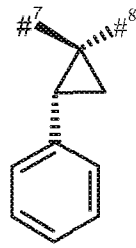
R³ für Wasserstoff oder Methyl steht,

15 R⁴ für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

20 R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

- 175 -



bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

5 #⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

10 R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

oder

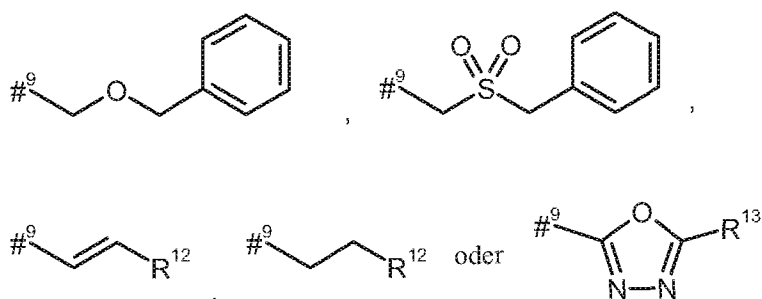
15 R⁸ und R⁹ bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R¹⁰ für Benzoyl steht,

R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel

- 176 -



steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit $-\text{CHC}(\text{R}^{26})-\text{T}^2$ kennzeichnet,

5 R^{12} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-\text{S}(\text{O})_2\text{OH}$ substituiert sein kann,

R^{13} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

R^{26} für Wasserstoff steht,

T^2 für Phenyl, Benzyl, *1H*-Indol-3-yl oder *1H*-Indol-3-ylmethyl steht,

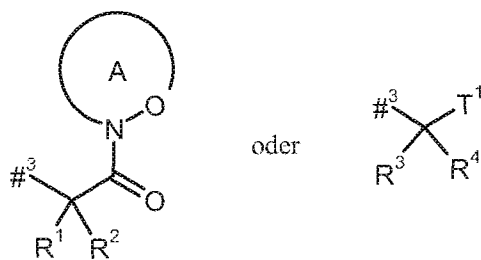
10 und

n, AK, Cys, G, L¹, B, L², D und R^{35} die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Verbindungen der Formel (Ia), (XXXa) und (XXXI), in welcher

15 D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

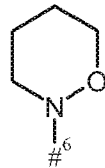
#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

- 177 -

R¹ für Wasserstoff steht,

R² für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen Heterocyclus der Formel



5

steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R³ für Wasserstoff steht,

R⁴ für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

10 T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷ oder -C(=O)-NR⁸R⁹ steht,

worin

R⁷ für Wasserstoff steht,

R⁸ für Wasserstoff steht,

R⁹ für Wasserstoff steht,

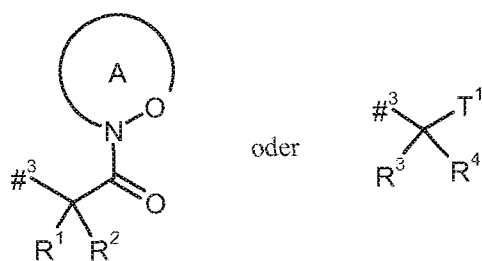
15 n, AK, Cys, G, L¹, B, L², D und R³⁵ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Verbindungen der Formel (Ia), (XXXa) und (XXXI), in welcher

D für eine Gruppe der Formel

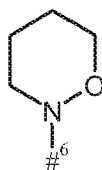
- 178 -



steht, wobei

#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,R¹ für Wasserstoff steht,5 R² für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen Heterocyclus der Formel



steht, worin

10 #⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,R³ für Wasserstoff steht,R⁴ für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-NR⁸R⁹ steht,

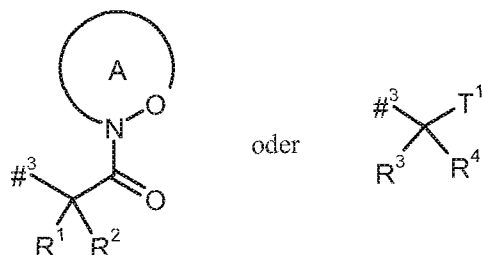
worin

15 R⁸ für Wasserstoff steht,R⁹ für Wasserstoff steht,n, AK, Cys, G, L¹, B, L², D und R³⁵ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Verbindungen der Formel (Ia), (XXXa) und (XXXI), in welcher

D für eine Gruppe der Formel



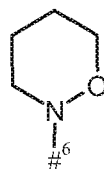
5 steht, wobei

#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R¹ für Wasserstoff steht,

R² für 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

10 der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen Heterocyclus der Formel



steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R³ für Wasserstoff steht,

15 R⁴ für 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-NR⁸R⁹ steht,

worin

R⁸ für Wasserstoff steht,

R⁹ für Wasserstoff steht,

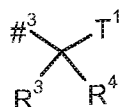
- 180 -

n, AK, Cys, G, L¹, B, L², D und R³⁵ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Verbindungen der Formel (Ia), (XXXa) und (XXXI), in welcher

5 D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R³ für Wasserstoff steht,

10 R⁴ für 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷ oder -C(=O)-NR⁸R⁹ steht,

worin

R⁷ für Wasserstoff steht,

R⁸ für Wasserstoff steht,

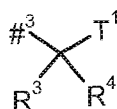
15 R⁹ für Wasserstoff steht,

n, AK, Cys, G, L¹, B, L², D und R³⁵ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Verbindungen der Formel (Ia), (XXXa) und (XXXI), in welcher

20 D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

- 181 -

#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R³ für Wasserstoff steht,

R⁴ für 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-NR⁸R⁹ steht,

5 worin

R⁸ für Wasserstoff steht,

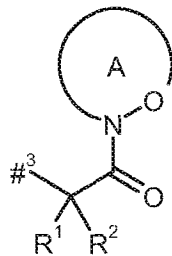
R⁹ für Wasserstoff steht,

n, AK, Cys, G, L¹, B, L², D und R³⁵ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

10 Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Verbindungen der Formel (Ia), (XXXa) und (XXXI), in welcher

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

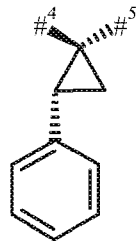
15 #³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R¹ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R² für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

20 oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

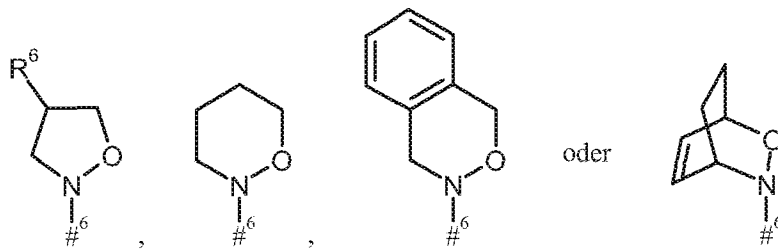


bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

5 #⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



steht, worin

10 #⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

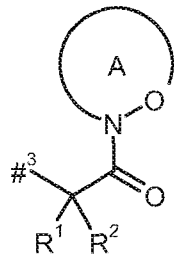
und

n, AK, Cys, G, L¹, B, L² und R³⁵ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

15 Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Verbindungen der Formel (Ia), (XXXa) und (XXXI), in welcher

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

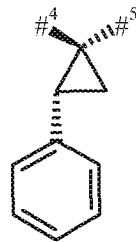
#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R¹ für Wasserstoff steht,

5 R² für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

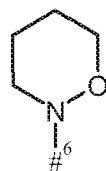


10 bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bi-
15 cyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

und

n, AK, Cys, G, L¹, B, L² und R³⁵ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

5 sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Verbindungen der Formel (Ia), (XXXa) und (XXXI), in welcher

R³⁵ für Hydroxy steht,

und

10 n, AK, Cys, G, L¹, B, L², D und R³⁵ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Verbindungen der Formel (Ia), (XXXa) und (XXXI), in welcher

R³⁵ für Methyl steht,

15 und

n, AK, Cys, G, L¹, B, L², D und R³⁵ die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

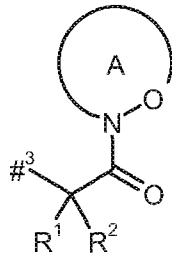
Besonders bevorzugt im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind weiterhin auch Verbindungen der Formel (XXXa), in welcher

20 Cys für einen L-Cystein-Rest steht, der über das Schwefelatom der Seitenkette über ein Kohlenstoffatom des Succinimids gebunden ist, steht

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Verbindungen der Formel (I) und (XXX), in welcher

25 D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

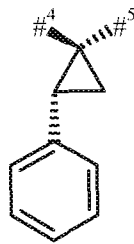
#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R¹ für Wasserstoff steht,

5 R² für Benzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

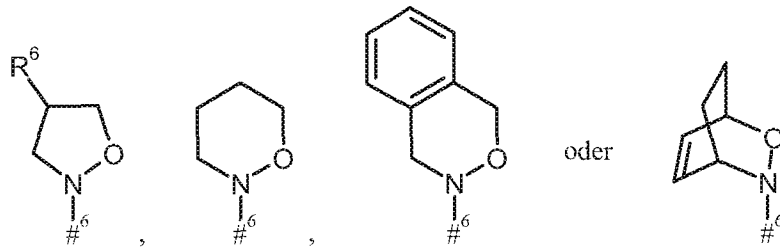


10 bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

15 der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

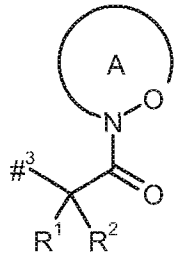
R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

5 n, AK, Cys, G, L¹, L² und B die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Besonders bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Verbindungen der Formel (I) und (XXX), in welcher

D für eine Gruppe der Formel



10

steht, wobei

#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R¹ für Wasserstoff steht,

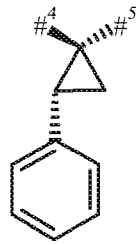
R² für Benzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

15

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

- 187 -

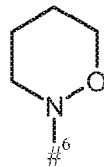


bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

5 #⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen Heterocyclus der Formel



steht, worin

10 #⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

n, AK, Cys, G, L¹, L² und B die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

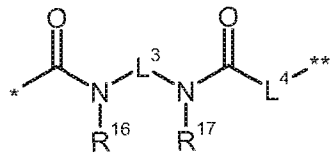
sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (I), in welcher

15 n = 1-20, besonders bevorzugt n = 1-10 und ganz besonders bevorzugt n = 2-8 bedeutet.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (I) und (XXX), in welcher

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

5 L^3 für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht,

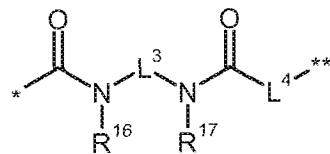
L^4 für eine Bindung steht,

n, AK, Cys, G, L^1 , L^2 , D, R^{16} und R^{17} die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Besonders bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der
10 Formel (I) und (XXX), in welcher

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

15 ** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

L^3 und L^4 für eine Bindung steht,

n, AK, Cys, G, L^1 , L^2 , D, R^{16} und R^{17} die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

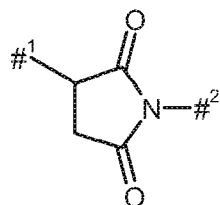
Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Binder-Wirkstoff Konjugate der
20 allgemeinen Formel (I), in welcher

AK für AK₁ steht

wobei

AK₁ für einen Binder, der über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

5 G für eine Gruppe der Formel

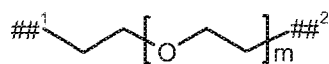


steht, wobei

#¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

#² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,

10 L¹ für eine Bindung, lineares (C₁-C₁₀)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

15 ##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

wobei (C₁-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

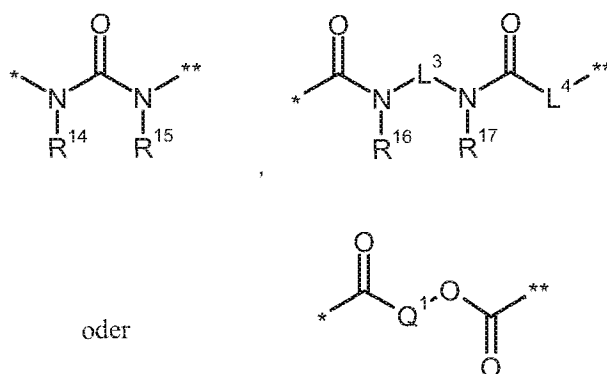
und

wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome

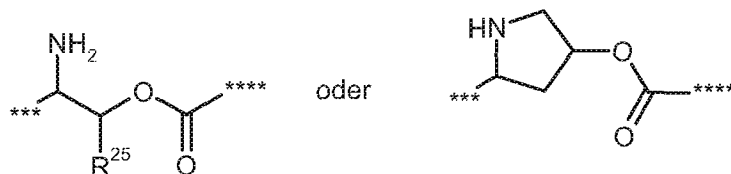
20 zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel

- 190 -



steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,5 L^3 für eine Bindung oder (C_2-C_4) -Alkandiyl steht, L^4 für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel

steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

10 **** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet, R^{25} für Wasserstoff oder Methyl steht, Q^1 für einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht, R^{14} für Wasserstoff oder (C_1-C_4) -Alkyl steht, R^{15} für Wasserstoff oder (C_1-C_4) -Alkyl steht,

15 oder

 R^{14} und R^{15} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

- 191 -

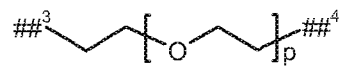
R¹⁶ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R¹⁷ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

5 R¹⁶ und R¹⁷ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

L² für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

10 ##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

wobei (C₂-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

und

15 wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (I), in welcher

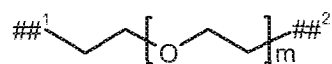
20 AK für AK₂ steht

wobei

AK₂ für einen Binder, der über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für Carbonyl steht,

L¹ für eine Bindung, lineares (C₁-C₁₀)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

5 ##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

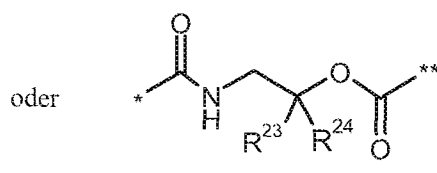
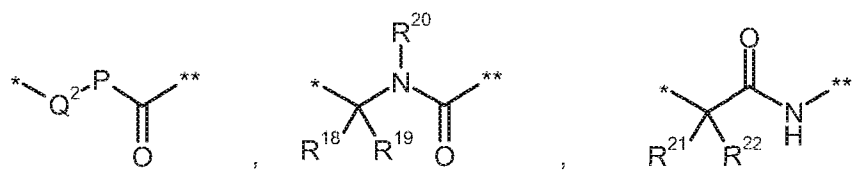
##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

wobei (C₁-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

und

10 wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

15 * die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

P für O oder NH steht,

- 193 -

Q² für einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus oder einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht,

R¹⁸ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

5 R¹⁹ für Wasserstoff oder die Seitengruppe einer natürlichen α -Aminosäure oder ihrer Homologe oder Isomere steht,

R²⁰ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

R¹⁹ und R²⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinyling bilden,

10 R²¹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²² für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

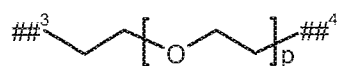
oder

R²¹ und R²² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus bilden,

15 R²³ für (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²⁴ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

L² für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

20 p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

###³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

###⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

wobei (C₂-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

und

- 194 -

wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

- 5 Besonders bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung Binder-Wirkstoff-Konjugate der Formel (Ia), in welcher

n für eine Zahl von 2 bis 8 steht,

AK für AK₁ oder AK₂ steht,

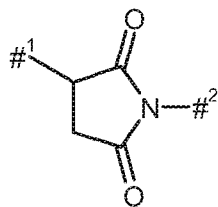
wobei

- 10 AK₁ für einen humaner oder humanisierter Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

AK₂ für einen humaner oder humanisierter Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

15

G für den Fall, dass AK = AK₁ ist, für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

#¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

- 20 #² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,

oder

für den Fall, dass AK = AK₂ ist, für Carbonyl steht,

L¹ für eine Bindung, lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel

- 196 -

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

**** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

R²⁵ für Methyl steht,

R²⁸ für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

5 Q¹ für Piperidin-1,4-diyl steht,

R¹⁶ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R¹⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

10 R¹⁶ und R¹⁷ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen
Piperazinyling bilden,

R²¹ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R²² für Wasserstoff oder Methyl steht,

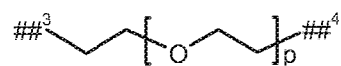
oder

15 R²¹ und R²² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen
Cyclopropyling bilden,

R²³ für Methyl steht,

R²⁴ für Wasserstoff steht,

L² für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



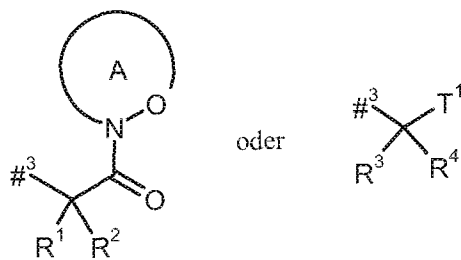
20 steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



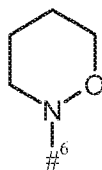
steht, wobei

#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

5 R¹ für Wasserstoff steht,

R² für 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für



steht, worin

10 #⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R³ für Wasserstoff steht,

R⁴ für 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-NR⁸R⁹ steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

15 R⁹ für Wasserstoff, Methyl, oder Ethyl steht,

R³⁵ für Methyl steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Besonders bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung Binder-Wirkstoff-Konjugate der Formel (Ia), in welcher

n für eine Zahl von 2 bis 8, vorzugsweise von 2 bis 5 steht,

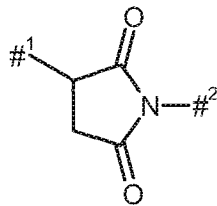
AK für AK_1 oder AK_2 steht,

5 wobei

AK_1 für einen humaner oder humanisierter Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

10 AK_2 für einen humaner oder humanisierter Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für den Fall, dass $AK = AK_1$ ist, für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

15 #¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

#² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^1 kennzeichnet,

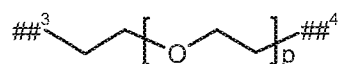
oder

für den Fall, dass $AK = AK_2$ ist, für Carbonyl steht,

L^1 für eine Bindung steht,

20 B für eine Bindung steht,

L^2 für Pentan-1,5-diyl, Hexan-1,6-diyl oder für eine Gruppe der Formel



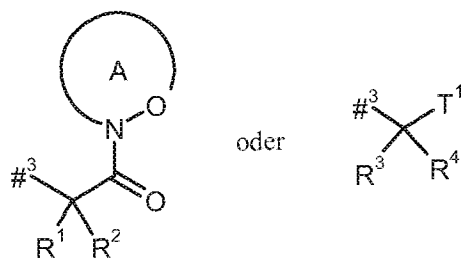
- 199 -

steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

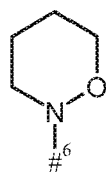
5 D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,R¹ für Wasserstoff steht,10 R² für 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für



steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,15 R³ für Wasserstoff steht,R⁴ für 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-NR⁸R⁹ steht,R⁸ für Wasserstoff steht,

- 200 -

R⁹ für Wasserstoff steht,

R³⁵ für Methyl steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Bevorzugter Gegenstand der Erfindung sind Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel
5 (Ia), in welcher

n für eine Zahl von 2 bis 8, vorzugsweise von 2 bis 5 steht,

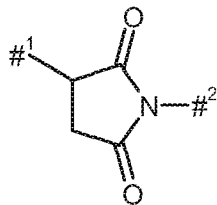
AK für AK₁ oder AK₂ steht,

wobei

AK₁ für einen humaner oder humanisierter Antikörper oder ein Antigen-bindendes
10 Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

AK₂ für einen humaner oder humanisierter Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

15 G für den Fall, dass AK = AK₁ ist, für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

#¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

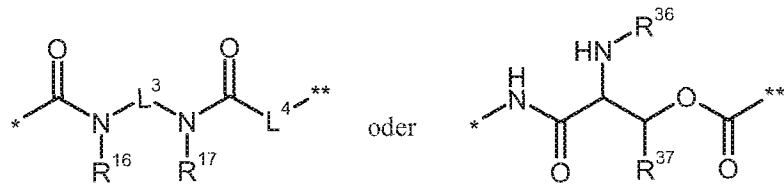
#² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,

20 oder

für den Fall, dass AK = AK₂ ist, für Carbonyl steht,

L¹ für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl,

B für eine Gruppe der Formel



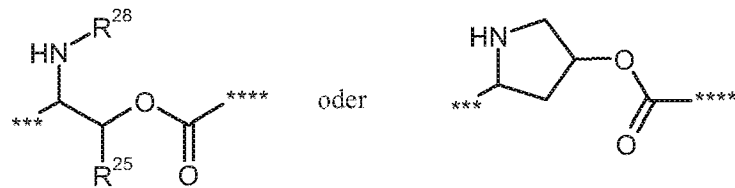
steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

5 L³ für eine Bindung steht,

L⁴ für eine Gruppe der Formel



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

10 **** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

R²⁵ für Methyl steht,

R²⁸ für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

R¹⁶ für Wasserstoff steht,

R¹⁷ für Wasserstoff steht,

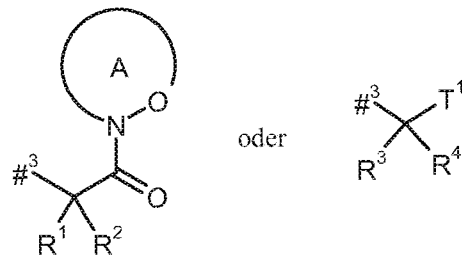
15 R³⁶ für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

R³⁷ für Methyl steht,

L² für lineares (C₂-C₄)-Alkandiyl steht,

D für eine Gruppe der Formel

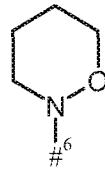
- 202 -



steht, wobei

#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,R¹ für Wasserstoff steht,5 R² für 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für

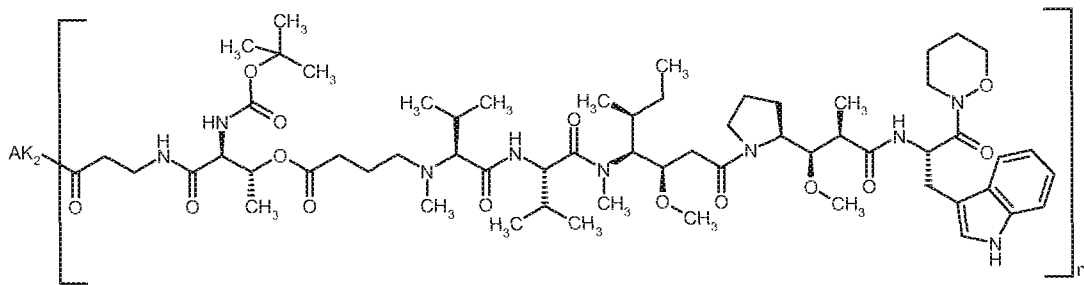


steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,10 R³ für Wasserstoff steht,R⁴ für 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-NR⁸R⁹ steht,R⁸ für Wasserstoff steht,R⁹ für Wasserstoff steht,15 R³⁵ für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Besonders bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Wirkstoff-Binder-Konjugate ausgewählt aus den folgenden Verbindungen:



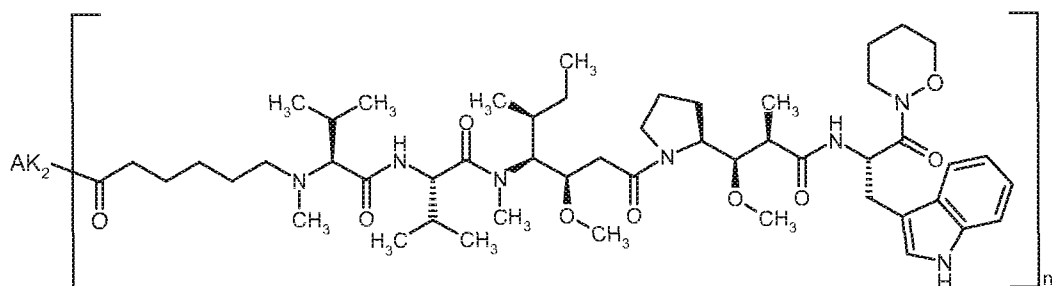
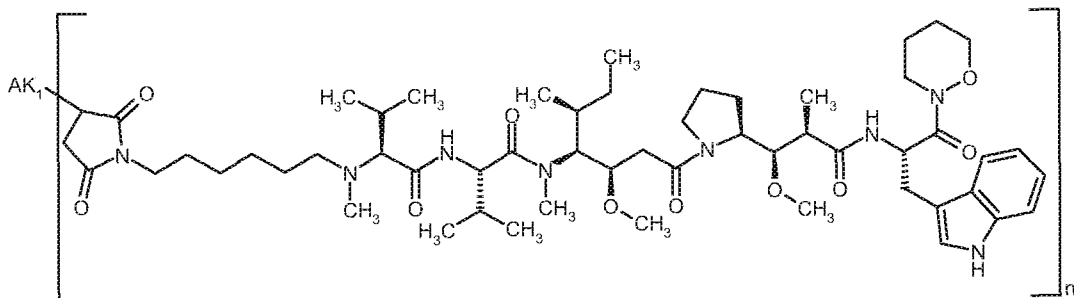
wobei jeweils

n für eine Zahl von 2 bis 8, vorzugsweise 2 bis 5 steht,

AK_1 für einen humaner oder humanisierter Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

AK_2 für einen humaner oder humanisierter Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist.

10 Insbesondere bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Wirkstoff-Binder-Konjugate ausgewählt aus den folgenden Verbindungen:



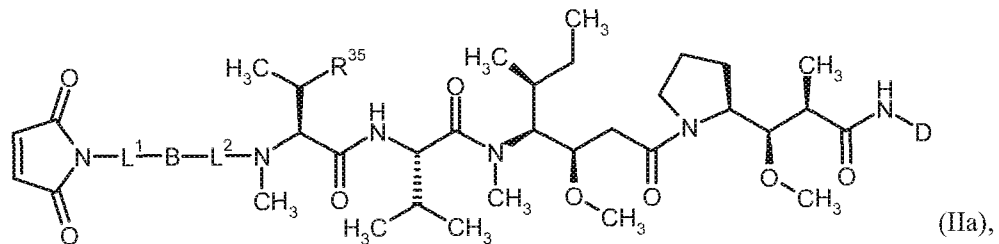
AK₂ für einen Antikörper, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers MF-Ta, die variable leichte und variable schwere Kette des Antikörpers MF-Ta oder die leichte und schwere Kette des Antikörpers MF-Ta umfasst, steht, der über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist.

- 5 Die in den jeweiligen Kombinationen bzw. bevorzugten Kombinationen von Resten im einzelnen angegebenen Reste-Definitionen werden unabhängig von den jeweiligen angegebenen Kombinationen der Reste beliebig auch durch Reste-Definitionen anderer Kombinationen ersetzt.

Ganz besonders bevorzugt sind Kombinationen von zwei oder mehreren der oben genannten Vorbereiche.

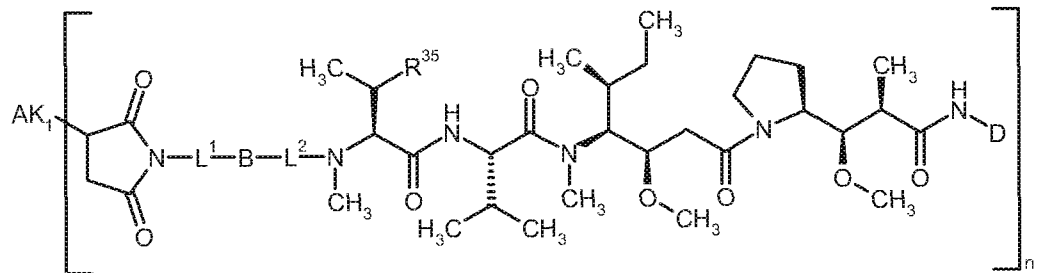
- 10 Weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel (Ia), dadurch gekennzeichnet, dass man eine Lösung des Binders in PBS-Puffer

[A] mit einem geeigneten Reduktionsmittel, wie beispielsweise Dithiothreitol oder Tris(2-carboxyethyl)phosphin-Hydrochlorid, versetzt, und anschließend mit einer Verbindung der Formel (IIa)



in welcher D, L¹, B, L² und R³⁵ jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

zu einer Verbindung der Formel (I-A)

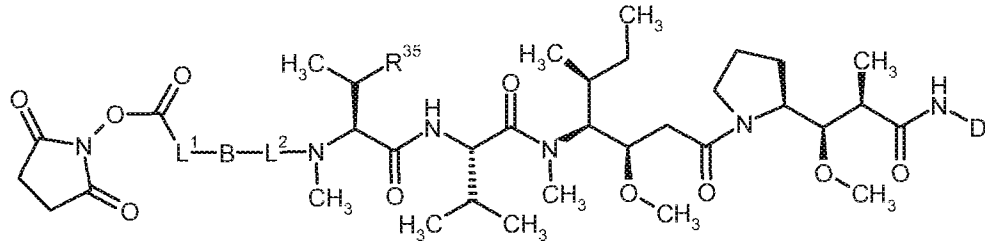


- 207 -

in welcher n, AK₁, D, L¹, B, L² und R³⁵ jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,
umsetzt,

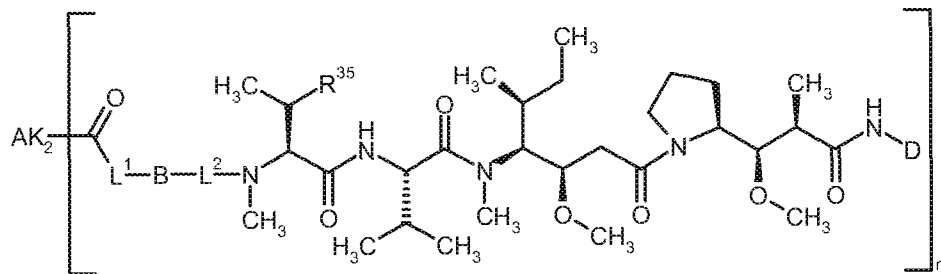
oder

[B] mit einer Verbindung der Formel (IIIa)



(IIIa),

in welcher D, L¹, B, L² und R³⁵ jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,
zu einer Verbindung der Formel (Ia-B)



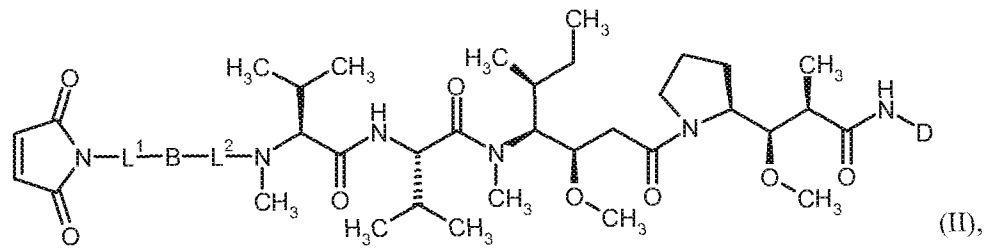
(Ia-B),

in welcher n, AK₂, D, L¹, B, L² und R³⁵ jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,
umsetzt.

Weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Ver-
bindungen der Formel (I), dadurch gekennzeichnet, dass man eine Lösung des Binders in PBS-
15 Puffer

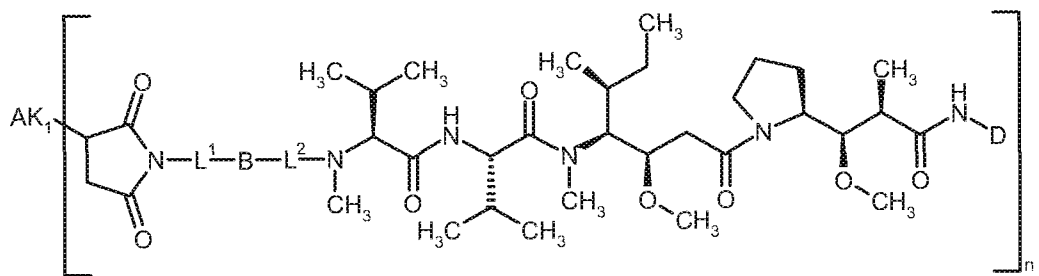
[A] mit einem geeigneten Reduktionsmittel, wie beispielsweise Dithiothreitol oder Tris(2-
carboxyethyl)phosphin-Hydrochlorid, versetzt, und anschließend mit einer Verbindung der
Formel (II)

- 208 -



in welcher D, L¹, B und L² jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

zu einer Verbindung der Formel (I-A)



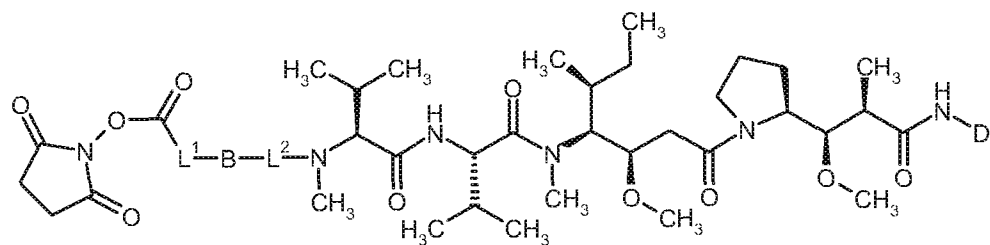
5

in welcher n, AK₁, D, L¹, B und L² jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt,

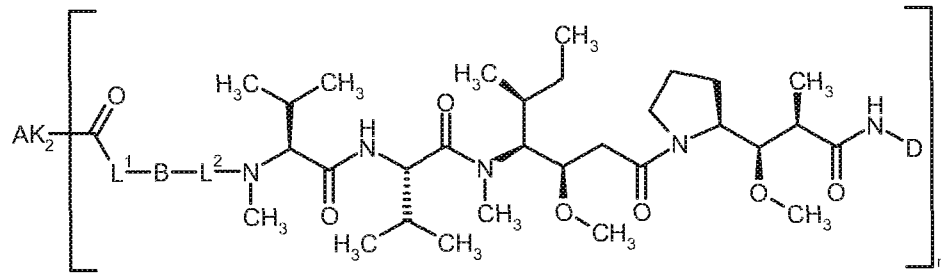
oder

10 [B] mit einer Verbindung der Formel (III)



in welcher D, L¹, B und L² jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

zu einer Verbindung der Formel (I-B)



(I-B),

in welcher n, AK₂, D, L¹, B und L² jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,
umsetzt.

5 Cystein-Kupplung:

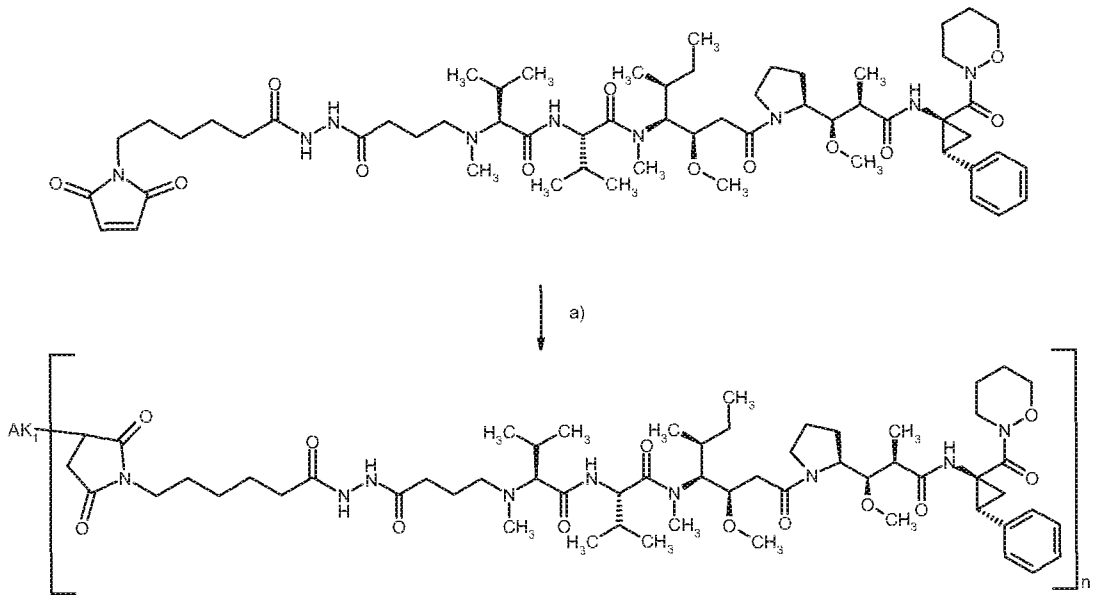
Die partielle Reduktion des Antikörpers sowie die anschließende Konjugation des (partiell) reduzierten Antikörpers mit einer Verbindung der Formel (II) bzw. (IIa) erfolgt nach den dem Fachmann bekannten Methoden, siehe z.B. Ducry et. al., *Bioconj. Chem.* 2010, 21, 5 und Referenzen hierin, Klusman et.al., *Bioconj. Chem.* 2004, 15(4), 765-773. Bevorzugt erfolgt die milde Reduktion des Antikörpers durch Zugabe von 2-6 Äquivalenten TCEP zu dem in geeigneter Pufferlösung, bevorzugt Phosphatpuffer, vorliegenden Antikörper und 30-180-minütigem Rühren bei Temperaturen zwischen 15 und 40°C, bevorzugt bei RT. Anschließend erfolgt die Konjugation durch Zugabe einer Lösung einer Verbindung der Formel (II) bzw. (IIa) in DMSO, Acetonitril oder DMF zur Lösung des (partiell) reduzierten Antikörpers in PBS-Puffer, und anschließender Umsetzung bei einer Temperatur von 0°C bis +40°C, insbesondere von +10°C bis +30°C, für einen Zeitraum von 30 min bis 6 Stunden, insbesondere 1 bis 2 Stunden.

Lysin-Kupplung:

Zunächst werden die Verbindungen der Formel (III) bzw. (IIa) oder vergleichbare aktivierte Carboxylkomponenten nach klassischen Methoden der Peptidchemie hergestellt. Diese werden dann in inerten Lösungsmitteln wie z.B. DMSO oder DMF aufgenommen und zu dem bevorzugt in Phosphatpuffer bei neutralem pH-Wert vorliegenden Antikörper zugegeben. Die Lösung wird 1-16h bei einer Temperatur zwischen 15 und 40°C, bevorzugt RT gerührt.

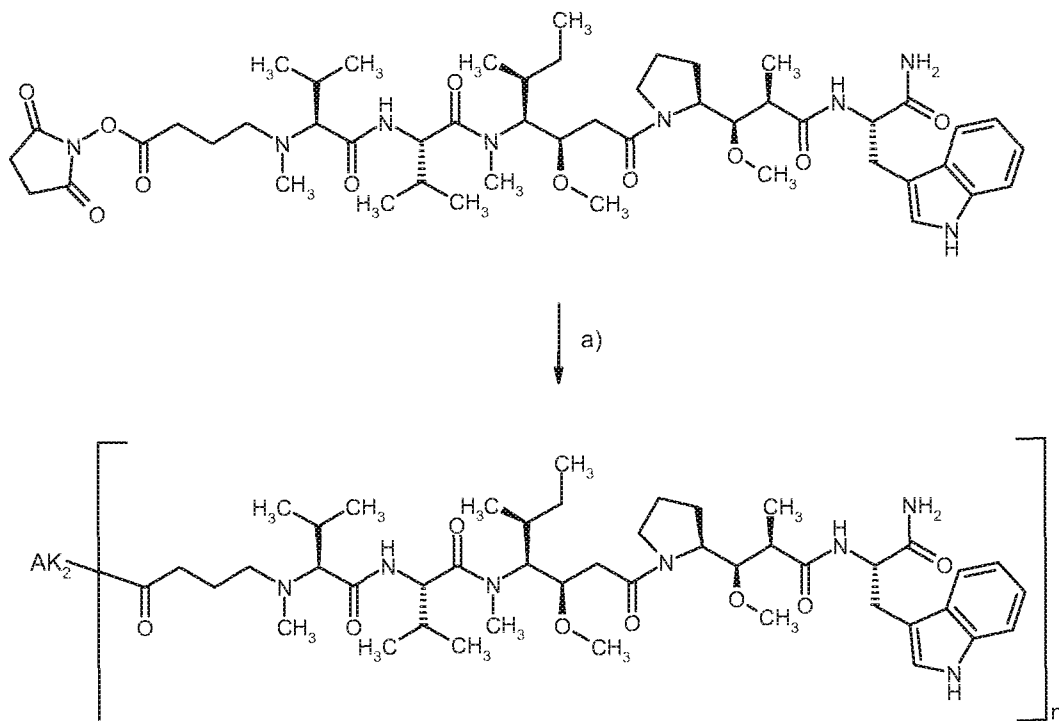
Die zuvor beschriebenen Herstellungsverfahren werden anhand der nachfolgenden Schemata (Schema 1 und 2) beispielhaft erläutert:

Schema 1



[a): 1. AK, TCEP, PBS-Puffer, RT; 2. Zugabe vom Maleinimid-Derivat in DMSO, RT].

Schema 2

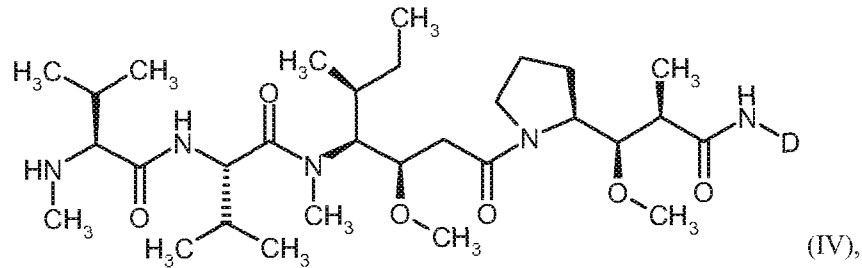


5

[a): AK, PBS-Puffer, RT mit aktiviertem Carboxylderivat der Linker-Wirkstoff-Komponenten versetzen].

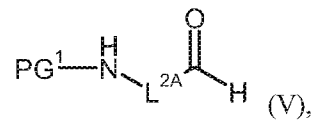
- 211 -

Die Verbindungen der Formel (II), in welcher L¹ und B für eine Bindung stehen, können hergestellt werden, indem man eine Verbindung der Formel (IV)



in welcher D die oben angegebene Bedeutung hat,

- 5 in einem inerten Lösungsmittel mit einer Verbindung der Formel (V)

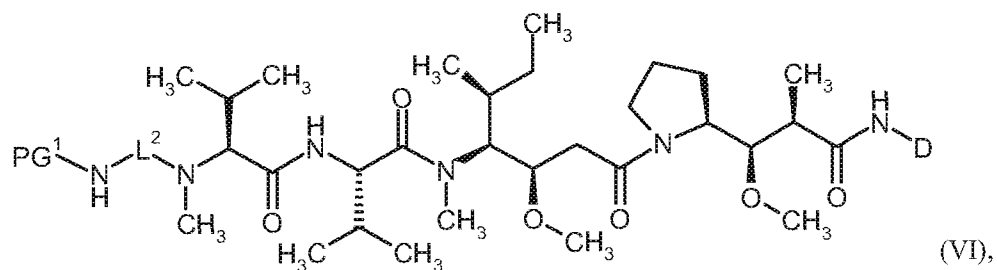


in welcher

L^{2A} die oben definierte Bedeutung von L² hat, jedoch in der Alkyl-Kettenlänge um ein Kohlenstoffatom verkürzt ist,

- 10 PG¹ für eine Amino-Schutzgruppe wie beispielsweise (9H-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl, *tert.*-Butoxycarbonyl oder Benzyloxycarbonyl steht,

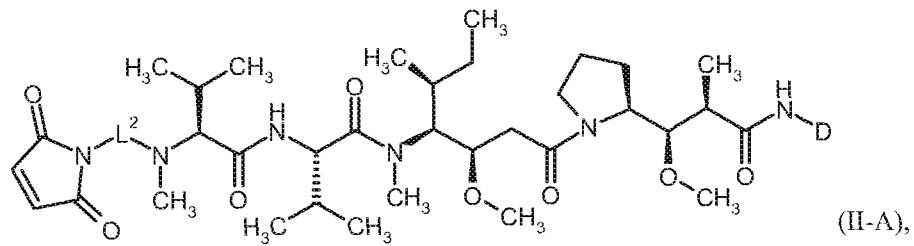
zu einer Verbindung der Formel (VI)



in welcher D, L² und PG¹ die oben angegebene Bedeutung hat,

- 15 reaktiv aminiert, von dieser Verbindung nach dem Fachmann bekannten Methoden die Schutzgruppe PG¹ abspaltet, und die entschützte Verbindung in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart einer geeigneten Base mit Methyl-2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-carboxylat zu einer Verbindung der Formel (II-A)

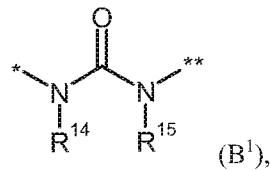
- 212 -



in welcher D und L² jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt.

Die Verbindungen der Formel (II), in welcher B für eine Gruppe der Formel (B¹)

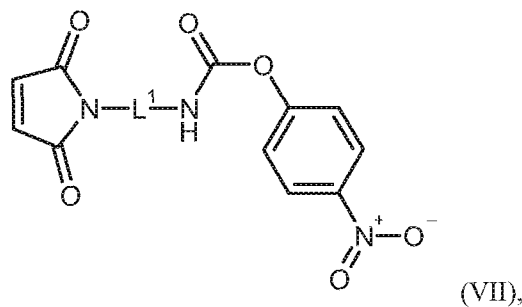


5

in welcher *, **, R¹⁴ und R¹⁵ jeweils die oben angegebenen Bedingungen haben,

steht, können hergestellt werden, indem man von einer Verbindung der Formel (VI) nach dem Fachmann bekannten Methoden die Schutzgruppe PG¹ abspaltet, und die entschützte Verbindung in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart einer geeigneten Base mit einer Verbindung der

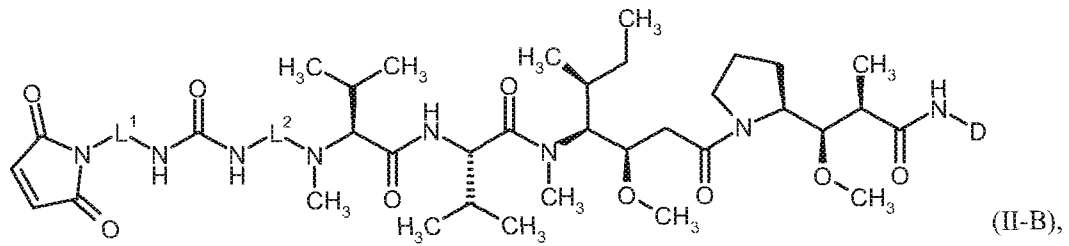
10 Formel (VII)



in welcher L¹ die oben angegebene Bedeutung hat,

zu einer Verbindung der Formel (II-B)

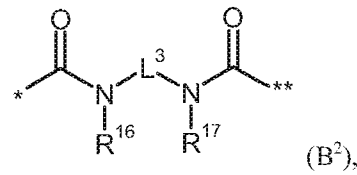
- 213 -



in welcher D, L¹ und L² jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt.

Die Verbindungen der Formel (II), in welcher B für eine Gruppe der Formel (B²)

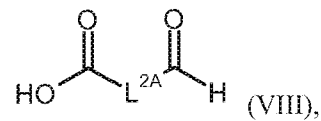


5

in welcher *, **, L³, R¹⁶ und R¹⁷ jeweils die oben angegebenen Bedingungen haben,

steht, können hergestellt werden, indem man eine Verbindung der Formel (IV)

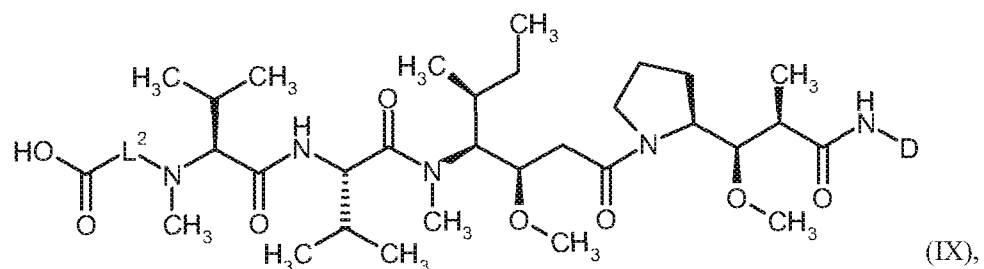
in einem inerten Lösungsmittel mit einer Verbindung der Formel (VIII)



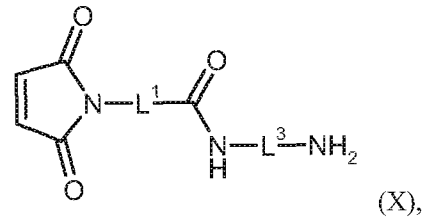
10 in welcher

L^{2A} die oben definierte Bedeutung von L² hat, jedoch in der Alkyl-Kettenlänge um ein Kohlenstoffatom verkürzt ist,

zu einer Verbindung der Formel (IX)

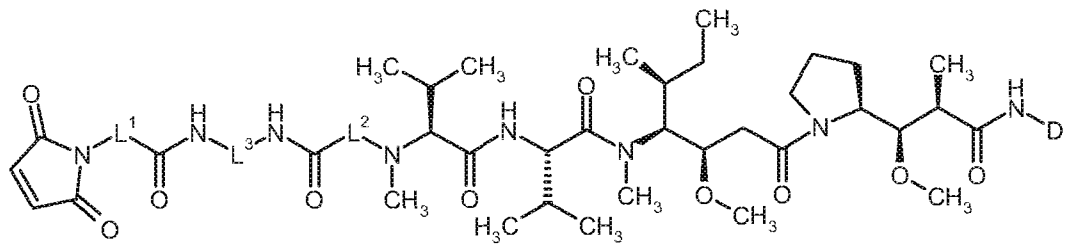
15 in welcher D und L² die oben angegebenen Bedeutungen haben,

reduktiv aminiert, und diese Verbindung in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart eines geeigneten Kupplungsreagenzes und einer geeigneten Base mit einer Verbindung der Formel (X)



in welcher L¹ und L³ jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

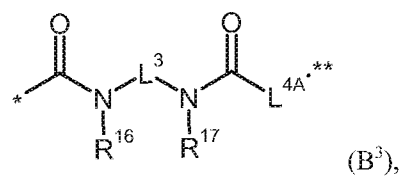
5 zu einer Verbindung der Formel (II-C)



in welcher D, L¹, L² und L³ jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

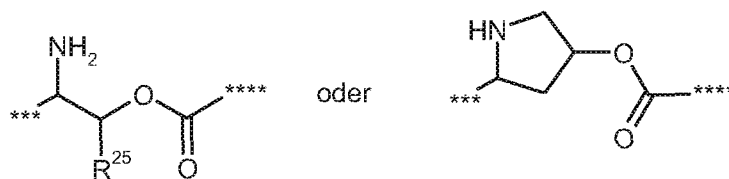
umsetzt.

10 Verbindung der Formel (II), in welcher B für eine Gruppe der Formel (B³)



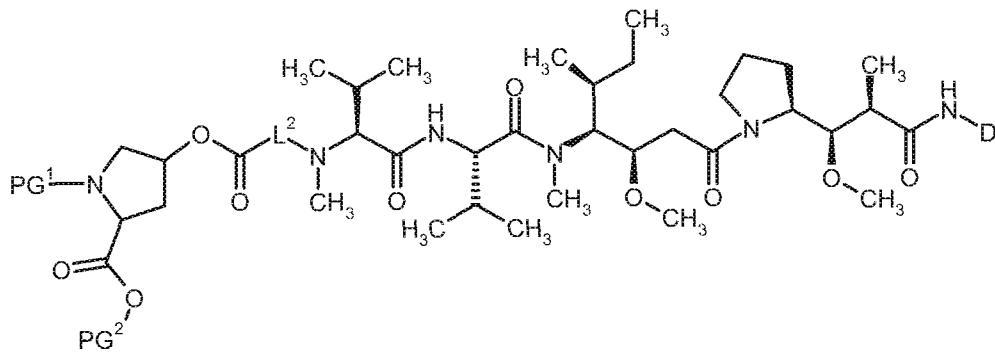
in welcher *, **, L³, R¹⁶ und R¹⁷ jeweils die oben angegebenen Bedingungen haben und

L^{4A} für eine Gruppe der Formel



15 steht, worin

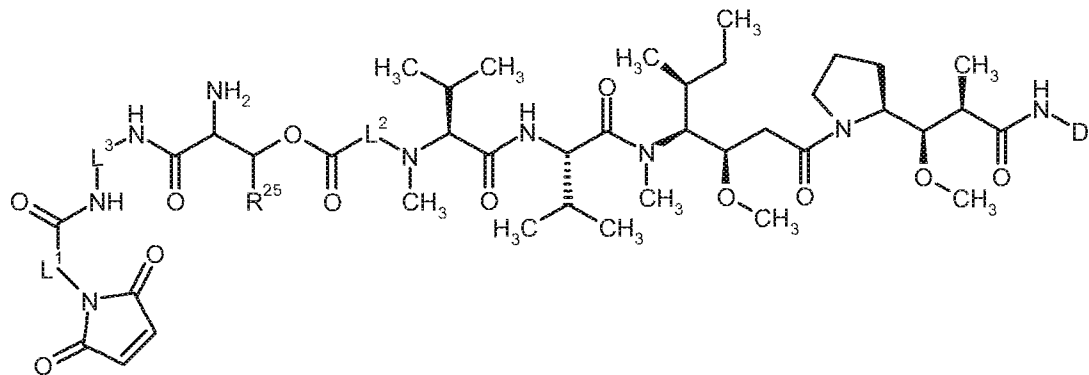
- 216 -



(XII-B),

in welchen D, PG¹, PG² und L² die oben angegebenen Bedeutungen haben,

- umsetzt, von dieser anschliessend nach dem Fachmann bekannten Methoden die Schutzgruppe PG² absplittet und die entschützte Verbindung in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart eines geeigneten Kupplungsreagenzes und einer geeigneten Base mit einer Verbindung der Formel (X)
- 5 umsetzt, und von dieser schließlich nach dem Fachmann bekannten Methoden die Schutzgruppe PG¹ zu einer Verbindung der Formel (II-D-A) bzw. (II-D-B)

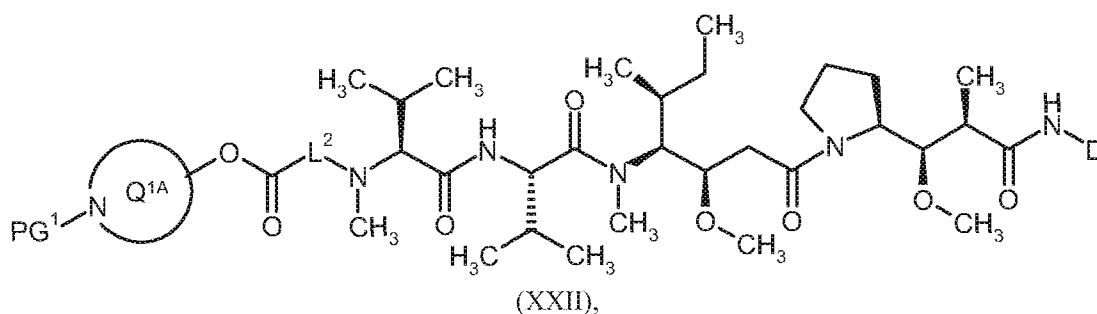


10

(II-D-A),

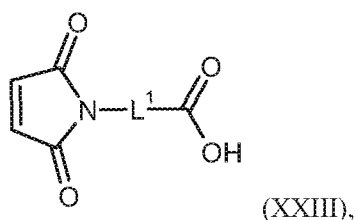
bzw.

- 218 -



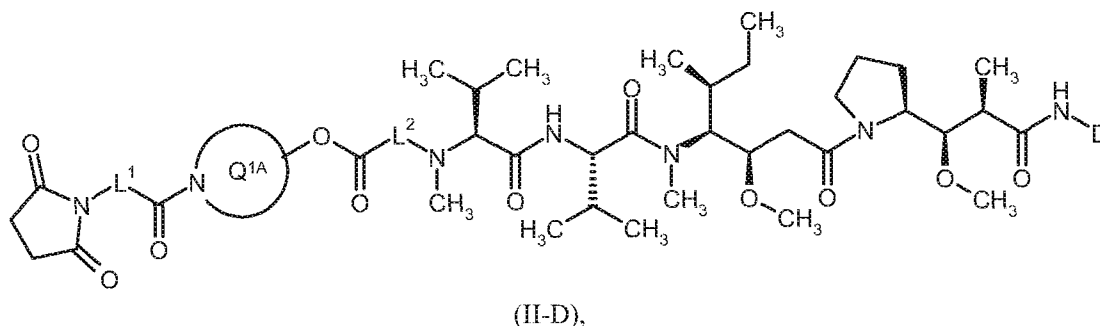
in welcher PG¹, Q^{1A}, D und L² die oben angegebenen Bedeutungen haben,

- umsetzt, von dieser nach dem Fachmann bekannten Methoden die Schutzgruppe PG¹ abspaltet und
 5 die entschützte Verbindung anschliessend in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart eines geeigneten Kupplungsreagenzes und einer geeigneten Base mit einer Verbindung der Formel (XXIII)



in welcher L¹ die oben angegebene Bedeutung hat,

- 10 zu einer Verbindung der Formel (II-D)

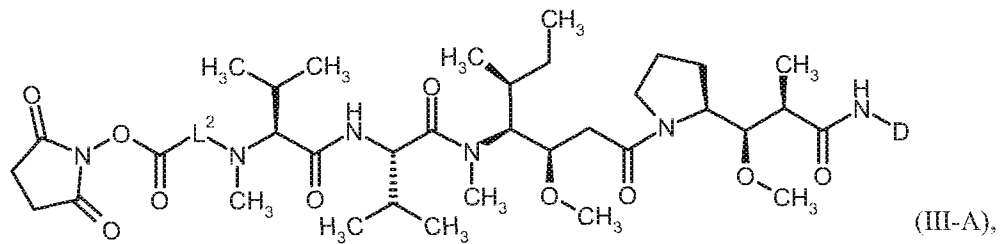


in welcher Q^{1A}, D, L¹ und L² die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt.

- 15 Die Verbindungen der Formel (III), in welcher L¹ und B für eine Bindung stehen, können hergestellt werden, indem man eine Verbindung der Formel (IX) in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart eines geeigneten Kupplungsreagenzes und einer geeigneten Base mit N-Hydroxysuccinimid zu einer Verbindung der Formel (III-A)

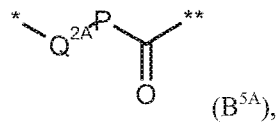
- 219 -



in welcher D und L² jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt.

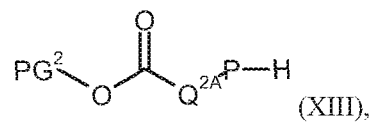
Die Verbindungen der Formel (III), in welcher L¹ für eine Bindung und B für eine Gruppe der
5 Formel (B^{5A})



in welcher *, ** und P jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben und

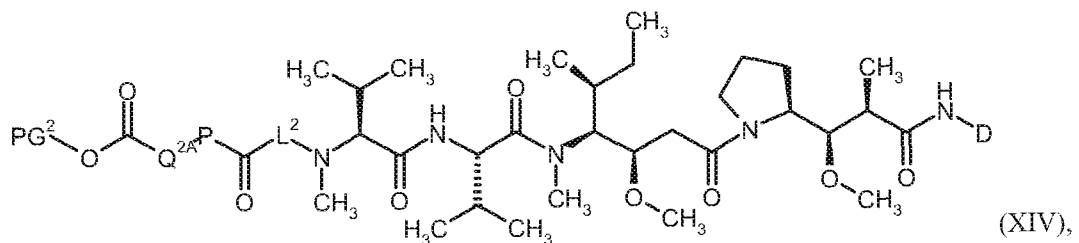
Q^{2A} für einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus steht,

stehen, können hergestellt werden, indem man eine Verbindung der Formel (IX) in einem inerten
10 Lösungsmittel in Gegenwart eines geeigneten Kupplungsreagenzes und einer geeigneten Base mit
einer Verbindung der Formel (XIII)



in welcher P, Q^{2A} und PG² jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

zu einer Verbindung der Formel (XIV)

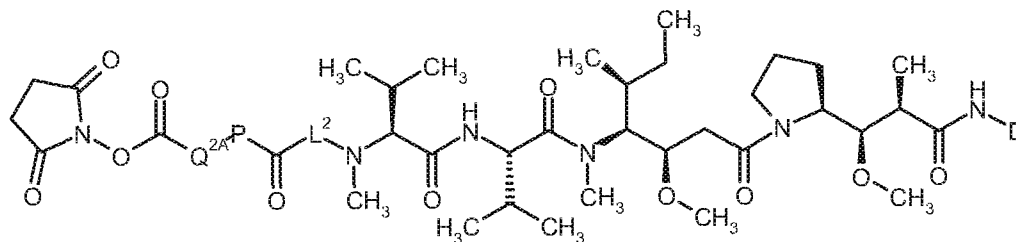


15

in welcher D, P, Q^{2A}, L² und PG² jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

- 220 -

umsetzt, von dieser nach dem Fachmann bekannten Methoden die Schutzgruppe PG^2 abspaltet und die entschützte Verbindung anschliessend in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart einer geeigneten Base mit N-Hydroxysuccinimid zu einer Verbindung der Formel (III-B)



5

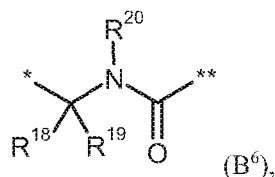
(III-B),

in welcher D, P, Q^{2A} und L^2 jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt.

Die Verbindungen der Formel (III), in welcher L^1 für eine Bindung und B für eine Gruppe der Formel (B⁶)

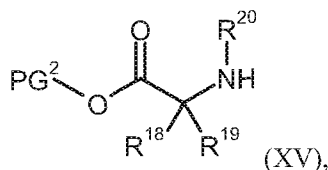
10



in welcher *, **, R^{18} , R^{19} und R^{20} jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

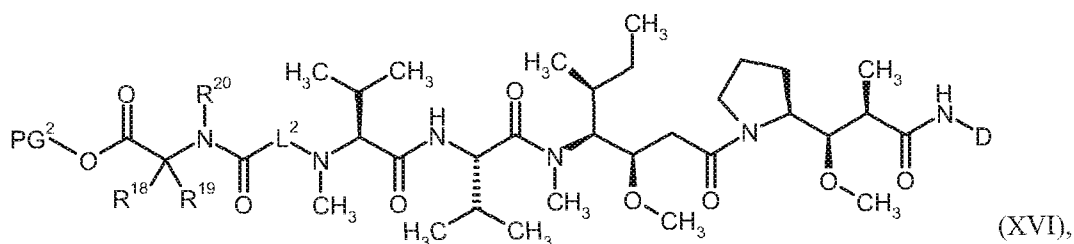
stehen, können hergestellt werden, indem man eine Verbindung der Formel (IX) in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart eines geeigneten Kupplungsreagenzes und einer geeigneten Base mit einer Verbindung der Formel (XV)

15



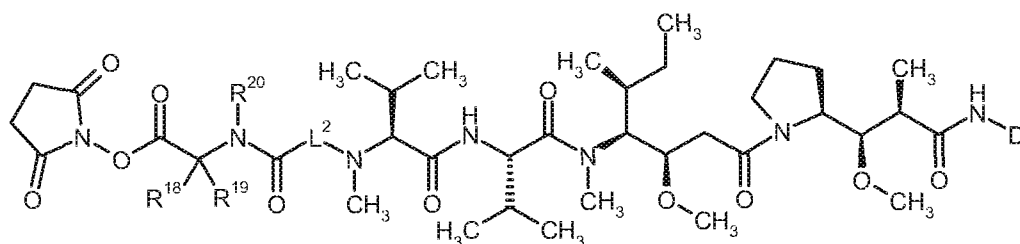
in welcher R^{18} , R^{19} , R^{20} und PG^2 jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

zu einer Verbindung der Formel (XVI)



in welcher D, R¹⁸, R¹⁹, R²⁰, L² und PG² jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

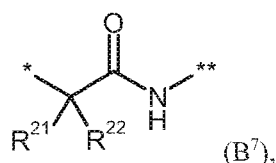
umsetzt, von dieser nach dem Fachmann bekannten Methoden die Schutzgruppe PG² abspaltet und die entschützte Verbindung anschliessend in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart eines geeigneten Kupplungsreagenzes und einer geeigneten Base mit N-Hydroxysuccinimid zu einer Verbindung der Formel (III-C)



in welcher D, R¹⁸, R¹⁹, R²⁰ und L² jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt.

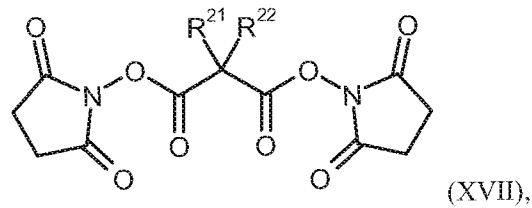
Die Verbindungen der Formel (III), in welcher L¹ für eine Bindung und B für eine Gruppe der Formel (B⁷)



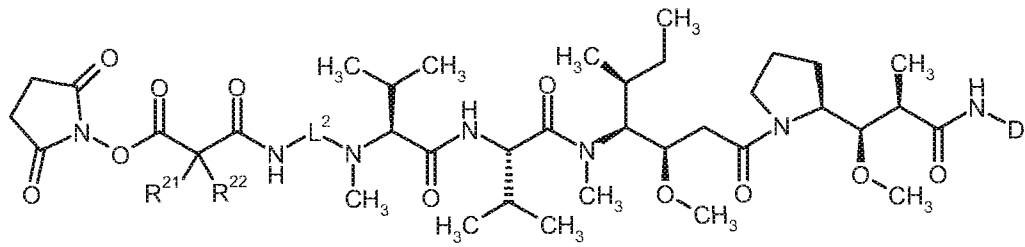
in welcher *, **, R²¹ und R²² jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

stehen, können hergestellt werden, indem man von einer Verbindung der Formel (VI) nach dem Fachmann bekannten Methoden die Schutzgruppe PG¹ abspaltet, und die resultierende entschützte Verbindung in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart einer geeigneten Base mit einer Verbindung der Formel (XVII)

- 222 -



in welcher R^{21} und R^{22} jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,
zu einer Verbindung der Formel (III-D)

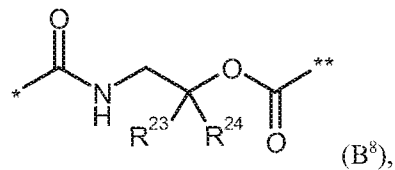


5

(III-D),

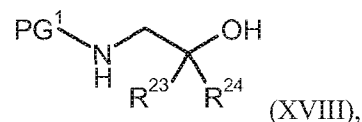
in welcher D, R^{21} , R^{22} und L^2 jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,
umsetzt.

Die Verbindungen der Formel (III), in welcher B für eine Gruppe der Formel (B⁸)



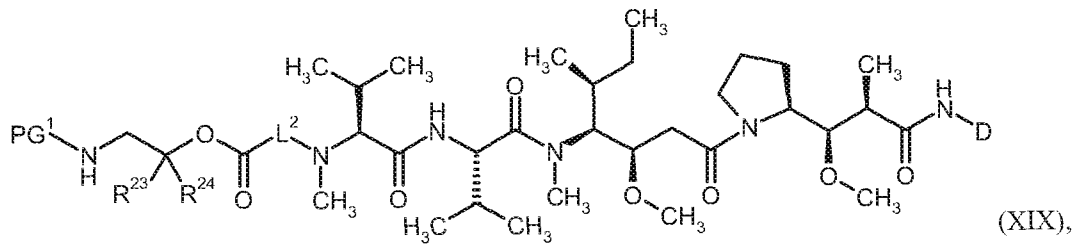
10 in welcher *, **, R^{23} und R^{24} jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

steht, können hergestellt werden, indem man eine Verbindung der Formel (IX) in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart eines geeigneten Kupplungsreagenzes und einer geeigneten Base mit einer Verbindung der Formel (XVIII)



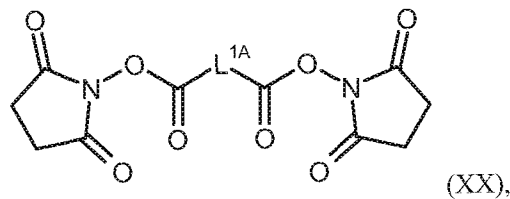
15 in welcher R^{23} , R^{24} und PG^1 jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,
zu einer Verbindung der Formel (XIX)

- 223 -



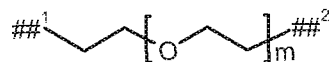
in welcher D, R²³, R²⁴, L² und PG¹ jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt, von dieser nach dem Fachmann bekannten Methoden die Schutzgruppe PG¹ abspaltet und die entschützte Verbindung anschliessend in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart eines
 5 geeigneten Kupplungsreagenzes und einer geeigneten Base mit einer Verbindung der Formel (XX)



in welcher

L^{1A} für lineares (C₁-C₁₀)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



10 steht, wobei

m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

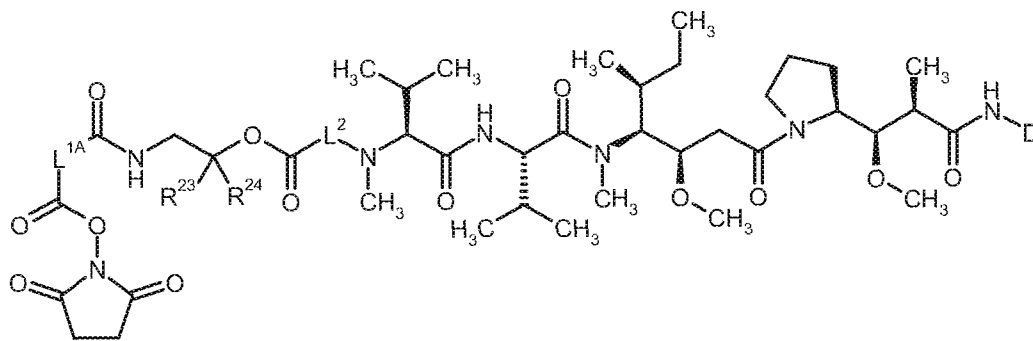
##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

wobei (C₁-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

15 und

wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

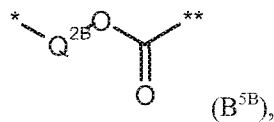
zu einer Verbindung der Formel (III-E)



(III-E),

in welcher D, R²³, R²⁴, L^{1A} und L² jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben, umgesetzt.

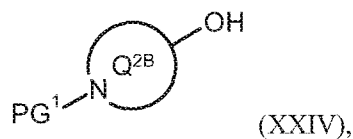
- 5 Die Verbindungen der Formel (III), in welcher B für eine Gruppe der Formel (B^{5B})



in welcher * und ** jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben und

Q^{2B} für einen N-verknüpften 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht,

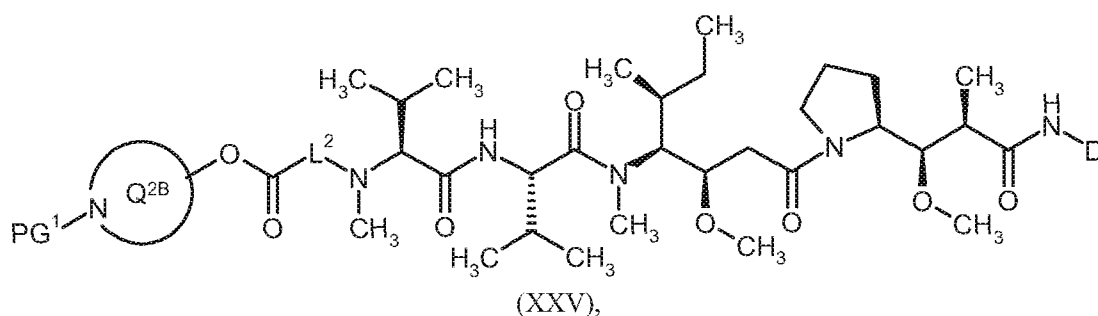
- 10 können hergestellt werden, indem man eine Verbindung der Formel (IX) in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart einer geeigneten Base und eines geeigneten Kupplungsreagenzes mit einer Verbindung der Formel (XXIV)



in welcher PG¹ und Q^{2B} jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

zu einer Verbindung der Formel (XXV)

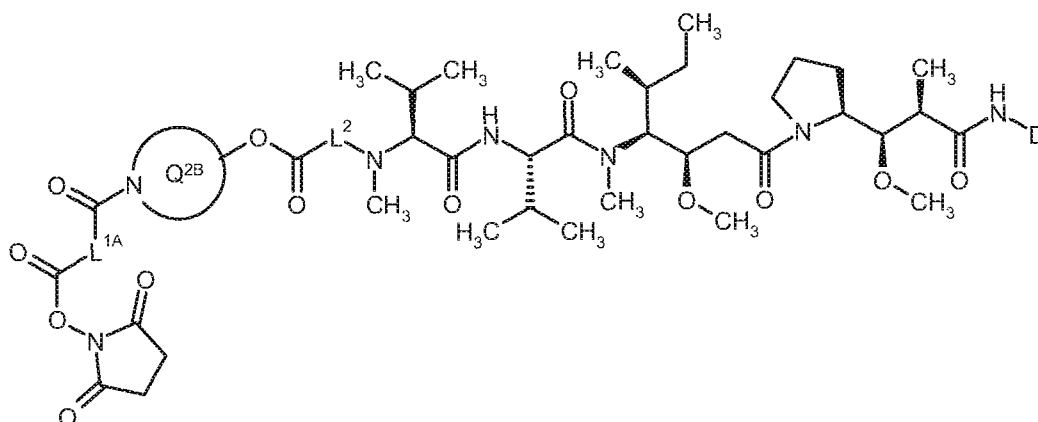
- 225 -



in welcher PG¹, Q^{2B}, D und L² die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt, von dieser nach dem Fachmann bekannten Methoden die Schutzgruppe PG¹ abspaltet,

- 5 und die entschützte Verbindung anschliessend in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart einer geeigneten Base mit einer Verbindung der Formel (XX) in eine Verbindung der Formel (III-F)



in welcher Q^{2B}, D, L^{1A} und L² die oben angegebenen Bedeutungen haben,

- 10 überführt.

Die Umsetzungen (IV) + (V) → (VI) und (IV) + (VIII) → (IX) erfolgen in den für eine reduktive Aminierung üblichen, unter den Reaktionsbedingungen inerten Lösungsmitteln, gegebenenfalls in Gegenwart einer Säure und/ oder eines wasserentziehenden Mittels als Katalysator. Zu solchen Lösungsmitteln gehören beispielsweise Alkohole wie Methanol, Ethanol, *n*-Propanol, Isopropanol, 15 *n*-Butanol oder *tert.*-Butanol, Ether wie Tetrahydrofuran, 1,4-Dioxan, 1,2-Dimethoxyethan oder Bis-(2-methoxyethyl)-ether, oder andere Solventien wie Dichlormethan, 1,2-Dichlorethan, *N,N*-Dimethylformamid oder auch Wasser. Ebenso ist es möglich, Gemische dieser Lösungsmittel einzusetzen. Bevorzugt wird als Lösungsmittel ein 1,4-Dioxan/Wasser-Gemisch verwendet unter Zusatz von Essigsäure oder verdünnter Salzsäure als Katalysator.

- 226 -

Als Reduktionsmittel eignen sich für diese Reaktion insbesondere komplexe Borhydride, wie beispielsweise Natriumborhydrid, Natriumcyanoborhydrid, Natriumtriacetoxymborhydrid, Tetra-*n*-butylammoniumborhydrid oder Boran-Pyridin-Komplex. Bevorzugt wird Natriumcyanoborhydrid oder Boran-Pyridin-Komplex eingesetzt.

- 5 Die Umsetzungen (IV) + (V) → (VI) und (IV) + (VIII) → (IX) erfolgen im Allgemeinen in einem Temperaturbereich von 0°C bis +120°C, bevorzugt bei +50°C bis +100°C. Die Reaktionen können bei normalem, bei erhöhtem oder bei erniedrigtem Druck durchgeführt werden (z.B. von 0.5 bis 5 bar); in der Regel arbeitet man bei Normaldruck.

- Die oben beschriebenen Kupplungsreaktionen (IX) + (X) → (II-C), (XII-A) bzw. (XII-B) + (X) →
10 (II-D-A) bzw. (II-D-B), (IX) + (XIII) → (XIV), (IX) + (XV) → (XVI) und (XXII) + (XXIII) → (II-D) (Amid-Bildung aus jeweiliger Amin- und Carbonsäure-Komponente) werden nach allgemein üblichen Methoden der Peptidchemie durchgeführt [siehe z.B. M. Bodanszky, *Principles of Peptide Synthesis*, Springer-Verlag, Berlin, 1993; M. Bodanszky und A. Bodanszky, *The Practice of Peptide Synthesis*, Springer-Verlag, Berlin, 1984; H.-D. Jakubke und H. Jeschkeit, *Aminosäuren, Peptide, Proteine*, Verlag Chemie, Weinheim, 1982].
15

- Inerte Lösungsmittel für diese Kupplungsreaktionen sind beispielsweise Ether wie Diethylether, Diisopropylether, *tert.*-Butylmethylether, Tetrahydrofuran, 1,4-Dioxan, 1,2-Dimethoxyethan oder Bis-(2-methoxyethyl)-ether, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Toluol, Xylol, Pentan, Hexan, Heptan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, Halogenkohlenwasserstoffe wie Dichlormethan, Tri-
20 chlormethan, Tetrachlormethan, 1,2-Dichlorethan, Trichlorethylen oder Chlorbenzol, oder dipolaraprotische Lösungsmittel wie Aceton, Methylethylketon, Acetonitril, Ethylacetat, Pyridin, Dimethylsulfoxid (DMSO), *N,N*-Dimethylformamid (DMF), *N,N*-Dimethylacetamid (DMA), *N,N'*-Dimethylpropylenharnstoff (DMPU) oder *N*-Methylpyrrolidinon (NMP). Ebenso ist es möglich, Gemische solcher Lösungsmittel zu verwenden. Bevorzugt wird *N,N*-Dimethylformamid
25 eingesetzt.

- Als Aktivierungs-/Kondensationsmittel für diese Kupplungen eignen sich beispielsweise Carbodiimide wie *N,N'*-Diethyl-, *N,N'*-Dipropyl-, *N,N'*-Diisopropyl-, *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) oder *N*-(3-Dimethylaminoisopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid (EDC), Phosgen-Derivate wie *N,N'*-Carbonyldiimidazol (CDI) oder Isobutylchlorformiat, 1,2-Oxazolium-Verbindungen wie
30 2-Ethyl-5-phenyl-1,2-oxazolium-3-sulfat oder 2-*tert.*-Butyl-5-methylisoxazolium-perchlorat, Acylamino-Verbindungen wie 2-Ethoxy-1-ethoxycarbonyl-1,2-dihydrochinolin, Phosphor-Verbindungen wie Propanphosphonsäureanhydrid, Cyanophosphonsäurediethylester, Bis-(2-oxo-3-oxazolidinyl)-phosphorylchlorid, Benzotriazol-1-yloxy-tris(dimethylamino)phosphonium-hexafluorophosphat oder Benzotriazol-1-yloxy-tris(pyrrolidino)phosphonium-hexafluorophosphat (PyBOP), oder
35 Uronium-Verbindungen wie *O*-(Benzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-tetrafluoroborat

(TBTU), *O*-(Benzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HBTU), 2-(2-Oxo-1-(2*H*)-pyridyl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-tetrafluoroborat (TPTU), *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) oder *O*-(1*H*-6-Chlorbenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-tetrafluoroborat (TCTU), gegebenenfalls in Kombination
5 mit weiteren Hilfsstoffen wie 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt) oder *N*-Hydroxysuccinimid (HOSu), sowie als Basen Alkalicarbonate, z.B. Natrium- oder Kaliumcarbonat, oder tertiäre Aminbasen wie Triethylamin, *N*-Methylmorpholin, *N*-Methylpiperidin, *N,N*-Diisopropylethylamin, Pyridin oder 4-*N,N*-Dimethylaminopyridin.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wird als Aktivierungs-/Kondensationsmittel für solche
10 Kupplungsreaktionen bevorzugt *N*-(3-Dimethylaminoisopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid (EDC) in Kombination mit 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt) und *N,N*-Diisopropylethylamin, oder *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) gleichfalls in Verbindung mit *N,N*-Diisopropylethylamin verwendet.

Die Kupplungsreaktionen (IX) + (X) → (II-C), (XII-A) bzw. (XII-B) + (X) → (II-D-A) bzw. (II-D-
15 B), (IX) + (XIII) → (XIV), (IX) + (XV) → (XVI) und (XXII) + (XXIII) → (II-D) werden in der Regel in einem Temperaturbereich von -20°C bis +60°C, bevorzugt bei 0°C bis +40°C durchgeführt. Die Umsetzungen können bei normalem, bei erhöhtem oder bei erniedrigtem Druck erfolgen (z.B. von 0.5 bis 5 bar); im Allgemeinen arbeitet man bei Normaldruck.

Die Esterbildungen (IX) + (XVIII) → (XII) und (IX) + (XI-A) bzw. (XI-B) → (XII-A) bzw.
20 (XII-B), (IX) + (XXIV) → (XXV) sowie (IX) + (XXI) → (XXII) erfolgen in Analogie zu den oben beschriebenen Amid-Kupplungsreaktionen. Bevorzugt erfolgen diese Reaktionen in Dichlormethan unter Verwendung von *N*-(3-Dimethylaminoisopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid (EDC) und 4-Dimethylaminopyridin bei einer Temperatur von +50°C bis 100°C bei Normaldruck.

Die in den Verbindungen gegebenenfalls vorhandenen funktionellen Gruppen – wie insbesondere
25 Amino-, Hydroxy- und Carboxylgruppen – können bei den zuvor beschriebenen Verfahrensschritten, falls zweckmäßig oder erforderlich, auch in temporär geschützter Form vorliegen. Die Einführung und Entfernung solcher Schutzgruppen erfolgt hierbei nach üblichen, aus der Peptidchemie bekannten Methoden [siehe z.B. T.W. Greene und P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley, New York, 1999; M. Bodanszky und A. Bodanszky, *The Practice of
30 Peptide Synthesis*, Springer-Verlag, Berlin, 1984]. Bei Vorhandensein mehrerer geschützter Gruppen kann deren Wiederfreisetzung gegebenenfalls simultan in einer Eintopf-Reaktion oder auch in separaten Reaktionsschritten vorgenommen werden.

Als Amino-Schutzgruppe PG¹ wird bevorzugt *tert.*-Butoxycarbonyl (Boc), Benzyloxycarbonyl (Z) oder (9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl (Fmoc) verwendet; für eine Hydroxy- oder Carboxyl-

Funktion wird vorzugsweise *tert.*-Butyl oder Benzyl als Schutzgruppe PG² eingesetzt. Die Abspaltung einer *tert.*-Butyl- oder *tert.*-Butoxycarbonyl-Gruppe geschieht üblicherweise durch Behandlung mit einer starken Säure, wie Chlorwasserstoff, Bromwasserstoff oder Trifluoressigsäure, in einem inerten Lösungsmittel wie Diethylether, 1,4-Dioxan, Dichlormethan oder Essigsäure; gegebenenfalls kann diese Reaktion auch ohne Zusatz eines inerten Lösungsmittels durchgeführt werden. Im Falle von Benzyl oder Benzyloxycarbonyl als Schutzgruppe werden diese bevorzugt durch Hydrogenolyse in Gegenwart eines geeigneten Palladium-Katalysators, wie beispielsweise Palladium auf Aktivkohle, entfernt. Die (9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl-Gruppe wird im Allgemeinen mit Hilfe einer sekundären Aminbase wie Diethylamin oder Piperidin abgespalten.

Die Umsetzung (VI) → (II-A) erfolgt in einem unter den Reaktionsbedingungen inerten Lösungsmittel wie beispielsweise Ether wie Tetrahydrofuran, 1,4-Dioxan, 1,2-Dimethoxyethan oder Bis-(2-methoxyethyl)-ether, Alkohole wie Methanol, Ethanol, Isopropanol, *n*-Butanol oder *tert.*-Butanol, oder dipolar-aprotische Lösungsmittel wie Aceton, Methylethylketon, Acetonitril, Ethylacetat, Pyridin, Dimethylsulfoxid (DMSO), *N,N*-Dimethylformamid (DMF), *N,N*-Dimethylacetamid (DMA), *N,N'*-Dimethylpropylenharnstoff (DMPU) oder *N*-Methylpyrrolidinon (NMP) oder Wasser. Ebenso ist es möglich, Gemische solcher Lösungsmittel zu verwenden. Bevorzugt wird ein Gemisch von 1,4-Dioxan und Wasser eingesetzt.

Geeignete Basen für die Umsetzung (VI) → (II-A) sind beispielsweise Alkalicarbonate wie Kaliumcarbonat, Natriumcarbonat oder Lithiumcarbonat, Alkalihydrogencarbonate wie Natrium- oder Kaliumhydrogencarbonat oder Alkalialkoholate wie Natriummethanolat, Natriumethanolat oder Kalium-*tert.*-butylat. Bevorzugt wird Natriumhydrogencarbonat verwendet.

Die Reaktion (VI) → (II-A) erfolgt in einem Temperaturbereich von 0°C bis +50°C, bevorzugt bei +10°C bis +30°C. Die Umsetzung kann bei normalem, bei erhöhtem oder bei erniedrigtem Druck erfolgen (z.B. von 0.5 bis 5 bar); im Allgemeinen arbeitet man bei Normaldruck.

Die Umsetzung (VI) + (VII) → (II-B) erfolgt in einem unter den Reaktionsbedingungen inerten Lösungsmittel wie beispielsweise Ether wie Tetrahydrofuran, 1,4-Dioxan, 1,2-Dimethoxyethan oder Bis-(2-methoxyethyl)-ether, Alkohole wie Methanol, Ethanol, Isopropanol, *n*-Butanol oder *tert.*-Butanol, oder dipolar-aprotische Lösungsmittel wie Aceton, Methylethylketon, Acetonitril, Ethylacetat, Pyridin, Dimethylsulfoxid (DMSO), *N,N*-Dimethylformamid (DMF), *N,N*-Dimethylacetamid (DMA), *N,N'*-Dimethylpropylenharnstoff (DMPU) oder *N*-Methylpyrrolidinon (NMP) oder Wasser. Ebenso ist es möglich, Gemische solcher Lösungsmittel zu verwenden. Bevorzugt wird DMF eingesetzt.

- 229 -

Geeignete Basen für die Umsetzung (VI) + (VII) → (II-B) sind beispielsweise tertiäre Aminbasen wie Triethylamin, *N*-Methylmorpholin, *N*-Methylpiperidin, *N,N*-Diisopropylethylamin, Pyridin oder 4-*N,N*-Dimethylaminopyridin. Bevorzugt wird *N,N*-Diisopropylethylamin verwendet.

Die Reaktion (VI) + (VII) → (II-B) erfolgt in einem Temperaturbereich von 0°C bis +50°C, bevorzugt bei +10°C bis +30°C. Die Umsetzung kann bei normalem, bei erhöhtem oder bei erniedrigtem Druck erfolgen (z.B. von 0.5 bis 5 bar); im Allgemeinen arbeitet man bei Normaldruck.

Die Umsetzungen (IX) → (III-A), (XIV) → (III-B) und (XVI) → (III-C) sowie (VI) + (XVII) → (III-D), (XIX) + (XX) → (III-E) und (XXV) + (XX) → (III-F) erfolgen in einem Lösungsmittel, welches unter den Reaktionsbedingungen inert ist. Geeignete Lösungsmittel sind beispielsweise Ether wie Diethylether, Diisopropylether, *tert.*-Butylmethylether, Tetrahydrofuran, 1,4-Dioxan, 1,2-Dimethoxyethan oder Bis-(2-methoxyethyl)-ether, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Toluol, Xylol, Pentan, Hexan, Heptan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, Halogenkohlenwasserstoffe wie Dichlormethan, Trichlormethan, Tetrachlormethan, 1,2-Dichlorethan, Trichlorethylen oder Chlorbenzol, oder dipolar-aprotische Lösungsmittel wie Aceton, Methylethylketon, Acetonitril, Ethylacetat, Pyridin, Dimethylsulfoxid (DMSO), *N,N*-Dimethylformamid (DMF), *N,N*-Dimethylacetamid (DMA), *N,N'*-Dimethylpropylenharnstoff (DMPU) oder *N*-Methylpyrrolidinon (NMP). Ebenso ist es möglich, Gemische solcher Lösungsmittel zu verwenden. Bevorzugt wird *N,N*-Dimethylformamid eingesetzt.

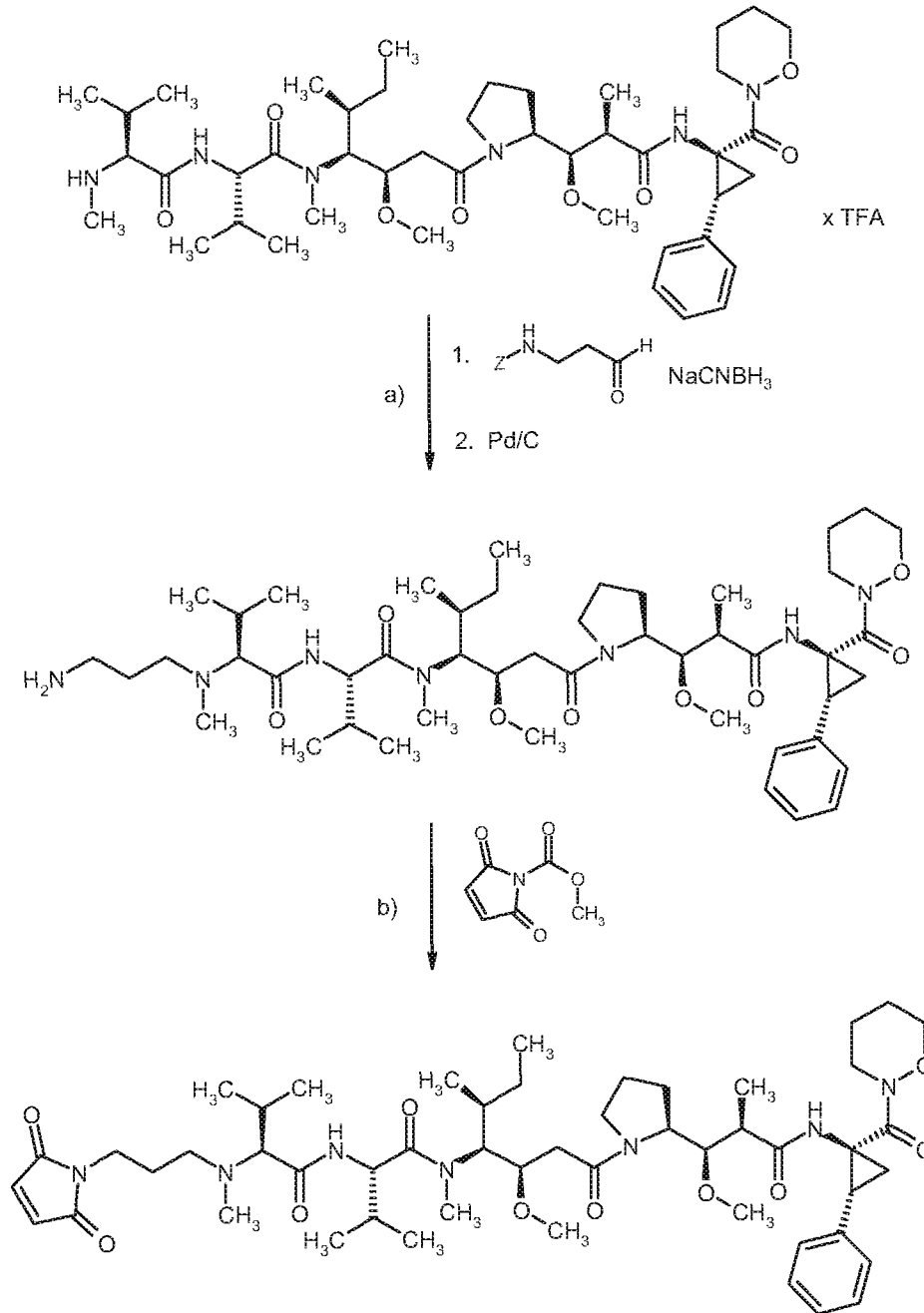
Geeignete Basen für diese Umsetzungen sind beispielsweise tertiäre Amine wie Triethylamin, *N*-Methylmorpholin, *N*-Methylpiperidin, *N,N*-Diisopropylethylamin, Pyridin oder 4-*N,N*-Dimethylaminopyridin. Bevorzugt wird *N,N*-Diisopropylethylamin, verwendet, gegebenenfalls unter Zusatz von 4-*N,N*-Dimethylaminopyridin.

Die Umsetzungen (IX) → (III-A), (XIV) → (III-B) und (XVI) → (III-C) sowie (VI) + (XVII) → (III-D) und (XIX) + (XX) → (III-E) erfolgen in einem Temperaturbereich von 0°C bis +50°C, bevorzugt bei +10°C bis +30°C. Die Umsetzung kann bei normalem, bei erhöhtem oder bei erniedrigtem Druck erfolgen (z.B. von 0.5 bis 5 bar); im Allgemeinen arbeitet man bei Normaldruck.

Die Verbindungen der Formeln (II), (III), (I-A) bzw. (I-B) sind Untermengen der Verbindungen der Formeln (IIa), (IIIa), (Ia-A) bzw. (Ia-B), wobei R³⁵ für Methyl steht. Die Herstellung der Verbindungen (IIa) und (IIIa) erfolgt in Analogie zur Herstellung der Verbindung der Formeln (II) und (III) wie zuvor beschrieben.

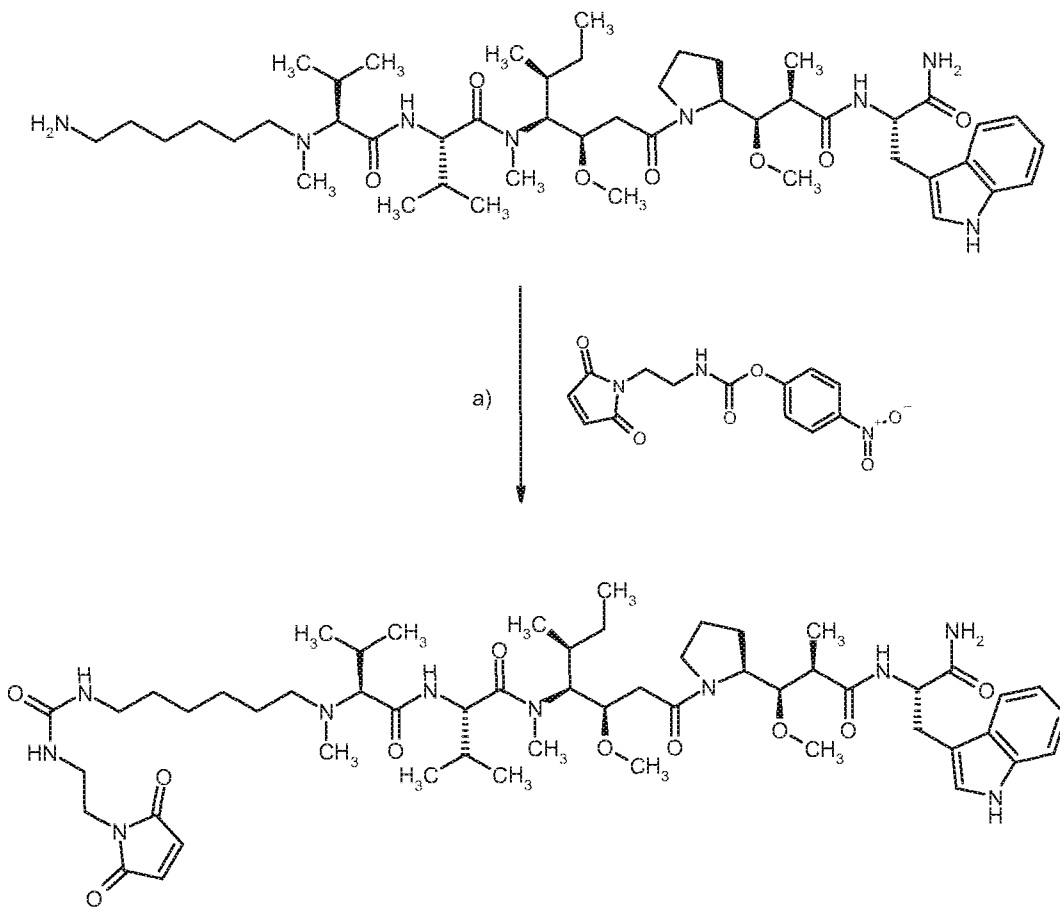
Die zuvor beschriebenen Verfahren werden durch die nachfolgenden Syntheschemata (Schema 3 bis 13, 18) beispielhaft verdeutlicht:

Schema 3



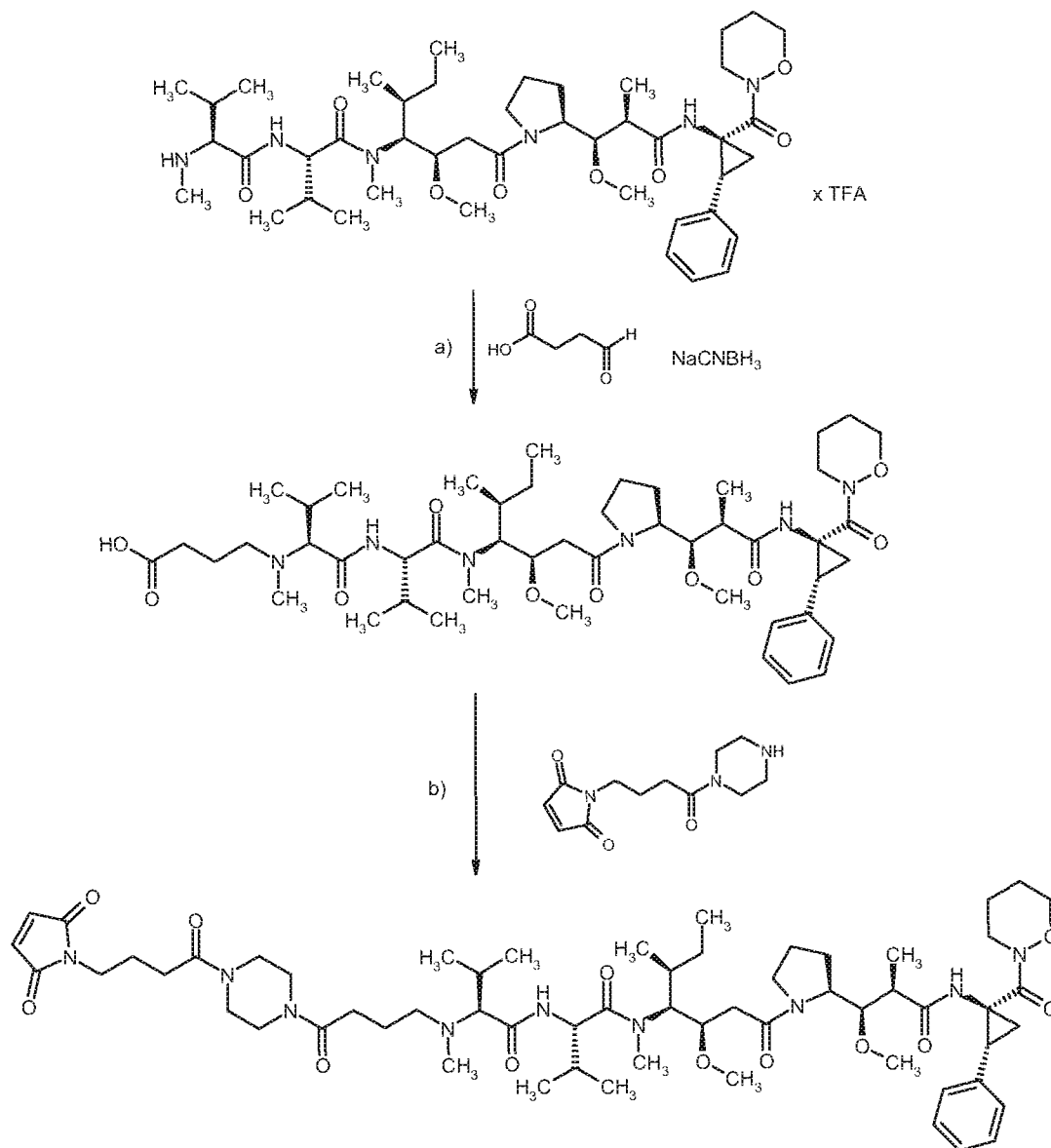
- 5 [a): 1. Wasser/Dioxan, 1N HCl, 100°C; 2. H₂, Pd/C, Methanol, RT; b): NaHCO₃, H₂O, Dioxan, RT].

Schema 4



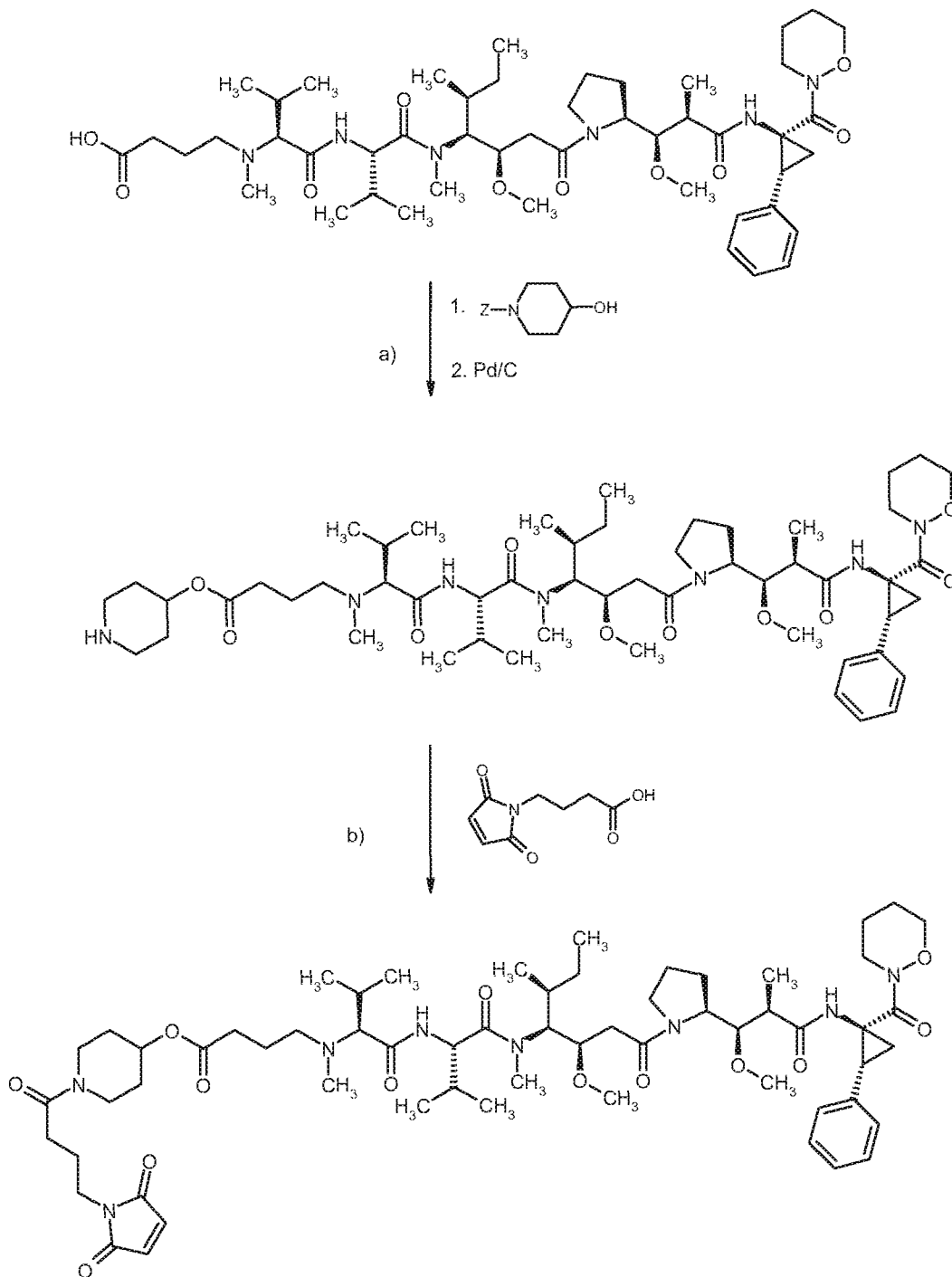
[a): Diisopropylethylamin, DMF, RT].

Schema 5



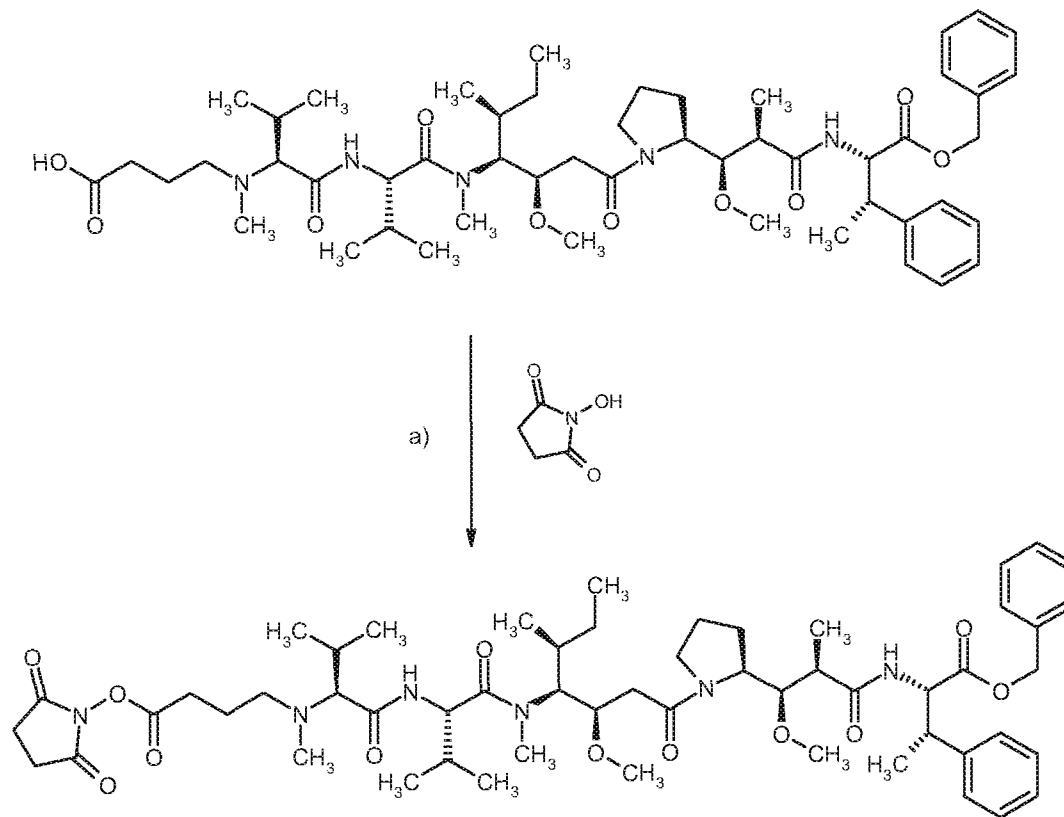
[a): Wasser/Dioxan, 1N HCl, 100°C; b): HATU, Diisopropylamin, DMF, RT].

Schema 7



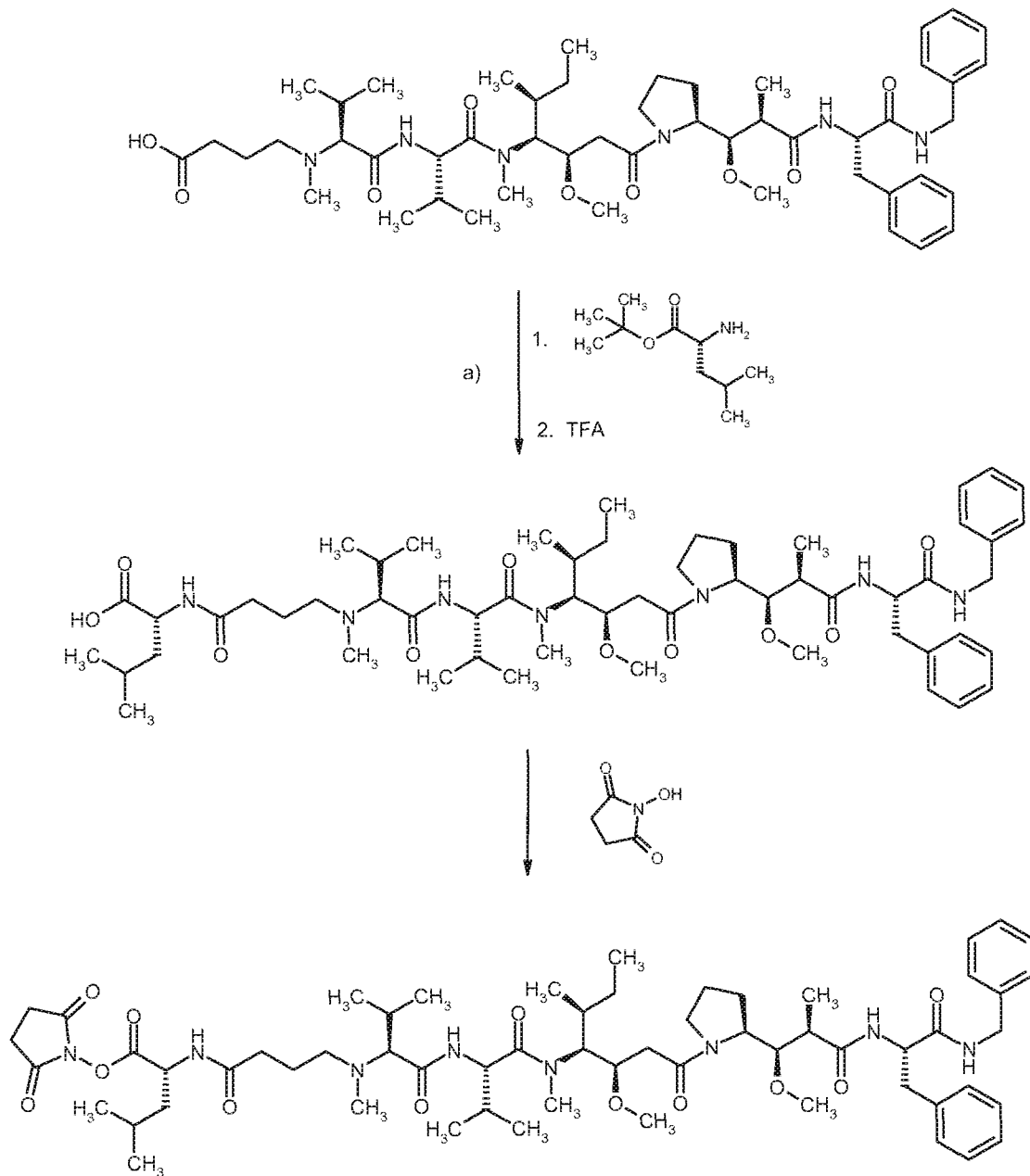
[a): 1. EDCI, DMAP, Dichlormethan, RT; 2. H₂, Methanol, RT; b): HATU, Diisopropylamin, DMF, RT].

Schema 8



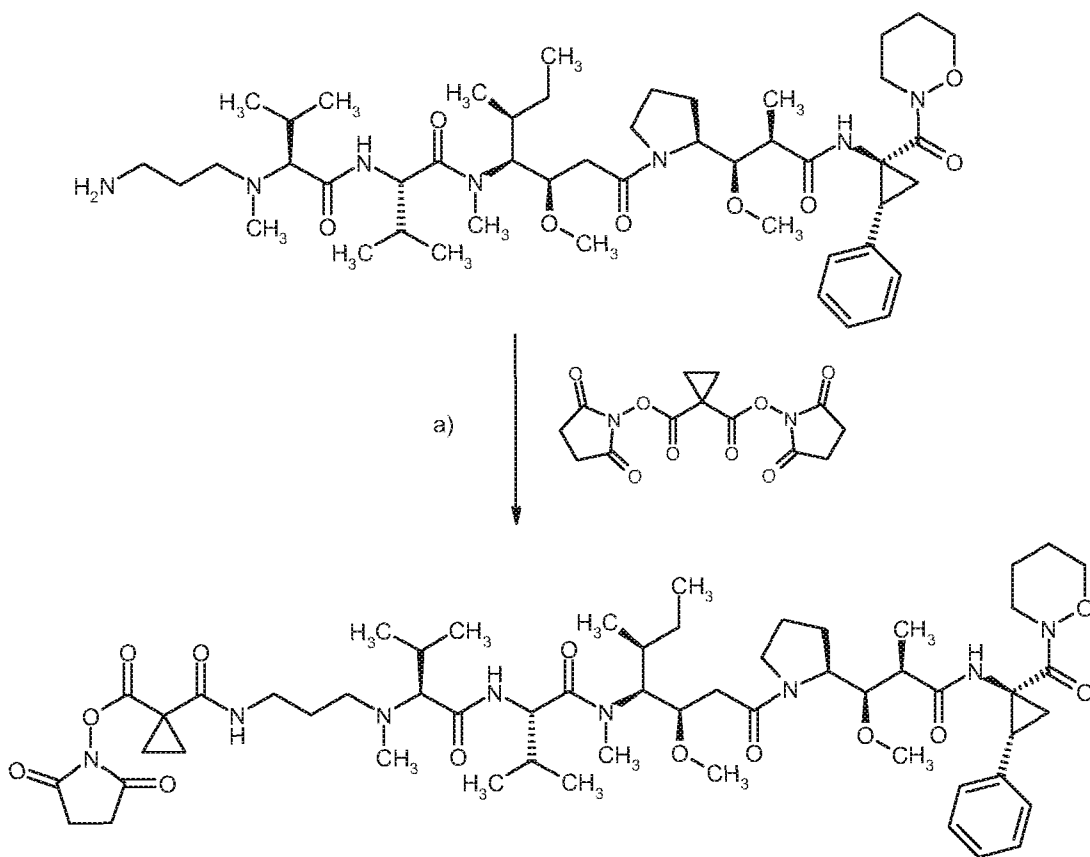
[a): EDCI, Dichlormethan, RT].

Schema 10



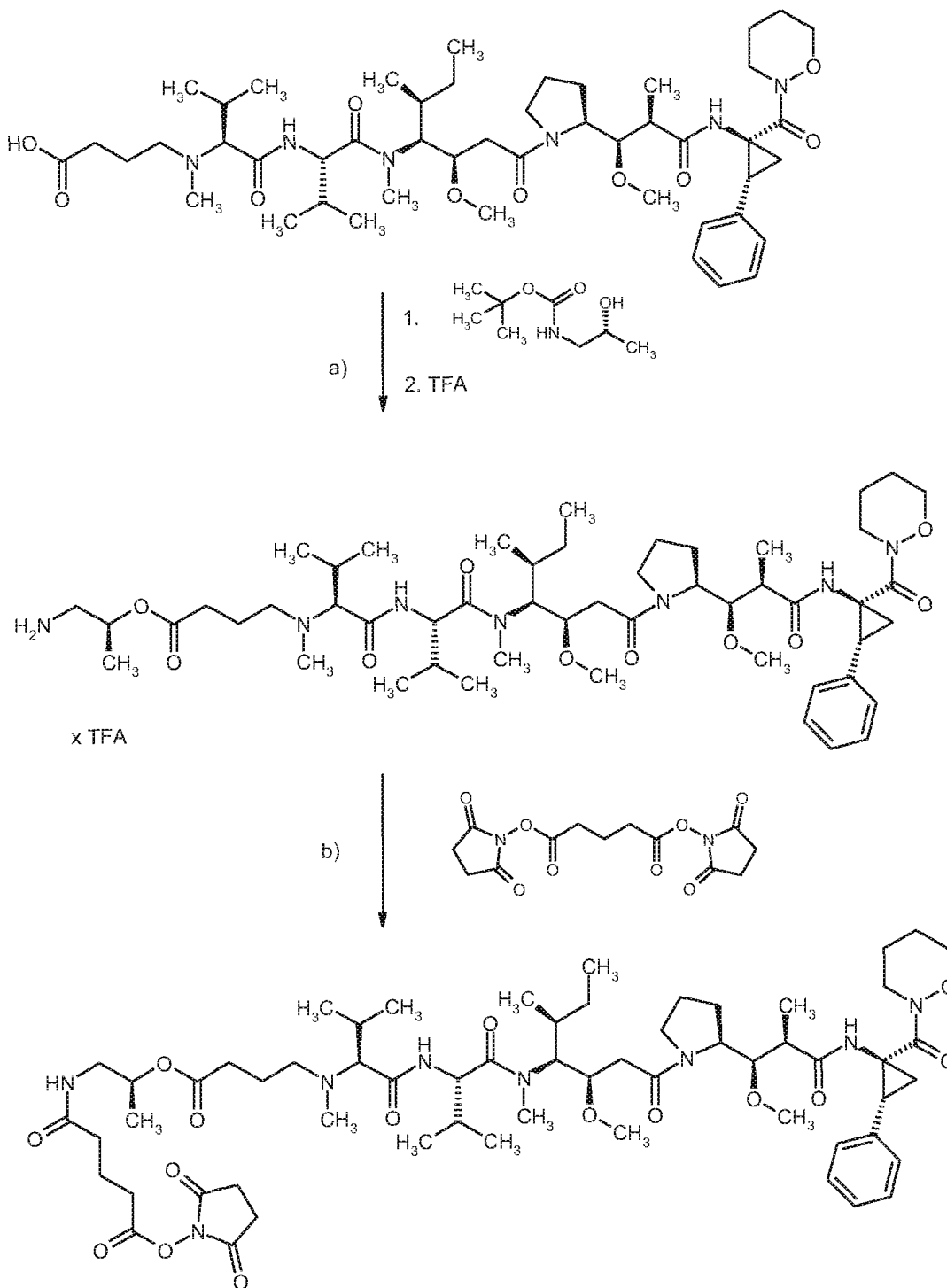
[a): 1. HATU, Diisopropylethylamin, DMF, RT; 2. Dichlormethan, RT; b): EDCI, DMAP, 5 Dichlormethan, RT].

Schema 11



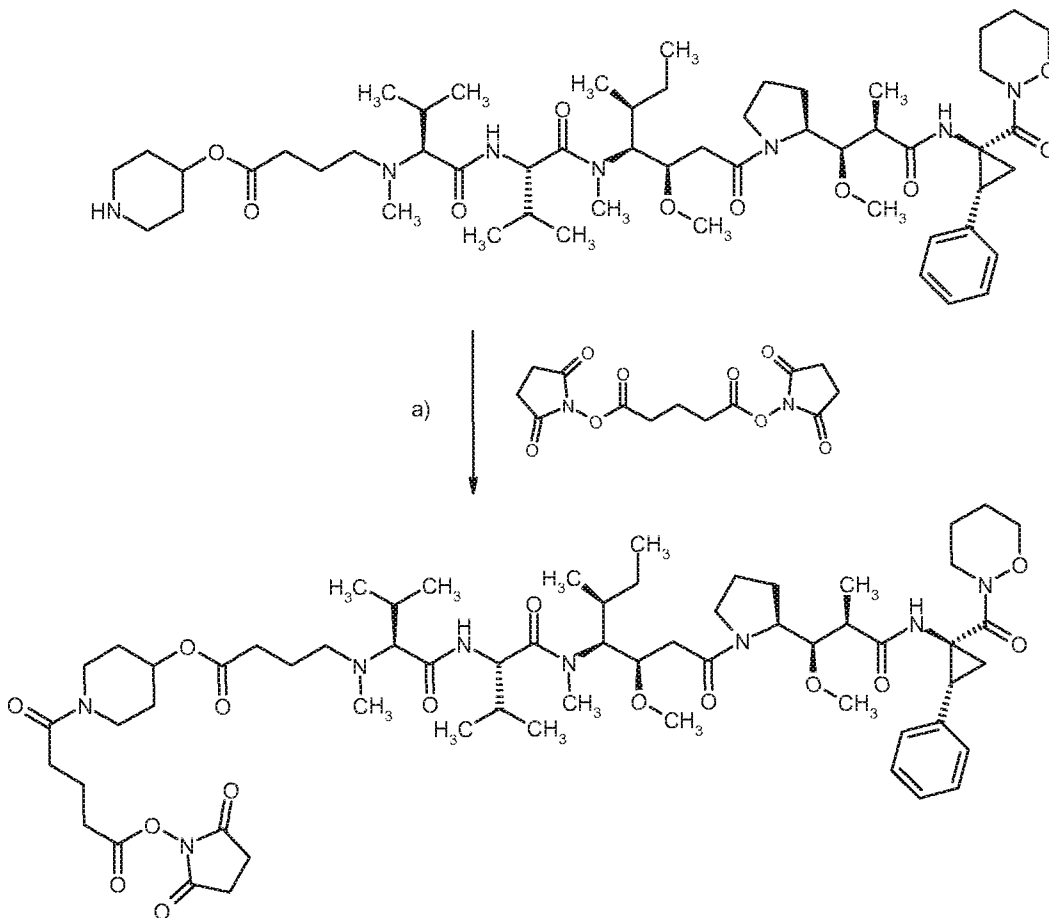
[a): Diisopropylethylamin, DMF, RT].

Schema 12



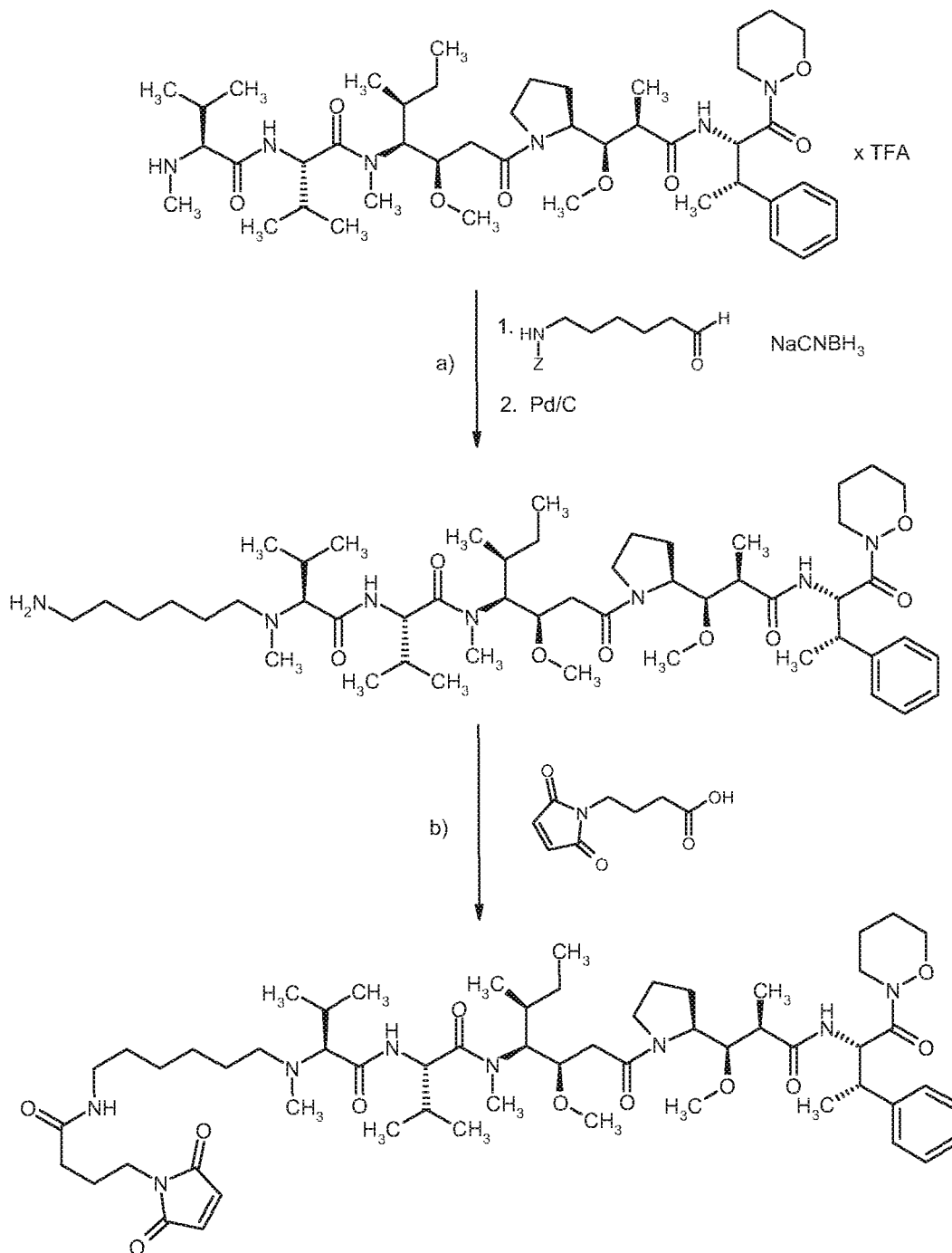
[a): 1. EDCI, DMAP, Dichlormethan, RT; 2. Dichlormethan, RT ; b): Diisopropylamin, DMAP, Dichlormethan, RT].

Schema 13



[a): DMAP, Diisopropylamin, Dichlormethan, RT].

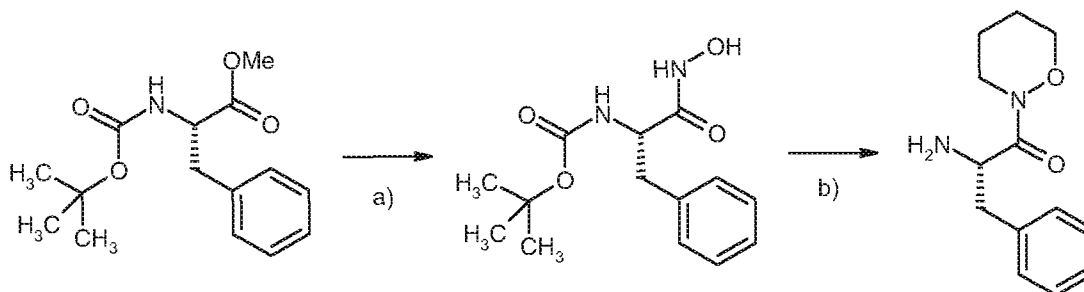
Schema 18



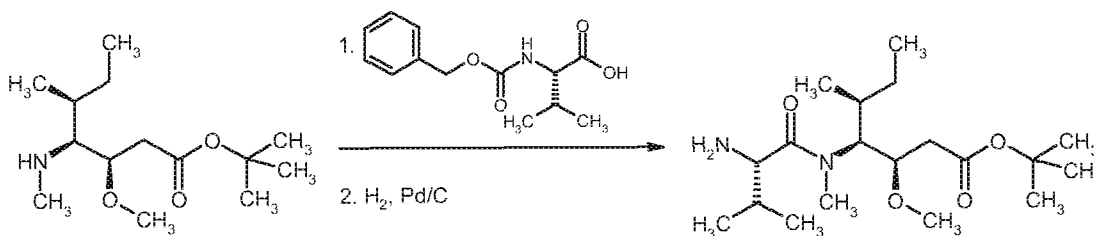
[a): 1. Wasser/Dioxan, 1N HCl, 100°C; 2. H₂, Pd/C, Methanol, RT; b): HATU, Diisopropylethylamin, RT].

- 5 Die Verbindungen der Formel (IV) können aus kommerziell erhältlichen oder literaturbekannten Aminosäure-Bausteinen (siehe z. B. Pettit *et al.*, *Synthesis* 1996, 719; Shioiri *et al.*, *Tetrahedron Lett.* 1991, 32, 931; Shioiri *et al.*, *Tetrahedron* 1993, 49, 1913; Koga *et al.*, *Tetrahedron Lett.* 1991, 32, 2395; Vidal *et al.*, *Tetrahedron* 2004, 60, 9715; Poncet *et al.*, *Tetrahedron* 1994, 50, 5345.

Pettit *et al.*, *J. Org. Chem.* 1994, 59, 1796) in Analogie zu literaturbekannten Verfahren nach üblichen Methoden der Peptidchemie, und wie im vorliegenden experimentellen Teil beschrieben, hergestellt werden. Die nachfolgenden Syntheschemata (Schema 14 bis 16) verdeutlichen die Herstellung beispielhaft.

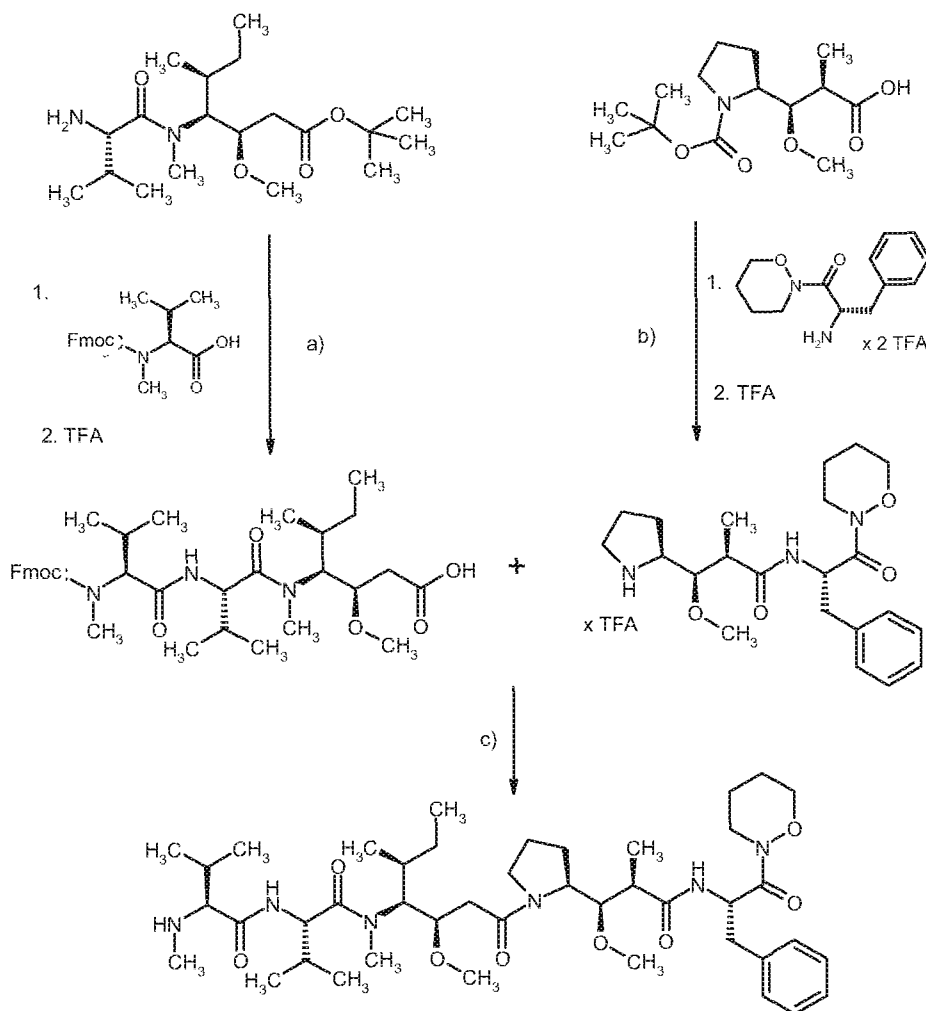
5 Schema 14

[a): Hydroxylamin-Hydrochlorid, KOH, MeOH, 0°C → RT; b): BrCH₂(CH₂)₂CH₂Br, K₂CO₃, Aceton, Rückfluß].

10 Schema 15

[a): 1. Diisopropylethylamin, BEP, Dichlormethan, -10°C → RT; 2. MeOH].

Schema 16



[a): 1. Diisopropylethylamin, BEP, DMF, RT; 2. Dichlormethan; b): 1. HATU, Diisopropylethylamin, DMF, RT; 2. Dichlormethan, RT; c): 1. HATU, Diisopropylethylamin, DMF, RT; 2.

5 Piperidin, DMF, RT].

Die Verbindungen der Formeln (XI), (XIII), (XV), (XVII) und (XXI) einschließlich, wo zutreffend, chiraler oder diastereomerer Formen hiervon sind kommerziell erhältlich oder als solche in der Literatur beschrieben, oder sie können auf für den Fachmann offenkundigem Wege in Analogie zu in der Literatur publizierten Methoden hergestellt werden. Zahlreiche ausführliche Vorschriften sowie Literaturangaben zur Herstellung der Ausgangsmaterialien befinden sich auch im Experimentellen Teil im Abschnitt zur Herstellung der Ausgangsverbindungen und Intermediate.

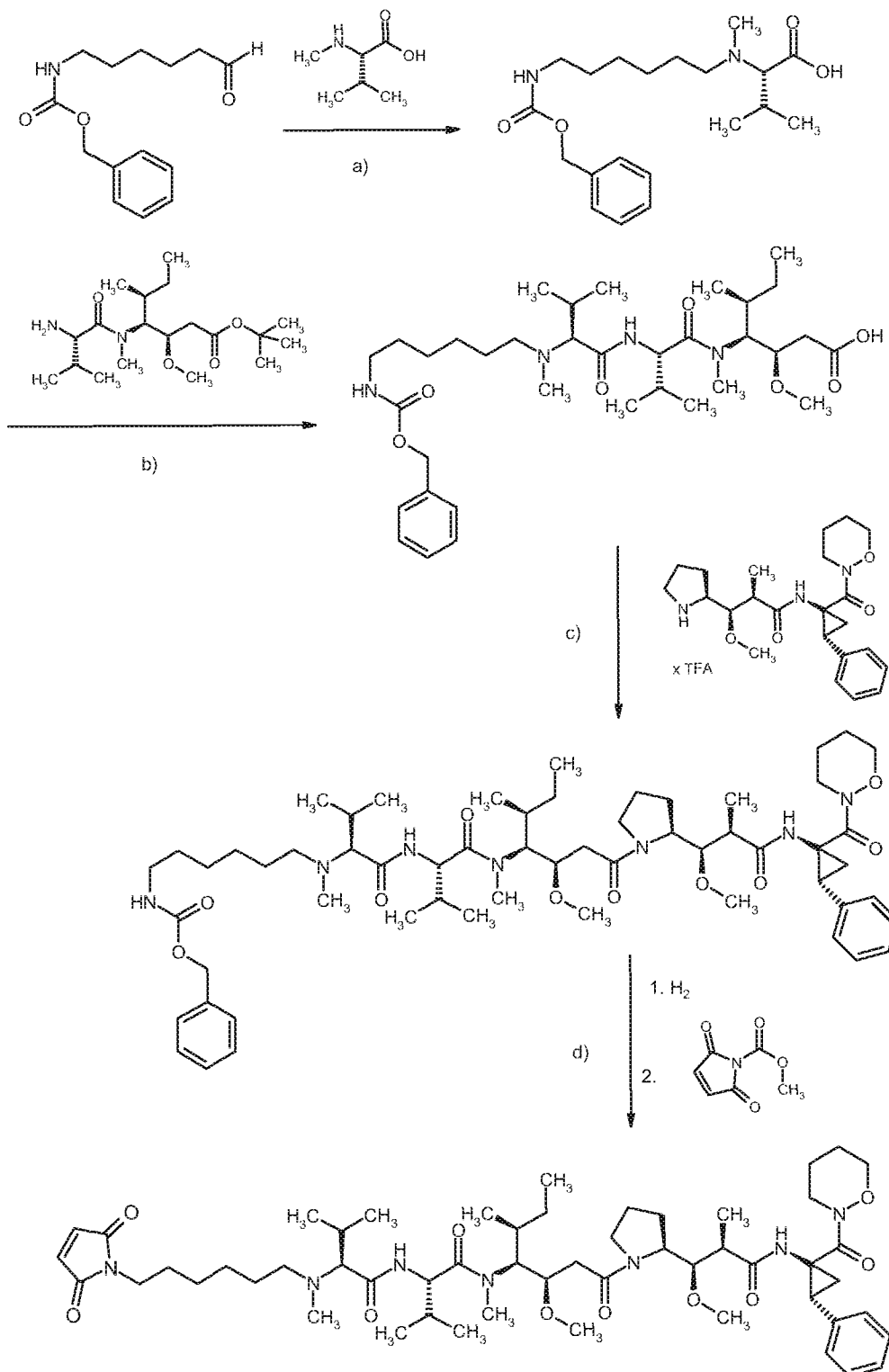
Die Verbindungen der Formeln (V), (VII), (VIII), (X), (XVIII), (XX) und (XXIII) einschließlich, wo zutreffend, chiraler oder diastereomerer Formen hiervon sind literaturbekannt, oder sie können auf für den Fachmann offenkundigem Wege in Analogie zu in der Literatur publizierten Methoden

- 244 -

hergestellt werden. Zahlreiche ausführliche Vorschriften sowie Literaturangaben zur Herstellung der Ausgangsmaterialien befinden sich auch im Experimentellen Teil im Abschnitt zur Herstellung der Ausgangsverbindungen und Intermediate.

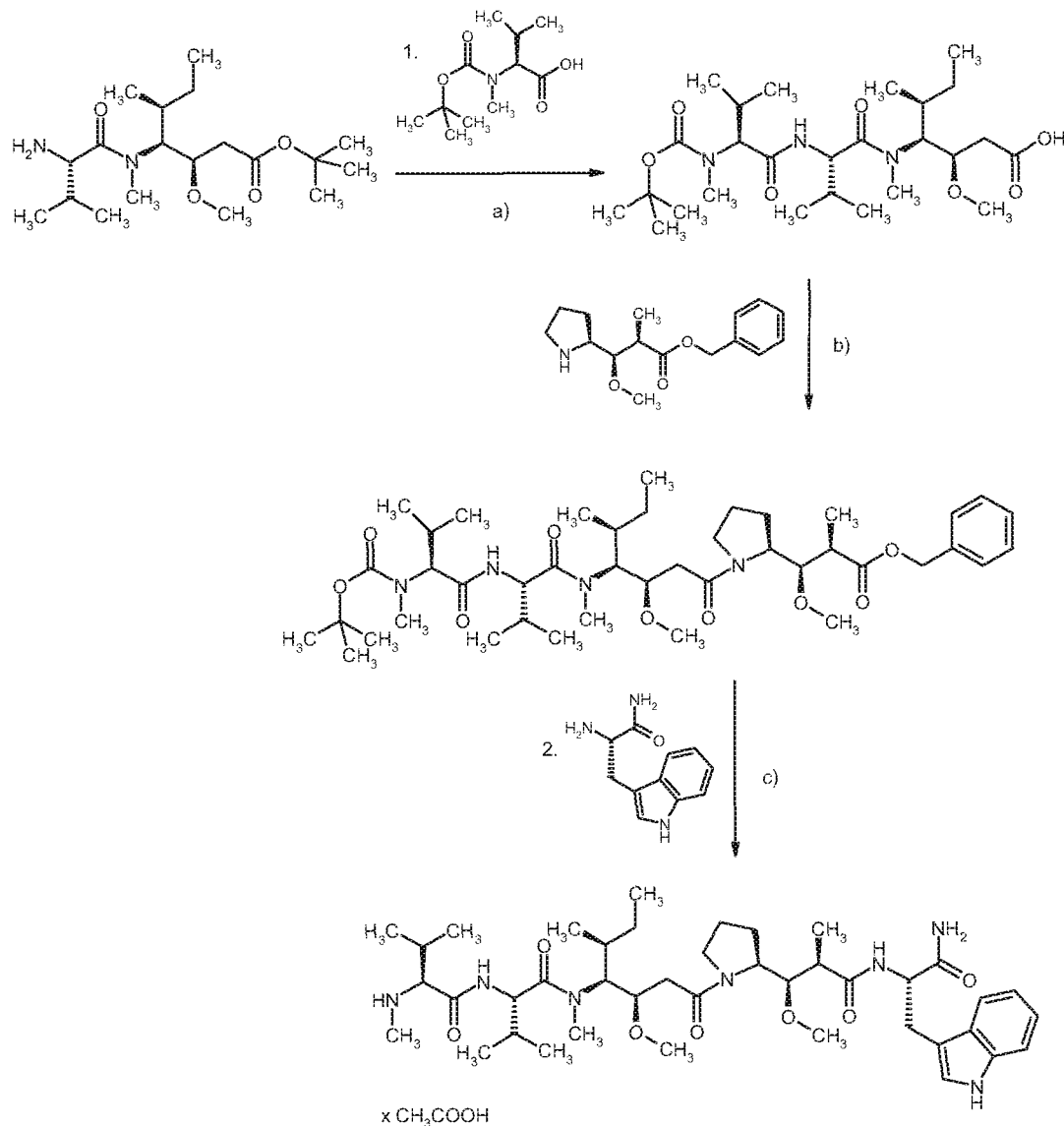
Alternativ können einzelne Schritte der Herstellungssequenz in anderer Reihenfolge durchgeführt
5 werden. Dieses Vorgehen wird in den nachfolgenden Syntheseschemata (Schema 17, 19 und 20) beispielhaft verdeutlicht.

Schema 17



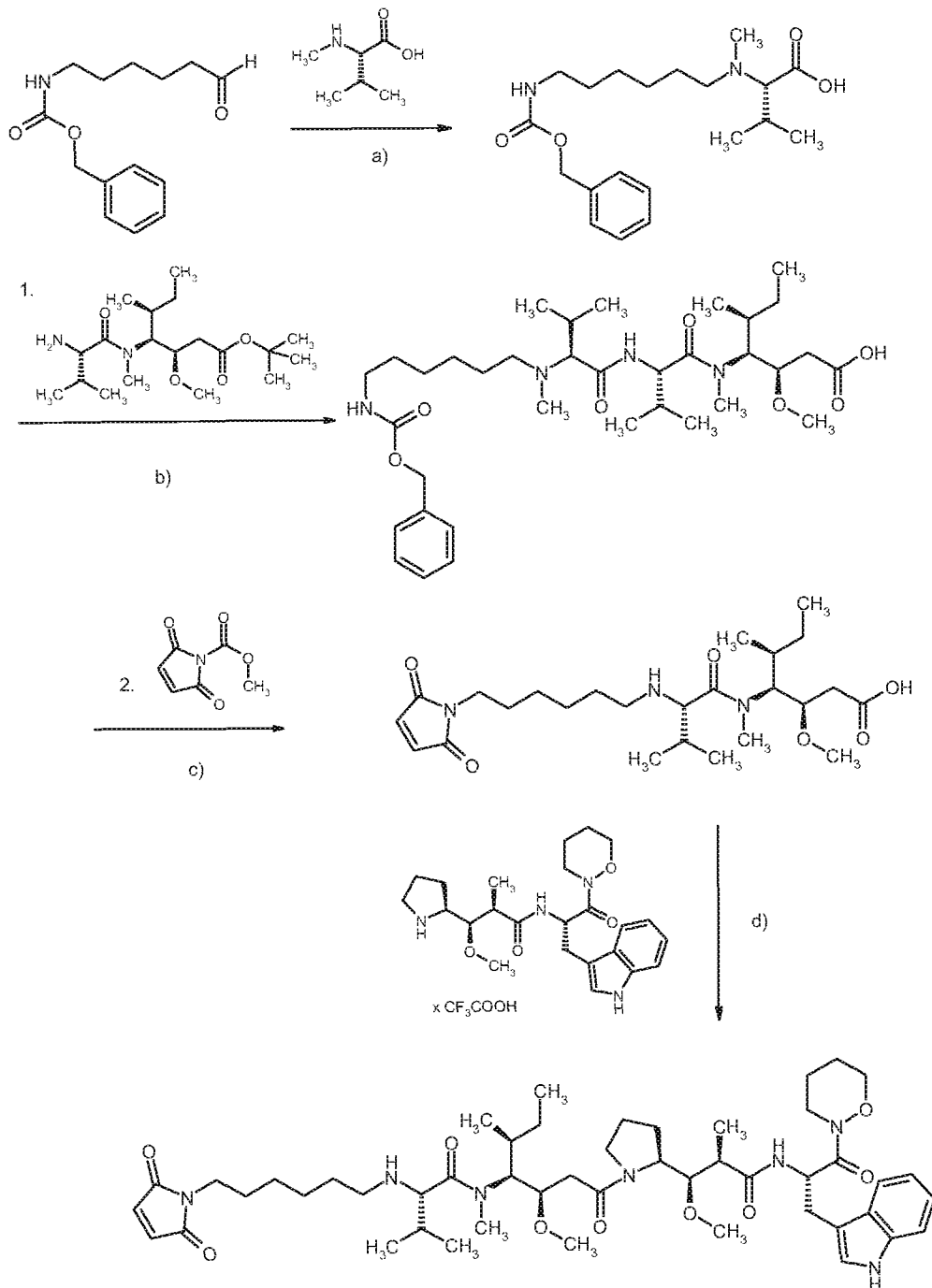
[a): Boran-Pyridin-Komplex, Essigsäure, MeOH; b): 1. HOBt, EDCI, Diisopropylethylamin, DMF, RT; 2. TFA, Dichlormethan, RT; c): HATU, Diisopropylethylamin, DMF, RT; d): 1. Pd/C, MeOH, RT; 2. NaHCO₃, Dioxan, Wasser].

Schema 19



[a): 1. HATU, Diisopropylethylamin, DMF, RT; 2. TFA, Dichlormethan, RT; 3. $((\text{H}_3\text{C})_3\text{C}(\text{C}=\text{O}))_2\text{O}$, DMF, Diisopropylethylamin; b): Diisopropylethylamin, BEP, DMF, RT; c): 1. H_2 , Pd/C (10%). Methanol, RT; 2. HATU, Diisopropylethylamin, DMF, RT; 3. TFA, Dichlormethan, RT].

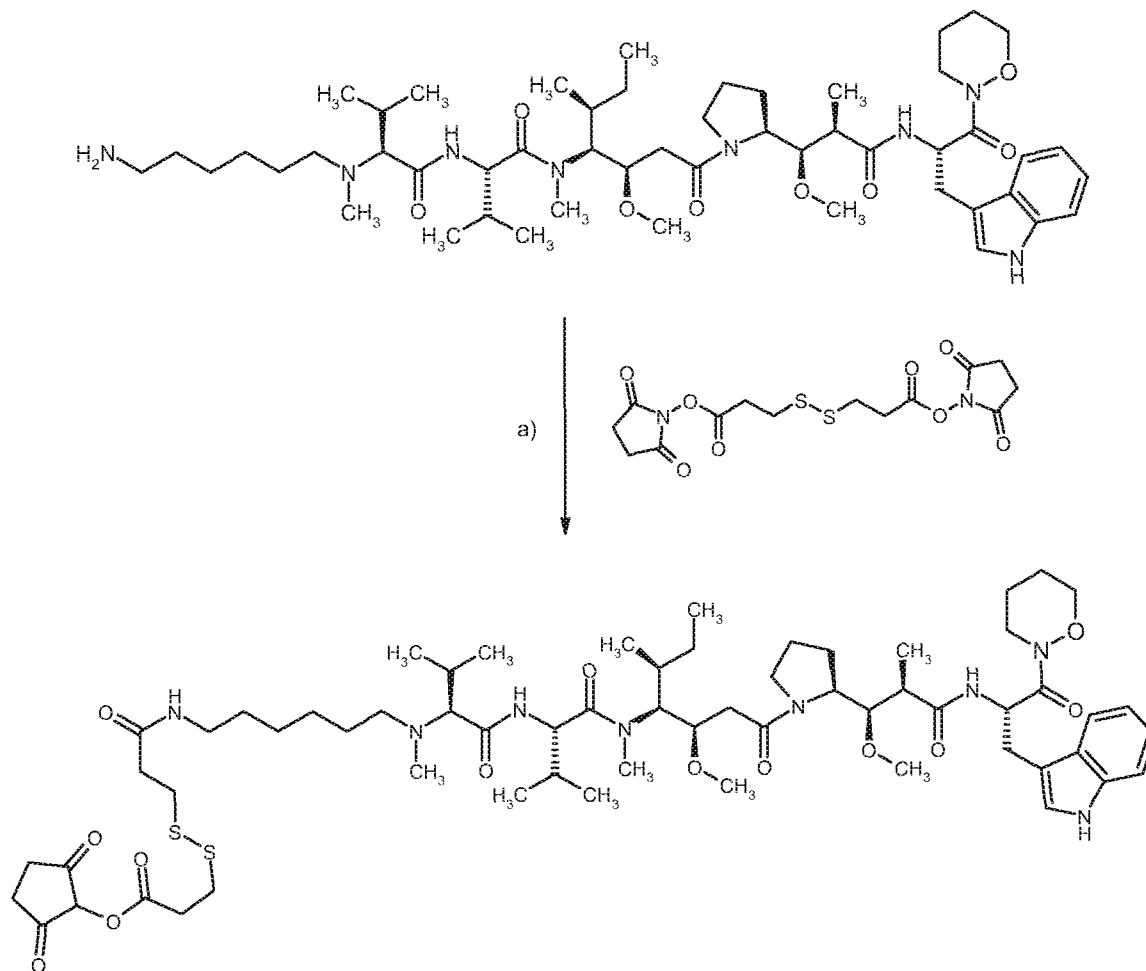
Schema 20



- [a): Boran-Pyridin-Komplex, Essigsäure, MeOH; b): 1. HOBt, EDCI, Diisopropylethylamin, DMF, RT; 2. TFA, Dichlormethan, RT; c): 1. H₂, Pd/C, MeOH, RT; 2. NaHCO₃, Dioxan, Wasser;
- 5 d): HATU, Diisopropylethylamin, DMF, RT;].

Weitere ADCs können beispielhaft nach folgenden Methoden hergestellt werden:

Schema 21



[a): Diisopropylethylamin, DMF, RT].

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist das Zielmolekül ein selektives Krebs-Zielmolekül.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist das Zielmolekül ein Protein.

In einer Ausführungsform ist das Zielmolekül ein extrazelluläres Zielmolekül. In einer bevorzugten

5 Ausführungsform ist das extrazelluläre Zielmolekül ein Protein.

Krebs-Zielmoleküle sind dem Fachmann bekannt. Beispiele hierfür sind im Folgenden aufgeführt.

Beispiele für Krebs-Zielmoleküle sind:

(1) EGF-Rezeptor (NCBI reference sequence NP_005219.2)

Sequenz (1210 Aminosäuren):

```

10 >gi|29725609|ref|NP_005219.2| epidermal growth factor receptor
    isoform a precursor [Homo sapiens]
    MRPSGTAGAALLALLAALCPASRALEEKKVCQGTSNKLTLQGTFFEDHFSLQRMFNNCEVVLGNLE
    ITYVQRNYDLSFLKTIQEVAGYVLIALNTVERIPLNLQIIRGNMYENSYALAVLSNYDANKTGL
    KELPMRNLOEILHGAVRFSNNPALCNVESIQWRDIVSSDFLSNMSMDFQNLHGSCQKCDPSCPNGS
15 CWGAGEENCQKLTKIICAQQCSGRCRGKSPSDCCHNQCAAGCTGPRESDCLVCRKFRDEATCKDTC
PFLMLYNPTTYQMDVNPEGKYSFGATCVKKCPRNYVVDHGCSVRACGADSYEMEEDGVRKCKKCE
GPCRKVCNGIGIGEFKDLSINATNIKHFKNCTSISGDLHILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDILK
TVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIRGRTKOHGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVI
ISGNKNLCYANTINWKKLFGTSGQKTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRN
20 VSRGRECVDKCNLLEGEPREFVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKT
CPAGVMGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCPTNGPKIPSIATGMVGALLLLLVV
ALGIGLFMRRRHIVRKRTLRRLQLERELVEPLTPSGEAPNQALLRILKETEFKKIKVLGSGAFGTV
YKGLWIPEGEKVKIPVAIKELREATSPKANKEILDEAYVMASVDNPHVCRLLGICLTSTVQLITQL
MPFGCLLDYVREHKDNIGSQYLLNWCVQIAKGMNYLEDRLVHRDLAARNVLVKTPQHVKITDFGL
25 AKLLGAEKEYHAEGGKVPIKWMALESILHRIYTHQSDVWSYGVTWELMTFGSKPYDGIPASEIS
SILEKGERLPQPPICTIDVYIMIVKCMWIDADSRPKFRELIIEFSKMARDPQRYLVIQGDERMHLP
SPTDSNFYRALMDEEDMDVVDADEYLIPQQGFFSSPSTSRTPLSSLSATSNNSTVACIDRNGLQ
SCPIKEDSFLQRYSSDPTGALTEDSIDDTFLVPEYINQSVPKRPAGSVQNPVYHNQPLNPPAPSRD
PHYQDPHSTAVGNPEYLNTVQPTCVNSTFDSPAHWAQKGSHQISLDNPDYQQDFFPKEAKPNGIFK
30 GSTAENAEYLRVAPQSSEFIGA
    
```

Die extrazelluläre Domäne ist durch Unterstreichung gekennzeichnet.

(2) Mesothelin (SwissProt reference Q13421-3)

Sequenz (622 Aminosäuren):

```

35 >sp|Q13421-3|MSLN_HUMAN Isoform 2 of Mesothelin OS=Homo sapiens
    GN=MSLN
    MALPTRALLGSCGTPALGSLFLFLFSLGWVQPSRTLAGETGQEAAPLDGVLANPPNISS
LSPRQLLGFPCAEVSGLSTERVRELAVALAQKNVKLSTEQLRCLAHRLSEPPEDLDALPL
LLLLFLNPDAFSGPQACTRFFSRITKANVDLLFRGAPERQRLLPPAALACWGVRGSLSEA
DVRALGGLACDLPGRFVAESAEVLLPRLVSCPGPLDQDQQEAARAALQGGGPPYPPSTW
40 SVSTMDALRGLLPVLGQPIIRSIPQGIVAAWRQRSSRDPSWRQPERTILRPRFRREVEKT
ACPSGKKAREIDESLIFYKKWELEACVDAALLATQMDRVNAIPFTYEQLDVLKHKLDELY
PQGYPESVIQHLGYLFLKMSPEDIRKWNVTSLETLKALLEVNKGHEMSPQVATLIDRFVK
    
```


GRGQLDKDLDLTLTAFYPGYLCSLSPPEELSSVPPSSIWAVRPQDLDTCDPRQLDVLVYPKA
 RLAFQNMNGSEYFVKIQSFLGGAPTEDLKALSQQNVSMDLATFMKLRTDAVLPLTVAEVQ
 KLLGPHVEGLKAEERHRPVRDWILRQRQDDLDLGLGLQGGIPNGYLVLDLSMQEALSGT
 PCLLGGPGPVLTVLALLLASTLA

- 5 Wobei Mesothelin von den Aminosäuren 296-598 kodiert wird. Aminosäuren 37-286 kodieren für "megakaryocyte-potentiating factor". Mesothelin ist durch einen GPI-Anker in der Zellmembran verankert und ist extrazellulär lokalisiert.

(3) Carboanhydrase IX (SwissProt reference Q16790)

Sequenz (459 Aminosäuren):

10 >sp|Q16790|CAH9_HUMAN Carbonic anhydrase 9 OS=Homo sapiens GN=CA9
 PE=1 SV=2
 MAPLCFSPWLPFLIPAPAPGLTVQLLLSLLLLVPHVHPQRLPRMQEDSPLGGSSGEDDPL
 GEEDLPSEEDSPREEDPPGEEDLPGEEDLPGEEDLPEVKPKSEEEGSLKLEDLPTVEAPG
 DPQEPQNNNAHRDKEGDDQSHWRYGGDPPWPRVSPACAGRFQSPVDIRPQLAAFCPALRPL
 15 ELLGFQLPPLPELRLRNNGHSVQLTLPGLEMALGPGREYRALQLHLHWGAAGRPGSEHT
VEGHRFPAEIHVVHLSTAFARVDEALGRPGGLAVLAAFLLEEGPEENSAYEQLLSRLEEIA
EEGSETQVPGLDISALLPSDFSRYFOYEGSLTTPPCAQGVIVTFVNFQTVMLSAKQLHTLS
DTLWGPGRDRLQLNFRATQPLNGRVIEASFFAGVDSSPRAAEFVQLNSCLAAGDILALVF
 GLLFAVTSVAFLVQMRRQHRRGTRKGGVSYRPAEVAETGA

- 20 Die extrazelluläre Domäne ist durch Unterstreichung gekennzeichnet.

(4) C4.4a (NCBI reference sequence NP_055215.2; Synonym LYPD3)

Sequenz (346 Aminosäuren):

>gi|93004088|ref|NP_055215.2| ly6/PLAUR domain-containing protein
 3 precursor [Homo sapiens]
 25 MDPARKAGAQAAMIWTAGWLLLLLLLRGGAQALECYSCVQKADDGCSFNKMKTVKCAPGVDVCTEAVG
 AVETIHGQFSLAVRGCSSGLPGKNDRLDLHGLLAFIQQQCAQDRCAKLNLTSRALDPAGNESA
 YPPNGVECYSCVGLSREACQGTSPVVCYNASDHVYKGCDFGNVTLTAANVTVSLPVRGCVQDEF
 CTRDGVTPGPFITLSGCCQGSRCNSDLRNKTYFSPRIPLVRLPPEPTTVASTTSVTTSTSAFVR
 30 PTSTTKPMPAPTSQTPROGVEHEASRDEEPRLTGGAAGHQDRSNSGQYPAKGGPQOPHNKGCVAPT
AGLAALLLAVAAGVLL

Die maturierte, extrazelluläre Domäne ist durch Unterstreichung gekennzeichnet (SEQ ID NO:1).

(5) CD52 (NCBI reference sequence NP_001794.2)

>gi|68342030|ref|NP_001794.2| CAMPATH-1 antigen precursor [Homo
 sapiens]
 35 MKRFLFLLLTISLLVMVQIQTGLSGQNDTSQTSSPSASSNISGGIFLFFVANAIHLCFCFS

(6) Her2 (NCBI reference sequence NP_004439.2)

>gi|54792096|ref|NP_004439.2| receptor tyrosine-protein kinase
 erbB-2 isoform a [Homo sapiens]
 40 MELAALCRWGLLLALLPPGAASTQVCTGTDMKLRLPASPETHLDMLRHLYQGCQVVQGNLELTYP
 TNASLSFLQDIQEVQGYVLIAHNQVRQVPLQRLRIVRGTQLFEDNYALAVLDNGDPLNNTTPVTGA
 SPGGLRELQLRSLTEILKGGVLIQRNPQLCYQDTILWKDIFHKNNQLALTLIDTNRSRACHPCSPM

CKGSRWGESSEDCQSLTRTVCAAGGCARCKGPLPTDCCHEQCAAGCTGPKHSDCLACLHFNHSGIC
 ELHCPALVTYNTDTFESMPNPEGRYTFGASCVTACFPYNLSTDVGSCTLVCPLHNQEVTAEDGTQR
 CEKCSKPCARVCYGLGMEHLREVRAVTSANIQEFAGCKKIFGSLAFLPESFDGDPASNTAPLQPEQ
 LQVFETLEEITGYLYISAWPDSLPLDLSVFQNLQVIRGRILHNGAYSILTQGLGISWLGRLRSLRELQ
 5 SGLALIHNNHLCFVHTVPWDQLFRNPHQALLHTANRPEDECVGEGGLACHQLCARGHCWGPPTQC
 VNCSQFLRGQECVVEECRVLQGLPREYVNRHCLPCHPECPQNGSVTCFGEADQCVACAHYKDFP
 FCVARCPSGVKPDLSYMPIWKFPDEEGACQPCPINCTHSCVDLDDKGCPAEQRASPLTSIISAVVG
 ILLVVVLGVVFGILIKRRQOKIRKYTMRRLLQETELVEPLTPSGAMPNQAQMRIKETEELRKKVVL
 GSGAFGTVYKGIWIPDGENVKIPVAIKVLENTSPKANKEILDEAYVMAGVGSPLYVSRLLGICLTS
 10 TVQLVTQLMPYGCLLDHVRENRRGLSODLLNWCMIKAGMSYLEDVRLVHRDLAARNVLVKSPTH
 VKITDFGLARLLDIDETEYHADGGKVPKWMMALESILRRRFTHQSDVWSYGVTVWELMTFGAKPYD
 GIPAREIPDLLEKGERLPQPPICTIDVYIMVVKWMIDSECRPRFRELVSFESRMARDPQRFVVIQ
 NEDLGPASPLDSTFYRSLLEDDDMGDLVDAEYLVPPQGGFFCPDPAPGAGGMVHRRHRSSTRSGG
 15 GDLTLGLEPSEEEAPRSPLAPSEGAGSDVFDGDLGMAAKGLQSLPHTDPSPLQRYSEDPTVPLPS
 ETDGYVAPLTCSPQPEYVNQPDVRPQPPSPREGPLPAARPAGATLERPKTLPKNGVVKDVFVAFG
 GAVENPEYLTPOGGAAPQPHPPAFSPAFDNLYYWDQDPPERGAPPSTFKGTPTAENPEYLGLDV
 V

(7) CD20 (NCBI reference sequence NP_068769.2)

>gi|23110987|ref|NP_068769.2| B-lymphocyte antigen CD20 [Homo
 20 sapiens]
 MTTPRNSVNGTFFPAEPMKGPPIAMQSGPKPLFRMSSLVGPTQSFMRRESKTLGAVQIMNGLFHIAL
 GLLMIPAGIYAPICVTVWYPLWGGIMYIISGSLAATEKNSRKCLVKGKMIMNSLSLFAAISGMI
 LSIMDILNIKISHFLKMESLNFIRAHTPYINIYNCEPANPSEKNSPSTQYCYSIQSLFLGILSVML
 25 IFAFFQELVIAGIVENEWKRTCSRPKSNIVLLSAEEKKEQTIEIKEEVVGLTETSSQPKNEEDIEI
 IPIQEEEEETETNFPEPPQDQESSPIENDSSP

(8) das Lymphozyten aktivierungs Antigen CD30 (SwissProt ID P28908)

>gi|68348711|ref|NP_001234.2| tumor necrosis factor receptor superfamily member 8 isoform 1
 precursor [Homo sapiens]
 30 MRVLLAALGLLFLGALRAFPQDRPFEDTCHGNPSSHYYDKAVRRCYRCMPGLFPTQPCQRPPTDCR
 KQCEPDYYLDEADRCTACVTCRDDLVEKTPCAWNSSRVCECRPGMFCSTSAVNSCARCFFHVSVC
 AGMIVKFPGTAQKNTVCEPASPGVSPACASPENCKEPPSSGTIPQAKPTPVSPATSSASTMPVRGGT
 RLAQEAASKLTRAPDSPSSVGRPSSDPGLSPTQPCPEGSGDCRQCEPDYYLDEAGRCTACVSCSR
 DDLVEKTPCAWNSRTECECRPGMICATSATNSRARCVPYPICAAETVTKPQDMAEKDITFEAPPLG
 35 TQPDNCNPTPENGEAPASTSPTQSLLVDSQASKTLPIPTAPVALSSTGKPVLDAGPVLFVWVILVLV
 VVVGSSAFLCHRRACKRIRIQKLHLCPVQTSQPKLELVDSRPRRSSTQLRSGASVTEPVAEERG
 LMSQPLMETCHSVGAAYLESPLQDASPAGGSSPRDLPEPRVSTEHTNKKIEKIYIMKADTVIVG
 TVKAELPEGRGLAGPAEPELEEELEADHTPHYPEQETEPEPLGSCSDVMLSVEEEGKEDPLPTAASK
 K

(9) das Lymphozyten Adhensionsmolekül CD22 (SwissProt ID P20273)

40 >gi|157168355|ref|NP_001762.2| B-cell receptor CD22 isoform 1 precursor [Homo sapiens]
 MHLGPGWLLLLLVLEYLAFSDSSKWFVEHPETLYAWEGACVWIPTYRALDGDLESFILFHNPEYKN
 NTSKFDGTRLYESTKDGKVPSEQKRVQFLGDKNKNCTLSIHPVHLNDSGQLGLRMESKTEKWMERI
 HLNVSERPFPHIQLPPEIQESQEVTLTCLLNFCYGYPIQLQWLLLEGVPMRQAQAVTSTSLTIKSV
 FTRSELKFSPOWSSHGKIVTCQLQDADGKFLSNDTVQLNVKHTPKLEIKVTPSDAIVREGDSVTMT
 45 CEVSSSNPEYTTVSWLKDGTSLKKQNTFTLNLREVTKDQSGKYCCQVSNVGVGPRSEEVFLQVQYA
 PEPSTVQILHSPAVEGSQVEFLCMLANPLPTNYTWYHNGKEMQGRTEEKVHIPKILPWHAGTYSC
 VAENILGTGQRGPGAELDVQYPPKVVTTVIQNPMPIREGDTVTLSCNYNSSNPSVTRYEWKPHGAW
 EEPVSLGVLKIQNVGWDNTTIIACAACNSWCSWASEVALNVQYAPRDVVRKIKPLSEIHSNGNSVSLQ
 CDFSSSHPEKVQFFWEKNGRLLGKESQLNFDSSISPEDAGSYSCWVNNSIGQTASKAWTLEVLYAPR
 50 RLRVSMSPGDQVMEGKSATLTCESDANPPVSHYTWFDWNNQSLPYHSQKLRLEPVKVQHSQAYWCQ

GTNSVVGKGRSPLSTLTVYYSPETIGRRVAVGLGSCLAAILILAICGLKLRWRKRTQSQQGLQENSS
 QQSFFVRNKKVRRAPLSEGFHSLGCYNPMMEDGISYTTLRFPENIIPRTGDAESSEMQRPPFDCCD
 TVTYSALHKRQVGDYENVIPDFPEDEGIHYSELIQFGVGERPQAQENVDYVILKH

(10) das Myloidzellen Oberflächenantigen CD33 (SwissProt ID **P20138**)

5 >gi|130979981|ref|NP_001763.3| myeloid cell surface antigen CD33 isoform 1 precursor [Homo sapiens]

MPLLLLLLPLWAGALAMPNFWLQVQESVTVQEGLCVLPCTFFFHPIPYDKNSPVHGYWFREGAI
 ISRDSPVATNKLQEQVEETQGRFRLLGDPSRNNCSLSIVDARRRDNGSYFFRMERGSTKYSYKSP
 QLSVHVTDLTHRPKILIPGTLPEPGHKNLTCVSWACEQGTFFIFSWLSAAPTSLGPRTHSSVLI
 10 ITPRPQDHGTNLTCQVKFAGAGVTTERTIQLNVTYVFPQNPPTTGIFFPGDGSQKQETRAGVVHGAIGG
 AGVTALLALCLCLIFFIVKTHRRKAARTAVGRNDTHPTTGSASPKHQKSKLHGPTETSSCSGAAP
 TVEMDEELHYASLNFHGMNPSKDTSTEYSEVRTQ

(11) das Transmembran Glykoprotein NMB (SwissProt ID **Q14956**)

15 >gi|52694752|ref|NP_001005340.1| transmembrane glycoprotein NMB isoform a precursor [Homo sapiens]

MECLYFYLGFLLLAARLPLDAAKRFHDVLGNERPSAYMREHNQLNGWSSDENDWNEKLYPVWKRGD
 MRWKNWSKGGRRVQAVLTSDSPALVGSNITFAVNLIFFPCQKEDANGNI VYEKNCRNEAGLSADPYV
 YNWTAWSESDSDGENGTGQSHHNVPDGGKPFPHHPGWRWNFIYVFHTLGQYFQKLGRCSVRVSVNT
 ANVTLGPQLMEVTVYRRHGRAYVPIAQVKDVYVVTDOI PVFVTFMQKNDRNSDETFLKDLPI MF
 20 VLIHDPHFNLNYSTINYKWSFGDNTGLFVSTNHTVNHTYVVLNGTFSLNLTVKAAAPGPCPPPPPP
 RPSKPTPSLATTLSYDSNTPGPAGDNPLELSRIPDENCQINRYGHFQATITIVEGILEVNI IQMT
 DVLMPVPWPESLIDFVVTQGS IPTEVCTIISDPTCEITQNTVCS PVDVDEMCLLTVRRTFNGSG
 TYCVNLTGLDDTSLALTSTLISVPRDPASPLRMANSALISVGCLAIFVTVISLLVYKKHKEYNPI
 ENSPGNVVRSKGLSVFLNRAKAVFFPGNQEKDPLLNQEFKGV

25 (12) das Adhesionsmolekül CD56 (SwissProt ID **P13591**)

>gi|94420689|ref|NP_000606.3| neural cell adhesion molecule 1 isoform 1 [Homo sapiens]

MLQTKDLIWTLFFLGTAVSLQVDIVPSQGEISVGESKFFLCQVAGDAKDKDISWFSNNGEKLTPNQ
 QRISVVWNDSSSTLTIYNANIDDAGIYKCVVTGEDGSESEATVNVKIFQKLMFKNAPTQEFREG
 EDAVIVCDVVSLEPTI IWKHKGRDVILKDKVRFIVLSNNYLQIRGIKKTDEGTYRCEGRILARGE
 30 INFKDIQVIVNVPPTIQRQNI VNATANLGQSVTLVCD AEGFPPEPTMSWTKDGEQIEQEEDEDEKYI
 FSDDSSQLTIKKVDKNDEAEYICIAENKAGEQDATIHLKVFAPKPKITYVENQTAMELEEQVTLTCE
 ASGDPIPSITWRTSTRNISSEKTLDGHMVVRSHARVSSLTLSIQYTDAGEYICTASNTIGQDSQ
 SMYLEVQYAPKLQGPVAVYTWEGN
 QVNITCEVFAYPSATISWFRDGLLPSSNYSNIKIYNTPSASYLEVTPDSENDGNYNCTAVNRIG
 35 QESLEFILVQADTPSSPSIDQVEPYSSTAQVQFDEPEATGGVPI LKYKAWRVAVGEEVWHKWKYDA
 KEASMEGIVTIVGLKPETTYAVRLAALNGKGLGEISAASEFKTQPVQGEPSAPKLEGQMGEDGNSI
 KVNLIKQDDGGSPIRHYLVRYRALSSEWKPEIRLPSGSDHVMLKSLDWNAAEYEVYVAENQQGKSK
 AAHFVFR TSAQPTAIPANGSPTSGLSTGAI VGI LVI FVLLLVVDITCYFLNKCGLFMCIAVNLC
 GKAGPGAKGKDMEEGKAAFSKDESKEPIVEVRTEEERTPNHDGGKHTEPNETTPLTEPEKGPVEAK
 40 PECQETETKPAPAEVKTVPNDATQTKENESKA

(13) das Oberflächenmolekül CD70 (SwissProt ID **P32970**)

>gi|4507605|ref|NP_001243.1| CD70 antigen [Homo sapiens]

MPEEGSGCSVRRRPYGCVLRAALVPLVAGLVICLVVCIQRFAQAQQQLPLESLGWDVAELQLNHTG
 PQQDPRLYWQGGPALGRSFLHGPPELDKGQLRIHRDGIYMVHIQVTLAICSSTTASRHHPTTAVGI
 45 CSPASRSISLLRSLFHQGCTIASQRLTPLARGDTLCTNLTGTLPSRNTDETFFGVQWVRP

(14) das Oberflächenmolekül CD74 (SwissProt ID P04233)

>gi|10835071|ref|NP_004346.1| HLA class II histocompatibility antigen gamma chain isoform b [Homo sapiens]

MHRRRSRSCREDQKPVMDQDRLISNNEQLPMLGRRPGAPESKCSR GALYTGF SILVTL LLAGQAT
 5 TAYFLYQQQGR LDKLTVTSQNLQLENLRMKLPKPKPKVSKMRMATFLLMQALPMGALPQGPMQ
 KYGNMTEHDHVMHLIQNADPLKVYPPLKGSFPENLRHLKNTMETIDWKVFESWMHHWLLFEMSRHSL
 EQKPTDAPPKESLELEDPS SGLGVTKQDLGFPVM

(15) das B-Lymphozyten Antigen CD19 (SwissProt ID P15391)

>gi|296010921|ref|NP_001171569.1| B-lymphocyte antigen CD19 isoform 1 precursor [Homo sapiens]

MPPRRLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKGTSDGPTQQLTWSRESPLKPFKLKLSL
 GLPGLGIHMRPLAIWLFIFNVSQQMGGFYLCQPGPPSEKAWQPGWTVNVEGSGELFRWNVSDLGGL
 GCGLKNRSSEGPSSPSGKLMSPKLYVWAKDRPEIWEGEPPCLPPRDSL NQSLSQDLTMAPGSTLWL
 SCGVPPDSVSRGPLSWTHVHPKPKSLLSLELKDDRPARDMWVME TGLLLPRATAQDAGKYYCHRG
 15 NLTMSFHLEITARPVLWHWLLRTGGWKVSAVTLAYLIFCLCSLVGILHLQRALVLRKRKRMTDPT
 RRFKVTPPPSSGPNQYGNVLSLFTPTSGLGRAQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQADGALGSRSP
 PGVGP EEEEEGE GYEEPDSEEDSEFYENDSNLGDQDLSQDGSYENPEDEPLGPEDEDSFSNAESYE
 NEDEELTQPVARTMDFLSPHGS AWDPSREATSLAGSQSYEDMRGILYAAPQLRSIRGQPGPNHEED
 ADSYENMDNPDGPDPAWGGGGRMGTWSTR

20 (16) das Oberflächenprotein Mucin-1 (SwissProt ID P15941)

>gi|65301117|ref|NP_002447.4| mucin-1 isoform 1 precursor [Homo sapiens]

MTPGTQSPFFLLLLLLTVLTVVTGSGHASSTPGGEKETSATQRSSVPSSTEKNALSTGVSFFFLSFH
 ISNLQFNSSLEDPSTDYQELQRDISEMFLQIYKQGGFLGLSNIKFRPGSVVQLTLAFREGTINV
 HDVETQFNQYKTEAASRYNLTISDVSVDVFPFSAQSGAGVPGWGIALLVLCVLVALAIVYLIA
 25 LAVCQCRKNYQQLDIFPARTYHPMSEYPTYHTHGRYVPPSSSTRSPYEKVSAGNGGSSLSYTNP
 AVAATSANL

(17) das Oberflächenprotein CD138 (SwissProt ID P18827)

>gi|29568086|ref|NP_002988.3| syndecan-1 precursor [Homo sapiens]

MRRAALWLWLCALALS LQPALPQIVATNLPPEDQDGS GDDSDNFSGS GAGALQDITLSQQTPSTWK
 30 DTQLLTAIPT SPEPTGLEATAASTSTLPAGEGPKGEAVVLP EPEPGLTAREQEATPRPRETTQLP
 TTHQASTTTATTAQE PATSHPHRDMQPGHETSTPAGFSQADLHTPH TEDGGPSATERAAEDGASS
 QLPAAE GSGEQDFTFETS GENTAVVAVEPDRRNQSPVDQ GATGASQGLLDRKEVLGGV IAGGLVGL
 IFAVCLVGFMLYRMKKKDEGSYSLEEPKQANGGAYQKPTKQEEFYA

(18) das Integrin alphaV (Genbank Accession No.: NP_002201.1)

35 >gi|4504763|ref|NP_002201.1| integrin alpha-V isoform 1 precursor [Homo sapiens]

MAFPFRRRLRLGPRGLP LLLSGLLLPLCRAFNL DVDS PAEYSGPEGSYFGFAVDFVFP SASSRMFL
 LVGAPKANTTQPGIVEGGQVLKCDWSSTRRCQPIEF DATGNRDYAKDDPLEFKSHQWFGASVRSKQ
 DKILACAPLYHWRTEMKQEREPVGT CFLQDGTKTVEYAPCRSQDIDADGQGF CQGGFSIDFTKADR
 VLLGGPGS FYWQQLISDQVAEIVSKYDENVYSIKYNNQLATRTAQAI FDDSYLGY SVAVGDFNGD
 40 GIDDFVSGV PRAARTLGMVYIYDGKNMSSLYNFTGEQMAAYFGFSVAATDINGDDYADVFIGAPLF
 MDRGSDGKLQEVGQVSVSLQRASGDFQTTKLN GFVFAFGSAIAPLGDLDQDGFNDIAIAAPYGG
 EDKKGIVYIFNGRSTGLNAVPSQILEGQWAARSMPPSFGYS MKGATDIDKNGY PDLIVGAFGVDR
 ILYRARPVITVNAGLEVYPSILNQDNKTCSLPGTALKVSCFNVRFLKADGKGVLP RKLNFQV ELL
 LDKLKQKGAI RRALFLYSRSPSHSKNMTISRGGLMQCEELIAYLRDESEFRDKLTPITIFMEYRLD

YRTAADTTGLQPIILNQFTPANISRQAHIILLDCGEDNVCKPKLEVSVSDSQKKIYIGDDNPLTLIVK
 AQNQEGEGAYEAELIVSIPLOADFIGVVRNNEALARLSCAFKTENQTRQVVCVLDLGNPMKAGTQLLAG
 LRFVSVHQQSEMDTSVKFDLQIQSSNLFDKVSPVSSHKVDLAVLAAVEIRGVSSPDHIFLPIPNWEH
 KENPETEEDVGPVVQHIYELRNNGPSSFSKAMLHLQWPYKYNNTLLYLHYDIDGPMNCTSDMEI
 5 NPLRIKISSLOTTEKNDTVAGQGERDHLITKRDLALSEGDIHTLGCQVAQCLKIVCQVGRDLDRGKS
 AILYVKSLLTWETETFMNKENQNHSSYSLKSSASFNVIEFPYKNLPIEDITNSTLVTNTVWGIQFPAM
 PVPVWVILAVLAGLLLLLAVLVFVMYRMGFFKRVRRPQEEQEREQLQPHENGEENSET

(19) das teratocarcinoma-derived growth factor 1 Protein TDGF1 (Genbank Accession No.: NP_003203.1)

10 >gi|4507425|ref|NP_003203.1| teratocarcinoma-derived growth factor 1 isoform 1 precursor [Homo sapiens]

MDCRKMARFSYSVIWIMAI SKVFELGLVAGLGHQEFARPSRGYLAFRDSDIWPQEEPAIRPRSSQR
 VPPMGIQHSKELNRTCCNLGGTCMLGSFCACPPSFYGRNCEHDVRKENCGSVPHDTWLPKKCSLCK
 CWHGQLRCFPQAFPLPGCDGLVMDEHLVASRTPPELPPSARTTTTFLVGLICLSIQSY

15 (20) das Prostata spezifische Membranantigen PSMA (Swiss Prot ID: Q04609)

>gi|4758398|ref|NP_004467.1| glutamate carboxypeptidase 2 isoform 1 [Homo sapiens]

MWNLLHETDSAVATARRRPRLCAGALVLAGGFLLGFLFGWFIKSSNEATNITPKHNMKAFLDELK
 AENIKKFLYNFTQIPHLAGTEQNFQAKQIQSQWKEFGLDSVELAHYDVLLSYPNKTHPNYISIIIN
 EDGNEIFNTSLFEPPPPGYENVSDIVPPFSAFSPQGMPEGLVYVNYARTEDFFKLERDMKINCSG
 20 KIVIARYGKVFVRGNKVKNAQLAGAKGVILYSDPADYFAPGVKSYPDGWNLPGGGVQRGNILNLNGA
 GDPLTPGYPANAYARRGIAEAVGLPSIPVHPIGYDYDAQKLEKMGGSAPPDSSWRGSLKVPYNVVG
 PGFTGNFSTQKVKMHIHSTNEVTRIYNVIGTLRGAVEPDRYVILGGHRDSWVFGGIDPQSGAAVVH
 EIVRSFGTLKKEGWRPRRTILFASWDAEEFGLLGSTEWAEENSRLQERGVAYINADSSIEGNYTL
 RVDCTPLMYSLVHNLTKELKSPDEGFEGKSLYESWTKKSPSPEFSGMPRI SKLGSNGNDFEVFFQRL
 25 GIASGRARYTKNWETNKFSGYPLYHSVYETYELVEKFYDPMFKYHLTVAQVRGGMVFEELANSIVLP
 FDCRDYAVVLRKYADKIYSISMKHPQEMKTYSVSFDLSFSAVKNFTEIASKFSERLQDFDKSNPIV
 LRMMNDQLMFLERAFIDPLGLPDRPFYRHVIYAPSSHKNKYAGESFPGIYDALFDIESKVDPSKAWG
 EVKRQIYVAAFTVQAAAETLSEVA

(21) die Tyrosin-Proteinkinase EPHA2 (Swiss Prot ID: P29317)

30 >gi|32967311|ref|NP_004422.2| ephrin type-A receptor 2 precursor [Homo sapiens]

MELQAARACFALLWGCALAAAAAQQKEVLLDFAAAGGELGWLTHFYGKGWDLMQNIMNDMPIYM
 YSVCNVMSGDQDNWLRNTNWVYRGEAERIFIELKFTVRDCNSFPGGASSCKETFNLYAESDLDYGT
 NFQKRLFTKIDTIAPDEITVSSDFEARHVKLNVEERSVGPLTRKGFYLAQDQIGACVALLSVRVYY
 KKCPPELLQGLAHPETIAGSDAPSLATVAGTCVDHAVVPPGGEEPRMHCVAVDGEWLVP I GQCLCOA
 35 GYEKVEDACQACSPGFFKFEASESPCLECPEHTLPSPEGATSCECEEGFFRAPQDPASMPCTRPPS
 APHYLTAVGMGAKVELRWTPPQDSGGREDIVYSVTCEQCWPESGECGPEASVRYSEPPHGLTRTS
 VTVSDLEPHMNYTFTVEARNGVSGLVTSRSFRTASVSIHQTEPPKVRLEGRSTTSLSVSWSI PPPQ
 QSRVWKYEVYTRKKGDSNSYNVRRTEGFSVTLDDLAPDITYLVQVQALTQEQGGAGSKVHEFFQTL
 PEGSGNLAVIGGVAVGVLVLLVLAGVGFTHRRRKNQRARQSPEDVYFSKSEQLKPLKTYVDPHTY
 40 EDPNQAVLKFTTEIHPSCVTRQKVI GAGEFGEVYKGMKLTSSGKKEVPVAIKTLKAGYTEKQRVDF
 LG EAGIMGFSSHNIIRLEGVI SKYKPMMIITEYMEGALDKFLREKDGFEFVQLVGLMRGIAAG
 MKYLANMNYVHRDLAARNILVNSNLVCKVSDFGLSRVLEDDPEATYTTSGGKIPIRWTAPEAISYR
 KFTSASDVWSFGIWMVEVMTYGERPYWELSNHEVMKAINDFRLPTPMDCPSAIYQLMMQCWQQR
 ARRPKEADIVSILDKLIRAPDSLKTLADFDPVRSIRLPSTSGSEGVPPFRTVSEWLESIKMQQYTEH
 45 FMAAGYTAIEKVVQMTNDDIKRIGVRLPGHQKRIAYSLLGLKDQVNTVGIPI

(22) das Oberflächenprotein SLC44A4 (Genbank Accession No: NP_001171515)

- 256 -

>gi|295849282|ref|NP_001171515.1| choline transporter-like protein 4 isoform 2 [Homo sapiens]

MGGKQRDEDEAYGKPKVYDPSFRGPIKNRSCDVI CCVLFLLF ILGYIVVGIVAWLYGDPRQVLY
 PRNSTGAYCGMGENKDKPYLLYFNIFSCILSSNII SVAENGLQCPTPQT VITSLQQELCPSFLLPS
 APALGRCFPWTNVTFPALPGITNDTTIQGIGSLIDSLNARDISVKIFEDFAQSWYWILVALGVAL
 5 VLSLLFILLRLVAGPLVVLVLI LGVLGVLAYGIYYCWEEYRVL RDKGASISQLGFTTNLSAYQSVQ
 ETWLAALIVLAVLEAII LLLMLIFLRQRIRIAIALLKEASKAVGQMMSTMFYPLVTFVLLLCIAYW
 AMTALYLATSGQPQYV LWASNISSPGCEKVPINTSCNPTAHLVNSSCPGLMCFVQGYSSKGLIQRS
 VFNLQIYGVLGLFWTLNWNVLALGQCVLGAFASFYWAFHKPQDIPTFFPLISAFIRTLRYHTGSLAF
 10 GALILTLVQIARVILEYIDHKL RGVQNPVARCICCFKCLWCLEKFIKFLNRNAYIMIAIYGKNF
 CVSAKNAFMLLMRNI VRVVVLDKVTDLLFFGKLLVVGGVVLSFFFPSGRIPGLGKDFKSPHLNY
 YWLPIMTSSILGAYVIASGFFSVFGMCDVTLFLCFLEDLERNNGSLDRPYMSKSLKILGKKNEAP
 PDNKKRKK

(23) das Oberflächenprotein BMPRI1B (SwissProt: O00238)

(24) das Transportprotein SLC7A5 (SwissProt: Q01650)

15 (25) das epitheliale Psostataantigen STEAP1 (SwissProt: Q9UHE8)

(26) das Ovarkarzinomantigen MUC16 (SwissProt: Q8WXI7)

(27) das Transportprotein SLC34A2 (SwissProt: O95436)

(28) das Oberflächenprotein SEMA5b (SwissProt: Q9P283)

(29) das Oberflächenprotein LYPD1 (SwissProt: Q8N2G4)

20 (30) der Endothelin Rezeptor Typ B EDNRB (SwissProt: P24530)

(31) das Ringfingerprotein RNF43 (SwissProt: Q68DV7)

(32) das Prostatakarzinom-assoziierte Protein STEAP2 (SwissProt: Q8NFT2)

(33) der Kationenkanal TRPM4 (SwissProt: Q8TD43)

(34) der Komplementrezeptor CD21 (SwissProt: P20023)

25 (35) das B-Zell Antigen Rezeptorkomplex-assoziierte Protein CD79b (SwissProt: P40259)

(36) das Zelladhäsionsantigen CEACAM6 (SwissProt: P40199)

(37) die Dipeptidase DPEP1 (SwissProt: P16444)

(38) der Interleukinrezeptor IL20Ralpha (SwissProt: Q9UHF4)

(39) das Proteoglykan BCAN (SwissProt: Q96GW7)

30 (40) der Ephrin Rezeptor EPHB2 (SwissProt: P29323)

- 257 -

- (41) das Prostatastammzellenl-assoziierte Protein PSCA (Genbank Accession No: NP_005663.2)
- (42) das Oberflächenprotein LHFPL3 (SwissProt: Q86UP9)
- (43) das Rezeptorprotein TNFRSF13C (SwissProt: Q96RJ3)
- (44) das B-Zell Antigen Rezeptorkomplex-assoziierte Protein CD79a (SwissProt: P11912)
- 5 (45) das Rezeptorprotein CXCR5 (SwissProt: P32302)
- (46) der Ionenkanal P2X5 (SwissProt: Q93086)
- (47) das Lymphozytenantigen CD180 (SwissProt: Q99467)
- (48) das Rezeptorprotein FCRL1 (SwissProt: Q96LA6)
- (49) das Rezeptorprotein FCRL5 (SwissProt: Q96RD9)
- 10 (50) das MHC Klasse II Molekül Ia Antigen HLA-DOB (Genbank Accession No: NP_002111.1)
- (51) das T-Zell Protein VTCN1 (SwissProt: Q7Z7D3).

In einem bevorzugten Gegenstand der Erfindung ist das Krebs-Zielmolekül ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus den Krebs-Zielmolekülen (1) – (51).

- 15 In einem weiteren besonders bevorzugten Gegenstand der Erfindung bindet der Binder an ein extrazelluläres Krebs-Zielmolekül, welches ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus den Krebs-Zielmolekülen (1) – (51).

In einem weiteren besonders bevorzugten Gegenstand der Erfindung bindet der Binder spezifisch an ein extrazelluläres Krebs-Zielmolekül, welches ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus den Krebs-Zielmolekülen (1) – (51).

- 20 In einem besonders bevorzugten Gegenstand der Erfindung ist das Krebs-Zielmolekül ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus EGF-Rezeptor (NP_005219.2), Mesothelin (Q13421-3), C4.4a (NP_055215.2) und Carboanhydrase IX (CA IX; NP_001207.2).

- 25 In einem weiteren besonders bevorzugten Gegenstand der Erfindung bindet der Binder an ein extrazelluläres Krebs-Zielmolekül, welches ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus EGF-Rezeptor (NP_005219.2), Mesothelin (Q13421-3), C4.4a (NP_055215.2) und Carboanhydrase IX (CA IX; Q16790).

- 258 -

In einem weiteren besonders bevorzugten Gegenstand der Erfindung bindet der Binder spezifisch an ein extrazelluläres Krebs-Zielmolekül, welches ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus EGF-Rezeptor (NP_005219.2), Mesothelin (Q13421-3), C4.4a (NP_055215.2) und Carboanhydrase IX (CA IX; Q16790).

- 5 In einer bevorzugten Ausführungsform wird der Binder nach Bindung an sein extrazelluläres Zielmolekül auf der Zielzelle durch die Bindung von der Zielzelle internalisiert. Dies bewirkt, dass das Binder-Wirkstoffkonjugat, welches ein Immunokonjugat oder ein ADC sein kann, von der Zielzelle aufgenommen wird.

- In einer Ausführungsform ist der Binder ein Bindeprotein. In einer bevorzugten Ausführungsform
10 ist der Binder ein Antikörper, ein antigen-bindendes Antikörperfragment, ein multispezifischer Antikörper oder ein Antikörpermimetikum.

Bevorzugte Antikörpermimetika sind Affibodies, Adnectins, Anticalins, DARPins, Avimers, oder Nanobodies. Bevorzugte multispezifischer Antikörper sind bispezifische und trispezifische Antikörper.

- 15 In einer bevorzugten Ausführungsform ist der Binder ein Antikörper oder ein antigen-bindendes Antikörperfragment, weiter bevorzugt ist ein isolierter Antikörper oder ein isoliertes antigen-bindendes Antikörperfragment.

Bevorzugte antigen-bindende Antikörperfragmente sind Fab, Fab', F(ab')₂ und Fv Fragmente, Diabodies, DAbs, lineare Antikörper und scFv. Besonders bevorzugt sind Fab, Diabodies und scFv.

- 20 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist der Binder ein Antikörper. Besonders bevorzugt sind monoklonale Antikörper oder antigen-bindende Antikörperfragmente davon. Weiter besonders bevorzugt sind humane, humanisierte oder chimäre Antikörper oder antigen-bindende Antikörperfragmente davon.

- Antikörper oder antigen-bindende Antikörperfragmente, die Krebs-Zielmoleküle binden, können
25 vom Durchschnittsfachmann mit bekannten Verfahren hergestellt werden, wie z.B. chemische Synthese oder rekombinante Expression. Binder für Krebs-Zielmoleküle können kommerziell erworben werden oder können durch den Durchschnittsfachmann mit bekannten Verfahren hergestellt werden, wie z.B. chemische Synthese oder rekombinante Expression. Weitere Verfahren zur Herstellung von Antikörpern oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten sind in WO
30 2007/070538 beschrieben (siehe Seite 22 „Antibodies“). Der Fachmann kennt Verfahren wie sogenannte Phage-Display Bibliotheken (z.B. Morphosys HuCAL Gold) erstellt und zur Auffindung von Antikörpern oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten verwendet werden können (siehe WO 2007/070538, Seite 24 ff und Beispiel 1 auf Seite 70, Beispiel 2 auf Seite 72).

- 259 -

Weitere Verfahren zur Herstellung von Antikörper, die DNA Bibliotheken aus B-Zellen verwenden, sind zum Beispiel auf Seite 26 (WO 2007/070538) beschrieben. Verfahren zur Humanisierung von Antikörpern sind auf Seite 30-32 von WO2007070538 und im Detail in Queen, et al., Pros. Natl. Acad. Sci. USA 86:10029-10033, 1989 oder in WO 90/0786 beschrieben. Des

5 Weiteren sind dem Fachmann Verfahren zur rekombinanten Expression von Proteinen im allgemeinen und im speziellen von Antikörpern bekannt (siehe z.B. in Berger and Kimnel (Guide to Molecular Cloning Techniques, Methods in Enzymology, Vol. 152, Academic Press, Inc.); Sambrook, et al., (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Cold Spring Harbor, N.Y.; 1989) Vol. 1-3); Current Protocols in Molecular

10 Biology, (F. M. Ausabel et al. [Eds.], Current Protocols, Green Publishing Associates, Inc. / John Wiley & Sons, Inc.); Harlow et al., (Monoclonal Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1988), Paul [Ed.]); Fundamental Immunology, (Lippincott Williams & Wilkins (1998)); and Harlow, et al., (Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1998)). Der Fachmann kennt die entsprechenden Vektoren, Promotoren und

15 Signalpeptide die zur Expression eines Proteins/Antikörpers notwendig sind. Gebräuchliche Verfahren sind auch in WO 2007/070538 auf den Seiten 41 – 45 beschrieben. Verfahren zur Herstellung eines IgG1-Antikörpers sind z.B. in WO 2007/070538 in Beispiel 6 auf Seite 74 ff beschrieben. Verfahren, mit denen die Internalisierung eines Antikörpers nach Bindung an sein Antigen bestimmt werden kann, sind dem Fachmann bekannt und sind z.B. in WO 2007/070538

20 auf Seite 80 beschrieben. Der Fachmann kann die in WO 2007/070538 beschriebenen Verfahren, die zur Herstellung von Carboanhydrase IX (Mn)-Antikörpern verwendet wurden, analog zur Herstellung für Antikörper mit anderer Zielmolekülspezifität verwenden.

EGFR-Antikörper

Beispiele für Antikörper, die das Krebs-Zielmoleküle EGFR binden, sind Cetuximab (INN

25 Nummer 7906), Panitumumab (INN Nummer 8499) und Nimotuzumab (INN Nummer 8545). Cetuximab (Drug Bank Accession Number DB00002) ist ein chimärer anti-EGFR1-Antikörper, der in SP2/0 Maus-Myelom-Zellen produziert wird und von ImClone Systems Inc/Merck KgaA/Bristol-Myers Squibb Co vertrieben wird. Cetuximab ist indiziert zur Behandlung des metastasierenden, EGFR exprimierenden Kolorektalkarzinoms mit Wildtyp-K-Ras Gen. Er hat

30 eine Affinität von 10^{-10} M.

Sequenz:

Cetuximab Leichte Kette (kappa):

DILLTQSPVILSVSPGERVDFSCRASQSIGTNIHWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSG
SGTDFTLSINSVESEDIADYYCQQNNWPTTFGAGTKLELKRVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV

VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH
 QGLSSPVTKSFNRGEC

Cetuximab Schwere Kette:

5 QVQLKQSGPGLVQPSQSLISITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSSGNTDYNTFPFTSR
 LSINKDNSKSKQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLVTVSAASTKGPSVFPLAP
 SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ
 TYICNVNHKPSNTKVKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
 VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
 10 PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
 PFVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Panitumumab (INN Nummer 8499) (Drug Bank Accession Number DB01269) ist ein
 rekombinanter monoklonaler humaner IgG2 Antikörper, der spezifisch an den humanen EGF-
 Rezeptor I bindet und von Abgenix / Amgen vertrieben wird. Panitumumab stammt aus der
 Immunisierung von transgenen Mäusen (XenoMouse). Diese Mäuse sind in der Lage humane
 15 Immunglobuline (leichte und schwere Ketten) zu produzieren. Es wurde ein spezieller B-Zell-Klon
 ausgewählt, der Antikörper gegen EGFR produziert, und dieser mit CHO-Zellen (Chinese hamster
 ovary cells) immortalisiert. Diese Zellen werden jetzt für die Produktion eines zu 100 % humanen
 Antikörpers verwendet. Panitumumab ist indiziert zur Behandlung des EGFR-exprimierenden,
 metastasierenden Kolorektalkarzinoms, das refraktär gegenüber einer chemotherapeutischen
 20 Behandlung mit Fluropirimidin, Oxaliplatin und Irinotecan ist. Er hat eine Affinität von 10-11M.

Sequenz:

Panitumumab Leichte Kette (kappa):

25 DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCQASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFRSGSG
 SGTDFTFITISLQPEDIAFYFCQHFHDLPLAFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV
 VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH
 QGLSSPVTKSFNRGEC

Panitumumab Schwere Kette:

30 QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGDYYWTWIRQSPGKGLEWIGHIYSGNTNYPNPSLK
 SRLTISIDTSKTKQFSLKLSVTAADTAIYYCVRDRVTGAFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAP
 CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQ
 TYTCNVDHKPSNTKVKDKTVERKCCVECPAPFVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
 SHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPI
 EKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPML
 DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

35 Bei Nimotuzumab (INN Nummer 8545) (EP 00586002, EP 00712863) handelt es sich um einen
 humanisierten monoklonalen IgG1 Antikörper, der spezifisch an den humanen EGF-Rezeptor I
 bindet und von YM BioSciencs Inc. (Mississauga Canada) vertrieben wird. Er wird in nicht-
 sekretierenden NSO-Zellen (Säugerzelllinie) produziert. Nimotuzumab ist zugelassen zur
 Behandlung von Kopf- und Halstumoren, hoch-malignem Astrocytoma und Glioblastoma

- 261 -

multiforme (nicht in EU und US) und Pankreaskarzinom (Orphan drug, EMA). Er hat eine Affinität von 10^{-8} M.

Weitere Ausführungsformen für EGFR-Antikörper sind:

- 5 • Zalutumumab / 2F8 / HuMax-EGFr, Firma Genmab A/S (WO 02/100348, WO 2004/056847, INN-Nummer 8605)
- Necitumumab / 11F8, ImClone / IMC-11F8, Firma ImClone Systems Inc [Eli Lilly & Co] (WO 2005/090407 (EP 01735348-A1, US 2007/0264253-A1, US 7,598,350, WO 2005/090407-A1), INN- Nummer 9083)
- 10 • Matuzumab / anti-EGFR MAb, Merck KGaA / anti-EGFR MAb, Takeda / EMD 72000 / EMD-6200 / EMD-72000 und EMD-55900 / MAb 425 / monoclonal antibody 425, Firma Merck KGaA / Takeda (WO 92/15683, INN-Nummer 8103 (Matuzumab))
- RG-7160 / GA-201 / GA201 / R-7160 / R7160 / RG7160 / RO-4858696 / RO-5083945 / RO4858696 / RO5083945, Firma Glycart Biotechnology AG (Roche Holding AG) (WO 2010/112413-A1, WO 2010/115554)
- 15 • GT-MAB 5.2-GEX / CetuGEX, Firma Glycotope GmbH (WO 2008/028686-A2 (EP 01900750-A1, EP 01911766-A1, EP 02073842-A2, US 2010/0028947-A1)
- ISU-101, Firma Isu Abxis Inc (ISU Chemical Co Ltd) / Scancell (WO 2008/004834-A1)
- ABT-806 / mAb-806 / ch-806 / anti-EGFR monoc. antibody 806, Firma Ludwig Institute for Cancer Research / Abbott / Life Science Pharmaceuticals (WO 02/092771, WO 2005/081854 und WO 2009/023265)
- 20 • SYM-004 (consists of two chimeric IgG1 antibodies (992 and 1024)), Firma Symphogen A/S (WO 2010/022736-A2)
- MR1-1 /MR1-1KDEL, Firma IVAX Corp (Teva Pharmaceutical Industries Ltd) (Duke University), (Patent: WO2001/062931-A2)
- 25 • Antikörper gegen die Deletionsmutante, EGFRvIII, Firma Amgen/Abgenix (WO 2005/010151, US 7,628,986)
- SC-100, Firma Scancell Ltd (WO 01/088138-A1)

- 262 -

- MDX-447 / EMD 82633 / BAB-447 / H 447 / Mab, EGFR, Medarex/Merck KGaA, Firma Bristol-Myers Squibb (US) / Merck KGaA (DE) / Takeda (JP), (WO 91/05871, WO 92/15683)
 - anti-EGFR-Mab, Firma Xencor (WO 2005/056606)
- 5 • DXL-1218 / anti-EGFR monoclonal antibody (cancer), InNexus, Firma InNexus Biotechnology Inc, Pharmaprojects PH048638

In einer bevorzugten Ausführungsform werden die anti-EGFR Antikörper ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Cetuximab, Panitumumab, Nimotuzumab, Zalutumumab, Necitumumab, Matuzumab, RG-716, GT-MAB 5.2-GEX, ISU-101, ABT-806, SYM-004, MR1-1, SC-100, MDX-
10 447, und DXL-1218.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform werden die anti-EGFR Antikörper ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Cetuximab, Panitumumab, Nimotuzumab, Zalutumumab, Necitumumab und Matuzumab.

Der Fachmann kennt Verfahren, mit denen aus den CDR Regionen der obengenannten Antikörper
15 durch Sequenzvariationen weitere Antikörper hergestellt werden können, die eine ähnliche oder besser Affinität und/oder Spezifität zum Zielmolekül haben.

In einer weiteren Ausführungsform werden die anti-EGFR Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmente ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus

Antikörper oder antigenbindende Antikörperfragmente, die die drei CDR Regionen der leichten
20 Kette und die drei CDR Regionen der schweren Kette eines der folgenden Antikörper umfasst :Cetuximab, Panitumumab, Nimotuzumab, Zalutumumab, Necitumumab, Matuzumab, RG-716, GT-MAB 5.2-GEX, ISU-101, ABT-806, SYM-004, MR1-1, SC-100, MDX-447, und DXL-1218.

In einer weiteren Ausführungsform werden die anti-EGFR Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmente ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus

25 Antikörper oder antigenbindende Antikörperfragmente, die die drei CDR Regionen der leichten Kette und die drei CDR Regionen der schweren Kette eines der folgenden Antikörper umfasst: Cetuximab, Panitumumab, Nimotuzumab, Zalutumumab, Necitumumab, Matuzumab.

Carboanhydrase IX Antikörper

Beispiele für Antikörper, die das Krebs-Zielmoleküle Carboanhydrase IX binden, sind in WO
30 2007/070538-A2 (z.B. Ansprüche 1 – 16) beschrieben.

In einer bevorzugten Ausführungsform werden die anti-Carboanhydrase IX Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmente ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus anti-Carboanhydrase IX Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmente 3ee9 (Anspruch 4 (a) in WO 2007/070538-A2), 3ef2 (Anspruch 4 (b) in WO 2007/070538-A2), 1e4 (Anspruch 4 (c) in
5 WO 2007/070538-A2), 3a4 (Anspruch 4 (d) in WO 2007/070538-A2), 3ab4 (Anspruch 4 (e) in WO 2007/070538-A2), 3ah10 (Anspruch 4 (f) in WO 2007/070538-A2), 3bb2 (Anspruch 4 (g) in WO 2007/070538-A2), 1aa1 (Anspruch 4 (h) in WO 2007/070538-A2), 5a6 (Anspruch 4 (i) in WO 2007/070538-A2) und 5aa3 (Anspruch 4 (j) in WO 2007/070538-A2).

10 In einer bevorzugten Ausführungsform werden die anti-Carboanhydrase IX Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmente ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

anti-Carboanhydrase IX Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenzen der drei CDR Regionen der leichten Kette und die Sequenzen der drei CDR Regionen der schweren Kette des Antikörpers 3ee9 (aus WO 2007/070538-A2) umfassen,

15 anti-Carboanhydrase IX Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenzen der drei CDR Regionen der leichten Kette und die Sequenzen der drei CDR Regionen der schweren Kette des Antikörpers 3ef2 (aus WO 2007/070538-A2) umfassen,

anti-Carboanhydrase IX Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenzen der drei CDR Regionen der leichten Kette und die Sequenzen der drei CDR Regionen der schweren Kette des Antikörpers 1e4 (aus WO 2007/070538-A2) umfassen,

20 anti-Carboanhydrase IX Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenzen der drei CDR Regionen der leichten Kette und die Sequenzen der drei CDR Regionen der schweren Kette des Antikörpers 3a4 (aus WO 2007/070538-A2) umfassen,

25 anti-Carboanhydrase IX Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenzen der drei CDR Regionen der leichten Kette und die Sequenzen der drei CDR Regionen der schweren Kette des Antikörpers 3ab4 (aus WO 2007/070538-A2) umfassen,

anti-Carboanhydrase IX Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenzen der drei CDR Regionen der leichten Kette und die Sequenzen der drei CDR Regionen der schweren Kette des Antikörpers 3ah10 (aus WO 2007/070538-A2) umfassen,

30 anti-Carboanhydrase IX Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenzen der drei CDR Regionen der leichten Kette und die Sequenzen der drei CDR Regionen der schweren Kette des Antikörpers 3bb2 (aus WO 2007/070538-A2) umfassen,

- 264 -

anti-Carboanhydrase IX Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenzen der drei CDR Regionen der leichten Kette und die Sequenzen der drei CDR Regionen der schweren Kette des Antikörpers 1aa1 (aus WO 2007/070538-A2) umfassen,

5 anti-Carboanhydrase IX Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenzen der drei CDR Regionen der leichten Kette und die Sequenzen der drei CDR Regionen der schweren Kette des Antikörpers 5a6 (aus WO 2007/070538-A2) umfassen und

anti-Carboanhydrase IX Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenzen der drei CDR Regionen der leichten Kette und die Sequenzen der drei CDR Regionen der schweren Kette des Antikörpers 5aa3 (aus WO 2007/070538-A2) umfassen.

10 Die her angegebenen Sequenzen der CDR Regionen sind in Abbildungen 2a – 2c, Seite 128-130 in WO 2007/070538-A2 offenbart.

In einer bevorzugten Ausführungsform werden die anti-Carboanhydrase IX Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmente ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus:

15 einem Antikörper oder antigen-bindendem Fragment, der die Aminosäuresequenz der variablen leichten und variablen schweren Ketten des Antikörpers 3ee9, wie in WO 2007/070538-A2 in Abbildung 4b auf Seite 137 angegeben, umfasst,

einem Antikörper oder antigen-bindendem Fragment, der die Aminosäuresequenz der variablen leichten und variablen schweren Ketten des Antikörpers 3ef2, wie in WO 2007/070538-A2 in Abbildung 4c auf Seite 138, bzw. in Abbildung 4b auf Seite 137 angegeben, umfasst,

20 einem Antikörper oder antigen-bindendem Fragment, der die Aminosäuresequenz der variablen leichten und variablen schweren Ketten des Antikörpers 1e4, wie in WO 2007/070538-A2 in Abbildung 4a auf Seite 136 angegeben, umfasst,

einem Antikörper oder antigen-bindendem Fragment, der die Aminosäuresequenz der variablen leichten und variablen schweren Ketten des Antikörpers 3a4, wie in WO 2007/070538-A2 in
25 Abbildung 4a auf Seite 136 angegeben, umfasst,

einem Antikörper oder antigen-bindendem Fragment, der die Aminosäuresequenz der variablen leichten und variablen schweren Ketten des Antikörpers 3ab4, wie in WO 2007/070538-A2 in Abbildung 4a auf Seite 136 angegeben, umfasst,

30 einem Antikörper oder antigen-bindendem Fragment, der die Aminosäuresequenz der variablen leichten und variablen schweren Ketten des Antikörpers 3ah10, wie in WO 2007/070538-A2 in Abbildung 4a auf Seite 136 angegeben, umfasst,

- 265 -

einem Antikörper oder antigen-bindendem Fragment, der die Aminosäuresequenz der variablen leichten und variablen schweren Ketten des Antikörpers 3bb2, wie in WO 2007/070538-A2 in Abbildung 4b auf Seite 137 angegeben, umfasst,

5 einem Antikörper oder antigen-bindendem Fragment, der die Aminosäuresequenz der variablen leichten und variablen schweren Ketten des Antikörpers 1aa1, wie in WO 2007/070538-A2 in Abbildung 4a auf Seite 136 angegeben, umfasst,

einem Antikörper oder antigen-bindendem Fragment, der die Aminosäuresequenz der variablen leichten und variablen schweren Ketten des Antikörpers 5a6, wie in WO 2007/070538-A2 in Abbildung 4b auf Seite 137 angegeben, umfasst, und

10 einem Antikörper oder antigen-bindendem Fragment, der die Aminosäuresequenz der variablen leichten und variablen schweren Ketten des Antikörpers 5aa3, wie in WO 2007/070538-A2 in Abbildung 4b auf Seite 137 angegeben, umfasst.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist der anti-Carboanhydrase IX Antikörper Antikörper 3ee9 aus WO 2007/070538-A2.

15 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform umfasst der anti-Carboanhydrase IX Antikörper oder das antigen-bindenden Antikörperfragment die Aminosäuresequenzen der CDR Regionen der variablen schweren Kette des Antikörpers 3ee9 (VH3-CDR1: GFTFSSYGMS; VH3-CDR2: GISSLGSTTTYADSVKKG; VH3-CDR3: TGSPGTFMHGDH, siehe Abbildung 2a, Seite 128 in WO2007070538-A2) und die Aminosäuresequenzen der CDR Regionen der variablen leichten
20 Kette des Antikörpers 3ee9 (VLk1-CDR1: RASQDINNYLS; VLk1-CDR2: YGASNLQS; VLk1-CDR3: QQYYGRPT, siehe Abbildung 2b, Seite 129 in WO 2007/070538-A2).

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform umfasst der anti-Carboanhydrase IX Antikörper oder das antigen-bindenden Antikörperfragment die Aminosäuresequenzen der variablen schweren Kette des Antikörpers 3ee9

25 (VH3:ELVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSGISSLGSTTY YADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTGSPGTFMHGDHWGQGLVT VSS, siehe Abbildung 4b, Seite 137 in WO2007070538-A2) und die Aminosäuresequenzen der variablen leichten Kette des Antikörpers 3ee9

(VLk1:DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRaSQDINNYLSWYQQKPGKAPKLLIYGASNLQSG
30 VPSRFGSGSGTDFLTISLQPEDFAVYYCQQYYGRPTTFGQGTKVEIKRT, siehe Abbildung 4b, Seite 137 in WO2007070538-A2).

- 266 -

In einer bevorzugten Ausführungsform ist der anti-Carboanhydrase IX Antikörper 3ee9 ein IgG Antikörper.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist der anti-Carboanhydrase IX Antikörper 3ee9 ein IgG1 Antikörper (3ee9-IgG1),

5 wobei die Aminosäuresequenz der schweren Kette die folgende Sequenz umfasst:

QVELVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSGISSLGSTTTYADSVKG
 RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARTGSPGTFMHGDHWGQGLVTVSSASTKGPSVFPL
 APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG
 10 TQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTCTFPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT
 CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
 ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
 TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

und die Aminosäuresequenzen der leichten Kette die folgende Sequenz umfasst:

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDINNYLSWYQQKPKAPKLLIYGASNLQSGVPSRFSGSG
 15 SGTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQYYGRPTTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV
 VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH
 QGLSSPVTKSFNRGEC

anti-Carboanhydrase IX Antikörper 3ee9-IgG1:

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung ist die Bereitstellung des anti-Carboanhydrase IX
 20 Antikörpers 3ee9-IgG1.

C4.4a Antikörper:

Beispiele für C4.4a Antikörper und antigen-bindende Fragmente sind nachfolgend beschrieben. Die
 Sequenzen der Antikörper sind in Tabelle 1 angegeben, wobei jede Zeile die jeweiligen CDR
 Aminosäuresequenzen der variablen leichten Kette bzw. der variablen Schweren Kette des in
 25 Spalte 1 aufgeführten Antikörpers wiedergibt. Die Aminosäuresequenzen der variablen leichten
 Kette und der variablen schweren Kette und die Nukleinsäuresequenz des jeweils in Spalte 1
 angegeben Antikörpers ist ebenso angegeben.

In einer Ausführungsform binden die anti-C4.4a Antikörper oder antigen-bindenden
 Antikörperfragmente an die S1 Domäne S1 (Aminosäureposition 1-85 von SEQ ID NO: 1) von
 30 C4.4a.

In einer Ausführungsform sind die anti-C4.4a Antikörper oder antigen-bindenden
 Antikörperfragmente kreuzreaktiv mit humanem C4.4a (SEQ ID NO:1) und mit murinem C4.4a
 (SEQ ID NO:2).

- 267 -

In einer Ausführungsform werden die anti-C4.4a Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmente davon nach Bindung an eine C4.4a exprimierende Zelle von der Zelle internalisiert.

In einer weiteren Ausführungsform kompetieren die anti-C4.4a Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmente mit dem Antikörper M31-B01 und/oder mit dem Antikörper M20-D02-S-A um Bindung an C4.4a. Antikörper M31-B01 und M20-D02-S-A kompetieren um die Bindung an C4.4a. Die Antikörper B01-1 bis B01-12 wurden mittels Affinitätsmaturierung aus M31-B01 hergestellt und kompetieren mit M31-B01 um Bindung an C4.4a. Die Antikörper D02-1 bis D02-13 wurden mittels Affinitätsmaturierung aus M20-D02-S-A hergestellt und kompetieren mit M20-D02-S-A um Bindung an C4.4a.

In einer weiteren Ausführungsform umfassen die anti-C4.4a Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmente mindestens eine, zwei oder drei der in Tabelle 1 oder Tabelle 2 angeführten CDR Aminosäuresequenzen.

In einer weiteren Ausführungsform umfassen die anti-C4.4a Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmente mindestens eine, zwei oder drei CDR Aminosäuresequenzen eines in Tabelle 1 oder Tabelle 2 angeführten Antikörpers.

In einer weiteren Ausführungsform umfassen die anti-C4.4a Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmente mindestens eine, zwei oder drei CDR Aminosäuresequenzen der variablen leichten Kette und mindestens eine, zwei oder drei CDR Aminosäuresequenzen der variablen schweren Kette eines in Tabelle 1 oder Tabelle 2 angeführten Antikörpers.

In einer weiteren Ausführungsform umfassen die anti-C4.4a Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmente, die zu mindestens 50%, 60%, 70%, 80%, 90% oder 95% identisch sind mit den CDR Aminosäuresequenzen der variablen leichten Kette und mit den CDR Aminosäuresequenzen der variablen schweren Kette, eines in Tabelle 1 oder Tabelle 2 angeführten Antikörpers.

In einer weiteren Ausführungsform umfassen die CDR Sequenzen der anti-C4.4a Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmente

CDR Sequenzen der schweren Kette, die zu den CDR Sequenzen SEQ ID NO: 297 (CDR H1), SEQ ID NO: 298 (CDR H2) und SEQ ID NO: 299 (CDR H3) konform sind, und CDR Sequenzen der leichten Kette, die zu den CDR Sequenzen SEQ ID NO: 300 (CDR L1), SEQ ID NO: 22 (CDR L2) and SEQ ID NO: 301 (CDR L3) konform sind, oder

- 268 -

CDR Sequenzen der schweren Kette, die zu den CDR Sequenzen SEQ ID NO: 302 (CDR H1), SEQ ID NO: 303 (CDR H2) and SEQ ID NO: 304 (CDR H3) konform sind, und CDR Sequenzen der leichten Kette, die zu den CDR Sequenzen SEQ ID NO: 305 (CDR L1), SEQ ID NO: 306 (CDR L2) and SEQ ID NO: 307 (CDR L3) konform sind.

- 5 In einer weiteren Ausführungsform umfassen die anti-C4.4a Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmente, die zu mindestens 50%, 60%, 70%, 80%, 90% oder 95% identisch sind mit der variablen leichten Kette und mit der variablen schweren Kette, eines in Tabelle 1 oder Tabelle 2 angeführten Antikörpers.

- In einer weiteren Ausführungsform umfassen die anti-C4.4a Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmente die drei CDR Aminosäuresequenzen der variablen leichten Kette und die drei CDR Aminosäuresequenzen der variablen schweren Kette eines in Tabelle 1 oder Tabelle 2 angeführten Antikörpers.

- In einer weiteren Ausführungsform umfassen die anti-C4.4a Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmente eine variable leichte Kette und/oder eine variable schwere Kette eines in Tabelle 1 oder Tabelle 2 angeführten Antikörpers.

In einer weiteren Ausführungsform umfassen die anti-C4.4a Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmente die variable leichte Kette und die variable schwere Kette eines in Tabelle 1 oder Tabelle 2 angeführten Antikörpers.

- In einer bevorzugten Ausführungsform werden die C4.4a Antikörper und die antigen-bindenden Antikörperfragmente ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus

Antikörper, der die CDR Sequenzen der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 75-77 und der die CDR Sequenzen der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 78-80 umfasst (B01-10),

- Antikörper, der die CDR Sequenzen der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 5, 9 und 13 und der die CDR Sequenzen der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 17, 21 und 25 umfasst (M31-B01),

Antikörper, der die CDR Sequenzen der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 6, 10 und 14 und der die CDR Sequenzen der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 18, 22 und 26 umfasst (M20-D02-S-A),

- Antikörper, der die CDR Sequenzen der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 7, 11 und 15 und der die CDR Sequenzen der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 19, 23 und 27 umfasst (M60-G03),

Antikörper, der die CDR Sequenzen der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 8, 12 und 16 und der die CDR Sequenzen der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 20, 24 und 28 umfasst (36-H02),

5 Antikörper, der die CDR Sequenzen der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 45-47 und der die CDR Sequenzen der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 48-50 umfasst (B01-3),

Antikörper, der die CDR Sequenzen der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 55-57 und der die CDR Sequenzen der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 58-60 umfasst (B01-5),

10 Antikörper, der die CDR Sequenzen der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 65-67 und der die CDR Sequenzen der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 68-70 umfasst (B01-7),

15 Antikörper, der die CDR Sequenzen der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 85-87 und der die CDR Sequenzen der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 88-90 umfasst (B01-12),

Antikörper, der die CDR Sequenzen der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 95-97 und der die CDR Sequenzen der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 98-100 umfasst (D02-4),

20 Antikörper, der die CDR Sequenzen der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 105-107 und der die CDR Sequenzen der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 108-110 umfasst (D02-6),

Antikörper, der die CDR Sequenzen der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 115-117 und der die CDR Sequenzen der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 118-120 umfasst (D02-7),

25 Antikörper, der die CDR Sequenzen der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 125-127 und der die CDR Sequenzen der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 128-130 umfasst (D02-11), und

30 Antikörper, der die CDR Sequenzen der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 135-137 und der die CDR Sequenzen der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO: 138-140 umfasst (D02-13).

- 270 -

In einer bevorzugten Ausführungsform werden die C4.4a Antikörper und die antigen-bindenden Antikörperfragmente ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Antikörper, die die Aminosäuresequenz der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 81 und die die Aminosäuresequenz der variablen leichten Kette
5 wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 82 umfassen (B01-7), Antikörper, die die Aminosäuresequenz der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 33 und die die Aminosäuresequenz der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 29 umfassen (M31-B01), Antikörper, die die Aminosäuresequenz der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die
10 Sequenz SEQ ID NO: 34 und die die Aminosäuresequenz der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 30 umfassen (M20-D02 S-A), Antikörper, die die Aminosäuresequenz der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 35 und die die Aminosäuresequenz der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 31 umfassen (M60-G03),
15 Antikörper, die die Aminosäuresequenz der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 36 und die die Aminosäuresequenz der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 32 umfassen (M36-H02), Antikörper, die die Aminosäuresequenz der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 51 und die die Aminosäuresequenz der variablen leichten Kette
20 wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 52 umfassen (B01-3), Antikörper, die die Aminosäuresequenz der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 61 und die die Aminosäuresequenz der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 62 umfassen (B01-5), Antikörper, die die Aminosäuresequenz der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die
25 Sequenz SEQ ID NO: 71 und die die Aminosäuresequenz der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 72 umfassen (B01-7), Antikörper, die die Aminosäuresequenz der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 91 und die die Aminosäuresequenz der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 92 umfassen (B01-12),
30 Antikörper, die die Aminosäuresequenz der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 101 und die die Aminosäuresequenz der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 102 umfassen (D02-4), Antikörper, die die Aminosäuresequenz der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 111 und die die Aminosäuresequenz der variablen leichten Kette
35 wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 112 umfassen (D02-6), Antikörper, die die Aminosäuresequenz der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 121 und die die Aminosäuresequenz der variablen leichten Kette

- 271 -

wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 122 umfassen (D02-7),
Antikörper, die die Aminosäuresequenz der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die
Sequenz SEQ ID NO: 131 und die die Aminosäuresequenz der variablen leichten Kette
wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 132 umfassen (D02-11), und
5 Antikörper, die die Aminosäuresequenz der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die
Sequenz SEQ ID NO: 141 und die die Aminosäuresequenz der variablen leichten Kette
wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO: 142 umfassen (D02-13).

In einer weiteren Ausführungsform umfassen die anti-C4.4a Antikörper die leichte Kette und die
schwere Kette eines in Tabelle 2 angeführten Antikörpers.

10 In einer bevorzugten Ausführungsform umfassen die anti-C4.4a Antikörper die leichte Kette und
die schwere Kette eines in Tabelle 2 angeführten Antikörpers.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform wird der C4.4a Antikörper ausgewählt aus der
Gruppe bestehend aus

Antikörper, der die Aminosäuresequenz der leichten Kette repräsentiert durch SEQ ID NO: 346
15 und der die Aminosäuresequenz der schweren Kette repräsentiert durch SEQ ID NO: 347 umfasst
(M31-B01) umfasst,

Antikörper, der die Aminosäuresequenz der leichten Kette repräsentiert durch SEQ ID NO: 352
und der die Aminosäuresequenz der schweren Kette repräsentiert durch SEQ ID NO: 353 umfasst
(B01-3) umfasst,

20 Antikörper, der die Aminosäuresequenz der leichten Kette repräsentiert durch SEQ ID NO: 364
und der die Aminosäuresequenz der schweren Kette repräsentiert durch SEQ ID NO: 365 umfasst
(B01-10) umfasst, und

Antikörper, der die Aminosäuresequenz der leichten Kette repräsentiert durch SEQ ID NO: 382
und der die Aminosäuresequenz der schweren Kette repräsentiert durch SEQ ID NO: 383 umfasst
25 (D02-6) umfasst.

Tabelle 1: Sequenzen der C4.4a Antikörper

Anti-körper	SEQ ID NO: HCDR1	SEQ ID NO: HCDR2	SEQ ID NO: HCDR3	SEQ ID NO : LCDR1	SEQ ID NO: LCDR2	SEQ ID NO: LCDR3	SEQ ID NO: VH Protein	SEQ ID NO: VL Protein	SEQ ID NO: VH Nucleotide	SEQ ID NO: VL Nucleotide
M31-B01	5	9	13	17	21	25	33	29	41	37
M20-D02 S-A	6	10	14	18	22	26	34	30	42	38
M60-G03	7	11	15	19	23	27	35	31	43	39
M36-H02	8	12	16	20	24	28	36	32	44	40
B01-3	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54
B01-5	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64
B01-7	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74
B01-10	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84
B01-12	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94
D02-4	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104
D02-6	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114
D02-7	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124
D02-11	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134
D02-13	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144
B01-nn1	145	146	147	148	149	150	151	152	308	309
B01-nn2	153	154	155	156	157	158	159	160	310	311
B01-nn3	161	162	163	164	165	166	167	168	312	313
B01-nn4	169	170	171	172	173	174	175	176	314	315
B01-nn5	177	178	179	180	181	182	183	184	316	317
B01-2	185	186	187	188	189	190	191	192	318	319
B01-4	193	194	195	196	197	198	199	200	320	321
B01-6	201	202	203	204	205	206	207	208	322	323
B01-8	209	210	211	212	213	214	215	216	324	325
B01-9	217	218	219	220	221	222	223	224	326	327
B01-11	225	226	227	228	229	230	231	232	328	329
B01-12	233	234	235	236	237	238	239	240	330	331

Anti-körper	SEQ ID NO: HCDR1	SEQ ID NO: HCDR2	SEQ ID NO: HCDR3	SEQ ID NO : LCDR1	SEQ ID NO: LCDR2	SEQ ID NO: LCDR3	SEQ ID NO: VH Protein	SEQ ID NO: VL Protein	SEQ ID NO: VH Nucleotide	SEQ ID NO: VL Nucleotide
D02-ogl	241	242	243	244	245	246	247	248	332	333
D02-5	249	250	251	252	253	254	255	256	334	335
D02-8	257	258	259	260	261	262	263	264	336	337
D02-9	265	266	267	268	269	270	271	272	338	339
D02-10	273	274	275	276	277	278	279	280	340	341
D02-11	281	282	283	284	285	286	287	288	342	343
D02-12	289	290	291	292	293	294	295	296	344	345

Tabelle 2: Sequenzen der leichten und schweren Kette der C4.4a Antikörper

Antikörper	Leichte Kette SEQ ID NO:	Schwere Kette SEQ ID NO:
M31-B01	346	347
B01-1	348	349
B01-2	350	351
B01-3	352	353
B01-4	354	355
B01-5	356	357
B01-6	358	359
B01-7	360	361
B01-8	362	363
B01-10	364	365
B01-11	366	367
B01-12	368	369
M20-D02 S-A	370	371
D02-1	372	373
D02-2	374	375
D02-3	376	377
D02-4	378	379
D02-5	380	381

Antikörper	Leichte Kette SEQ ID NO:	Schwere Kette SEQ ID NO:
D02-6	382	383
D02-7	384	385
D02-8	386	387
D02-9	388	389
D02-10	390	391
D02-11	392	393
D02-12	394	395
D02-13	396	397

anti-C4.4a Antikörper IgG:

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung ist die Bereitstellung eines anti-C4.4a IgG1 Antikörpers, der die Aminosäuresequenz der leichten Kette und der schweren Kette eines in
5 Tabelle 2 angeführten Antikörpers umfaßt.

Ein Beispiel für einen Antikörper, der das Krebs-Zielmoleküle Her2 bindet, ist Trastuzumab (Genentech). Trastuzumab ist ein humanisierter Antikörper, der zur unter anderem Behandlung von Brustkrebs eingesetzt wird. Ein Beispiel für einen Antikörper, der das Krebs-Zielmoleküle CD20 bindet, ist Rituximab (Genentech). Rituximab (CAS-Nummer: 174722-31-7) ist ein chimärer
10 Antikörper, der zur Behandlung von Non-Hodgkin-Lymphom verwendet wird. Ein Beispiel für einen Antikörper, der das Krebs-Zielmoleküle CD52 bindet, ist Alemtuzumab (Genzyme). Alemtuzumab (CAS-Nummer: 216503-57-0) ist ein humanisierter Antikörper, der zur Behandlung von chronischer lymphatischer Leukämie eingesetzt wird.

Mesothelin Antikörper

15 Erfindungsgemäß besonders bevorzugte Binder sind anti-Mesothelin-Antikörper, insbesondere humane oder humanisierte anti-Mesothelin-Antikörper. Die Antikörper weisen vorzugsweise eine Affinität von mindestens 10^{-7} M (als Kd-Wert; also vorzugsweise solche mit kleineren Kd-Werten als 10^{-7} M), vorzugsweise von mindestens 10^{-8} M, besonders bevorzugt in dem Bereich von 10^{-9} M bis 10^{-11} M auf. Die Kd-Werte können z.B. durch Oberflächenplasmonenresonanz-
20 spektroskopie bestimmt werden.

Die erfindungsgemäßen Antikörper-Wirkstoff-Konjugate weisen ebenfalls Affinitäten in diesen Bereichen auf. Durch die Konjugation der Wirkstoffe wird die Affinität vorzugsweise nicht

- 275 -

wesentlich beeinflusst (in der Regel wird die Affinität weniger als eine Größenordnung verringert, also z.B. maximal von 10^{-8} M auf 10^{-7} M).

Die erfindungsgemäßen verwendeten Antikörper zeichnen sich weiterhin vorzugsweise durch eine hohe Selektivität aus. Eine hohe Selektivität liegt vor, wenn der erfindungsgemäße Antikörper eine
5 mindestens um den Faktor 2, bevorzugt Faktor 5 oder insbesondere bevorzugt Faktor 10 bessere Affinität am Zielprotein aufweist als an einem unabhängigen anderen Antigen, z.B. humanem Serumalbumin (die Affinität kann z.B. durch Oberflächenplasmonenresonanzspektroskopie bestimmt werden).

Zudem sind die erfindungsgemäßen verwendeten Antikörper vorzugsweise kreuzreaktiv. Um
10 präklinische Studien, z.B. toxikologische oder Wirksamkeitsstudien (z.B. in Xenograft-Mäusen), zu erleichtern und besser interpretieren zu können, ist es von Vorteil, wenn der erfindungsgemäß verwendete Antikörper nicht nur das humane Zielprotein bindet, sondern auch in der für die Studien verwendeten Spezies das Spezies-Zielprotein bindet. In einer Ausführungsform ist der erfindungsgemäß verwendete Antikörper zusätzlich zum humanen Zielprotein kreuzreaktiv zum
15 Zielprotein mindestens einer weiteren Spezies. Für toxikologische und Wirksamkeitsstudien werden bevorzugt Spezies der Familien Nager, Hunde und nicht-humane Primaten, verwendet. Bevorzugte Nager Spezies sind Maus und Ratte. Bevorzugte nicht-humane Primaten sind Rhesusaffen, Schimpansen und Langschwanzmakaken.

In einer Ausführungsform ist der erfindungsgemäß verwendete Antikörper zusätzlich zum
20 humanen Zielprotein kreuzreaktiv zum Zielprotein mindestens einer weiteren Spezies ausgewählt aus der Gruppe von Spezies bestehend aus Maus, Ratte und Langschwanzmakak (*Macaca fascicularis*). Insbesondere bevorzugt sind erfindungsgemäß verwendete Antikörper, die zusätzlich zum humanen Zielprotein mindestens kreuzreaktiv zum Maus-Zielprotein sind. Bevorzugt sind kreuzreaktive Antikörper, deren Affinität zum Zielprotein der weiteren nicht-humanen Spezies sich
25 nicht um mehr als den Faktor 50, insbesondere nicht mehr als den Faktor zehn von der Affinität zum humanen Zielprotein unterscheidet.

Die erfindungsgemäßen verwendeten Antikörper zeichnen sich weiterhin vorzugsweise durch eine invariante Bindung an Mesothelin aus. Invariante Bindung zeichnet sich zum Beispiel dadurch aus, dass der erfindungsgemäßen verwendeten Antikörper an ein Epitop von Mesothelin bindet, welches
30 nicht durch ein weiteres extrazelluläres Protein maskiert werden kann. Solch ein weiteres extrazelluläres Protein ist z.B. das Protein Ovarian Cancer Antigen 125 (CA125). Vorzugsweise verwendete Antikörper zeichnen sich dadurch aus, dass deren Bindung an Mesothelin nicht durch CA125 blockiert wird.

- 276 -

Anti-Mesothelin -Antikörper sind z.B. WO 2009/068204 beschrieben. Diese Antikörper können erfindungsgemäß verwendet werden.

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung ist die Bereitstellung eines neuen anti-Mesothelin Antikörpers (MF-Ta), dessen Aminosäuresequenz die CDR Sequenzen der variablen schweren
5 Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO:398 (HCDR1), SEQ ID NO:399 (HCDR2) und SEQ ID NO:400 (HCDR3) und die CDR Sequenzen der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO:401 (LCDR1), SEQ ID NO:402 (LCDR2) und SEQ ID NO:403 (LCDR3) umfasst.

In einer bevorzugten Ausführungsform umfasst die Aminosäuresequenz des anti-Mesothelin
10 Antikörpers MF-Ta oder antigen-bindender Antikörperfragmente die Sequenz der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO:404 und die Sequenz der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO:405. In einer bevorzugten Ausführungsform umfasst die Aminosäuresequenz des anti-Mesothelin Antikörpers MF-Ta oder antigen-bindender Antikörperfragmente die Sequenz der variablen schweren Kette, welche durch
15 die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO:406 kodiert wird, und die Sequenz der variablen leichten Kette, welche durch die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO:407 kodiert wird.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform umfasst die Aminosäuresequenz des anti-Mesothelin Antikörpers MF-Ta die Sequenz der schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO:408 und die Sequenz der leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenz
20 SEQ ID NO:409.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform umfasst die Aminosäuresequenz des anti-Mesothelin Antikörpers MF-Ta die Sequenz schweren Kette, welche durch die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO:410 kodiert wird, und die Sequenz der leichten Kette, welche durch die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO: 411 kodiert wird.

25 Weitere Beispiele für Antikörper, die das Krebs-Zielmoleküle Mesothelin binden, sind dem Fachmann bekannt und sind z.B. in WO 2009/068204 beschrieben und können für die erfindungsgemässen Binder-Wirkstoff-Konjugate verwendet werden.

In einer Ausführungsform der Binder-Wirkstoff-Konjugate ist der Binder ein anti-Mesothelin Antikörper oder antigen-bindendes Antikörperfragment, wobei der Antikörper an Mesothelin
30 bindet und invariante Bindung zeigt.

In einer Ausführungsform der Binder-Wirkstoff-Konjugate umfasst ein anti-Mesothelin Antikörper oder antigen-bindendes Antikörperfragment die Aminosäuresequenzen der drei CDR Regionen der

- 277 -

leichten Kette und die Aminosäuresequenzen der drei CDR Regionen der schweren Kette eines in WOv2009/068204-A1 (Tabelle 7; Seite 61 – 63) beschriebenen Antikörpers.

In einer bevorzugten Ausführungsform werden die Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmente ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus

5 anti- Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenzen der drei CDR Regionen der leichten Kette und die Sequenzen der drei CDR Regionen der schweren Kette des Antikörpers MF-Ta umfassen,

anti- Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenzen der drei CDR Regionen der leichten Kette und die Sequenzen der drei CDR Regionen
10 der schweren Kette des Antikörpers MF-J (WO2009068204-A1; Tabelle 7; Seite 61) umfassen,

anti- Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenzen der drei CDR Regionen der leichten Kette und die Sequenzen der drei CDR Regionen der schweren Kette des Antikörpers MOR06640 (WO 2009/068204-A1; Tabelle 7; Seite 61) umfassen,

15 anti- Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenzen der drei CDR Regionen der leichten Kette und die Sequenzen der drei CDR Regionen der schweren Kette des Antikörpers MF-226 (WO 2009/068204-A1; Tabelle 7; Seite 61) umfassen, und

anti-Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die
20 Sequenzen der drei CDR Regionen der leichten Kette und die Sequenzen der drei CDR Regionen der schweren Kette des Antikörpers MOR06626 (WO 2009/068204-A1; Tabelle 7; Seite 61) umfassen.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform werden die Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmente ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus

25 anti-Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenz der variablen leichten Kette und die Sequenz der variablen schweren Kette des Antikörpers MF-Ta umfassen,

anti-Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenz der variablen leichten Kette und die Sequenz der variablen schweren Kette des Antikörpers MF-J
30 (WO 2009/068204-A1; Tabelle 7; Seite 61) umfassen,

- 278 -

anti-Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenz der variablen leichten Kette und die Sequenz der variablen schweren Kette des Antikörpers MOR06640 (WO 2009/068204-A1; Tabelle 7; Seite 61) umfassen,

5 anti-Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenz der variablen leichten Kette und die Sequenz der variablen schweren Kette des Antikörpers MF-226 (WO 2009/068204-A1; Tabelle 7; Seite 61) umfassen, und

anti-Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenz der variablen leichten Kette und die Sequenz der variablen schweren Kette des Antikörpers MOR06626 (WO 2009/068204-A1; Tabelle 7; Seite 61) umfassen.

10 Weitere Antikörper:

Ein Beispiel für einen Antikörper, der das Krebs-Zielmoleküle Her2 bindet, ist Trastuzumab (Genentech). Trastuzumab ist ein humanisierter Antikörper, der zur unter anderem Behandlung von Brustkrebs eingesetzt wird. Ein Beispiel für einen Antikörper, der das Krebs-Zielmoleküle CD20 bindet, ist Rituximab (Genentech). Rituximab (CAS-Nummer: 174722-31-7) ist ein chimärer
15 Antikörper, der zur Behandlung von Non-Hodgkin-Lymphom verwendet wird. Ein Beispiel für einen Antikörper, der das Krebs-Zielmoleküle CD52 bindet, ist Alemtuzumab (Genzyme). Alemtuzumab (CAS-Nummer: 216503-57-0) ist ein humanisierter Antikörper, der zur Behandlung von chronischer lymphatischer Leukämie eingesetzt wird.

Weitere Beispiele für Antikörper, die an HER2 binden, sind neben Trastuzumab (INN 7637, CAS
20 NR: RN: 180288-69-1) und Pertuzumab (Cas NR: 380610-27-5), auch Antikörper, wie offenbart in WO 2009/123894-A2, WO 200/8140603-A2, oder in WO 2011/044368-A2. Beispiel für ein anti-HER2 Konjugat ist Trastuzumab-Emtansine (INN-Nr. 9295).

Beispiele für Antikörper, die das Krebs-Zielmolekül CD30 binden und zur Behandlung von Krebs z.B. Hodgkin-Lymphoma verwendet werden können, sind Brentuximab, Iritumumab und
25 Antikörper, wie in WO 2008/092117, WO 2008/036688 oder WO 2006/089232 offenbart. Beispiele für ein anti- CD30 Konjugat ist Brentuximab Vedotin (INN-Nr. 9144).

Beispiele für Antikörper, die das Krebs-Zielmolekül CD22 binden und zur Behandlung von Krebs z.B. Lymphoma verwendet werden können, sind Inotuzumab oder Epratuzumab. Beispiele für anti-CD22 Konjugate sind Inotuzumab Ozagamycin (INN-Nr. 8574), oder anti-CD22-MMAE und anti-
30 CD22-MC-MMAE (CAS RN: 139504-50-0 bzw. 474645-27-7).

- 279 -

Beispiele für Antikörper, die das Krebs-Zielmolekül CD33 binden und zur Behandlung von Krebs z.B. Leukämie verwendet werden können, sind Gemtuzumab oder Lintuzumab (INN 7580). Ein Beispiel für ein anti-CD33 Konjugat ist Gemtuzumab-Ozagamycin.

Ein Beispiel für einen Antikörper, der das Krebs-Zielmolekül NMB bindet und zur Behandlung von Krebs z.B. Melanom oder Brustkrebs verwendet werden kann, ist Glembatumumab (INN 9199). Ein Beispiel für ein anti-NMB Konjugat ist Glembatumumab Vedotin (CAS RN: 474645-27-7).

Ein Beispiel für einen Antikörper, der das Krebs-Zielmolekül CD56 bindet und zur Behandlung von Krebs z.B. Multiples Myelom, Kleinzelliges Lungenkarzinom, MCC oder Ovarialkarzinom verwendet werden kann, ist Lorvotuzumab. Ein Beispiel für ein anti-CD56 Konjugat ist Lorvotuzumab Mertansine (CAS RN: 139504-50-0).

Beispiele für Antikörper, die das Krebs-Zielmolekül CD70 binden und zur Behandlung von Krebs z.B. Non-Hodgkin-Lymphom oder Nierenzellkrebs verwendet werden können, sind in WO 2007/038637-A2 oder WO 2008/070593-A2 offenbart. Ein Beispiel für ein anti-CD70 Konjugat ist SGN-75 (CD70 MMAF)

Ein Beispiel für einen Antikörper, der das Krebs-Zielmolekül CD74 bindet und zur Behandlung von Krebs z.B. Multiples Myelom verwendet werden kann, ist Milatuzumab. Ein Beispiel für ein anti-CD74 Konjugat ist Milatuzumab-Doxorubicin (CAS RN: 23214-92-8).

Ein Beispiel für einen Antikörper, der das Krebs-Zielmolekül CD19 bindet und zur Behandlung von Krebs z.B. Non-Hodgkin-Lymphom verwendet werden kann, ist in WO 2008/031056-A2 offenbart. Weitere Antikörper und Beispiele für ein anti-CD19 Konjugat (SAR3419) sind in WO 2008/047242-A2 offenbart.

Beispiele für Antikörper, die das Krebs-Zielmolekül Mucin-1 binden und zur Behandlung von Krebs z.B. Non-Hodgkin-Lymphom verwendet werden können, sind Clivatuzumab oder die in WO 2003/106495-A2, WO 2008/028686-A2 offenbarten Antikörper. Beispiele für anti-Mucin Konjugate sind in WO 2005/009369-A2 offenbart.

Beispiele für Antikörper, die das Krebs-Zielmolekül CD138 binden und Konjugate davon, die zur Behandlung von Krebs z.B. Multiples Myelom verwendet werden können, sind WO 2009/080829-A1, WO 2009/080830-A1 offenbart.

Beispiele für Antikörper, die das Krebs-Zielmolekül Integrin alphaV binden und zur Behandlung von Krebs z.B. Melanoma, Sarcoma oder Carcinoma verwendet werden können, sind Intetumumab (Cas RN: 725735-28-4), Abciximab (Cas-RN: 143653-53-6), Etaracizumab (Cas-RN: 892553-42-

- 280 -

3) oder die in US 7,465,449, EP 719859-A1, WO 2002/012501-A1 oder WO2006/062779-A2 offenbarten Antikörper. Beispiele für anti-Integrin AlphaV Konjugate sind Intetumumab-DM4 und weitere in WO 2007/024536-A2 offenbarte ADCs.

Beispiele für Antikörper, die das Krebs-Zielmolekül TDGF1 binden und zur Behandlung von Krebs verwendet werden können, sind die in WO 02/077033-A1, US 7,318,924, WO 2003/083041-A2 und WO 2002/088170-A2 offenbarten Antikörper. Beispiele für anti-TDGF1 Konjugate sind in WO 2002/088170-A2 offenbart.

Beispiele für Antikörper, die das Krebs-Zielmolekül PSMA binden und zur Behandlung von Krebs z.B. Prostatakarzinom verwendet werden können, sind die in WO 97/35616-A1, WO 99/47554-A1, und WO 01/009192-A1 offenbarten Antikörper. Beispiele für anti-PSMA Konjugate sind in WO 2009/026274-A1 offenbart.

Beispiele für Antikörper, die das Krebs-Zielmolekül EPHA2 binden, zur Herstellung eines Konjugats und zur Behandlung von Krebs verwendet werden können, sind in WO 2004/091375-A2 offenbart.

Beispiele für Antikörper, die das Krebs-Zielmolekül SLC44A4 binden, zur Herstellung eines Konjugats und zur Behandlung von Krebs, z.B. Pankreas- oder Prostatakarzinom verwendet werden können, sind in WO2009/033094-A2 und US2009/0175796-A1 offenbart.

Ein Beispiel für einen Antikörper, der das Krebs-Zielmolekül HLA-DOB bindet, ist der Antikörper Lym-1 (Cas-RN: 301344-99-0), der zur Behandlung von Krebs, z.B. Non-Hodgkin-Lymphom verwendet werden kann. Beispiele für anti-HLA-DOB Konjugate sind z.B. in WO 2005/081711-A2 offenbart.

Beispiele für Antikörper, die das Krebs-Zielmolekül VTCN1 binden, zur Herstellung eines Konjugats und zur Behandlung von Krebs, z.B. Ovarialkarzinom, Pankreas-, Lungen-, oder Brustkrebs verwendet werden können, sind in WO 2006/074418-A2 offenbart.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen besitzen wertvolle pharmakologische Eigenschaften und können zur Vorbeugung und Behandlung von Erkrankungen bei Menschen und Tieren verwendet werden.

Die erfindungsgemäßen Binder-Wirkstoff-Konjugate (ADCs) der Formel (Ia) weisen eine hohe und spezifische cytotoxische Aktivität gegenüber Tumorzellen auf, welche anhand der im vorliegenden experimentellen Teil (C-1. bis C-7e.) aufgeführten Assays gezeigt werden kann. Diese hohe und spezifische cytotoxische Aktivität der erfindungsgemäßen Binder-Wirkstoff-Konjugate (ADCs) der Formel (Ia) wird durch die geeignete Kombination vom neuen N,N-Dialkylauristatin-Derivaten

und Binder mit Linkern, welche sowohl eine enzymatisch, hydrolytisch oder reaktiv spaltbare Soll-Bruchstelle zur Freisetzung der Toxophore als auch keine solche Soll-Bruchstelle aufweisen, erreicht. Insbesondere durch Verwendung von stabilen Linkern, welche keine enzymatisch, hydrolytisch oder reaktiv spaltbare Soll-Bruchstelle zur Freisetzung der Toxophore aufweisen, und die nach Aufnahme des ADCs in die Tumorzelle und nach komplettem intrazellulären, enzymatischen Abbau des Antikörpers noch ganz oder teilweise intakt bleiben, wird die Wirkung sehr spezifisch auf die Tumorzelle eingegrenzt. Die Kompatibilität von ADCs mit stabilen Linkern setzt unter anderem voraus, dass die intrazellulär gebildeten Metabolite ausreichend effizient entstehen, ihr Target erreichen und dort ihre anti-proliferative Wirkung am Target in ausreichender Potenz entfalten können, ohne dass sie zuvor von Transporterproteinen wieder aus der Tumorzelle ausgeschleust werden. Die nach Aufnahme der erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel (Ia) intrazellulär gebildeten Metabolite weisen ein vermindertes Potential als Substrat gegenüber Transporterproteinen auf, wodurch eine Rückverteilung in die systemische Zirkulation und damit die Auslösung von potentiellen Nebenwirkungen durch das Toxophor selbst unterdrückt wird. Weiterhin wird durch die neuartige N-Alkyl-Anbindung der basische Charakter am Aminoende des Monomethyl-Auristatin-Peptids erhalten. Insbesondere bei den über Lysin-Seitenketten verknüpften erfindungsgemäßen Binder-Wirkstoff-Konjugate (ADCs) der Formel (Ia) bleibt die Gesamtladung des Antikörpers unabhängig von der Anzahl der Toxophor-Linker-Beladungen konstant.

20

Die Kompatibilität der ADCs mit einer stabilen Linkerchemie und dem betreffenden Target in Verbindung mit Metaboliten, die in geringerem Maße ein Substrat für Transporterproteine darstellen, bietet ein vergrößertes therapeutisches Fenster.

Insbesondere weisen die erfindungsgemäßen Binder-Wirkstoff-Konjugate der Formel (Ia) eine hohe und spezifische cytotoxische Aktivität gegenüber Mesothelin-exprimierenden Tumorzellen auf. Die Aktivität gegenüber nicht-Mesothelin-exprimierenden Tumorzellen ist dabei deutlich schwächer ausgeprägt.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind aufgrund dieses Eigenschaftsprofils daher in besonderem Maße zur Behandlung von hyperproliferativen Erkrankungen beim Menschen und bei Säugetieren allgemein geeignet. Die Verbindungen können einerseits die Zellproliferation und Zellteilung hemmen, blockieren, verringern oder senken und andererseits die Apoptose verstärken.

Zu den hyperproliferativen Erkrankungen, zu deren Behandlung die erfindungsgemäßen Verbindungen eingesetzt werden können, zählt insbesondere die Gruppe der Krebs- und Tumorerkrankungen. Hierunter werden im Rahmen der vorliegenden Erfindung insbesondere die folgenden

Erkrankungen verstanden, ohne jedoch auf sie beschränkt zu sein: Brustkarzinome und Brusttumore (ductale und lobuläre Formen, auch *in situ*), Atemwegstumore (kleinzelliges und nichtkleinzelliges Karzinom, Bronchialkarzinom), Hirntumore (z.B. des Hirnstamms und des Hypothalamus, Astrocytoma, Medulloblastoma, Ependymoma sowie neuro-ectodermale und pineale Tumore), Tumore der Verdauungsorgane (Speiseröhre, Magen, Gallenblase, Dünndarm, Dickdarm, Rektum), Lebertumore (u.a. hepatozelluläres Karzinom, Cholangiokarzinom und gemischt-hepatozelluläres Cholangiokarzinom), Tumore des Kopf- und Halsbereiches (Larynx, Hypopharynx, Nasopharynx, Oropharynx, Lippen und Mundhöhle), Hauttumore (Plattenepithelkarzinom, Kaposi-Sarkom, malignes Melanom, Merkelzell-Hautkrebs und nicht-melanomartiger Hautkrebs), Tumore der Weichteile (u.a. Weichteilsarkome, Osteosarkome, maligne fibröse Histiozytome, Lymphosarkome und Rhabdomyosarkome), Tumore der Augen (u.a. intraokuläres Melanom und Retinoblastom), Tumore der endokrinen und exokrinen Drüsen (z.B. thyroide und parathyroide Drüsen, Bauchspeicheldrüse und Speicheldrüse), Tumore des Harntrakts (Blasen-, Penis-, Nieren-, Nierenbecken- und Harnleitertumore) sowie Tumore der reproduktiven Organe (Endometrium-, Zervix-, Ovarial-, Vaginal-, Vulva- und Uteruskarzinome der Frau sowie Prostata- und Hodenkarzinome des Mannes). Dazu gehören auch proliferative Bluterkrankungen in solider Form und als zirkulierende Blutzellen, wie Lymphome, Leukämien und myeloproliferative Erkrankungen, z.B. akute myeloide, akute lymphoblastische, chronisch-lymphozytische, chronisch-myelogene und Haarzell-Leukämie, sowie AIDS-korrelierte Lymphome, Hodgkin-Lymphome, Non-Hodgkin-Lymphome, kutane T-Zell-Lymphome, Burkitt-Lymphome und Lymphome im zentralen Nervensystem.

Bevorzugte hyperproliferative Erkrankungen für anti-CA9 Binder-Wirkstoff-Konjugate

Hyperproliferative Erkrankungen, zu deren Behandlung die erfindungsgemäßen Verbindungen bevorzugt eingesetzt werden können, sind CA9 überexprimierende Tumore, Brustkarzinome und Brusttumore (z.B. ductale und lobuläre Formen, auch *in situ*); Atemwegstumore (z.B. kleinzelliges und nicht-kleinzelliges Karzinom, Bronchialkarzinom), davon bevorzugt nichtkleinzelliges Lungenkarzinom; Hirntumore (z.B. des Hirnstamms und des Hypothalamus, Astrocytoma, Medulloblastoma, Ependymoma und/oder neuro-ectodermale und pineale Tumore); Tumore der Verdauungsorgane (z.B. Speiseröhre, Magen, Gallenblase, Dünndarm, Dickdarm, Rektum), davon besonders bevorzugt sind Magen- und Darmtumore; Lebertumore (u.a. hepatozelluläres Karzinom, Cholangiokarzinom und gemischt-hepatozelluläres Cholangiokarzinom); Tumore des Kopf- und Halsbereiches (z.B. Larynx, Hypopharynx, Nasopharynx, Oropharynx, Lippen, Mundhöhle, Zunge und Speiseröhre); Tumore des Harntrakts (Blasen-, Penis-, Nieren-, Nierenbecken- und Harnleitertumore), davon besonders bevorzugt Tumore der Nieren und der Blase; und/oder Tumore der reproduktiven Organe (Endometrium-, Zervix-, Ovarial-, Vaginal-, Vulva- und Uteruskarzinome der Frau und/oder Prostata- und Hodenkarzinome des Mannes), davon besonders bevorzugt Zervix- und Uteruskarzinome.

Bevorzugte hyperproliferative Erkrankungen für anti-EGFR Binder-Wirkstoff-Konjugate

Hyperproliferative Erkrankungen, zu deren Behandlung die erfindungsgemäßen Verbindungen bevorzugt eingesetzt werden können, sind EGFR überexprimierende Tumore, Atemwegstumore (z.B. kleinzelliges und nicht-kleinzelliges Karzinom, Bronchialkarzinom), davon bevorzugt nichtkleinzelliges Lungenkarzinom; Tumore der Verdauungsorgane (z.B. Speiseröhre, Magen, Gallenblase, Dünndarm, Dickdarm, Rektum), davon besonders sind Darmtumore; Tumore der endokrinen und exokrinen Drüsen (z.B. thyroide und parathyroide Drüsen, Bauchspeicheldrüse und Speicheldrüse), davon bevorzugt Pankreas; Tumore des Kopf- und Halsbereiches (z.B. Larynx, Hypopharynx, Nasopharynx, Oropharynx, Lippen, Mundhöhle, Zunge und Speiseröhre); und/oder Gliome.

Bevorzugte hyperproliferative Erkrankungen für anti-Mesothelin Binder-Wirkstoff-Konjugate

Hyperproliferative Erkrankungen, zu deren Behandlung die erfindungsgemäßen Verbindungen bevorzugt eingesetzt werden können, sind Mesothelin überexprimierende Tumore, Tumore der reproduktiven Organe (Endometrium-, Zervix-, Ovarial-, Vaginal-, Vulva- und Uteruskarzinome der Frau und/oder Prostata- und Hodenkarzinome des Mannes), davon bevorzugt Ovarialkarzinome; Tumore der endokrinen und exokrinen Drüsen (z.B. thyroide und parathyroide Drüsen, Bauchspeicheldrüse und Speicheldrüse), davon bevorzugt Pankreas; Atemwegstumore (z.B. kleinzelliges und nicht-kleinzelliges Karzinom, Bronchialkarzinom), davon bevorzugt nichtkleinzelliges Lungenkarzinom; und/oder Mesotheliome.

Bevorzugte hyperproliferative Erkrankungen für anti-C4.4a Binder-Wirkstoff-Konjugate

Hyperproliferative Erkrankungen, zu deren Behandlung die erfindungsgemäßen Verbindungen bevorzugt eingesetzt werden können, sind C4.4a überexprimierende Tumore, Plattenepithelkarzinome (z.B. der Cervix, Vulva, Vagina, des Analkanals, Endometriums, Fallopian Rohrs, Penis, Scrotum, der Speiseröhre, Brust, der Blase, des Gallenganges, Endometriums, Uterus, und Ovars); Brustkarzinome und Brusttumore (z.B. ductale und lobuläre Formen, auch *in situ*); Atemwegstumore (z.B. kleinzelliges und nicht-kleinzelliges Karzinom, Bronchialkarzinom), davon bevorzugt nichtkleinzelliges Lungenkarzinom, Plattenepithel- und Adenokarzinom der Lunge; Tumore des Kopf- und Halsbereiches (z.B. Larynx, Hypopharynx, Nasopharynx, Oropharynx, Lippen, Mundhöhle, Zunge und Speiseröhre, Plattenepithelkarzinome des Kopf- und Halsbereiches); Tumore des Harntrakts (Blasen-, Penis-, Nieren-, Nierenbecken- und Harnleitertumore, Plattenepithelkarzinome der Blase), davon besonders bevorzugt Tumore der Nieren und der Blase; Hauttumore (Plattenepithelkarzinom, Kaposi-Sarkom, malignes Melanom, Merkelzell-Hautkrebs und nicht-melanomartiger Hautkrebs), davon besonders bevorzugt Melanome; Tumore der endokrinen und exokrinen Drüsen (z.B. thyroide und parathyroide Drüsen, Bauchspeicheldrüse und Speicheldrüse), davon bevorzugt Pankreas; Tumore der Verdauungsorgane (z.B. Speiseröhre, Magen, Gallenblase, Dünndarm, Dickdarm, Rektum), davon besonders kolorectale Karzinome; und/oder Tumore der reproduktiven Organe (Endometrium-,

Zervix-, Ovarial-, Vaginal-, Vulva- und Uteruskarzinome der Frau und/oder Prostata- und Hodenkarzinome des Mannes), davon besonders bevorzugt Uteruskarzinome.

Diese gut beschriebenen Krankheiten des Menschen können mit vergleichbarer Ätiologie auch in anderen Säugetieren vorkommen und dort mit den Verbindungen der vorliegenden Erfindung be-
5 handelt werden.

Im Sinne der vorliegenden Erfindung umfasst der Begriff "Behandlung" oder "behandeln" ein Hemmen, Verzögern, Aufhalten, Lindern, Abschwächen, Einschränken, Verringern, Unterdrücken, Zurückdrängen oder Heilen einer Krankheit, eines Leidens, einer Erkrankung, einer Verletzung oder einer gesundheitlichen Störung, der Entfaltung, des Verlaufs oder des Fortschreitens solcher
10 Zustände und/oder der Symptome solcher Zustände. Der Begriff "Therapie" wird hierbei als synonym mit dem Begriff "Behandlung" verstanden.

Die Begriffe "Prävention", "Prophylaxe" oder "Vorbeugung" werden im Rahmen der vorliegenden Erfindung synonym verwendet und bezeichnen das Vermeiden oder Vermindern des Risikos, eine Krankheit, ein Leiden, eine Erkrankung, eine Verletzung oder eine gesundheitliche Störung, eine
15 Entfaltung oder ein Fortschreiten solcher Zustände und/oder die Symptome solcher Zustände zu bekommen, zu erfahren, zu erleiden oder zu haben.

Die Behandlung oder die Prävention einer Krankheit, eines Leidens, einer Erkrankung, einer Verletzung oder einer gesundheitlichen Störung können teilweise oder vollständig erfolgen.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist somit die Verwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen zur Behandlung und/oder Prävention von Erkrankungen, insbesondere der
20 zuvor genannten Erkrankungen.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prävention von Erkrankungen, insbesondere der zuvor genannten Erkrankungen.

25 Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen in einem Verfahren zur Behandlung und/oder Prävention von Erkrankungen, insbesondere der zuvor genannten Erkrankungen.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Verfahren zur Behandlung und/oder Prävention von Erkrankungen, insbesondere der zuvor genannten Erkrankungen, unter Verwendung
30 einer wirksamen Menge von mindestens einer der erfindungsgemäßen Verbindungen.

Das erfindungsgemäße anti-Mesothelin-Binder-Wirkstoff-Konjugat wird vorzugsweise zur Behandlung von Krebs in einem Patienten eingesetzt, wobei die zu behandelnden Krebszellen des

Patienten Mesothelin Expression haben. Bevorzugterweise werden Patienten behandelt, deren Mesothelin Expression in Krebszellen höher ist als in gesunden Zellen.

Ein Verfahren zur Identifizierung von Patienten, die vorteilhaft auf ein anti-Mesothelin Binder-Wirkstoff-Konjugat zur Behandlung von Krebs ansprechen, umfasst die Bestimmung der Mesothelin Expression in Krebszellen des Patienten. In einer Ausführungsform wird die Mesothelin Expression durch Mesothelin Genexpressionsanalyse ermittelt. Der Fachmann kennt Verfahren zur Genexpressionsanalyse wie z.B. RNA Detektion, quantitative oder qualitative Polymerasekettenreaktion oder Fluoreszenz in-situ Hybridisierung (FISH). In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wird die Mesothelin Expression mittels Immunohistochemie mit einem anti-Mesothelin Antikörper ermittelt. Bevorzugt wird die Immunohistochemie an Fomaldehyd-fixiertem Gewebe durchgeführt. Der Antikörper zur Verwendung in der Immunohistochemie ist der gleiche Antikörper sein, der auch im Konjugat Verwendung findet. Der Antikörper zur Verwendung in der Immunohistochemie ist ein zweiter Antikörper, der, bevorzugt spezifisch, das Zielprotein Mesothelin erkennt.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können allein oder bei Bedarf in Kombination mit einer oder mehreren anderen pharmakologisch wirksamen Substanzen eingesetzt werden, solange diese Kombination nicht zu unerwünschten und inakzeptablen Nebenwirkungen führt. Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind daher Arzneimittel, enthaltend mindestens eine der erfindungsgemäßen Verbindungen und einen oder mehrere weitere Wirkstoffe, insbesondere zur Behandlung und/oder Prävention der zuvor genannten Erkrankungen.

Beispielsweise können die Verbindungen der vorliegenden Erfindung mit bekannten anti-hyperproliferativen, zytostatischen oder zytotoxischen Substanzen zur Behandlung von Krebserkrankungen kombiniert werden. Als geeignete Kombinationswirkstoffe seien beispielhaft genannt:

Aldesleukin, Alendronsäure, Alfaferon, Alitretinoin, Allopurinol, Alopurin, Aloxi, Altretamin, Aminoglutethimid, Amifostin, Amrubicin, Amsacrin, Anastrozol, Anzmet, Aranesp, Arglabin, Arsentrioxid, Aromasin, 5-Azacytidin, Azathioprin, BCG oder tice-BCG, Bestatin, Betamethason-Acetat, Betamethason-Natriumphosphat, Bexaroten, Bleomycin-Sulfat, Broxuridin, Bortezomib, Busulfan, Calcitonin, Campath, Capecitabin, Carboplatin, Casodex, Cefeson, Celmoleukin, Cerubidin, Chlorambucil, Cisplatin, Cladribin, Clodronsäure, Cyclophosphamid, Cytarabin, Dacarbazin, Dactinomycin, DaunoXome, Decadron, Decadron-Phosphat, Delestrogen, Denileukin Diftitox, Depomedrol, Deslorelin, Dexrazoxan, Diethylstilbestrol, Diflucan, Docetaxel, Doxifluridin, Doxorubicin, Dronabinol, DW-166HC, Eligard, Elitek, Ellence, Emend, Epirubicin, Epoetin-alfa, Epopogen, Eptaplatin, Ergamisol, Estrace, Estradiol, Estramustin-Natriumphosphat, Ethinylestradiol, Ethyol, Etidronsäure, Etopophos, Etoposid, Fadrozol, Farston, Filgrastim, Finasterid, Fligrastim, Floxuridin, Fluconazol, Fludarabin, 5-Fluordeoxyuridin-Monophosphat, 5-Fluoruracil (5-FU), Flu-

oxymesteron, Flutamid, Formestan, Fosteabin, Fotemustin, Fulvestrant, Gammagard, Gemcitabin, Gemtuzumab, Gleevec, Gliadel, Goserelin, Granisetron-Hydrochlorid, Histrelin, Hycamtin, Hydrocorton, erythro-Hydroxynonyladenin, Hydroxyharnstoff, Ibritumomab Tiuxetan, Idarubicin, Ifosfamid, Interferon-alpha, Interferon-alpha-2, Interferon-alpha-2 α , Interferon-alpha-2 β , Interferon-alpha-n1, Interferon-alpha-n3, Interferon-beta, Interferon-gamma-1 α , Interleukin-2, Intron A, Iressa, Irinotecan, Kytril, Lentinan-Sulfat, Letrozol, Leucovorin, Leuprolid, Leuprolid-Acetat, Levamisol, Levofolinsäure-Calciumsalz, Levothroid, Levoxyl, Lomustin, Lonidamin, Marinol, Mechlorethamin, Mecobalamin, Medroxyprogesteron-Acetat, Megestrol-Acetat, Melphalan, Menest, 6-Mercaptopurin, Mesna, Methotrexat, Metvix, Miltefosin, Minocyclin, Mitomycin C, Mitotan, Mitoxantron, Modrenal, Myocet, Nedaplatin, Neulasta, Neumega, Neupogen, Nilutamid, Nolvadex, NSC-631570, OCT-43, Octreotid, Ondansetron-Hydrochlorid, Orapred, Oxaliplatin, Paclitaxel, PEDIAPRED, PEGASPARGASE, PEGASYS, Pentostatin, Picibanil, Pilocarpin-Hydrochlorid, Pirarubicin, Plicamycin, Porfimer-Natrium, Prednimustin, Prednisolon, Prednison, Premarin, Procarbazin, Procrit, Raltitrexed, Rebif, Rhenium-186-Etidronat, Rituximab, Roferon-A, Romurtid, Salagen, Sandostatin, Sargramostim, Semustin, Sizofiran, Sobuzoxan, Solu-Medrol, Streptozocin, Strontium-89-chlorid, Synthroid, Tamoxifen, Tamsulosin, Tasonermin, Tastolacton, Taxoter, Teceleukin, Temozolomid, Teniposid, Testosteron-Propionat, Testred, Thioguanin, Thiotepa, Thyrotropin, Tiludronsäure, Topotecan, Toremifen, Tositumomab, Tastuzumab, Teosulfan, Tretinoin, Trexall, Trimethylmelamin, Trimetrexat, Triptorelin-Acetat, Triptorelin-Pamoat, UFT, Uridin, Valrubicin, Vesnarinon, Vinblastin, Vincristin, Vindesin, Vinorelbin, Virulizin, Zinecard, Zinostatin-Stimalamer, Zofran; ABI-007, Acolbifen, Actimmun, Affinitak, Aminopterin, Arzoxifen, Asoprisnil, Atamestan, Atrasentan, Avastin, BAY 43-9006 (Sorafenib), CCI-779, CDC-501, Celebrex, Cetuximab, Crisnatol, Cyproteron-Acetat, Decitabin, DN-101, Doxorubicin-MTC, dSLIM, Dutasterid, Edotecarin, Eflornithin, Exatecan, Fenretinid, Histamin-Dihydrochlorid, Histrelin-Hydrogel-Implant, Holmium-166-DOTMP, Ibandronsäure, Interferon-gamma, Intron-PEG, Ixabepilon, Keyhole Limpet-Hemocyanin, L-651582, Lanreotid, Lasofoxifen, Libra, Lona-farnib, Miproxifen, Minodronat, MS-209, liposomales MTP-PE, MX-6, Nafarelin, Nemorubicin, Neovastat, Nolatrexed, Oblimersen, Onko-TCS, Osidem, Paclitaxel-Polyglutamat, Pamidronat-Dinatrium, PN-401, QS-21, Quazepam, R-1549, Raloxifen, Ranpirnas, 13-*cis*-Retinsäure, Satraplatin, Seocalcitol, T-138067, Tarceva, Taxoprexin, Thymosin-alpha-1, Tiazofurin, Tipifarnib, Tirapazamin, TLK-286, Toremifen, TransMID-107R, Valspodar, Vapreotid, Vatalanib, Verteporfin, Vinflunin, Z-100, Zoledronsäure, sowie Kombinationen hiervon.

In einer bevorzugten Ausführungsform können die Verbindungen der vorliegenden Erfindung mit anti-hyperproliferativen Agentien kombiniert werden, welche beispielhaft – ohne dass diese Aufzählung abschließend wäre – sein können:

- 287 -

Aminoglutethimid, L-Asparaginase, Azathioprin, 5-Azacytidin, Bleomycin, Busulfan, Carboplatin, Carmustin, Chlorambucil, Cisplatin, Colaspase, Cyclophosphamid, Cytarabin, Dacarbazin, Dactinomycin, Daunorubicin, Diethylstilbestrol, 2',2'-Difluordeoxycytidin, Docetaxel, Doxorubicin (Adriamycin), Epirubicin, Epothilon und seine Derivate, erythro-Hydroxynonyladenin, Ethinyl-
5 estradiol, Etoposid, Fludarabin-Phosphat, 5-Fluordeoxyuridin, 5-Fluordeoxyuridin-Monophosphat, 5-Fluoruracil, Fluoxymesteron, Flutamid, Hexamethylmelamin, Hydroxyharnstoff, Hydroxyprogesteron-Caproat, Idarubicin, Ifosfamid, Interferon, Irinotecan, Leucovorin, Lomustin, Mechlorethamin, Medroxyprogesteron-Acetat, Megestrol-Acetat, Melphalan, 6-Mercaptopurin, Mesna, Methotrexat, Mitomycin C, Mitotan, Mitoxantron, Paclitaxel, Pentostatin, *N*-Phosphono-
10 acetyl-L-aspartat (PALA), Plicamycin, Prednisolon, Prednison, Procarbazin, Raloxifen, Semustin, Streptozocin, Tamoxifen, Teniposid, Testosteron-Propionat, Thioguanin, Thiotepa, Topotecan, Trimethylmelamin, Uridin, Vinblastin, Vincristin, Vindesin und Vinorelbin.

In viel versprechender Weise lassen sich die erfindungsgemäßen Verbindungen auch mit biologischen Therapeutika wie Antikörpern (z.B. Avastin, Rituxan, Erbitux, Herceptin) kombinieren. Die
15 erfindungsgemäßen Verbindungen können auch in Kombination mit gegen die Angiogenese gerichteten Therapien positive Effekte erzielen, wie zum Beispiel mit Avastin, Axitinib, Recentin, Regorafenib, Sorafenib oder Sunitinib. Kombinationen mit Inhibitoren des Proteasoms und von mTOR sowie Kombinationen mit Antihormonen und steroidal metabolischen Enzyminhibitoren sind wegen ihres günstigen Nebenwirkungsprofils ebenfalls besonders geeignet.

20 Generell können mit der Kombination von Verbindungen der vorliegenden Erfindung mit anderen, zytostatisch oder zytotoxisch wirksamen Agenzien folgende Ziele verfolgt werden:

- eine verbesserte Wirksamkeit bei der Verlangsamung des Wachstums eines Tumors, bei der Reduktion seiner Größe oder sogar bei seiner völligen Eliminierung im Vergleich zu einer Behandlung mit einem einzelnen Wirkstoff;
- 25 • die Möglichkeit, die verwendeten Chemotherapeutika in geringerer Dosierung als bei der Monotherapie einzusetzen;
- die Möglichkeit einer verträglicheren Therapie mit weniger Nebeneffekten im Vergleich zur Einzelgabe;
- die Möglichkeit zur Behandlung eines breiteren Spektrums von Tumorerkrankungen;
- 30 • das Erreichen einer höheren Ansprechrate auf die Therapie;
- eine längere Überlebenszeit der Patienten im Vergleich zur heutigen Standardtherapie.

Darüber hinaus können die erfindungsgemäßen Verbindungen auch in Kombination mit einer Strahlentherapie und/oder einer chirurgischen Intervention eingesetzt werden.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Arzneimittel, die mindestens eine erfindungsgemäße Verbindung, üblicherweise zusammen mit einem oder mehreren inerten, nicht-toxischen, pharmazeutisch geeigneten Hilfsstoffen enthalten, sowie deren Verwendung zu den zuvor genannten Zwecken.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können systemisch und/oder lokal wirken. Zu diesem Zweck können sie auf geeignete Weise appliziert werden, wie beispielsweise, parenteral, möglicherweise inhalativ oder als Implantat bzw. Stent.

10 Für diese Applikationswege können die erfindungsgemäßen Verbindungen in geeigneten Applikationsformen verabreicht werden.

Die parenterale Applikation kann unter Umgehung eines Resorptionsschrittes geschehen (z.B. intravenös, intraarteriell, intrakardial, intraspinal oder intralumbal) oder unter Einschaltung einer Resorption (z.B. . intramuskulär, subkutan, intrakutan, perkutan oder intraperitoneal). Für die parenterale Applikation eignen sich als Applikationsformen u.a. Injektions- und Infusionszubereitungen in Form von Lösungen, Suspensionen, Emulsionen oder Lyophilisaten. Bevorzugt ist die parenterale Applikation, insbesondere die intravenöse Applikation.

Im Allgemeinen hat es sich als vorteilhaft erwiesen, bei parenteraler Applikation Mengen von etwa 0.001 bis 1 mg/kg, vorzugsweise etwa 0.01 bis 0.5 mg/kg Körpergewicht zur Erzielung wirksamer Ergebnisse zu verabreichen.

Trotzdem kann es gegebenenfalls erforderlich sein, von den genannten Mengen abzuweichen, und zwar in Abhängigkeit von Körpergewicht, Applikationsweg, individuellem Verhalten gegenüber dem Wirkstoff, Art der Zubereitung und Zeitpunkt bzw. Intervall, zu welchem die Applikation erfolgt. So kann es in einigen Fällen ausreichend sein, mit weniger als der vorgenannten Mindestmenge auszukommen, während in anderen Fällen die genannte obere Grenze überschritten werden muss. Im Falle der Applikation größerer Mengen kann es empfehlenswert sein, diese in mehreren Einzelgaben über den Tag zu verteilen.

Die nachfolgenden Beispiele erläutern die Erfindung. Die Erfindung ist nicht auf die Beispiele beschränkt.

30 Die Prozentangaben in den folgenden Tests und Beispielen sind, sofern nicht anders angegeben, Gewichtsprozent; Teile sind Gewichtsteile. Lösungsmittelverhältnisse, Verdünnungsverhältnisse und Konzentrationsangaben von flüssig/flüssig-Lösungen beziehen sich jeweils auf das Volumen.

PAGE INTENTIONALLY LEFT BLANK

A. BeispieleAbkürzungen und Akronyme:

A431NS	humane Tumorzelllinie
A549	humane Tumorzelllinie
ABCB1	ATP-binding cassette sub-family B member 1 (Synonym für P-gp und MDR1)
abs.	Absolut
ADC	Antibody-drug-conjugate = Antikörper-Wirkstoff-Konjugat
Ac	Acetyl
aq.	wässrig, wässrige Lösung
ATP	Adenosintriphosphat
BCRP	Brustkrebs-Resistenz-Protein, ein Efflux-Transporter
Boc	<i>tert.</i> -Butoxycarbonyl
br.	breit (bei NMR)
Bsp.	Beispiel
<i>ca.</i>	<i>circa</i> , ungefähr
CAIX	Carboanhydrase IX
CI	chemische Ionisation (bei MS)
d	Dublett (bei NMR)
d	Tag(e)
DC	Dünnschichtchromatographie
DCI	direkte chemische Ionisation (bei MS)
dd	Dublett von Dublett (bei NMR)
DMAP	4- <i>N,N</i> -Dimethylaminopyridin
DME	1,2-Dimethoxyethan
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium (standardisiertes Nährmedium für die Zellkultur)
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid

- 291 -

DPBS, D-PBS, PBS	Dulbecco's Phosphat-gepufferte Salz-Lösung PBS = DPBS = D-PBS, pH7,4, Fa. Sigma, No D8537 Zusammensetzung: 0,2 g KCl 0,2 g KH ₂ PO ₄ (anhyd) 8,0 g NaCl 1,15 g Na ₂ HPO ₄ (anhyd) ad 1 l mit H ₂ O auffüllen
dt	Dublett von Triplett (bei NMR)
DTT	DL-Dithiothreitol
d. Th.	der Theorie (bei chemischer Ausbeute)
EDC	<i>N</i> '-(3-Dimethylaminopropyl)- <i>N</i> -ethylcarbodiimid-Hydrochlorid
EGFR	Epidermal growth factor receptor = Epidermaler Wachstumsfaktor Rezeptor
EI	Elektronenstoß-Ionisation (bei MS)
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
eq.	Äquivalent(e)
ESI	Elektrospray-Ionisation (bei MS)
ESI-MicroTofq	<u>ESI</u> - MicroTofq (Name des Massenspektrometer mit ToF = Time Of Flight und q = Quadrupol)
FCS	fötales Kälberserum
Fmoc	(9 <i>H</i> -Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl
ges.	gesättigt
GTP	Guanosin-5'-triphosphat
h	Stunde(n)
HATU	<i>O</i> -(7-Azabenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium- hexafluorophosphat
HCT-116	Humane Tumorzelllinie
HEPES	4-(2-Hydroxyethyl)piperazin-1-ethansulfonsäure
HOAc	Essigsäure
HOBt	1-Hydroxy-1 <i>H</i> -benzotriazol-Hydrat
HOSu	<i>N</i> -Hydroxysuccinimid
HPLC	Hochdruck-, Hochleistungsflüssigchromatographie
HT29	humane Tumorzelllinie
IC ₅₀	halbmaximale Inhibitionskonzentration
i.m.	intramuskulär, Applikation in den Muskel

- 292 -

i.v.	intravenös, Applikation in die Vene
konz.	konzentriert
LC-MS	Flüssigchromatographie-gekoppelte Massenspektrometrie
LLC-PK1-Zellen	Lewis lung carcinoma pork kidney cell line
L-MDR	Human MDR1 transfizierte LLC-PK1 Zellen
m	Multipllett (bei NMR)
MDR1	Multidrug resistance protein 1
min	Minute(n)
MS	Massenspektrometrie
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazoliumbromid
NCI-H292	humane Tumorzelllinie
NCI-H520	humane Tumorzelllinie
NMM	N-Methylmorpholin
NMP	N-Methyl-2-pyrrolidinon
NMR	Kernresonanzspektrometrie
NMRI	Mausstamm, Herkunft aus dem Naval Medical Research Institute (NMRI)
Nude Mäuse	Nacktmäuse (Versuchstiere)
NSCLC	Non small cell lung cancer (Nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom)
PBS	Phosphat-gepufferte Salz-Lösung
Pd/C	Palladium auf Aktivkohle
P-gp	P-Glycoprotein, ein Transporterprotein
PNGaseF	Enzym zur Zuckerabspaltung
quant.	quantitativ (bei Ausbeute)
quart	Quartett (bei NMR)
quint	Quintett (bei NMR)
R _f	Retentionsindex (bei DC)
RT	Raumtemperatur
R _t	Retentionszeit (bei HPLC)
s	Singulett (bei NMR)
s.c.	subcutan, Applikation unter die Haut
SCC-4	Humane Tumorzelllinie
SCC-9	Humane Tumorzelllinie
SCID Mäuse	Versuchsmäuse mit einem schweren kombinierten Immundefekt (severe combined immunodeficiency)
t	Tripllett (bei NMR)
tert.	tertiär

- 293 -

TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
UV	Ultraviolett-Spektrometrie
v/v	Volumen zu Volumen-Verhältnis (einer Lösung)
Z	Benzyloxycarbonyl

HPLC- und LC-MS-Methoden:Methode 1 (LC-MS):

Instrument: Waters Acquity SQD UPLC System; Säule: Waters Acquity UPLC HSS T3 1.8µ
5 50 mm x 1 mm; Eluent A: 1 l Wasser + 0.25 ml 99%-ige Ameisensäure, Eluent B: 1 l Acetonitril +
0.25 ml 99%-ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 90% A → 1.2 min 5% A → 2.0 min 5% A;
Fluss: 0.40 ml/min; Ofen: 50°C; UV-Detektion: 210-400 nm.

Methode 2 (LC-MS):

Instrument: Micromass QuattroPremier mit Waters UPLC Acquity; Säule: Thermo Hypersil GOLD
10 1.9µ 50 mm x 1 mm; Eluent A: 1 l Wasser + 0.5 ml 50%-ige Ameisensäure, Eluent B: 1 l
Acetonitril + 0.5 ml 50%-ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 90% A → 0.1 min 90% A → 1.5
min 10% A → 2.2 min 10% A; Fluss: 0.33 ml/min; Ofen: 50°C; UV-Detektion: 210 nm.

Methode 3 (LC-MS):

Instrument: Micromass Quattro Micro MS mit HPLC Agilent Serie 1100; Säule: Thermo Hypersil
15 GOLD 3µ 20 mm x 4 mm; Eluent A: 1 l Wasser + 0.5 ml 50%-ige Ameisensäure, Eluent B: 1 l
Acetonitril + 0.5 ml 50%-ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 100% A → 3.0 min 10% A → 4.0
min 10% A → 4.01 min 100% A (Fluss 2.5 ml/min) → 5.00 min 100% A; Ofen: 50°C; Fluss:
2 ml/min; UV-Detektion: 210 nm.

Methode 4 (LC-MS):

20 Gerätetyp MS: Micromass ZQ; Gerätetyp HPLC: HP 1100 Series; UV DAD; Säule: Phenomenex
Gemini 3µ 30 mm x 3.00 mm; Eluent A: 1 l Wasser + 0.5 ml 50%-ige Ameisensäure, Eluent B: 1 l
Acetonitril + 0.5 ml 50%-ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 90% A → 2.5 min 30% A → 3.0
min 5% A → 4.5 min 5% A; Fluss: 0.0 min 1 ml/min → 2.5 min/3.0 min/4.5 min 2 ml/min; Ofen:
50°C; UV-Detektion: 210 nm.

Methode 5 (HPLC):

Gerät: HP 1090 Serie II; Säule: Merck Chromolith SpeedROD RP-18e, 50 mm x 4.6 mm; Vorsäule: Merck Chromolith Guard Cartridge Kit RP-18e, 5 mm x 4.6 mm; Injektionsvolumen: 5 µl; Eluent A: 70% HClO₄ in Wasser (4 ml/Liter), Eluent B: Acetonitril; Gradient: 0.00 min 20% B → 0.50 min 20% B → 3.00 min 90% B → 3.50 min 90% B → 3.51 min 20% B → 4.00 min 20% B; Fluss: 5 ml/min; Säulentemperatur: 40°C.

Methode 6 (HPLC):

Gerät: Waters 2695 mit DAD 996; Säule: Merck Chromolith SpeedROD RP-18e, 50 mm x 4.6 mm; BestNr: 1.51450.0001. Vorsäule: Merck Chromolith Guard Cartridge Kit RP-18e, 5 mm x 4.6 mm; BestNr: 1.51470.0001. Eluent A: 70% HClO₄ in Wasser (4 ml/Liter), Eluent B: Acetonitril; Gradient: 0.00 min 5% B → 0.50 min 5% B → 3.00 min 95% B → 4.00 min 95% B; Fluss: 5 ml/min.

Methode 7 (LC-MS):

Gerätetyp MS: Waters ZQ; Gerätetyp HPLC: Agilent 1100 Series; UV DAD; Säule: Thermo Hypersil GOLD 3µ 20 mm x 4 mm; Eluent A: 1 l Wasser + 0.5 ml 50%-ige Ameisensäure, Eluent B: 1 l Acetonitril + 0.5 ml 50%-ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 100% A → 3.0 min 10% A → 4.0 min 10% A → 4.1 min 100% A (Fluss 2.5 ml/min); Ofen: 55°C; Fluss: 2 ml/min; UV-Detektion: 210 nm.

Methode 8 (LC-MS):

Gerätetyp MS: Waters ZQ; Gerätetyp HPLC: Agilent 1100 Series; UV DAD; Säule: Thermo Hypersil GOLD 3µ 20 mm x 4 mm; Eluent A: 1 l Wasser + 0.5 ml 50%-ige Ameisensäure, Eluent B: 1 l Acetonitril + 0.5 ml 50%-ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 100% A → 2.0 min 60% A → 2.3 min 40% A → 3.0 min 20% A → 4.0 min 10% A → 4.2 min 100% A (Fluss 2.5 ml/min); Ofen: 55°C; Fluss: 2 ml/min; UV-Detektion: 210 nm.

Methode 9 (LC-MS):

Instrument: Waters Acquity SQD UPLC System; Säule: Waters Acquity UPLC HSS T3 1.8µ 50 mm x 1 mm; Eluent A: 1 l Wasser + 0.25 ml 99%-ige Ameisensäure, Eluent B: 1 l Acetonitril + 0.25 ml 99%-ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 95% A → 6.0 min 5% A → 7.5 min 5% A; Ofen: 50°C; Fluss: 0.35 ml/min; UV-Detektion: 210-400 nm.

- 295 -

Methode 10 (HPLC):

Gerät: Agilent 1200 Series; Säule: Agilent Eclipse XDB-C18 5 μ 4.6 mm x 150 mm; Vorsäule: Phenomenex KrudKatcher Disposable Pre-Column; Injektionsvolumen: 5 μ l; Eluent A: 1 l Wasser + 0.01% Trifluoressigsäure; Eluent B: 1 l Acetonitril + 0.01% Trifluoressigsäure; Gradient: 0.00
5 min 10% B \rightarrow 1.00 min 10% B \rightarrow 1.50 min 90% B \rightarrow 5.5 min 10% B; Fluss: 2 ml/min; Säulentemperatur: 30°C.

Für alle Reaktanden oder Reagenzien, deren Herstellung im Folgenden nicht explizit beschrieben ist, gilt, dass sie von allgemein zugänglichen Quellen kommerziell bezogen wurden. Für alle
10 übrigen Reaktanden oder Reagenzien, deren Herstellung im Folgenden ebenfalls nicht beschrieben ist und die nicht kommerziell erhältlich waren oder von Quellen bezogen wurden, die nicht allgemein zugänglich sind, ist ein Verweis auf die veröffentlichte Literatur angegeben, in der ihre Herstellung beschrieben ist.

Methode 11 (LC-MS):

Instrument: Waters ACQUITY SQD UPLC System; Säule: Waters Acquity UPLC HSS T3 1.8 μ
15 30 x 2 mm; Eluent A: 1 l Wasser + 0.25 ml 99%ige Ameisensäure, Eluent B: 1 l Acetonitril + 0.25 ml 99%ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 90% A \rightarrow 1.2 min 5% A \rightarrow 2.0 min 5% A Ofen: 50°C; Fluss: 0.60 ml/min; UV-Detektion: 208 – 400 nm.

Methode 12 (HPLC):

20 Gerät: Agilent 1200 Series mit Säulenofen und DAD; Säule: Merck Chromolith SpeedROD RP-18e, 50 mm x 4.6 mm; BestNr: 1.51450.0001. Vorsäule: Merck Chromolith Guard Cartridge Kit RP-18e, 5 mm x 4.6 mm; BestNr: 1.51470.0001. Eluent A: 70% HClO₄ in Wasser (4 ml/Liter), Eluent B: Acetonitril; Gradient: 0.00 min 5% B \rightarrow 0.50 min 5% B \rightarrow 3.00 min 95% B \rightarrow 4.00 min 95% B; Fluss: 5 ml/min; Säulentemperatur: 30°C.

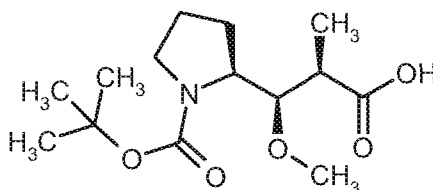
25 Methode 13 (LC-MS):

Instrument MS: Waters (Micromass) Quattro Micro; Instrument HPLC: Agilent 1100 Serie; Säule : YMC-Triart C18 3 μ 50 x 3 mm; Eluent A: 1 l Wasser + 0.01 mol Ammoniumcarbonat, Eluent B: 1 l Acetonitril; Gradient: 0.0 min 100% A \rightarrow 2.75 min 5% A \rightarrow 4.5 min 5% A; Ofen: 40°C; Fluss: 1.25 ml/min; UV-Detektion: 210 nm

30

Ausgangsverbindungen und Intermediate:**Ausgangsverbindung 1**

(2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert.*-Butoxycarbonyl)pyrrolidin-2-yl]-3-methoxy-2-methylpropansäure
(Boc-Dolaproin)



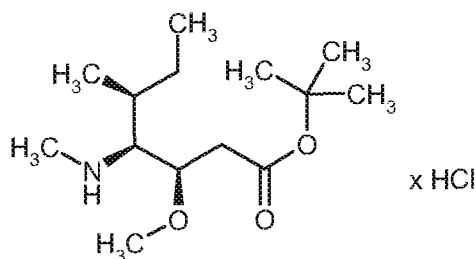
5

Die Titelverbindung kann auf verschiedenen Wegen nach Literaturvorschriften hergestellt werden, siehe z.B. Pettit *et al.*, *Synthesis* 1996, 719; Shioiri *et al.*, *Tetrahedron Lett.* 1991, 32, 931; Shioiri *et al.*, *Tetrahedron* 1993, 49, 1913; Koga *et al.*, *Tetrahedron Lett.* 1991, 32, 2395; Vidal *et al.*, *Tetrahedron* 2004, 60, 9715; Poncet *et al.*, *Tetrahedron* 1994, 50, 5345. Sie wurde entweder als freie Säure oder als 1:1 Salz mit Dicyclohexylamin hergestellt.

10

Ausgangsverbindung 2a

tert.-Butyl-(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-5-methyl-4-(methylamino)heptanoat-Hydrochlorid
(Dolaisoleucin-OtBu x HCl)



15

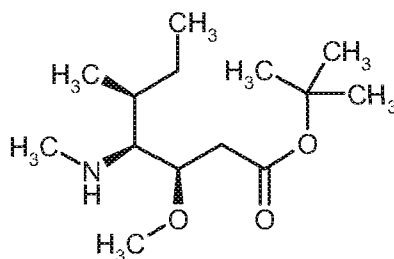
Die Titelverbindung kann auf verschiedenen Wegen nach Literaturvorschriften hergestellt werden, siehe z.B. Pettit *et al.*, *J. Org. Chem.* 1994, 59, 1796; Koga *et al.*, *Tetrahedron Lett.* 1991, 32, 2395; Shioiri *et al.*, *Tetrahedron Lett.* 1991, 32, 931; Shioiri *et al.*, *Tetrahedron* 1993, 49, 1913.

Ausgangsverbindung 2b

tert.-Butyl-(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-5-methyl-4-(methylamino)heptanoat
(Dolaisoleucin-O^tBu)

20

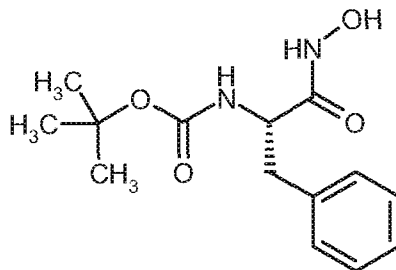
- 297 -



Die Verbindung wurde in Analogie zur Ausgangsverbindung 2a hergestellt, jedoch wurde die Hydrierung ohne Zusatz von 1N Salzsäure durchgeführt.

Ausgangsverbindung 3

- 5 *N*^α-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-hydroxy-L-phenylalaninamid



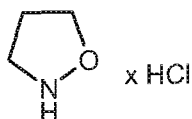
Die Titelverbindung wurde nach Literaturvorschrift hergestellt (A. Ritter *et al.*, *J. Org. Chem.* 1994, 59, 4602).

Ausbeute: 750 mg (75% d. Th.)

- 10 LC-MS (Methode 3): $R_t = 1.67$ min; MS (ESIpos): $m/z = 281$ (M+H)⁺.

Ausgangsverbindung 4

1,2-Oxazolidin-Hydrochlorid

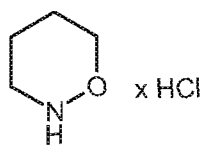


- Die Titelverbindung kann nach Literaturvorschriften hergestellt werden, siehe z.B. H. King, *J. Chem. Soc.* 1942, 432; sie ist auch kommerziell erhältlich.

Ausgangsverbindung 5

1,2-Oxazinan-Hydrochlorid

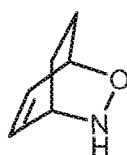
- 298 -



Die Titelverbindung kann nach Literaturvorschriften hergestellt werden, siehe z.B. H. King, *J. Chem. Soc.* 1942, 432.

Ausgangsverbindung 6

- 5 2-Oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en

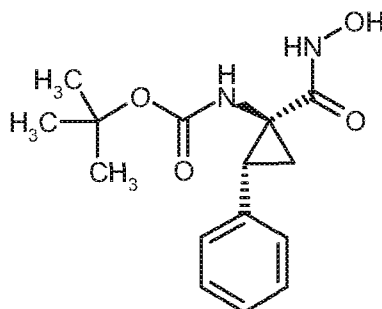


Die Titelverbindung kann in Boc-geschützter Form nach Literaturvorschrift hergestellt werden (siehe z.B. C. Johnson *et al.*, *Tetrahedron Lett.* 1998, 39, 2059); die Entschützung erfolgte auf übliche Weise durch Behandlung mit Trifluoressigsäure und anschließende Neutralisation.

- 10 Ausbeute: 149 mg (89% d. Th.).

Ausgangsverbindung 7

tert.-Butyl-[(1*S*,2*R*)-1-(hydroxycarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]carbamate



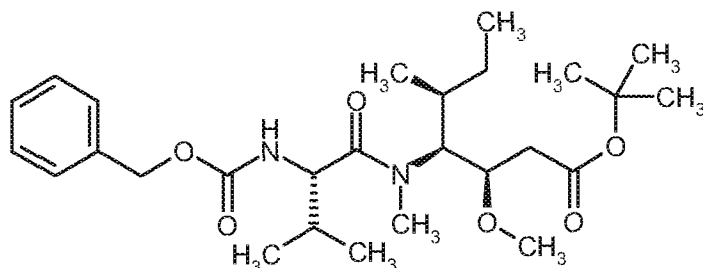
- Die Titelverbindung wurde gemäß einer Literaturvorschrift (A. Ritter *et al.*, *J. Org. Chem.* 1994, 59, 4602) hergestellt ausgehend von kommerziell erhältlicher (1*S*,2*R*)-1-[(*tert.*-Butoxycarbonyl)-amino]-2-phenylcyclopropancarbonsäure (C. Cativiela *et al.*, *Chirality* 1999, 11, 583).

Ausbeute: 339 mg (59% d. Th.)

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.82$ min; MS (ESIpos): $m/z = 293$ (M+H)⁺.

Intermediat 1

tert.-Butyl-(3*R*,4*S*,5*S*)-4- $\{N$ -[(benzyloxy)carbonyl]-L-valyl}(methyl)amino]-3-methoxy-5-methyl-heptanoat



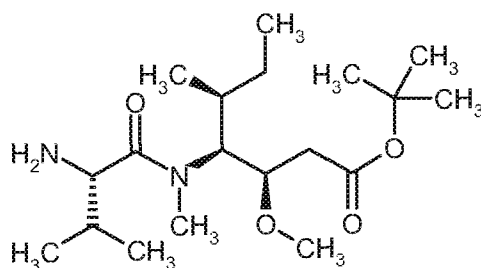
- 5 10.65 g (41.058 mmol) *tert.*-Butyl-(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-5-methyl-4-(methylamino)-heptanoat (Ausgangsverbindung 2b) wurden in 250 ml Dichlormethan aufgenommen und die Lösung auf -10°C abgekühlt. Dann wurden unter Rühren 10.317 g (41.058 mmol) *N*-[(Benzyloxy)carbonyl]-L-valin, 16.866 g (61.586 mmol) 2-Brom-1-ethylpyridinium-Tetrafluorborat (BEP) sowie 28.6 ml *N,N*-Diisopropylethylamin zugegeben und die Mischung anschließend 20 h bei RT gerührt. Das
- 10 Reaktionsgemisch wurde danach mit Dichlormethan verdünnt und zweimal mit gesättigter Natriumchloridlösung ausgeschüttelt, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingengt. Der Rückstand wurde durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 4:1 als Eluent gereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden eingengt und der Rückstand über Nacht im Hochvakuum getrocknet. Es wurden 10.22 g (51% d. Th.) der Titelverbindung als gelbliches Öl
- 15 erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 2.3$ min;

LC-MS (Methode 2): $R_t = 1.59$ min; MS (ESIpos): $m/z = 493$ (M+H)⁺.

Intermediat 2

tert.-Butyl-(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-5-methyl-4-[methyl(L-valyl)amino]heptanoat



- 300 -

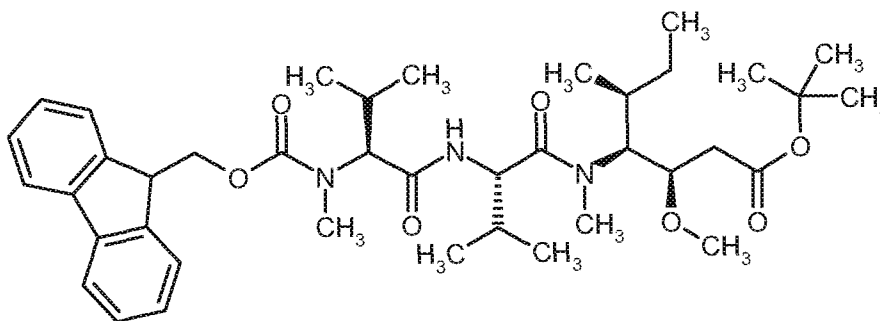
500 mg (1 mmol) *tert.*-Butyl-(3*R*,4*S*,5*S*)-4-[{*N*-[(benzyloxy)carbonyl]-L-valyl}(methyl)amino]-3-methoxy-5-methylheptanoat (Intermediat 1) wurden in 50 ml Methanol gelöst und nach Zugabe von 100 mg 10%-igem Palladium auf Aktivkohle 1 h lang bei RT unter Wasserstoff-Normaldruck hydriert. Der Katalysator wurde danach abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Man erhielt 370 mg (quant.) der Titelverbindung als nahezu farbloses Öl.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.59$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.74$ min; MS (ESIpos): $m/z = 359$ (M+H)⁺.

Intermediat 3

N-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-*tert.*-butoxy-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



4.64 g (13.13 mmol) *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valin wurden in 20 ml DMF gelöst und nacheinander mit 4.28 g (11.94 mmol) *tert.*-Butyl-(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-5-methyl-4-[methyl(L-valyl)amino]heptanoat (Intermediat 2), 2.75 g (14.33 mmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid sowie 2.2 g (14.33 mmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde danach in eine Mischung aus halbgesättigter wässriger Ammoniumchlorid-Lösung und Ethylacetat gegossen. Die organische Phase wurde abgetrennt, nacheinander mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt. Der Rückstand wurde direkt, ohne weitere Reinigung, in der nächsten Stufe eingesetzt.

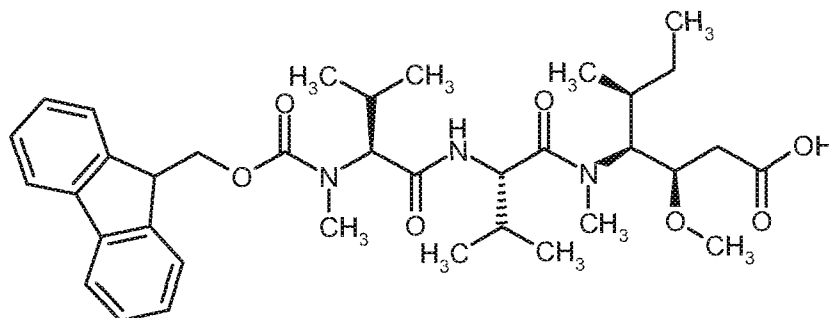
Ausbeute: 9.1 g (quant., 60%-ige Reinheit)

HPLC (Methode 5): $R_t = 2.7$ min;

LC-MS (Methode 2): $R_t = 1.99$ min; MS (ESIpos): $m/z = 694$ (M+H)⁺.

Intermediat 4

N-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



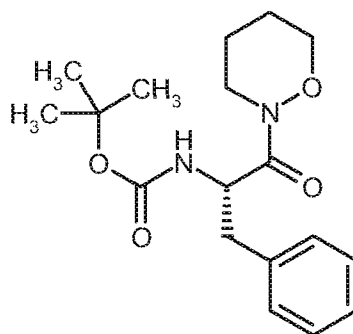
- 5 9.1 g des Rohproduktes *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-*tert*-butoxy-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 3) wurden in 56.6 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 56.6 ml Trifluoressigsäure versetzt und 2h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingengt und der verbliebene Rückstand durch Flash-Chromatographie gereinigt, wobei als Eluent Dichlormethan,
- 10 Dichlormethan/Ethylacetat 3:1 und Dichlormethan/Ethylacetat/Methanol 15:5:0.5 verwendet wurden. Nach Vereinigung der entsprechenden Fraktionen und Einengen wurden 5.8 g (86% d. Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 2.2$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.3$ min; MS (ESIpos): $m/z = 638$ (M+H)⁺.

15 **Intermediat 5**

tert-Butyl-[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]carbamat



500 mg (1.9 mmol) *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-L-phenylalanin wurden in 10 ml DMF gelöst und nacheinander mit 466 mg (3.8 mmol) 1,2-Oxazinan-Hydrochlorid (Ausgangsverbindung 5),

- 302 -

433 mg (2.3 mmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 382 mg (2.8 mmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat sowie 731 mg (5.7 mmol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde danach in eine Mischung aus halbgesättigter wässriger Ammoniumchlorid-Lösung und Ethylacetat gegossen.

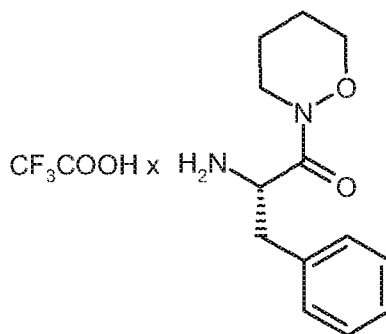
- 5 Die organische Phase wurde abgetrennt, nacheinander mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt. Man erhielt 620 mg (98% d. Th.) der Titelverbindung.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.8$ min;

LC-MS (Methode 2): $R_t = 1.62$ min; MS (ESIpos): $m/z = 235$ (M-C₄H₈-CO₂+H)⁺.

10 Intermediat 6

(2*S*)-2-Amino-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-3-phenylpropan-1-on-Trifluoracetat



- 620 mg (1.85 mmol) *tert.*-Butyl-[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]carbamat (Intermediat 5) wurden in 5 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 10 ml Trifluoressigsäure versetzt und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeeengt und der verbliebene Rückstand aus Wasser/Acetonitril lyophilisiert. Auf diese Weise wurden 779 mg (91% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.
- 15

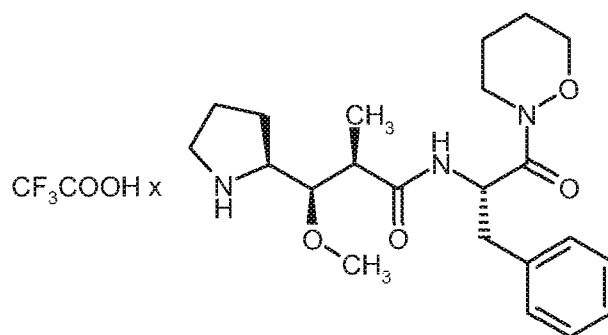
HPLC (Methode 5): $R_t = 0.45$ min;

LC-MS (Methode 3): $R_t = 1.09$ min; MS (ESIpos): $m/z = 235$ (M+H)⁺.

20 Intermediat 7

(2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-*N*-[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanamid-Trifluoracetat

- 303 -



360 mg (1.25 mmol) (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert*-Butoxycarbonyl)pyrrolidin-2-yl]-3-methoxy-2-methylpropansäure (Ausgangsverbindung 1) wurden in 10 ml DMF aufgenommen und nacheinander mit 579.2 mg (1.25 mmol) (2*S*)-2-Amino-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-3-phenylpropan-1-on-Trifluoroacetat (Intermediat 6), 714.5 mg (1.88 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N,N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) sowie 655 μ l *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde 16 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde danach eingeeengt, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und zuerst mit 5%-iger wässriger Zitronensäure-Lösung, dann mit 5%-iger wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung und anschließend mit gesättigter Natriumchloridlösung ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde eingeeengt und der Rückstand durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan/Methanol 16:4 als Eluent gereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden vereinigt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Trocknen des Rückstands im Hochvakuum wurden 503.5 mg (74% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats *tert*-Butyl-(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-carboxylat erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 2.0$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.12$ min; MS (ESIpos): $m/z = 504$ (M+H)⁺.

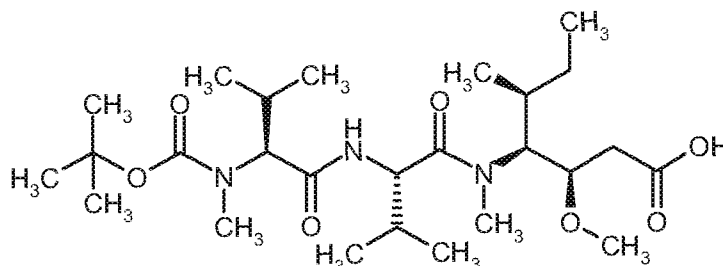
503 mg (1 mmol) dieses Intermediats wurden in 20 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 10 ml Trifluoressigsäure versetzt und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeeengt und mit Dichlormethan rückdestilliert. Der verbliebene Rückstand wurde aus Ethylacetat mit *n*-Pentan gefällt, das Lösungsmittel abdekantiert. Der so erhaltene Rückstand wurde in Wasser gelöst und mit Ethylacetat ausgeschüttelt und die wässrige Phase anschließend lyophilisiert. Auf diese Weise wurden 462 mg (89% d. Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.53$ min;

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.57$ min; MS (ESIpos): $m/z = 404$ (M+H)⁺.

Intermediat 8

N-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



5 51 mg (0.08 mmol) *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 4) wurden in 10 ml DMF gelöst und mit 0.5 ml Piperidin versetzt. Nach 10 min Rühren bei RT wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingengt und der Rückstand mit Diethylether verrührt. Die unlöslichen Bestandteile wurden abfiltriert und mehrfach mit Diethylether gewaschen. Dann wurde

10 der Filter-Rückstand in 5 ml Dioxan/Wasser aufgenommen und die Lösung mit 1 N Natronlauge auf pH 11 eingestellt. Unter Ultraschallbehandlung wurden in mehreren Portionen insgesamt 349 mg (1.6 mmol) Di-*tert.*-butyldicarbonat zugegeben, wobei der pH-Wert der Lösung bei 11 gehalten wurde. Nach Beendigung der Reaktion wurde das Dioxan abgedampft und die wässrige Lösung mit Zitronensäure auf einen pH-Wert von 2-3 eingestellt. Man extrahierte zweimal mit je 50 ml

15 Ethylacetat. Die organischen Phasen wurden vereinigt, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wurde in Diethylether aufgenommen und das der Titelverbindung mit Pentan ausgefällt. Durch Dekantieren wurde das Lösungsmittel abgetrennt. Der Rückstand wurde noch mehrmals mit Pentan digeriert und schließlich im Hochvakuum getrocknet. Es wurden so 40 mg (97% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

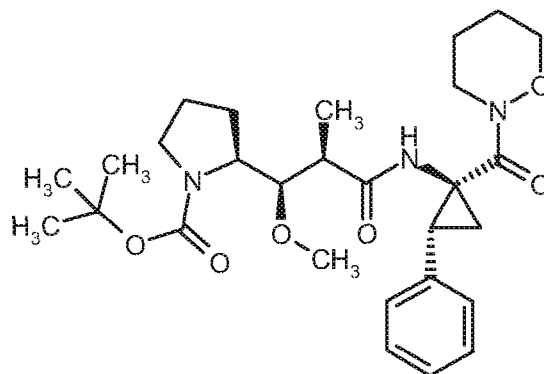
20 HPLC (Methode 6): $R_t = 2.2$ min;

LC-MS (Methode 2): $R_t = 1.32$ min; MS (ESIpos): $m/z = 516$ (M+H)⁺.

Intermediat 9

tert.-Butyl-(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[[[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-carboxylat

- 305 -



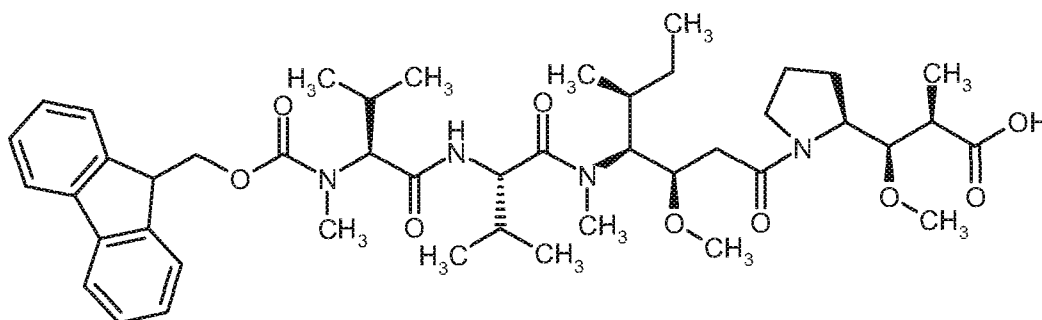
- Die Titelverbindung wurde in Analogie zur Synthese der Intermediate 5, 6 und 7 über drei Stufen durch Kupplung von kommerziell erhältlich (1*S*,2*R*)-1-[(*tert*.-Butoxycarbonyl)amino]-2-phenyl-cyclopropan-carbonsäure mit 1,2-Oxazinan-Hydrochlorid (Ausgangsverbindung 5), anschließende
- 5 Entschützung mit Trifluoressigsäure und Kupplung mit Ausgangsverbindung 1 hergestellt. Das Endprodukt wurde durch präparative HPLC gereinigt.

HPLC (Methode 5): $R_t = 2.12$ min;

LC-MS (Methode 2): $R_t = 1.25$ min; MS (ESIpos): $m/z = 516$ (M+H)⁺.

Intermediat 10

- 10 *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



- 315 mg (0.494 mmol) *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 4) wurden in 12 ml
- 15 DMF gelöst, mit 104 mg (0.543 mmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid sowie 83 mg (0.543 mmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat versetzt und 90 min bei RT gerührt. Anschließend wurden 112 μ l *N,N*-Diisopropylethylamin sowie 149 mg (0.494 mmol) (2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propansäure-Trifluoracetat, welches zuvor

- 306 -

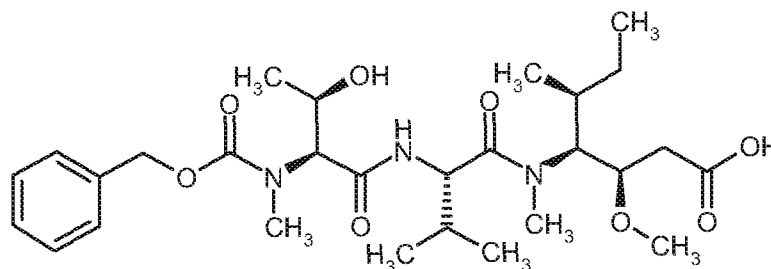
aus der Ausgangsverbindung 1 durch Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure hergestellt worden war, hinzugegeben. Die Mischung wurde 2 h bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde durch zweimalige präparative HPLC aufgereinigt. Es wurden 140 mg (35% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines farblosen Schaumes erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 2.40$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.38$ min; MS (ESIpos): $m/z = 807$ (M+H)⁺.

Intermediat 11

N-[(Benzyloxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-threonyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Zunächst wurde *N*-[(Benzyloxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-threonin aus 237 mg (0.887 mmol) seines Dicyclohexylamin-Salzes durch Aufnehmen in Ethylacetat und Ausschütteln mit 5%-iger wässriger Schwefelsäure freigesetzt. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde in 16 ml DMF aufgenommen und nacheinander mit 365 mg (1 mmol) *tert*-Butyl-(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-5-methyl-4-[methyl(L-valyl)amino]heptanoat (Intermediat 2), 185 mg (0.967 mmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid sowie 148 mg (0.967 mmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat versetzt. Die Mischung wurde 2 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde danach in eine Mischung aus halbgesättigter wässriger Ammoniumchlorid-Lösung und Ethylacetat gegossen. Die organische Phase wurde abgetrennt, nacheinander mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde durch präparative HPLC aufgereinigt. Es wurden so 283 mg (53% d. Th.) des *tert*-Butylester-Intermediats *N*-[(Benzyloxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-threonyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-*tert*-butoxy-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 2.17$ min.

- 307 -

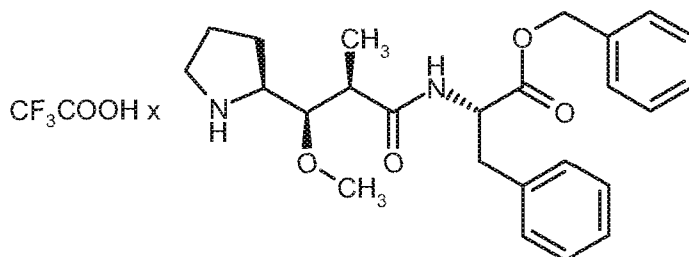
283 mg (0.466 mmol) dieses Intermediats wurden in 5 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 5 ml wasserfreier Trifluoressigsäure versetzt und 2 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Hochvakuum eingengt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Man erhielt 156 mg (61% d. Th.) der Titelverbindung als farblosen Schaum.

5 HPLC (Methode 5): $R_t = 1.50$ min;

LC-MS (Methode 2): $R_t = 1.09$ min; MS (ESIpos): $m/z = 552$ (M+H)⁺.

Intermediat 12

Benzyl-*N*-{(2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}-*L*-phenylalaninat-Trifluoracetat



10

Im ersten Schritt wurde die Ausgangsverbindung 1 aus 600 mg (1.28 mmol) des entsprechenden Dicyclohexylammoniumsalz freigesetzt durch Auflösen des Salzes in 100 ml Ethylacetat und Ausschütteln zunächst mit 50 ml 0.5%-iger Schwefelsäure und dann mit gesättigter Natriumchloridlösung. Daraufhin wurde die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet, 15
 15 filtriert, eingengt und sofort mit Benzyl-*L*-phenylalaninat in Analogie zur Synthese von Intermediat 7 umgesetzt und anschließend entschützt.

Ausbeute: 650 mg (94% über 2 Stufen)

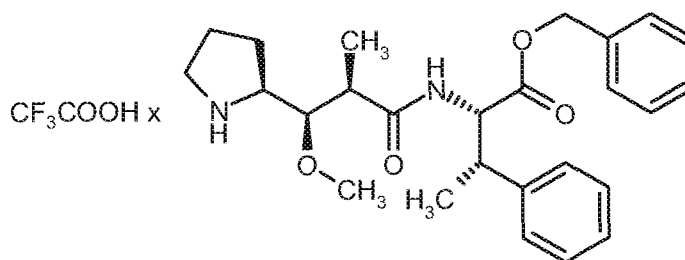
HPLC (Methode 6): $R_t = 1.76$ min;

LC-MS (Methode 2): $R_t = 1.68$ min; MS (ESIpos): $m/z = 425$ (M+H)⁺.

20 Intermediat 13

Benzyl-(β*S*)-*N*-{(2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}-β-methyl-*L*-phenylalaninat-Trifluoracetat

- 308 -



Zunächst wurde (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert*-Butoxycarbonyl)pyrrolidin-2-yl]-3-methoxy-2-methylpro-
 pansäure aus 351 mg (0.75 mmol) des Dicyclohexylamin-Salzes (Ausgangsverbindung 1) durch
 5 aufnehmen in Ethylacetat und Ausschütteln mit wässriger 5%iger Kaliumhydrogensulfat-Lösung
 freigesetzt. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingengt.
 Der Rückstand wurde in 10 ml DMF aufgenommen und nacheinander mit 373 mg (0.75 mmol)
 Benzyl-(β*S*)-β-methyl-L-phenylalaninat-Trifluoracetat [hergestellt aus kommerziell erhältlichem
 (β*S*)-*N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-β-methyl-L-phenylalanin durch EDC/DMAP-vermittelte Ver-
 esterung mit Benzylalkohol und nachfolgende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mit Trifluor-
 10 essigsäure], 428 mg (1.125 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-
 hexafluorophosphat (HATU) sowie 392 μl *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wur-
 de 20 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde dann auf eine Mischung aus halbgesättigter
 wässriger Ammoniumchlorid-Lösung und Ethylacetat gegossen. Die organische Phase wurde
 abgetrennt, nacheinander mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und gesättigter
 15 Natriumchlorid-Lösung gewaschen und anschließend eingengt. Der Rückstand wurde mittels
 präparativer HPLC gereinigt. Man erhielt so 230 mg (57% d. Th.) des Boc-geschützten Inter-
 mediats Benzyl-(β*S*)-*N*-{(2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert*-butoxycarbonyl)pyrrolidin-2-yl]-3-methoxy-2-
 methylpropanoyl}-β-methyl-L-phenylalaninat.

HPLC (Methode 6): $R_t = 2.3$ min;

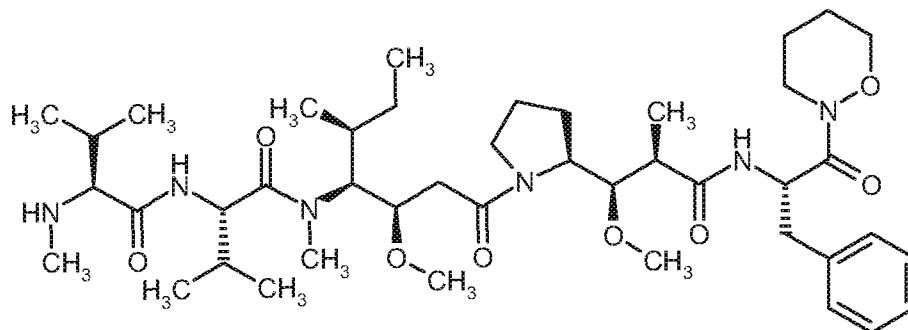
20 LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.36$ min; MS (ESIpos): $m/z = 539$ (M+H)⁺.

230 mg (0.42 mmol) dieses Intermediats wurden in 5 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 5 ml
 Trifluoressigsäure versetzt und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch
 im Vakuum eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum weiter
 getrocknet und dann aus Acetonitril/Wasser lyophilisiert. Auf diese Weise wurden 230 mg (quant.)
 25 der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 6): $R_t = 1.6$ min.

Intermediat 14

N-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



x CF₃COOH

5

143 mg (0.223 mmol) *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 4) wurden in 15 ml DMF aufgenommen und nacheinander mit 141 mg (0.22 mmol) (2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-*N*-[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanamid-
 10 Trifluoracetat (Intermediat 7), 102 mg (0.27 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) sowie 128 μ l (0.74 mmol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde 3 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde danach in eine Mischung aus halbgesättigter wässriger Ammoniumchlorid-Lösung und Ethylacetat gegossen. Die organische Phase wurde abgetrennt, nacheinander mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-
 15 Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingengt. Man erhielt so 275 mg (quant.) des Fmoc-geschützten Intermediats *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid.

20 HPLC (Methode 5): $R_t = 2.73$ min;

LC-MS (Methode 4): $R_t = 3.19$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1023$ (M+H)⁺.

46 mg (0.045 mmol) dieses Intermediats wurden in 4 ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 1 ml Piperidin wurde das Reaktionsgemisch 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt
 25 (Eluent: Acetonitril + 0.01% TFA / Wasser + 0.01% TFA). Es wurden 22 mg (54% d. Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

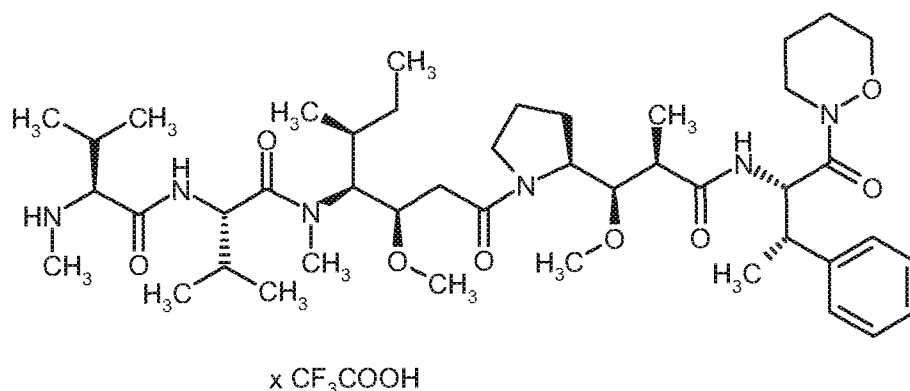
- 310 -

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.68$ min;LC-MS (Methode 2): $R_t = 1.03$ min; MS (ESIpos): $m/z = 801$ (M+H)⁺

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 8.8$ (m, 2H), 8.7 (m, 1H), 8.42 und 8.15 (2d, 1H), 7.3-7.1 (m, 5H), 5.12 und 4.95 (2m, 1H), 4.70 und 4.62 (2m, 1H), 4.62 und 4.50 (2t, 1H), 4.1-3.9 (m, 3H), 3.85
 5 (m, 1H), 3.75-3.6 (m, 2H), 3.23, 3.18, 3.17, 3.14, 3.02 und 2.96 (6s, 9H), 3.1-2.9 und 2.75 (2m, 2H), 2.46 (m, 3H), 2.4-2.1 (m, 2H), 2.05 (br. m, 2H), 1.85-1.55 (br. m, 6H), 1.5-1.2 (br. m, 3H), 1.1-0.8 (m, 18H), 0.75 (t, 3H) [weitere Signale unter H₂O-Peak verborgen].

Intermediat 15

N-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{(2*S*,3*S*)-
 10 1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



126 mg (0.198 mmol) *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 4) wurden in 10 ml
 15 DMF aufgenommen und nacheinander mit 105 mg (0.198 mmol) (2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-*N*-[(2*S*,3*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanamid-Trifluoracetat (Intermediat 17), 41.6 mg (0.217 mmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 33 mg (0.217 mmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat sowie 79 μ l (0.454 mmol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt.
 20 Das Reaktionsgemisch wurde danach in eine Mischung aus halbgesättigter wässriger Ammoniumchlorid-Lösung und Ethylacetat gegossen. Die organische Phase wurde abgetrennt, nacheinander mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt. Es wurden so 220 mg (quant.) des Fmoc-geschützten Intermediats *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-
 25 [(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{(2*S*,3*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-

- 311 -

yl)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 2.77$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.5$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1037$ (M+H)⁺.

- 5 220 mg (0.212 mmol) dieses Intermediats wurden in 5 ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 1 ml Piperidin wurde das Reaktionsgemisch 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt (Eluent: Acetonitril + 0.01% TFA / Wasser + 0.01% TFA). Es wurden 91 mg (46% d. Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

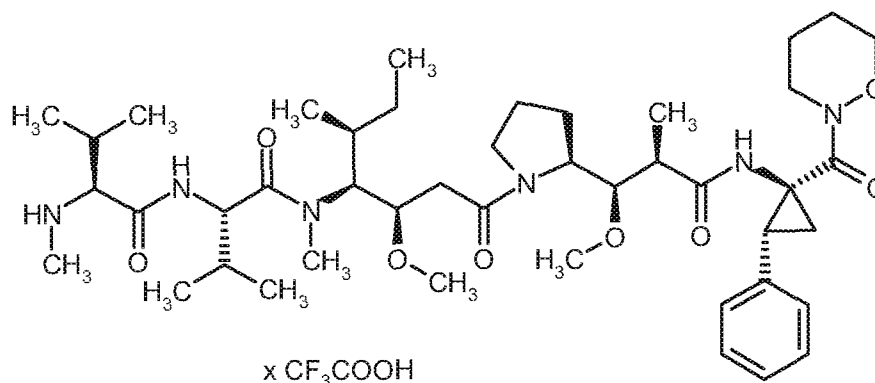
- 10 HPLC (Methode 5): $R_t = 1.71$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.9$ min; MS (ESIpos): $m/z = 815$ (M+H)⁺

- ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 8.87$ und 8.80 (2d, 2H), 8.75 (m, 1H), 8.40 und 7.98 (2d, 1H), $7.3-7.1$ (m, 5H), 5.45 und 5.2 (2t, 1H), 4.78 und 4.62 (2m, 1H), 4.73 und 4.58 (2t, 1H), $4.2-4.0$ (m, 3H), $3.7-3.6$ (m, 1H), 3.35 , 3.20 , 3.18 , 3.14 , 3.12 und 3.00 (6s, 9H), 3.1 und 2.95 (2m, 2H), 2.46 (m, 3H), $2.4-2.0$ (m, 4H), $1.9-1.6$ (m, 4H), $1.6-1.2$ (m, 5H), $1.1-0.75$ (m, 21H), 0.80 (t, 3H) [weitere Signale unter H₂O-Peak verborgen].

Intermediat 16

- N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[[*(1S,2R)*-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl)-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



- 617 mg (1.2 mmol) *tert*-Butyl-(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[[*(1S,2R)*-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-carboxylat (Intermediat 24)

- 312 -

wurden in 44 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 4.4 ml Trifluoressigsäure versetzt und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeeengt und der verbliebene Rückstand aus Dioxan/Wasser lyophilisiert. Es wurden 702 mg (quant.) der entschützten Verbindung (2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-*N*-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanamid-Trifluoracetat als Rohprodukt erhalten,
5 das ohne weitere Reinigung in der folgenden Stufe eingesetzt wurde.

470 mg (0.74 mmol) *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 4) wurden in 57 ml DMF aufgenommen und nacheinander mit 390 mg (ca. 0.74 mmol) des oben erhaltenen (2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-*N*-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanamid-Trifluoracetates, 336 mg (0.88 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) sowie 423 μ l (2.4 mmol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde 2 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde dann in eine Mischung aus halbgesättigter wässriger Ammoniumchlorid-Lösung und Ethylacetat
15 gegossen. Die organische Phase wurde abgetrennt, nacheinander mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt. Der Rückstand wurde durch präparative HPLC gereinigt. Man erhielt so 453 mg (59% d. Th.) des Fmoc-geschützten Intermediats *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid.
20

HPLC (Methode 5): $R_t = 2.58$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 3.10$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1035$ (M+H)⁺.

453 mg (0.438 mmol) dieses Intermediats wurden in 24 ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 2.4 ml
25 Piperidin wurde das Reaktionsgemisch 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeeengt und der Rückstand durch präparative HPLC gereinigt (Eluent: Acetonitril / 0.1% TFA in Wasser). Es wurden 260 mg (64% d. Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.64$ min;

30 LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.86$ min; MS (ESIpos): $m/z = 813$ (M+H)⁺

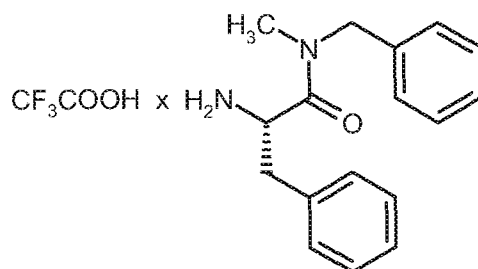
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 8.8$ (m, 2H), 8.65 (m, 2H), 7.3-7.1 (m, 5H), 4.8-4.05 (m, 2H), 4.0 und 3.82 (2m, 2H), 3.8-3.5 (m, 8H), 3.32, 3.29, 3.20, 3.19, 3.12 und 3.00 (6s, 9H), 2.65 (t, 1H),

- 313 -

2.5-2.45 (m, 3H), 2.4-1.3 (m, 15H), 1.15-0.85 (m, 18H), 0.8 und 0.75 (2d, 3H) [weitere Signale unter H₂O-Peak verborgen].

Intermediat 17

N-Benzyl-*N*-methyl-*L*-phenylalaninamid-Trifluoracetat



5

1000 mg (3.77 mmol) *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*L*-phenylalanin wurden in 10 ml DMF gelöst und mit 457 mg (3.77 mmol) *N*-Methylbenzylamin, 2150 mg (5.65 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 657 µl *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min bei RT gerührt und anschließend im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und dreimal mit Wasser ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wurde durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 3:1 als Laufmittel gereinigt. Die Produktfraktionen wurden eingeeengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Man erhielt so 1110 mg (75% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats *N*-Benzyl-*N*^α-(*tert*-butoxycarbonyl)-*N*-methyl-*L*-phenylalaninamid.

15

HPLC (Methode 6): $R_t = 2.1$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.14$ min; MS (ESIpos): $m/z = 369$ (M+H)⁺.

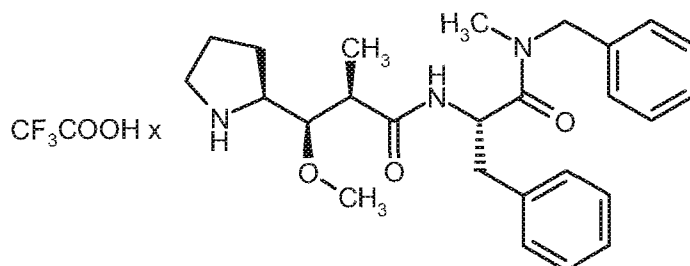
1108 mg (3.007 mmol) dieses Intermediats wurden in 30 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 10 ml Trifluoressigsäure versetzt und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeeengt, der verbliebene Rückstand mit Dichlormethan verrührt und das Lösungsmittel abdestilliert. Der Rückstand wurde noch zweimal mit Pentan verrührt, das Lösungsmittel jeweils wieder abdekantiert und das der Titelverbindung schließlich im Hochvakuum getrocknet. Es wurden so 1075 mg (93% d. Th.) der Titelverbindung als ein Harz erhalten.

25 HPLC (Methode 6): $R_t = 1.6$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.6$ min; MS (ESIpos): $m/z = 269$ (M+H)⁺.

Intermediat 18

N-Benzyl-*N*'-((2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl)-*N*-methyl-*L*-phenylalaninamid-Trifluoracetat



- 5 Zunächst wurde (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert*-Butoxycarbonyl)pyrrolidin-2-yl]-3-methoxy-2-methylpropanoäure (Ausgangsverbindung 1) aus 141 mg (0.491 mmol) ihres Dicyclohexylamin-Salzes durch Aufnehmen in Ethylacetat und Ausschütteln mit 5%-iger wässriger Schwefelsäure freigesetzt. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt. Der Rückstand wurde in 10 ml DMF aufgenommen und mit 187.6 mg (0.49 mmol) *N*-Benzyl-*N*-methyl-*L*-phenylalaninamid-Trifluoracetat (Intermediat 9), 190.3 mg (1.47 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) sowie 256 µl *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde 1 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde danach eingeeengt, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und die Lösung nacheinander mit gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung, gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser
- 10 ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wurde per Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Acetonitril/Wasser 30:1 als Eluent gereinigt. Die Produktfraktionen wurden eingeeengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Man erhielt so 168 mg (64% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats *tert*-Butyl-(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-((2*S*)-1-[benzyl(methyl)amino]-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)amino]-1-methoxy-2-methyl-3-
- 20 oxopropyl]pyrrolidin-1-carboxylat.

HPLC (Methode 6): $R_t = 2.2$ min;

LC-MS (Methode 2): $R_t = 1.22$ min; MS (ESIpos): $m/z = 538$ (M+H)⁺.

- 168 mg (0.312 mmol) dieses Intermediats wurden in 15 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 3 ml Trifluoressigsäure versetzt und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeeengt. Der verbliebene Rückstand wurde zunächst mit Dichlormethan, dann mit Diethylether verrührt und das Lösungsmittel jeweils wieder abdestilliert. Nach Trocknen im Hochvakuum wurden 170 mg (99% d. Th.) der Titelverbindung als ein Harz erhalten.
- 25

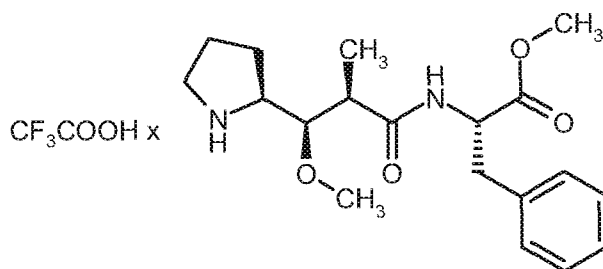
HPLC (Methode 6): $R_t = 1.7$ min;

- 315 -

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.73$ min; MS (ESIpos): $m/z = 438$ (M+H)⁺.

Intermediat 19

Methyl-*N*-{(2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}-*L*-phenylalaninat-Trifluoracetat



5

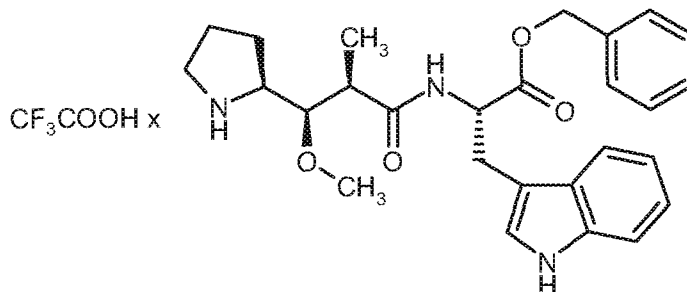
Die Titelverbindung wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 18 ausgehend von (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert*-Butoxycarbonyl)pyrrolidin-2-yl]-3-methoxy-2-methylpropansäure (Ausgangsverbindung 1), die aus dem Dicyclohexylamin-Salz freigesetzt wurde, und Methyl-*L*-phenylalaninat-Hydrochlorid hergestellt.

10 HPLC (Methode 5): $R_t = 0.6$ min;

LC-MS (Methode 3): $R_t = 1.17$ min; MS (ESIpos): $m/z = 349$ (M+H)⁺.

Intermediat 20

Benzyl-*N*-{(2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}-*L*-tryptophanat-Trifluoracetat



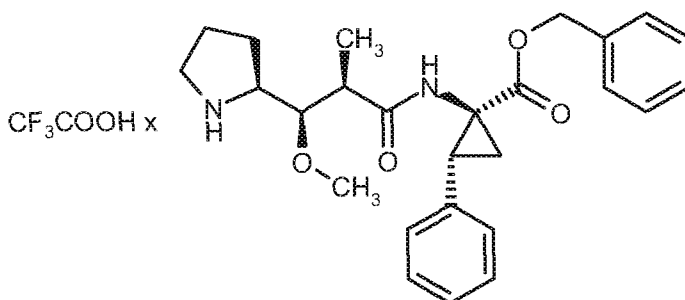
15

Die Titelverbindung wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 18 ausgehend von (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert*-Butoxycarbonyl)pyrrolidin-2-yl]-3-methoxy-2-methylpropansäure (Ausgangsverbindung 1), die aus dem Dicyclohexylamin-Salz freigesetzt wurde, und Benzyl-*L*-tryptophanat hergestellt.

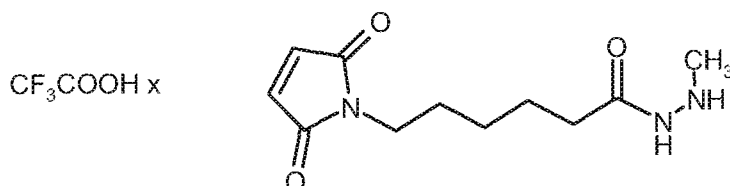
- 316 -

HPLC (Methode 6): $R_t = 2.0$ min;LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.8$ min; MS (ESIpos): $m/z = 464$ (M+H)⁺.**Intermediat 21**

Benzyl-(1*S*,2*R*)-1-((2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl)amino)-2-phenylcyclopropanecarboxylat-Trifluoracetat



Die Titelverbindung wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 18 ausgehend von (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert*-Butoxycarbonyl)pyrrolidin-2-yl]-3-methoxy-2-methylpropansäure (Ausgangsverbindung 1), die aus dem Dicyclohexylamin-Salz freigesetzt wurde, und Benzyl-(1*S*,2*R*)-1-amino-2-phenylcyclopropanecarboxylat hergestellt. Benzyl-(1*S*,2*R*)-1-amino-2-phenylcyclopropanecarboxylat wurde zuvor nach Standardmethoden durch Veresterung von kommerziell erhältlicher (1*S*,2*R*)-1-[(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]-2-phenylcyclopropanecarbonsäure mit Benzylalkohol und anschließende Boc-Abspaltung mit Trifluoressigsäure hergestellt.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.5$ min;LC-MS (Methode 2): $R_t = 0.93$ min; MS (ESIpos): $m/z = 437$ (M+H)⁺.**Intermediat 22**6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-*N*'-methylhexanhydrazid-Trifluoracetat

100 mg (473 μ mol) 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexansäure wurden in 71 μ l DMF gelöst und anschließend mit 139 mg (947 μ mol) *tert*-Butyl-1-methylhydrazincarboxylat, 182 mg (947 μ mol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid und 145 mg (947 μ mol)

- 317 -

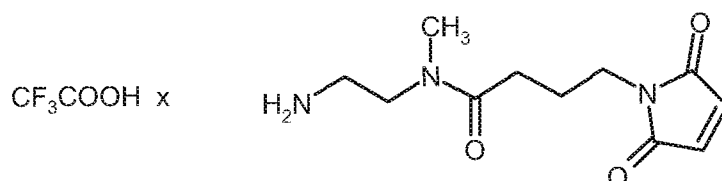
1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Vakuum eingeeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Nach Lyophilisation aus Dioxan/Wasser wurden 129 mg (80% d. Th.) des geschützten Intermediats als farbloser Schaum erhalten.

- 5 Anschließend wurden die 129 mg (380 μmol) mit 2 ml Trifluoressigsäure in 8 ml Dichlormethan deblockiert. Nach 1 h Rühren bei RT wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wurde aus Acetonitril/Wasser lyophilisiert und es verblieben 125 mg (83% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.38$ min; MS (ESIpos): $m/z = 240$ (M+H)⁺

10 Intermediat 23

N-(2-Aminoethyl)-4-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-*N*-methylbutanamid-Trifluoracetat



- Zunächst wurden 35 mg (164 μmol) tert.-Butyl-[2-(methylamino)ethyl]carbamat-Hydrochlorid-Trifluoracetat, 30 mg (164 μmol) 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)butansäure, 75 mg (197 μmol) O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 57 μl *N,N*-Diisopropylethylamin in 5 ml DMF zusammengegeben und über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden eingeeengt und durch Lyophilisation aus Dioxan/Wasser wurden 35 mg (63% d.Th.) des geschützten Intermediats erhalten.
- 15
20

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.6$ min;

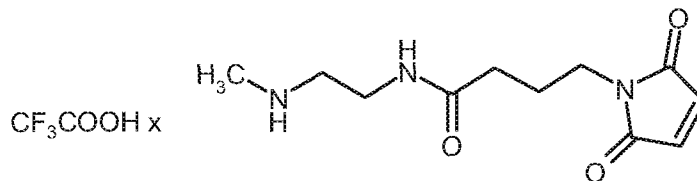
LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.71$ min; MS (ESIpos): $m/z = 340$ (M+H)⁺.

Anschließend wurde die gesamte Menge des geschützten Intermediats mit 1ml Trifluoressigsäure in 5 ml Dichlormethan deblockiert, wobei 28 mg (77% d.Th.) der Titelverbindung erhalten wurden.

- 25 LC-MS (Methode 3): $R_t = 0.75$ min; MS (ESIpos): $m/z = 240$ (M+H)⁺.

Intermediat 24

4-(2,5Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-*N*-[2-(methylamino)ethyl]butanamid-Trifluoracetat



Zunächst wurden 35 mg (164 μ mol) tert.-Butyl-(2-aminoethyl)methylcarbamathydrochlorid-
 5 Trifluoracetat, 30 mg (164 μ mol) 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)butansäure, 75 mg (197 μ mol) O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 57 μ l *N,N*-Diisopropylethylamin in 5 ml DMF zusammengegeben und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden eingengt und durch
 10 Lyophilisation aus Dioxan/Wasser wurden 51 mg (91% d.Th.) des geschützten Intermediats erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.6$ min;

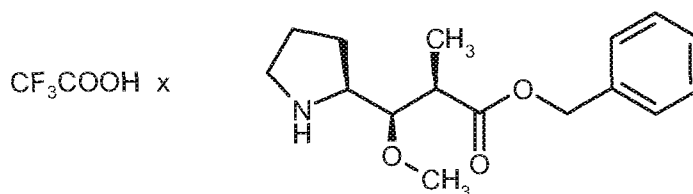
LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.77$ min; MS (ESIpos): $m/z = 340$ (M+H)⁺.

Anschließend wurde die gesamte Menge mit 1 ml Trifluoressigsäure in 5 ml Dichlormethan
 15 entschützt, wobei 45 mg (69% d.Th.) der Titelverbindung erhalten wurden.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.19$ min; MS (ESIpos): $m/z = 240$ (M+H)⁺.

Intermediat 25

Benzyl-(2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoat-Trifluoracetat



20 Zunächst wurde (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert*-Butoxycarbonyl)pyrrolidin-2-yl]-3-methoxy-2-methylpropanoat aus 1.82 g (3.88 mmol) ihres Dicyclohexylamin-Salzes durch Aufnehmen in 150 ml Ethylacetat und Ausschütteln mit 100 ml 0.5 %-iger Schwefelsäure freigesetzt. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingengt. Der Rückstand wurde in 10

- 319 -

ml Dioxan und 10 ml Wasser aufgenommen und mit 1517 mg (4.66 mmol) Cäsiumcarbonat versetzt, 5 min im Ultraschallbad behandelt und anschließend im Vakuum eingeeengt und einmal mit DMF nachdestilliert. Der Rückstand wurde dann in 15 ml DMF aufgenommen und mit 1990 mg (11.64 mmol) Benzylbromid versetzt. Die Mischung wurde 15 min im Ultraschallbad
 5 behandelt und anschließend im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wurde zwischen Ethylacetat und Wasser verteilt, die organische Phase abgetrennt und mit gesättigter Natriumchloridlösung ausgeschüttelt und anschließend eingeeengt. Der Rückstand wurde dann durch präparative HPLC gereinigt. Man erhielt so 1170 mg (80% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats.

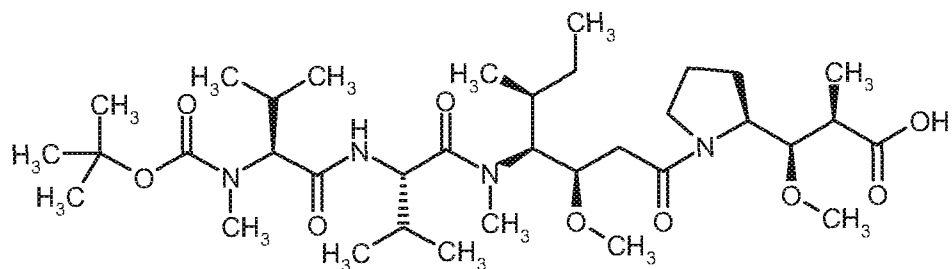
Anschließend wurden diese 1170 mg sofort mit 5 ml Trifluoressigsäure in 15 ml Dichlormethan
 10 entschützt. Nach 15 min Rühren bei RT wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wurde aus Dioxan lyophilisiert. Nach Trocknung im Hochvakuum verblieben 1333 mg (84% d.Th.) der Titelverbindung als gelbes Öl.

HPLC (Methode 6): $R_t = 1.5$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.59$ min; MS (ESIpos): $m/z = 278$ (M+H)⁺.

15 Intermediat 26

N-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



1200 mg (2.33 mmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 5) wurden mit 910.8 mg (2.33
 20 mmol) Benzyl-(2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoat-Trifluoroacetat (Intermediat 14), 1327 mg (3.49 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 2027 μ l *N,N*-Diisopropylethylamin in 50 ml DMF zusammengegeben und 5 min bei RT gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der verbliebene
 25 Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und nacheinander mit 5%-iger wässriger Zitronensäure-Lösung und gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde abgetrennt und eingeeengt. Der Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Die Produktfraktionen wurden vereinigt, eingeeengt und der Rückstand im Hochvakuum

- 320 -

getrocknet. Es wurden so 1000 mg (55% d. Th.) des Benzylester-Intermediats *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-(benzyloxy)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als ein Harz erhalten.

- 5 LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.56$ min; MS (ESIpos): $m/z = 775$ (M+H)⁺.

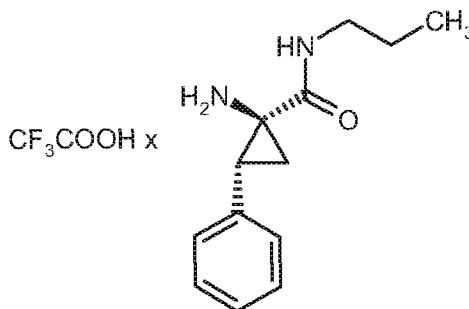
Die gesamte erhaltene Menge dieses Intermediats wurde in 25 ml einer Mischung aus Methanol und Dichlormethan (20:1) aufgenommen und die Benzylester-Gruppe durch Hydrierung unter Wasserstoff-Normaldruck mit 10% Palladium auf Aktivkohle als Katalysator entfernt. Nach 30 min Rühren bei RT wurde der Katalysator abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingeeengt. Man erhielt
10 803 mg (91% d. Th.) der Titelverbindung als weißen Feststoff.

HPLC (Methode 6): $R_t = 2.1$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.24$ min; MS (ESIpos): $m/z = 685$ (M+H)⁺.

Intermediat 27

(1*S*,2*R*)-1-Amino-2-phenyl-*N*-propylcyclopropancarboxamid-Trifluoracetat



15

Die Titelverbindung wurde durch Kupplung von kommerziell erhältlicher (1*S*,2*R*)-1-[(*tert*-Butoxycarbonyl)amino]-2-phenylcyclopropanecarbonsäure mit *n*-Propylamin in Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) und nachfolgende Boc-Abspaltung mit Trifluoressigsäure hergestellt (Ausbeute 85% d. Th. über beide Stufen).

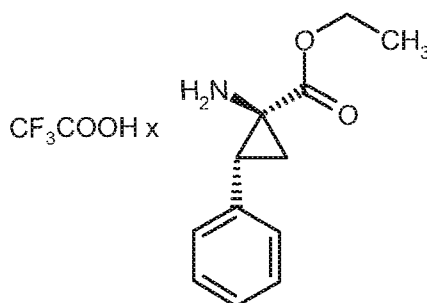
- 20 HPLC (Methode 6): $R_t = 1.2$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.52$ min; MS (ESIpos): $m/z = 219$ (M+H)⁺.

Intermediat 28

Ethyl-(1*S*,2*R*)-1-amino-2-phenylcyclopropanecarboxylat-Trifluoracetat

- 321 -

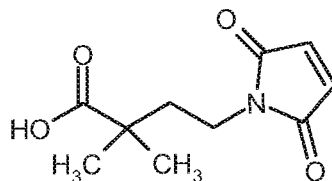


Die Titelverbindung wurde nach Standardmethoden durch Veresterung von kommerziell erhältlicher (1*S*,2*R*)-1-[(*tert.*-Butoxycarbonyl)amino]-2-phenylcyclopropanecarbonsäure mit Ethanol und anschließende Boc-Abspaltung mit Trifluoressigsäure hergestellt.

- 5 LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.50$ min; MS (ESIpos): $m/z = 206$ (M+H)⁺.

Intermediat 29

4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-2,2-dimethylbutansäure



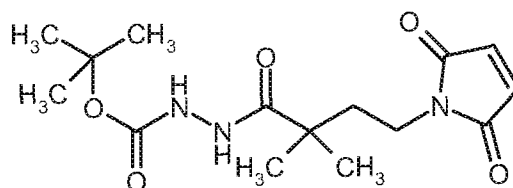
- Zu einer Lösung von 1.39 g (8.95 mmol) N-Methoxycarbonylmaleinimid in 44 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung wurden bei 0°C 1.5 g (8.95 mmol) 4-Amino-2,2-dimethylbuttersäure gegeben und 40 min nachgerührt. Anschließend wurde das Kühlbad entfernt und das Reaktionsgemisch 1 h weitergerührt. Unter Eiskühlung wurde das Reaktionsgemisch dann durch Zugabe von Schwefelsäure auf pH 3 eingestellt und mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und eingeeengt. Es wurden 1.17 g (79%ig, 49% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.
- 10
15

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.64$ min; $m/z = 212$ (M+H)⁺.

Intermediat 30

tert.-Butyl-2-[4-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-2,2-dimethylbutanoyl]hydrazincarboxylat

- 322 -

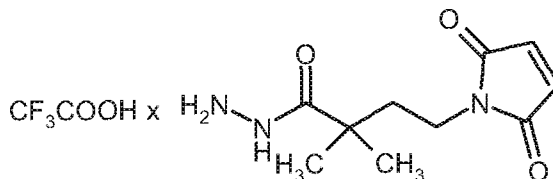


Zu einer Lösung von 50 mg (237 μmol) 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-2,2-dimethylbutansäure in 2 ml THF wurden bei 0°C zunächst 26 μl (237 μmol) 4-Methylmorpholin und anschließend 31 μl (237 μmol) Isobutylchloroformiat gegeben. Nach Entfernen des Kühlbades
 5 und 15 min. Nachrühren bei RT wurden 31.3 mg (237 μmol) tert.-Butyloxycarbonylhydrazid zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht gerührt und anschließend eingengt. Der Rückstand wurde per präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 50.8 mg (66% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.71$ min; $m/z = 324$ (M-H).

10 Intermediat 31

4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-2,2-dimethylbutanhydrazid-Trifluoracetat



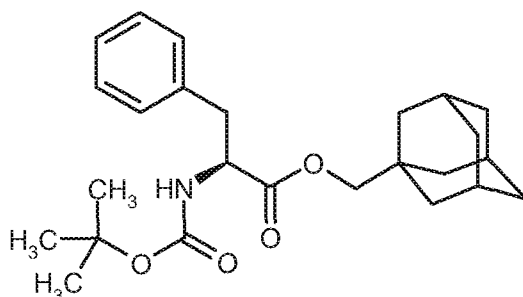
50 mg (154 μmol) tert.-Butyl-2-[4-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-2,2-dimethylbutanoyl]hydrazincarboxylat wurden in 2 ml Dichlormethan gelöst und mit 0.4 ml Trifluor-
 15 essigsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min bei RT gerührt und anschließend eingengt. Es wurden 55.2 mg (93%ige Reinheit, 99% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.36$ min; $m/z = 226$ (M+H)⁺.

Intermediat 32

Adamantan-1-ylmethyl-*N*-(tert.-butoxycarbonyl)-L-phenylalaninat

- 323 -

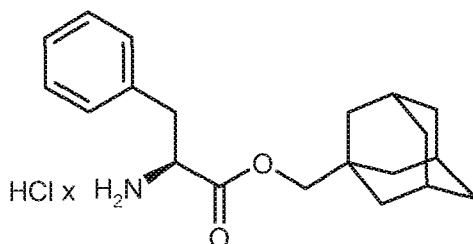


Zu einer Lösung von 500 mg (1.89 mmol) *N*-Boc-*L*-Phenylalanin in 25 ml Dichlormethan wurden bei RT 1192 mg (6.2 mmol) EDC, 578 μ l (4.1 mmol) Triethylamin, 345 mg (2.8 mmol) DMAP und 345 mg (2.1 mmol) 1-Adamantylmethanol gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht gerührt, dann mit 50 ml Dichlormethan verdünnt und nacheinander mit 10%-iger wässriger Zitronensäure-Lösung, Wasser und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, anschließend eingengt und der Rückstand durch präparative HPLC gereinigt. Es wurden 769 mg (90% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 2): $R_t = 1.84$ min; $m/z = 414$ (M+H)⁺.

10 Intermediat 33

Adamantan-1-ylmethyl-*L*-phenylalaninat-Hydrochlorid



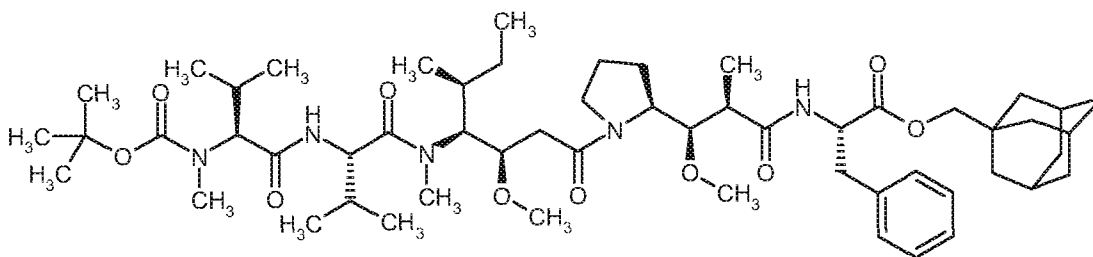
769 mg (1.86 mmol) Adamantan-1-ylmethyl-*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-*L*-phenylalaninat (Intermediat 13) wurden in 25 ml einer 4 N Lösung von Chlorwasserstoff in Dioxan gelöst und 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch eingengt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Es wurden 619 mg (95% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.82$ min; $m/z = 314$ (M+H)⁺.

Intermediat 34

N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(adamantan-1-ylmethoxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]-pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-*L*-valinamid

- 324 -



Zu einer Lösung von 20 mg (29 μmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl)-3-methoxy-5-methyl-1-oxo-

5 heptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid in 1 ml DMF wurden bei RT 15.3 μl (88 μmol) *N,N*-Diisopropylethylamin, 6.7 mg (44 μmol) HOBt und 6.7 mg (35 μmol) EDC gegeben und die Mischung 30 min lang gerührt. Anschließend wurden 10.1 mg (32 μmol) Adamantan-1-yl-*L*-phenylalaninat-Hydrochlorid hinzugefügt. Nach Rühren über Nacht wurde das Reaktionsgemisch

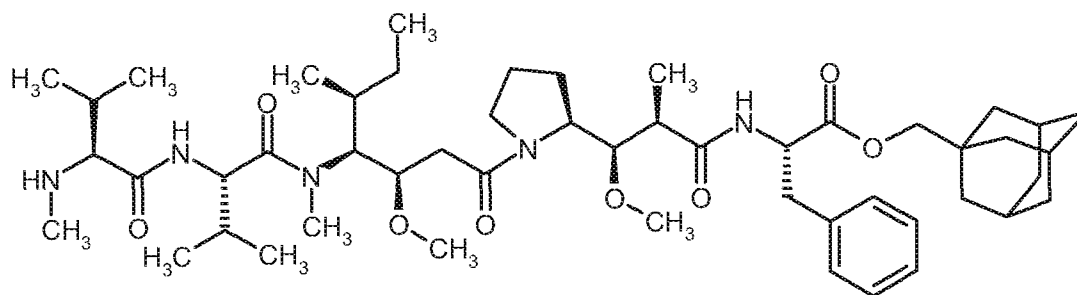
10 direkt über präparative HPLC in seine Komponenten aufgetrennt. Es wurden 27.5 mg (93% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.70$ min; $m/z = 980$ (M+H)⁺.

Intermediat 35

N-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-((2*S*)-1-(adamantan-1-ylmethoxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-

15 methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



x CF₃COOH

27.5 mg (28 μmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-((2*S*)-1-(adamantan-1-ylmethoxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden

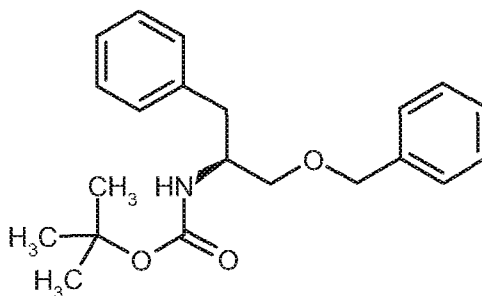
20 in 1.8 ml Dichlormethan gelöst und mit 361 μl TFA versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min gerührt und dann eingengt. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen und lyophilisiert. Es wurden 22.7 mg (81% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

- 325 -

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.14$ min; $m/z = 880$ (M+H)⁺.

Intermediat 36

tert.-Butyl-[(2*S*)-1-(benzyloxy)-3-phenylpropan-2-yl]carbamat

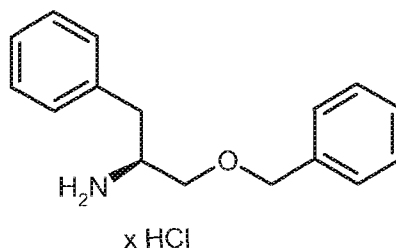


- 5 Unter Argonatmosphäre wurden 500 mg (1.99 mmol) *N*-Boc-*L*-Phenylalaninol in 5 ml DMF gelöst und auf 0°C gekühlt. Anschließend wurden 159 mg (3.98 mmol) einer 60%-igen Suspension von Natriumhydrid in Paraffinöl zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bis zur Beendigung der Gasentwicklung gerührt und anschließend mit 260 µl (2.19 mmol) Benzylbromid versetzt. Das Kühlbad wurde entfernt und die Reaktionsmischung 2 h bei RT gerührt. Danach wurde das
- 10 Reaktionsgemisch eingeeengt, der Rückstand in Eiswasser aufgenommen und das Gemisch mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wurde mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 226 mg (33% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.28$ min; $m/z = 342$ (M+H)⁺.

15 Intermediat 37

(2*S*)-1-(Benzyloxy)-3-phenylpropan-2-amin-Hydrochlorid

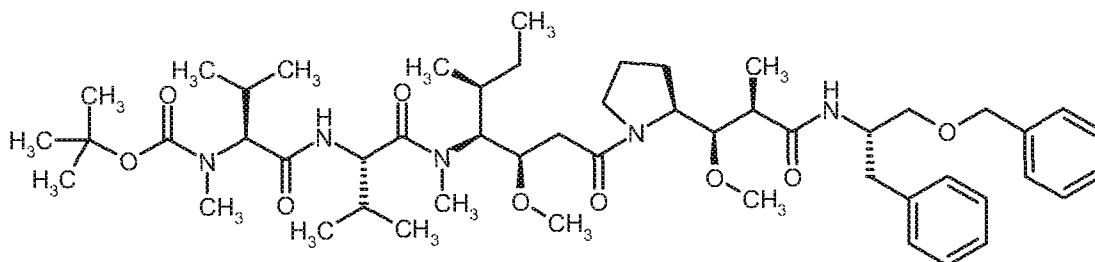


- 220 mg (644 µmol) *tert.*-Butyl-[(2*S*)-1-(benzyloxy)-3-phenylpropan-2-yl]carbamate wurden in 11 ml einer 4 N Lösung von Chlorwasserstoff in Dioxan gelöst und 1 h bei RT gerührt. Dann wurde
- 20 das Reaktionsgemisch eingeeengt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Es wurden 138 mg (77% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

- 326 -

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.65$ min; $m/z = 242$ (M+H)⁺.**Intermediat 38**

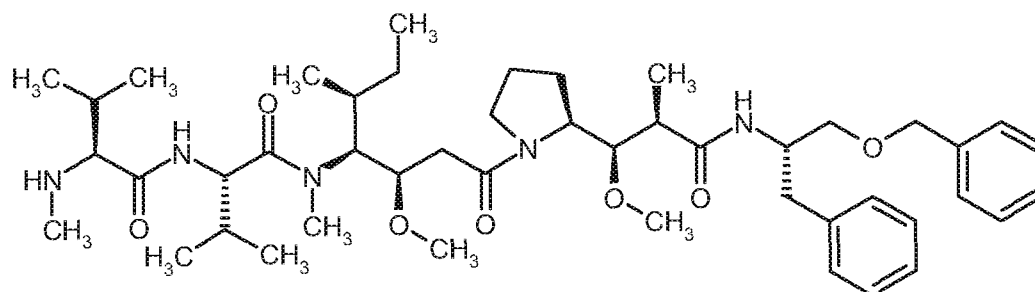
N-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzyl-
oxy)-3-phenylpropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-
5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Zu einer Lösung von 20 mg (29 μ mol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-
1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxo-
heptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid in 1 ml DMF wurden bei RT 15.3 μ l (88 μ mol) *N,N*-
Diisopropylethylamin, 6.7 mg (44 μ mol) HOBt und 6.7 mg (35 μ mol) EDC gegeben und die
Mischung 30 min lang gerührt. Anschließend wurden 7.8 mg (32 μ mol) (2*S*)-1-(Benzyl-
oxy)-3-phenylpropan-2-amin-Hydrochlorid hinzugefügt. Nach Rühren über Nacht wurde das
Reaktionsgemisch direkt über präparative HPLC in seine Komponenten aufgetrennt. Es wurden 26
mg (98% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.51$ min; $m/z = 909$ (M+H)⁺.**Intermediat 39**

N-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzyl-
oxy)-3-phenylpropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-
yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoacetat

x CF₃COOH

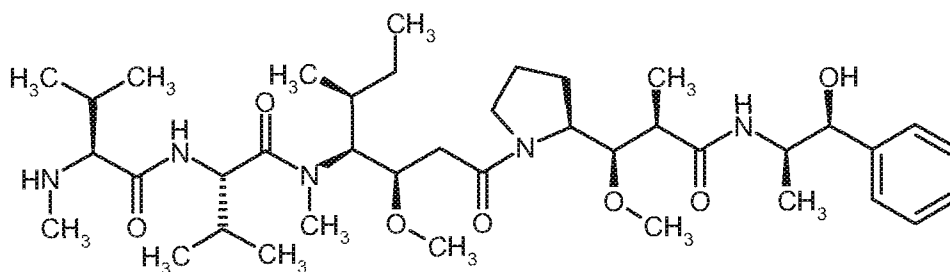
- 327 -

26 mg (29 μmol) *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzyloxy)-3-phenylpropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 1.8 ml Dichlormethan gelöst und mit 370 μl TFA versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min bei RT gerührt und anschließend eingeeengt. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen und lyophilisiert. Es wurden 26.4 mg (quant.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.97$ min; $m/z = 809$ (M+H)⁺.

Intermediat 40

N-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



50 mg (70 μmol) von Intermediat 26 und 11 mg (70 μmol) (1*S*, 2*R*)-2-Amino-1-phenylpropan-1-ol in 10 ml DMF wurden mit 42 mg (0.11 μmol) O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 25 μl *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt und das Reaktionsgemisch 5 min bei RT gerührt. Anschließend wurde eingeeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Vereinigung der entsprechenden Fraktionen, Einengen und Trocknung im Hochvakuum wurden 49 mg (81%) des geschützten Intermediats erhalten. Anschließend wurde die Boc-Gruppe nach bekannten Bedingungen mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan abgespalten. Nach Einengen erfolgte die Reinigung der Titelverbindung durch präparative HPLC und es wurden 26 mg (52%) der Titelverbindung erhalten.

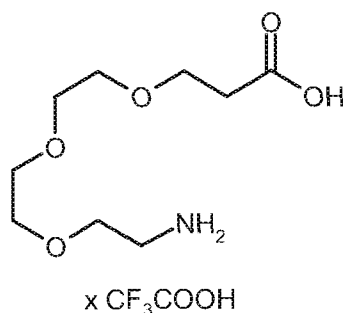
HPLC (Methode 12): $R_t = 1.65$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.77$ min; MS (ESIpos): $m/z = 718$ (M+H)⁺.

Intermediat 41

3-{2-[2-(2-Aminoethoxy)ethoxy]ethoxy}propansäure-Trifluoracetat

- 328 -



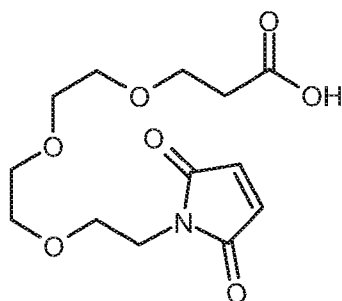
150 mg (541 μ mol) *tert.*-Butyl-3-{2-[2-(2-aminoethoxy)ethoxy]ethoxy}propanoat wurden in 3 ml Dichlormethan gelöst, mit 1.5 ml Trifluoressigsäure versetzt und 1 h bei RT gerührt, anschließend wurde das Reaktionsgemisch eingeengt.

- 5 Es wurden 181 mg (100% d.Th.) Produkt erhalten.

MS (EI): m/z 222 (M+H)⁺

Intermediat 42

3-(2-{2-[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)ethoxy]ethoxy}ethoxy)propansäure



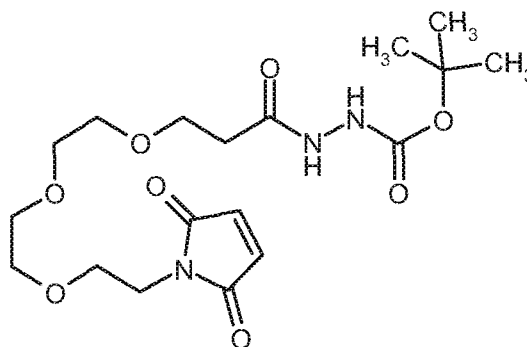
- 10 186 mg (555 μ mol) 3-{2-[2-(2-Aminoethoxy)ethoxy]ethoxy}propansäure-Trifluoracetat wurden in 2.6 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gelöst und bei 0°C mit 86 mg (555 μ mol) N-Methoxycarbonylmaleinimid versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 40 min. bei 0 °C und 1 h bei RT gerührt, dann wieder auf 0°C abgekühlt, mit Schwefelsäure auf pH 3 eingestellt und mit 3x 25 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat
15 getrocknet und eingeengt.

Es wurden 126 mg (75% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.53 min; m/z = 302 (M+H)⁺.

Intermediat 43

tert.-Butyl-15-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-4-oxo-7,10,13-trioxa-2,3-diazapentadecan-1-olat



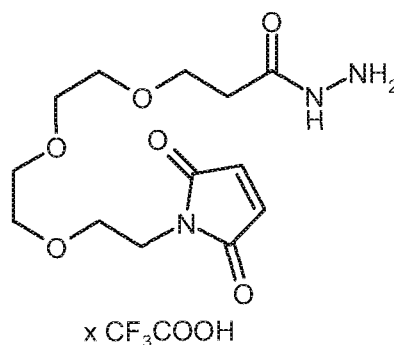
- 5 125 mg (417 μmol) 3-(2-{2-[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)ethoxy]ethoxy}ethoxy)propanensäure wurden bei 0°C in 2.1 ml THF gelöst und mit 46 μl (417 mmol) 4-Methylmorpholin und 54.5 μl (417 μmol) Isobutylchloroformiat versetzt. Das Eisbad wurde entfernt und das Reaktionsgemisch 30 min. bei RT gerührt. Anschließend wurden bei 0°C 55 mg (417 μmol) *tert.*-Butyloxycarbonylhydrazid zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht auf RT erwärmt,
- 10 eingeengt und per präparativer HPLC gereinigt.

Es wurden 60 mg (33% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.66$ min; $m/z = 416$ (M+H)⁺.

Intermediat 44

- 3-(2-{2-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)ethoxy]ethoxy}ethoxy)propanhydrazid-
- 15 Trifluoracetat



- 330 -

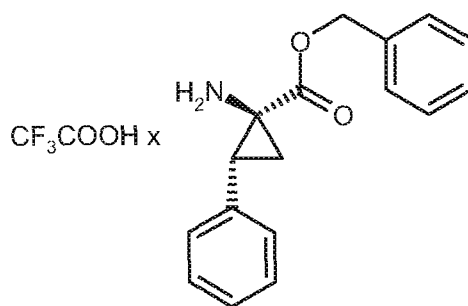
60 mg (145 μmol) *tert.*-Butyl-15-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-4-oxo-7,10,13-trioxa-2,3-diazapentadecan-1-olat wurden in 1 ml Dichlormethan gelöst und mit 0.2 ml Trifluoressigsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min. bei RT gerührt und anschließend eingengt.

Es wurden 62 mg (100% d.Th.) Produkt erhalten.

- 5 LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.35$ min; $m/z = 316$ (M+H)⁺.

Intermediat 45

Benzyl-(1*S*,2*R*)-1-amino-2-phenylcyclopropanocarboxylat-Trifluoracetat

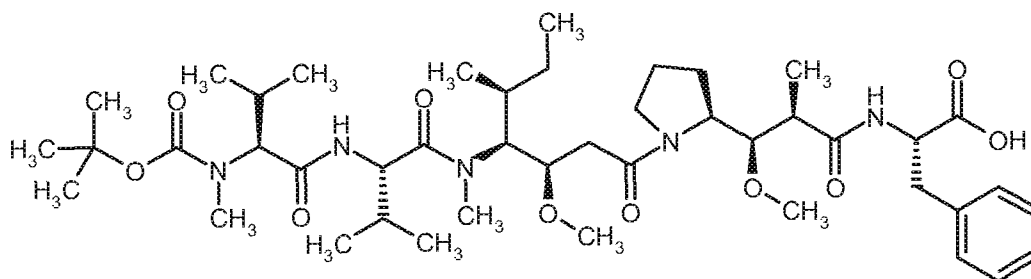


Die Titelverbindung wurde nach Standardmethoden durch Veresterung von kommerziell erhältlicher (1*S*,2*R*)-1-[(*tert.*-Butoxycarbonyl)amino]-2-phenylcyclopropanocarbonsäure mit Benzylalkohol und anschließende Boc-Abspaltung mit Trifluoressigsäure hergestellt.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.72$ min; MS (ESIpos): $m/z = 268$ (M+H)⁺.

Intermediat 46

N-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxy-2-phenylethyl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



383 mg (0.743 mmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 8) wurden mit 485 mg (0.743

- 331 -

mmol) Benzyl-*N*-{(2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}-*L*-phenylalaninat-Trifluoracetat (Intermediat 12), 424 mg (1.114 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 388 μ l *N,N*-Diisopropylethylamin in 15 ml DMF
 5 zusammengegeben und 10 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der verbliebene Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und nacheinander mit 5%iger wässriger Zitronensäure-Lösung und gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde abgetrennt, eingengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Die Produktfraktionen wurden vereinigt, eingengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es wurden 335 mg (48% d. Th.) des Benzylester-Intermediats
 10 als ein Schaum erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.49$ min; MS (ESIpos): $m/z = 922$ (M+H)⁺.

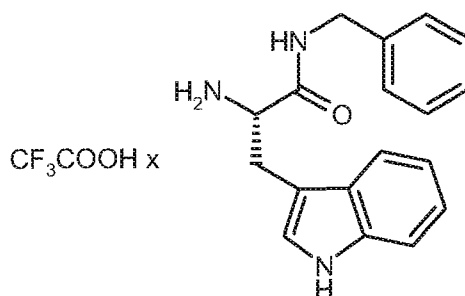
100 mg (0.11 mmol) dieses Intermediats wurden in 15 ml Methanol aufgenommen und die Benzylester-Gruppe durch Hydrierung unter Wasserstoff-Normaldruck mit 10% Palladium auf Aktivkohle als Katalysator entfernt. Nach 1 h Rühren bei RT wurde der Katalysator abfiltriert und das Filtrat
 15 im Vakuum eingengt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 85 mg (94% d. Th.) der Titelverbindung als Feststoff erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 2.4$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.24$ min; MS (ESIpos): $m/z = 832$ (M+H)⁺.

Intermediat 47

20 *N*-Benzyl-*L*-tryptophanamid-Trifluoracetat



202 mg (0.5 mmol) 2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl-*N*-(tert.-butoxycarbonyl)-*L*-tryptophanat und 45 mg (0.42 mmol) Benzylamin wurden in 10 ml DMF gelöst und mit 110 μ l (630 μ mol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 3 h bei RT gerührt. Anschließend wurde
 25 das Reaktionsgemisch im Vakuum eingengt und der Rückstand durch Flash-Chromatographie an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/17% aq. Ammoniak 20:0.5:0.05). Die

- 332 -

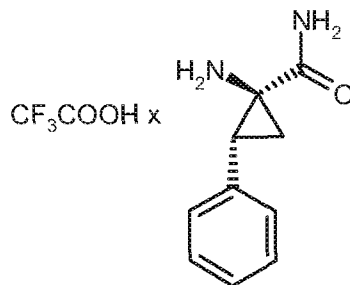
entsprechenden Fraktionen wurden vereinigt und eingengt. Der resultierende Rückstand wurde mit Diethylether digeriert und dann im Hochvakuum getrocknet. Anschließend wurde dieser Rückstand in 10 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 3 ml wasserfreier Trifluoressigsäure versetzt. Nach 45 min Rühren bei RT wurde eingengt und der Rückstand durch präparative HPLC gereinigt. Nach Trocknen im Hochvakuum wurden 117 mg (57% d. Th. über beide Stufen) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.6$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.66$ min; MS (ESIpos): $m/z = 294$ (M+H)⁺.

Intermediat 48

10 (1*S*,2*R*)-1-Amino-2-phenylcyclopropancarboxamid-Trifluoracetat



50 mg (180 μ mol) kommerziell erhältlicher (1*S*,2*R*)-1-[(*tert*.-Butoxycarbonyl)amino]-2-phenylcyclopropanecarbonsäure wurden in 5 ml DMF gelöst, mit 94 μ l (541 μ mol) *N,N*-Diisopropylethylamin, 31 mg (270 μ mol) *N*-Hydroxysuccinimid sowie 41.5 mg (216 μ mol) EDC versetzt und anschließend über Nacht bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde danach eingengt, der Rückstand in Dioxan aufgenommen, mit 71 mg (901 μ mol) Ammoniumhydrogencarbonat versetzt und das Reaktionsgemisch dann 3 Tage bei RT stehen gelassen. Das Reaktionsgemisch wurde danach mit einer 1:1-Mischung aus Ethylacetat und Wasser verdünnt. Die organische Phase wurde abgetrennt, über Magnesiumsulfat getrocknet und eingengt. Der resultierende Rückstand wurde anschließend in 3 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 3 ml wasserfreier Trifluoressigsäure versetzt. Nach 1 h Rühren bei RT wurde eingengt. Der Rückstand wurde mit Pentan verrührt, abgesaugt und aus Dioxan lyophilisiert. Auf diese Weise wurden 32 mg (62% d. Th. über beide Stufen) der Titelverbindung erhalten.

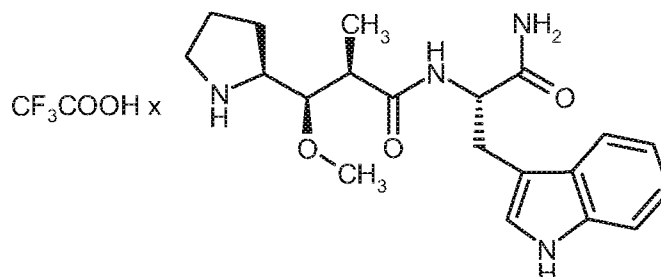
HPLC (Methode 6): $R_t = 0.38$ min;

25 LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.20$ min; MS (ESIpos): $m/z = 177$ (M+H)⁺.

- 333 -

Intermediat 49

N^α-{(2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}-L-tryptophanamid-Trifluoracetat



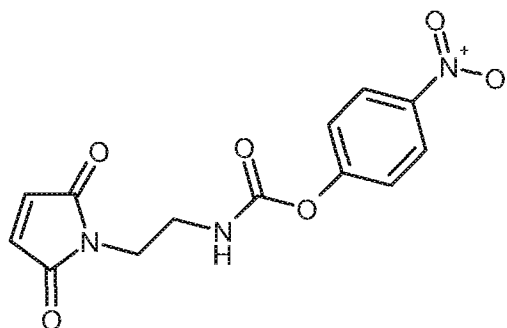
- 5 Die Titelverbindung wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 13 aus der Ausgangsverbindung 1 und L-Tryptophanamid-Hydrochlorid hergestellt.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.4$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.92$ min; MS (ESIpos): $m/z = 473$ (M+H)⁺.

Intermediat 50

- 10 4-Nitrophenyl-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)ethyl]carbamat



- 813 mg (3.1 mmol) Triphenylphosphin wurden in 25 ml THF gelöst und unter Argon auf -70°C abgekühlt. Nach tropfenweiser Zugabe von 627 mg (3.1 mmol) Diisopropylazodicarboxylat wurde die Mischung 5 min gerührt. Anschließend wurden 500 mg (3.1 mmol) tert.-Butyl-(2-aminoethyl)carbamat gelöst in 5 ml THF zugetropft und das Reaktionsgemisch weitere 5 min bei -70°C gerührt. Dann wurden 136.6 mg (1.55 mmol) 2,2 Dimethyl-1-propanol gelöst in 1 ml THF sowie 301 mg (3.1 mmol) Maleinimid zugesetzt, das Reaktionsgemisch weitere 10 min bei -70°C gerührt und anschließend auf RT erwärmt. Nach weiteren 16h Rühren bei RT wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Man erhielt 463 mg (62%) des geschützten Intermediats.

- 334 -

Nach Entfernen der Boc-Schutzgruppe unter Standardbedingungen wurden 652 mg von 1-(2-aminoethyl)-1*H*-pyrrol-2,5-dion als Trifluoracetat erhalten.

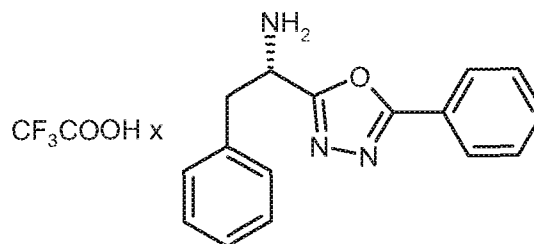
112.9 mg (543 μ mol) Chlorameisensäurenitrophenylester wurden in 30 ml THF gelöst und nach Zugabe von 100 mg (271.6 μ mol) 1-(2-Aminoethyl)-1*H*-pyrrol-2,5-dion-Trifluoracetat 30 min bei RT gerührt. Die Mischung wurde filtriert und das Filtrat wurde bis zur Trockne eingeeengt und anschließend mit Diethylether aufgeschlämmt. Nach Absaugen und Trocknen wurden 60 mg (95% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 0.65 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.74 min; MS (ESIpos): m/z = 306 (M+H)⁺.

10 Intermediat 51

(1*S*)-2-Phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethanamin-Trifluoracetat

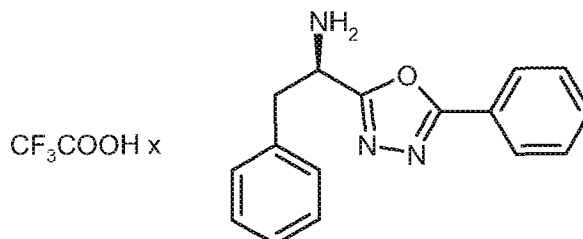


200 mg (0.75 mmol) *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-L-phenylalanin wurden bei 0°C in 5.5 ml Dichlormethan vorgelegt und mit 128 mg (0.79 mmol) 1,1'-Carbonyldiimidazol versetzt. Nach 30 min wurden 103 mg (0.75 mmol) Benzoylhydrazid zugegeben. Nach weiteren 45 min bei 0°C wurden schließlich 500 mg (1.5 mmol) Tetrabromkohlenstoff und 395 mg (1.5 mmol) Triphenylphosphin hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde zunächst 2 h bei 0°C und dann über Nacht bei RT nachgerührt. Das Gemisch wurde anschließend am Rotationsverdampfer eingeeengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Das so erhaltene Rohprodukt wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 217 mg (78% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats *tert*-Butyl-[(1*S*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]carbamat erhalten.

LC-MS (Methode 12): R_t = 1.15 min; MS (ESIpos): m/z = 366 (M+H)⁺

217 mg (0.59 mmol) dieses Intermediats wurden in 3 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 0.6 ml Trifluoressigsäure versetzt und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeeengt. Der verbliebene Rückstand wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum weiter getrocknet und dann aus Dioxan lyophilisiert. Auf diese Weise wurden 214 mg (90% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

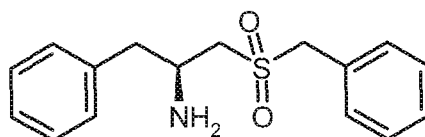
- 335 -

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.62$ min; MS (ESIpos): $m/z = 266$ (M+H)⁺**Intermediat 52***(1R)*-2-Phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethanamin-Trifluoracetat

- 5 200 mg (0.75 mmol) *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-D-phenylalanin wurden bei 0°C in 5.5 ml Dichlormethan vorgelegt und mit 128.3 mg (0.79 mmol) 1,1'-Carbonyldiimidazol versetzt. Nach 30 min wurden 103 mg (0.75 mmol) Benzoylhydrazid zugegeben. Nach weiteren 45 min bei 0°C wurden schließlich 500 mg (1.5 mmol) Tetrabromkohlenstoff und 395 mg (1.5 mmol) Triphenylphosphin hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde zunächst 2 h bei 0°C und dann über Nacht bei RT
- 10 nachgerührt. Das Gemisch wurde anschließend am Rotationsverdampfer eingengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Das so erhaltene Rohprodukt wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 219 mg (80% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats *tert*-Butyl-[(*1R*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]carbamate erhalten.

LC-MS (Methode 2): $R_t = 1.36$ min; MS (ESIpos): $m/z = 366$ (M+H)⁺

- 15 219 mg (0.6 mmol) dieses Intermediats wurden in 3 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 0.6 ml Trifluoressigsäure versetzt und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum weiter getrocknet und dann aus Dioxan lyophilisiert. Auf diese Weise wurden 196 mg (86% d. Th.) der Titelverbindung als Feststoff erhalten.
- 20 HPLC (Methode 10): $R_t = 2.41$ min

Intermediat 53*(2S)*-1-(Benzylsulfonyl)-3-phenylpropan-2-amin

- 336 -

200 mg (1.13 mmol) (4*S*)-4-Benzyl-1,3-oxazolidin-2-on wurden in 3 ml *tert*.-Butanol vorgelegt und mit 280 mg (2.26 mmol) Benzylmercaptan versetzt. Das Gemisch wurde anschließend 2 Tage unter Rückfluss erhitzt. Danach wurde das Reaktionsgemisch am Rotationsverdampfer eingeeengt und das erhaltene Intermediat (2*S*)-1-(Benzylsulfanyl)-3-phenylpropan-2-amin ohne Aufarbeitung
5 direkt weiter umgesetzt.

HPLC (Methode 10): $R_t = 2.63$ min

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.67$ min; MS (ESIpos): $m/z = 258$ (M+H)⁺

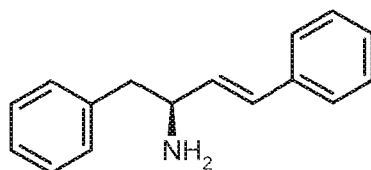
Das oben erhaltene rohe Intermediat wurde in einer Lösung von 2 ml 30%-igem Wasserstoffperoxid und 5 ml Ameisensäure gelöst und 12 h bei RT gerührt. Dann wurde das Reaktionsgemisch
10 auf gesättigte Natriumsulfat-Lösung gegeben und dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Das erhaltene Rohprodukt wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden so 343 mg (61% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 10): $R_t = 2.40$ min;

15 LC-MS (Methode 12): $R_t = 0.65$ min; MS (ESIpos): $m/z = 290$ (M+H)⁺

Intermediat 54

(2*S*,3*E*)-1,4-Diphenylbut-3-en-2-amin



20 552.7 mg (9.85 mmol) Kaliumhydroxid wurden in Methanol gelöst, auf 1.1 g neutrales Aluminiumoxid aufgezogen und dann im Hochvakuum getrocknet. Zu einer Lösung von 240 mg (0.82 mmol) (2*S*)-1-(Benzylsulfonyl)-3-phenylpropan-2-amin und 1.56 g des so präparierten Kaliumhydroxid auf Aluminiumoxid in 6.2 ml *n*-Butanol wurden bei 5-10°C 307 µl (3.3 mmol) Dibromdifluormethan getropft. Die Reaktionsmischung wurde 2 h bei RT gerührt, dann über Celite filtriert
25 und der Rückstand gut mit Dichlormethan nachgewaschen. Das Filtrat wurde eingeeengt und der resultierende Rückstand im Vakuum getrocknet. Das so erhaltene Rohprodukt wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 98 mg (35% d. Th.) der Titelverbindung mit einem *E/Z*-Diastereomerenverhältnis von 4:1 erhalten.

- 337 -

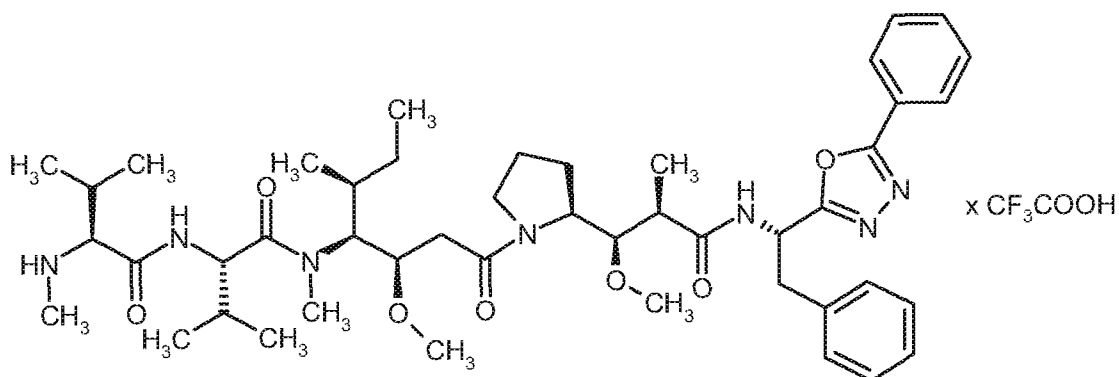
HPLC (Methode 10): $R_t = 2.46$ min;LC-MS (Methode 12): $R_t = 0.75$ min; MS (ESIpos): $m/z = 224$ (M+H)⁺

Das oben erhaltene *E/Z*-Diastereomerenmisch wurde in 2 ml Ethanol und 0.2 ml *N,N*-Diisopropylethylamin gelöst und über HPLC an chiraler Phase aufgetrennt [Säule: Daicel Chiralpak AD-H, 5 μm , 250 mm x 20 mm; Eluent: Hexan/(Ethanol + 0.2% Diethylamin) 50:50 v/v; UV-Detektion: 220 nm; Temperatur: 30°C]. Die entsprechenden Fraktionen wurden am Rotationsverdampfer eingengt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Es wurden 45 mg der Titelverbindung erhalten.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ [ppm] = 2.62 - 2.83 (m, 2 H) 3.52 - 3.71 (m, 1 H) 6.18 - 6.30 (m, 1 H) 6.34 - 6.46 (m, 1 H) 6.98 - 7.57 (m, 10 H) [weitere Signale unter Lösungsmittel-Peaks verborgen].

Intermediat 55

N-Methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[[1*S*]-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-*L*-valinamid-Trifluoracetat



15

20 mg (29 μmol) *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-*L*-valinamid wurden in 1 mL DMF gelöst, mit 13.3 mg (35 μmol) HATU und 15.3 μl (88 μmol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt und 30 min. bei RT gerührt. Anschließend wurden 12.2 mg (32 μmol) (1*S*)-2-Phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethanamin-Trifluoracetat zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend per präparativer HPLC aufgetrennt. Es wurden so 22 mg (81% d.Th) *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[[1*S*]-2-phenyl-1-(5-

- 338 -

phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid erhalten.

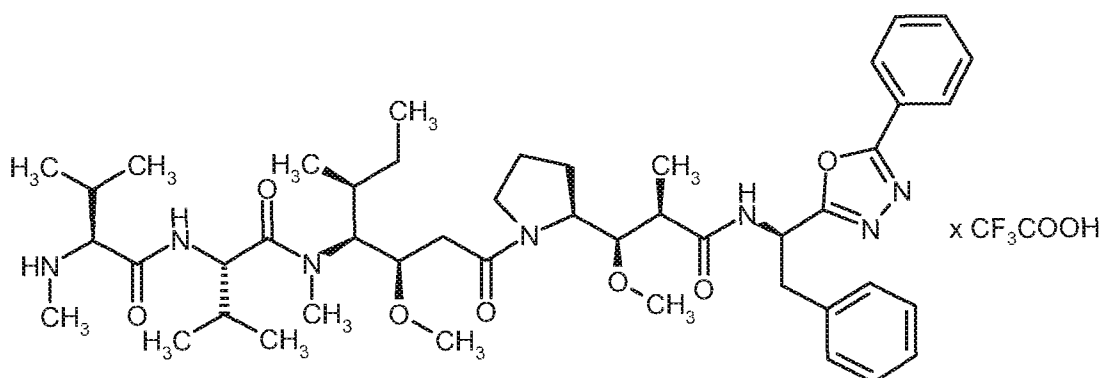
LC-MS (Methode 12): $R_t = 1.45$ min; MS (ESIpos): $m/z = 933$ (M+H)⁺

Durch nachfolgende Abspaltung der BOC-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure wurden dann 22.4 mg (98% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.85$ min; MS (ESIpos): $m/z = 833$ (M+H)⁺

Intermediat 56

N-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[[1*R*]-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



N-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[[1*R*]-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 55 durch Umsetzung von 20 mg (29 μ mol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid mit 12.2 mg (32 μ mol) (1*R*)-2-Phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethanamin-Trifluoracetat hergestellt.

Ausbeute: 17 mg (64 % d. Th.)

HPLC (Methode 10): $R_t = 3.74$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.45$ min; MS (ESIpos): $m/z = 933$ (M+H)⁺

- 339 -

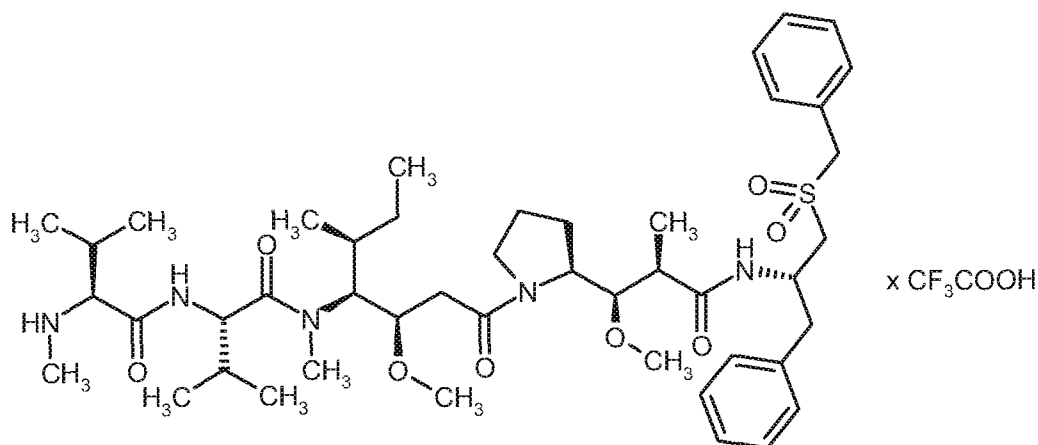
Durch nachfolgende Abspaltung der BOC-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure erhielt man dann 17.1 mg (99 % d. Th.) der Titelverbindung.

HPLC (Methode 10): $R_t = 2.55$ min;

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.85$ min; MS (ESIpos): $m/z = 833$ (M+H)⁺

5 Intermediat 57

N-Methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzylsulfonyl)-3-phenylpropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-*L*-valinamid-Trifluoressigsäure



- 10 *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzylsulfonyl)-3-phenylpropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-*L*-valinamid wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 55 durch Umsetzung von 20 mg (29 μ mol) *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-
- 15 5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-*L*-valinamid mit 9.3 mg (20 μ mol) (2*S*)-1-(Benzylsulfonyl)-3-phenylpropan-2-amin hergestellt.

Ausbeute: 19.2 mg (68 % d. Th.)

HPLC (Methode 10): $R_t = 3.5$ min;

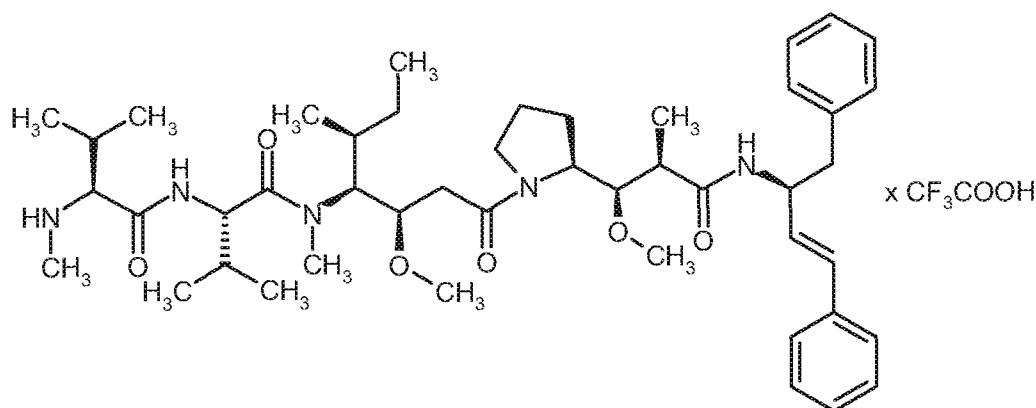
LC-MS (Methode 12): $R_t = 1.41$ min; MS (ESIpos): $m/z = 957$ (M+H)⁺

- 20 Durch nachfolgende Abspaltung der BOC-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure erhielt man dann 19.3 mg (99 % d. Th.) der Titelverbindung.

- 340 -

HPLC (Methode 10): $R_t = 2.52$ min;LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.86$ min; MS (ESIpos): $m/z = 857$ (M+H)⁺**Intermediat 58**

N-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*,3*E*)-1,4-diphenylbut-3-en-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



N-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*,3*E*)-1,4-diphenylbut-3-en-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 55 durch Umsetzung von 20 mg (29 μ mol) *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid mit 7.1 mg (32 μ mol) (2*S*,3*E*)-1,4-Diphenylbut-3-en-2-amin hergestellt.

15 Ausbeute: 15.1 mg (58 % d. Th.)

HPLC (Methode 10): $R_t = 4.2$ min;LC-MS (Methode 12): $R_t = 1.51$ min; MS (ESIpos): $m/z = 891$ (M+H)⁺

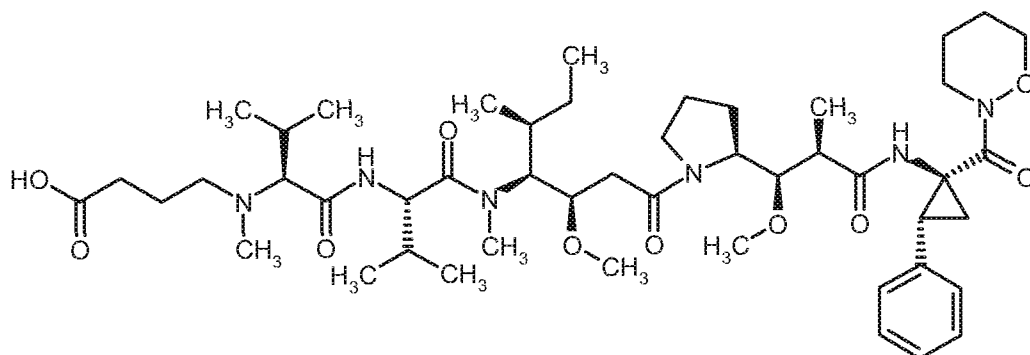
Durch nachfolgende Abspaltung der BOC-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure erhielt man dann 15.7 mg (99 % d. Th.) der Titelverbindung.

20 HPLC (Methode 10): $R_t = 2.62$ min;

LC-MS (Methode 12): $R_t = 0.97$ min; MS (ESIpos): $m/z = 791$ (M+H)⁺

Intermediat 61

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]-pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



5

50 mg (0.054 mmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]-pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoacetat (Intermediat 16) wurden in 8 ml Dioxan/Wasser gelöst und mit 70 ml (0.108 mmol) einer 15%-igen Lösung von 4-Oxobutansäure in Wasser versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend 1 h bei 100°C gerührt. Nach Abkühlen auf RT wurden 3.7 mg (0.059 mmol) Natriumcyanoborhydrid zugegeben und die Mischung durch Zugabe von etwa 300 µl 0.1 N Salzsäure auf einen pH-Wert von 3 eingestellt. Das Reaktionsgemisch wurde danach weitere 2 h bei 100°C gerührt. Nach Abkühlen wurden erneut 70 ml (0.108 mmol) der 15%-igen 4-Oxobutansäure-Lösung zugesetzt und das Reaktionsgemisch wiederum 1 h bei 100°C gerührt. Dann wurden weitere 3.7 mg (0.059 mmol) Natriumcyanoborhydrid zugegeben und anschließend mit etwa 300 µl 0.1 N Salzsäure der pH-Wert wieder auf 3 eingestellt. Das Reaktionsgemisch wurde danach erneut 2 h bei 100°C gerührt. Bei immer noch nicht vollständiger Umsetzung wurde diese Prozedur noch ein drittes Mal wiederholt. Das Reaktionsgemisch wurde schließlich eingeeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden auf diese Weise 32 mg (65% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines farblosen Schaums erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.64$ min;

LC-MS (Methode 9): $R_t = 4.76$ min; MS (ESIpos): $m/z = 899$ (M+H)⁺

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 8.95$ und 8.8 (2m, 1H), 8.88 und 8.65 (2s, 1H), 7.4 - 7.1 (m, 5H), 5.0 , 4.78 , 4.65 und 4.55 (4m, 2H), 4.1 - 3.7 (m, 5H), 3.32 , 3.29 , 3.20 , 3.12 , 3.1 und 3.0 (6s,

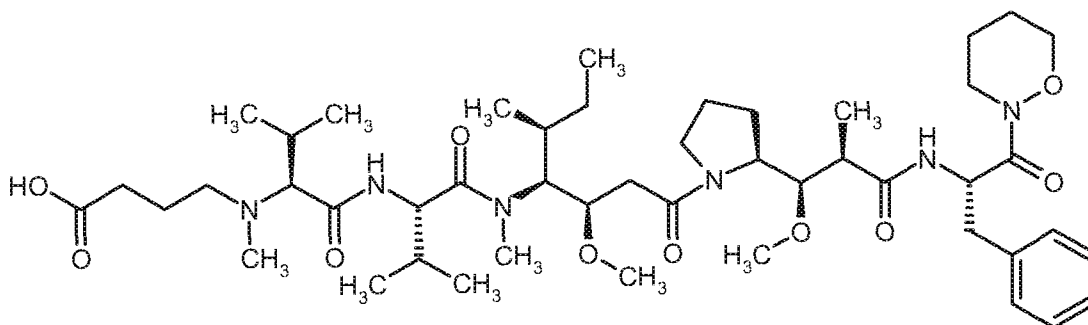
25

- 342 -

9H), 2.75 (m, 2H), 2.63 (t, 1H), 2.4-2.2 (m, 4H), 2.1-1.2 (m, 12H), 1.2-0.8 (m, 16H), 0.75 (m, 3H)
[weitere Signale unter H₂O- und DMSO-Peaks verborgen].

Intermediat 62

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-
5 2-methyl-3-{{(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl}amino}-3-oxopropyl]-
pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Die Titelverbindung wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 61 durch Umsetzung von
10 50 mg *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-
{{(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl}amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-
methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat (Intermediat 14) mit 4-Oxobutan-
säure hergestellt.

Ausbeute: 34 mg (70% d. Th.)

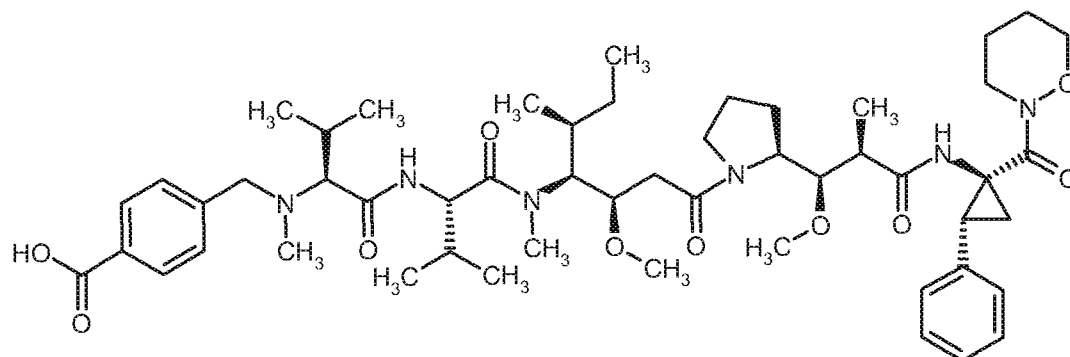
15 HPLC (Methode 5): $R_t = 1.64$ min;

LC-MS (Methode 9): $R_t = 4.77$ min; MS (ESIpos): $m/z = 887$ (M+H)⁺.

Intermediat 63

N-(4-Carboxybenzyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-
2-methyl-3-{{(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl}amino}-3-oxopropyl]-
20 pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

- 343 -



Die Titelverbindung wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 61 durch Umsetzung von 15 mg *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[[*(1S,2R)*-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat (Intermediat 16) mit 4-Formylbenzoesäure hergestellt.

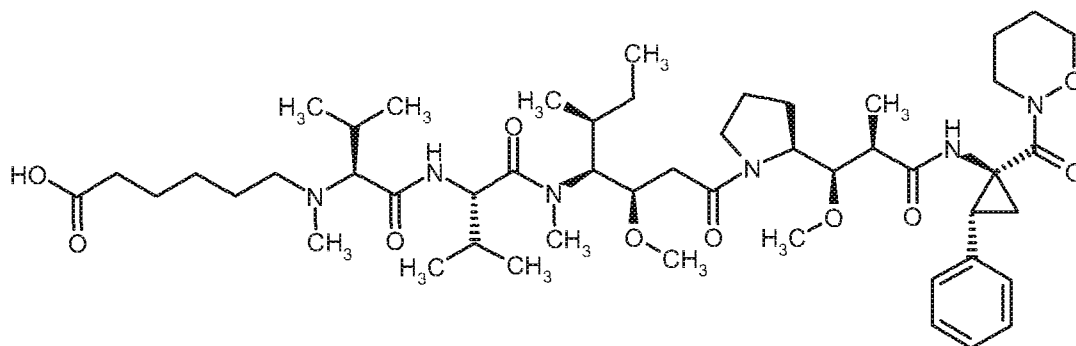
Ausbeute: 7.5 mg (48% d. Th.)

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.75$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.97$ min; MS (ESIpos): $m/z = 947$ (M+H)⁺.

10 Intermediat 64

N-(5-Carboxypentyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[[*(1S,2R)*-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



15 10 mg (0.011 mmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[[*(1S,2R)*-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat (Intermediat 16) wurden in 2 ml Dioxan/Wasser gelöst und mit 2.8 mg (0.022 mmol) 6-Oxohexansäure versetzt.

- 344 -

Das Reaktionsgemisch wurde anschließend 1 h bei 100°C gerührt. Nach Abkühlen auf RT wurden 0.75 mg (0.012 mmol) Natriumcyanoborhydrid zugegeben und die Mischung durch Zugabe von 0.1 N Salzsäure auf einen pH-Wert von 3 eingestellt. Das Reaktionsgemisch wurde danach eine weitere Stunde bei 100°C gerührt. Nach Abkühlen wurden erneut 2.8 mg (0.022 mmol) 6-Oxo-

5 hexansäure zugesetzt und das Reaktionsgemisch wiederum 1 h bei 100°C gerührt. Es wurden weitere 0.75 mg (0.012 mmol) Natriumcyanoborhydrid zugegeben und anschließend mit 0.1 N Salzsäure der pH-Wert wieder auf 3 eingestellt. Das Reaktionsgemisch wurde danach erneut 1 h bei 100°C gerührt. Diese Prozedur wurde dann noch ein drittes Mal wiederholt. Das Reaktionsgemisch wurde schließlich eingeengt und das Rohprodukt mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden

10 so 6.4 mg (64% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines farblosen Schaums erhalten.

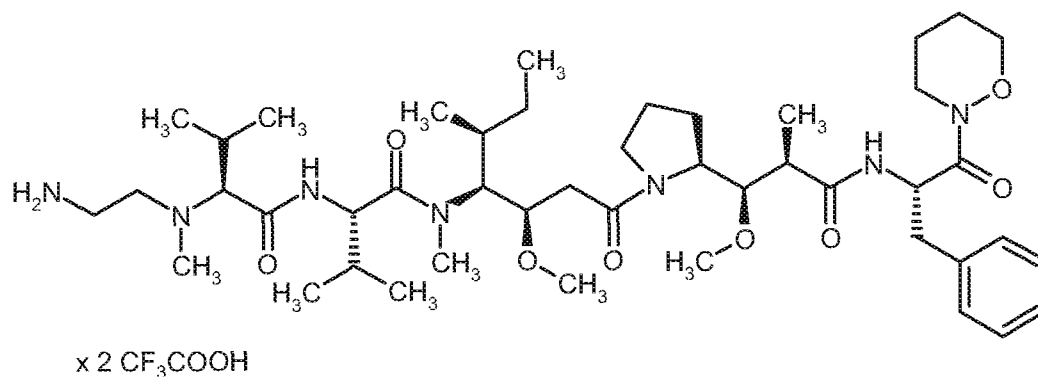
HPLC (Methode 5): $R_t = 1.68$ min;

LC-MS (Methode 9): $R_t = 4.86$ min; MS (ESIpos): $m/z = 927$ (M+H)⁺.

Intermediat 65

N-(2-Aminoethyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-

15 methyl-3-[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Bistrifluoracetat



Die Titelverbindung wurde durch Umsetzung von 68 mg *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-

20 phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat (Intermediat 14) mit *tert*.-Butyl-(2-oxoethyl)carbamat und nachfolgende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure hergestellt.

Ausbeute: 49 mg (62% d. Th. über zwei Stufen)

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.58$ min;

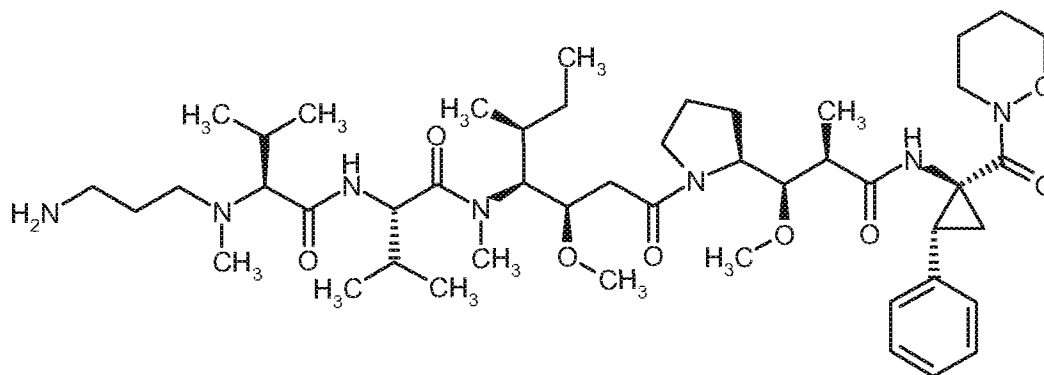
- 345 -

LC-MS (Methode 2): $R_t = 1.05$ min; MS (ESIpos): $m/z = 844$ (M+H)⁺

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 8.25$ (m, 1H), 8.45 und 8.15 (2d, 1H), 7.65-7.55 (m, 3H), 7.23-7.1 (m, 5H), 5.12 und 4.95 (2m, 1H), 4.72 und 4.62 (2m, 1H), 4.6 und 4.52 (2t, 1H), 4.2-3.8 (m, 4H), 3.7 (d, 1H), 3.23, 3.20, 3.19, 3.18, 3.03 und 2.98 (6s, 9H), 3.0-2.7 (m, 6H), 2.4-1.2 (m, 15H), 1.05, 1.0, 0.88 und 0.82 (4d, 6H), 0.92 (m, 6H), 0.73 (m, 6H) [weitere Signale unter H₂O-Peak verborgen].

Intermediat 66

N-(3-Aminopropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[[[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino]-3-oxopropyl]-pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Die Titelverbindung wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 65 durch Umsetzung von 25 mg (0.027 mmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[[[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino]-3-oxopropyl]-pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluo-
 15 acetat (Intermediat 16) mit Benzyl-(3-oxopropyl)carbammat und nachfolgende hydrogenolytische Abspaltung der Z-Schutzgruppe (mit 10% Palladium auf Kohle als Katalysator, in Ethanol als Lösungsmittel) hergestellt.

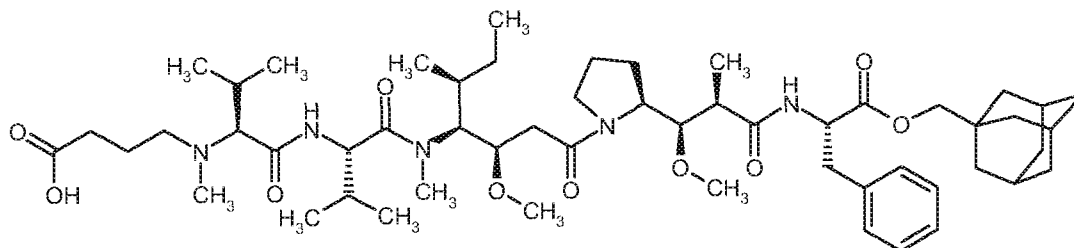
Ausbeute: 11 mg (41% d. Th. über zwei Stufen)

20 HPLC (Methode 5): $R_t = 1.53$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.72$ min; MS (ESIpos): $m/z = 870$ (M+H)⁺.

Intermediat 67

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(adamantan-1-ylmethoxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



5

26 mg (26 μ mol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(adamantan-1-ylmethoxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat und 33.9 μ l einer 15%-igen wässrigen Bernsteinaldehydsäure-Lösung (53 μ mol) wurden in 957 μ l eines 1:1-Dioxan/Wasser-Gemisches gelöst und für 1 h auf 100 °C erhitzt. Nach kurzem Abkühlen wurden 1.81 mg (29 μ mol) Natriumcyanoborhydrid zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde durch Zugabe von 0.1 N Salzsäure auf pH 3 eingestellt und für weitere 2 h auf 100°C erhitzt. Nach erneuter Zugabe gleicher Mengen an Bernsteinaldehydsäure-Lösung, Natriumcyanoborhydrid und Salzsäure wurde nochmals für 2 h auf 100 °C erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde danach direkt mittels präparativer HPLC in seine Komponenten aufgetrennt. Es wurden so 18.5 mg (73% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

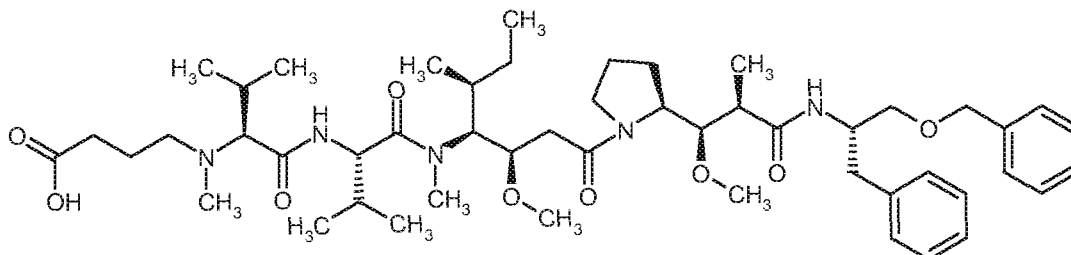
15

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.17$ min; $m/z = 967$ (M+H)⁺.

Intermediat 68

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzyloxy)-3-phenylpropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

20



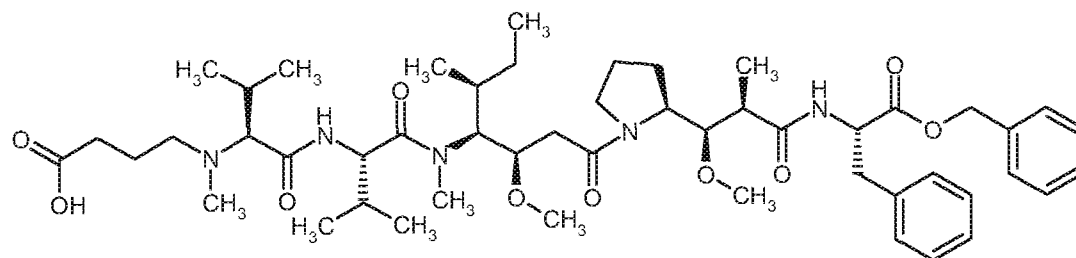
- 347 -

24 mg (26 μmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzyloxy)-3-phenylpropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat und 33.7 μl einer 15%-igen wässrigen Bernsteinaldehydsäure-Lösung (52 μmol) wurden in 953 μl eines 1:1-Dioxan/Wasser-
 5 Gemisches gelöst und für 1 h auf 100°C erhitzt. Nach kurzem Abkühlen wurden 1.80 mg (29 μmol) Natriumcyanoborhydrid zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde durch Zugabe von 0.1 N Salzsäure auf pH 3 eingestellt und für weitere 2 h auf 100°C erhitzt. Nach erneuter Zugabe gleicher Mengen an Bernsteinaldehydsäure-Lösung, Natriumcyanoborhydrid und Salzsäure wurde nochmals für 2 h auf 100°C erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde danach direkt mittels
 10 präparativer HPLC in seine Komponenten aufgetrennt. Es wurden so 15.2 mg (65% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.01$ min; $m/z = 895$ (M+H)⁺

Intermediat 69

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid
 15



53 mg (84 μmol) *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 4) und 45 mg (84 μmol) Benzyl-*N*-[(2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl]-L-phenylalaninat-Trifluoracetat (Intermediat 12) wurden in 2 ml DMF aufgenommen, mit 19 μl *N,N*-Diisopropylethylamin, 14 mg (92 μmol) HOBt sowie 17.6 mg (92 μmol) EDC versetzt und dann über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch eingeeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden so 59 mg (68% d. Th.) des Fmoc-geschützten Intermediats
 25 *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.55$ min; $m/z = 1044$ (M+H)⁺.

- 348 -

57 mg (0.055 mmol) dieses Intermediats wurden zur Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe mit 1.2 ml Piperidin in 5 ml DMF behandelt. Nach Einengen und Reinigung mittels präparativer HPLC wurden 39 mg (76% d. Th.) des freien Amin-Intermediats *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.01$ min; $m/z = 822$ (M+H)⁺.

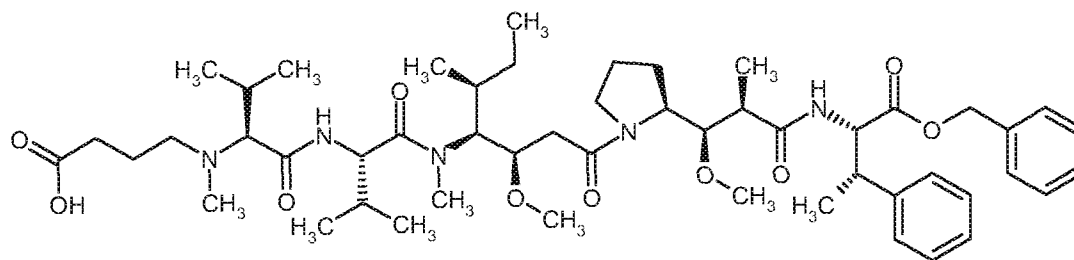
37 mg (0.045 mmol) dieses Intermediats wurden in 5 ml Dioxan/Wasser gelöst und analog zur Herstellung der Verbindung in Intermediat 66 mit einer 15%-igen wässrigen Lösung von 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid umgesetzt. Es wurden 16 mg (39% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines farblosen Schaums erhalten.

HPLC (Methode 6): $R_t = 2.1$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.01$ min; MS (ESIpos): $m/z = 908$ (M+H)⁺.

15 Intermediat 70

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*,3*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



20 Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 14 beschriebenen Synthese ausgehend von den Intermediaten 4 und 26 die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*,3*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid hergestellt.

25 30 mg (0.032 mmol) dieser Verbindung wurden in 6 ml Dioxan/Wasser gelöst und mit 41 μ l (0.063 mmol) einer 15%-igen wässrigen Lösung von 4-Oxobutansäure versetzt. Das Reaktionsgemisch

- 349 -

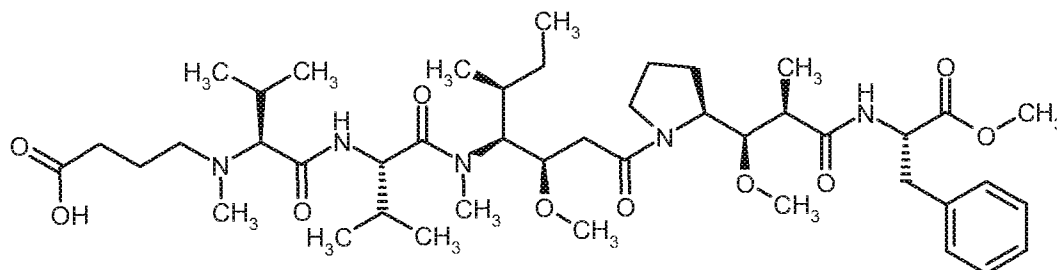
wurde anschließend 1 h bei 100°C gerührt. Nach Abkühlen auf RT wurden 2.2 mg (0.035 mmol) Natriumcyanoborhydrid zugegeben und die Mischung durch Zugabe von etwa 300 µl 0.1 N Salzsäure auf einen pH-Wert von 3 eingestellt. Das Reaktionsgemisch wurde danach weitere 2 h bei 100°C gerührt. Nach Abkühlen wurden erneut 41 µl (0.063 mmol) der 15%-igen 4-Oxobutansäure-Lösung zugesetzt und das Reaktionsgemisch wiederum 1 h bei 100°C gerührt. Dann wurden weitere 2.2 mg (0.035 mmol) Natriumcyanoborhydrid zugegeben und anschließend mit etwa 300 µl 0.1 N Salzsäure der pH-Wert wieder auf 3 eingestellt. Das Reaktionsgemisch wurde danach erneut 2 h bei 100°C gerührt. Bei immer noch nicht vollständiger Umsetzung wurde diese Prozedur noch ein drittes Mal wiederholt. Das Reaktionsgemisch wurde schließlich eingeeengt und das Rohprodukt mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden so 24 mg (82% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines farblosen Schaums erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 9): $R_t = 5.15$ min; MS (ESIpos): $m/z = 922$ (M+H)⁺.

Intermediat 71

15 *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-3-[(2*S*)-1-methoxy-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



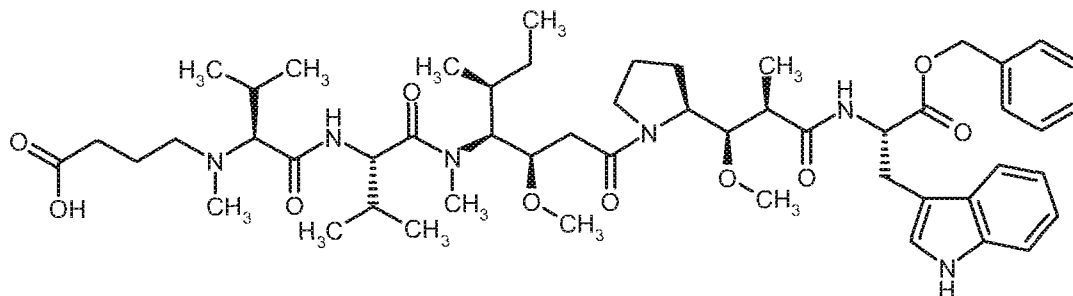
Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 14 beschriebenen Synthese ausgehend von den Intermediaten 4 und 39 die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-3-[(2*S*)-1-methoxy-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid hergestellt. Aus 7 mg (0.009 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 2 mg (22% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines farblosen Schaums erhalten.

HPLC (Methode 6): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 2): $R_t = 1.06$ min; MS (ESIpos): $m/z = 832$ (M+H)⁺.

Intermediat 72

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzyloxy)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



5

212 mg (411 μmol) *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 8) und 237 mg (411 μmol) Benzyl-*N*-[(2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl]-*L*-tryptophanat-Trifluoracetat (Intermediat 20) wurden in 30 ml DMF aufgenommen und mit 188 mg (493 μmol) *O*-(7-
10 Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat sowie 215 μl *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 20 h bei RT gerührt, anschließend im Vakuum eingengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die Produktfraktionen wurden vereinigt, eingengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es wurden so 315 mg (80% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-
15 methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzyloxy)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als farbloser Schaum erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.45$ min; $m/z = 961$ (M+H)⁺.

50 mg (52 μmol) dieses Intermediats wurden zur Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mit 1 ml Tri-
20 fluoressigsäure in 9 ml Dichlormethan behandelt. Nach Einengen und Reinigung mittels präparativer HPLC wurden 29 mg (57% d. Th.) des freien Amin-Intermediats *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzyloxy)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat erhalten.

25 LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.99$ min; $m/z = 861$ (M+H)⁺.

29 mg (0.03 mmol) dieses Intermediats wurden in 6 ml Dioxan/Wasser gelöst und mit 39 μl (0.059 mmol) einer 15%-igen wässrigen Lösung von 4-Oxobutansäure versetzt. Das Reaktionsgemisch

- 351 -

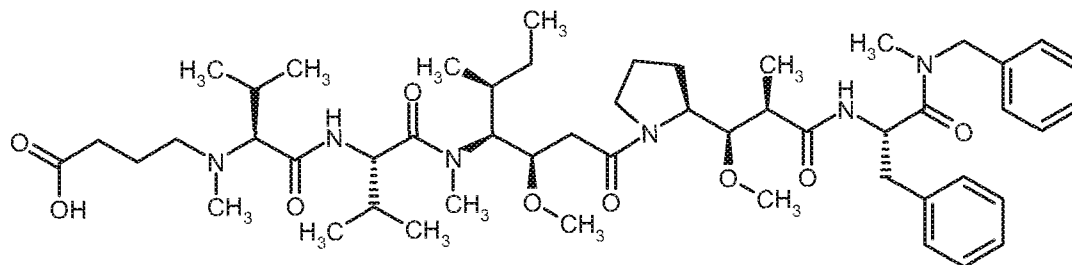
wurde anschließend 1 h bei 100°C gerührt. Nach Abkühlen auf RT wurden 2 mg (0.033 mmol) Natriumcyanoborhydrid zugegeben und die Mischung durch Zugabe von etwa 300 µl 0.1 N Salzsäure auf einen pH-Wert von 3 eingestellt. Das Reaktionsgemisch wurde danach weitere 2 h bei 100°C gerührt. Nach Abkühlen wurden erneut 39 µl (0.059 mmol) der 15%-igen 4-Oxobutansäure-Lösung zugesetzt und das Reaktionsgemisch wiederum 1 h bei 100°C gerührt. Dann wurden weitere 2 mg (0.033 mmol) Natriumcyanoborhydrid zugegeben und anschließend mit etwa 300 µl 0.1 N Salzsäure der pH-Wert wieder auf 3 eingestellt. Das Gemisch wurde erneut 2 h bei 100°C gerührt. Danach wurde das Reaktionsgemisch auf ein 1:1-Gemisch aus halbgesättigter wässriger Ammoniumchlorid-Lösung und Ethylacetat gegossen. Die organische Phase wurde abgetrennt, mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingeeengt. Der Rückstand wurde aus Wasser/ Acetonitril gefriergetrocknet. Es wurden so 27 mg (94% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines farblosen Schaums erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 2.2$ min;

LC-MS (Methode 9): $R_t = 5.04$ min; MS (ESIpos): $m/z = 947$ (M+H)⁺.

15 Intermediat 73

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-[benzyl(methyl)amino]-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Zunächst wurde in Analogie zu der für Intermediat 14 beschriebenen Synthese ausgehend von den Intermediaten 4 und 38 die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-[benzyl(methyl)amino]-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid hergestellt. Aus 25 mg (0.026 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 13 mg (54% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines farblosen Schaums erhalten.

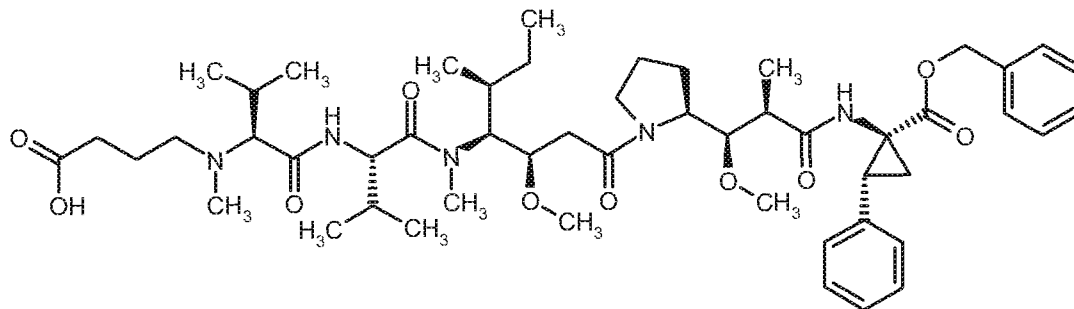
HPLC (Methode 12): $R_t = 2.2$ min;

- 352 -

LC-MS (Methode 9): $R_t = 5.01$ min; MS (ESIpos): $m/z = 921$ (M+H)⁺.

Intermediat 74

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-[(benzyl-
oxy)carbonyl]-2-phenylcyclopropyl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-
5 methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



50 mg (73 μ mol) *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-
carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-
10 valinamid (Intermediat 26) und 28 mg (73 μ mol) Benzyl-(1*S*,2*R*)-1-amino-2-phenylcyclopropan-
carboxylat-Trifluoracetat (Intermediat 45) wurden in 5 ml DMF aufgenommen und mit 42 mg (110
 μ mol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 38 μ l
N,N-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 5 h bei RT gerührt, anschließend
im Vakuum eingengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die Produkt-
fraktionen wurden vereinigt und eingengt. Nach Lyophilisation aus Dioxan/Wasser wurden 35 mg
15 (51% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-
[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-[(benzyloxy)carbonyl]-2-phenylcyclopropyl]-
amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-
yl]-*N*-methyl-L-valinamid als farbloser Schaum erhalten.

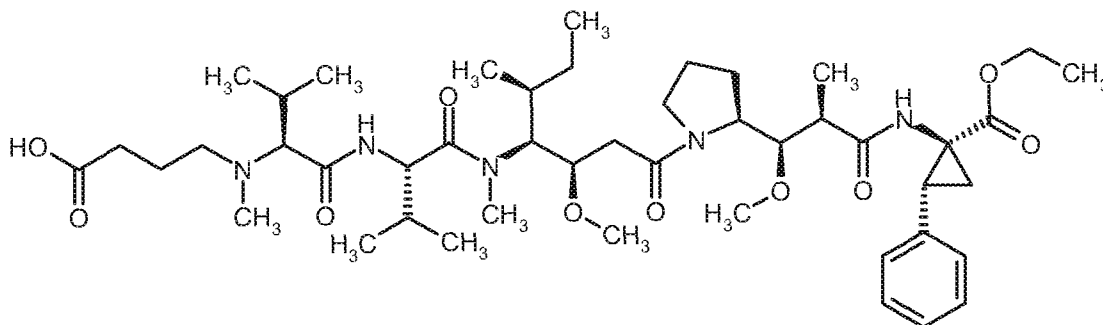
LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.52$ min; $m/z = 934$ (M+H)⁺.

20 35 mg dieses Intermediats wurden zur Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mit 1 ml Trifluoressig-
säure in 5 ml Dichlormethan behandelt. Nach Einengen und Lyophilisation aus Dioxan/Wasser
wurden 34 mg (97% d. Th.) des freien Amin-Intermediats *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-
[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-[(benzyloxy)carbonyl]-2-phenylcyclopropyl]amino)-1-methoxy-2-
methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valin-
25 amid als Trifluoracetat erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.91$ min; $m/z = 834$ (M+H)⁺.

Intermediat 76

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-(ethoxycarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



5

Zunächst wurde durch Kupplung von Intermediat 46 (*N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid) mit Intermediat 48 (Ethyl-(1*S*,2*R*)-1-amino-2-phenylcyclopropanocarboxylat-Trifluoracetat) in Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Boc-Abspaltung die Ausgangsverbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-(ethoxycarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat hergestellt. Aus 70 mg (0.079 mmol) dieses Ausgangsmaterials wurden dann durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure

15 in Analogie zu Intermediat 61 46 mg (68% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 6): $R_t = 1.9$ min;

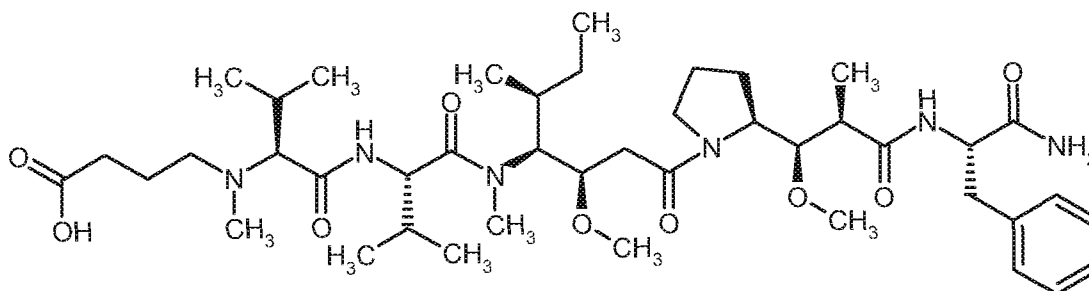
LC-MS (Methode 2): $R_t = 1.28$ min; MS (ESIpos): $m/z = 858$ (M+H)⁺

Intermediat 77

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

20

- 355 -



Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 75 beschriebenen Synthese durch Kupplung von *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) und L-Phenylalaninamid-Hydrochlorid in Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als

10 Trifluoressigsäure hergestellt. Aus 47 mg (0.049 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 39 mg (96% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 6): $R_t = 1.7$ min;

LC-MS (Methode 9): $R_t = 4.44$ min; MS (ESIpos): $m/z = 817$ (M+H)⁺

15 ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 8.95$ und 8.8 (2m, 1H), 8.25 und 8.0 (2d, 1H), 7.45 , 7.35 und 7.0 (3s, breit, 2H), $7.3-7.1$ (m, 5H), $4.8-4.4$ (2m, 3H), 3.95 (m, 1H), 3.82 (m, 1H), 3.72 (d, 1H), 3.22 , 3.18 , 3.15 , 3.05 und 3.00 (5s, 9H), $2.85-2.7$ (m, 4H), $2.45-1.6$ (m, 12H), $1.5-1.2$ (m, 3H), $1.1-0.7$ (m, 21H) [weitere Signale unter Lösungsmittel-Peaks verborgen].

Intermediat 78

20 *N*-(6-Aminohexyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

- 357 -

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.43$ min; $m/z = 921$ (M+H)⁺.

29 mg dieses Intermediats wurden zur Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mit 1 ml Trifluoressigsäure in 6 ml Dichlormethan behandelt. Nach Einengen und Lyophilisation aus Dioxan/Wasser wurden 30 mg (quant.) des freien Amin-Intermediats *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-
5 [(1*R*,2*R*)-3-[[2*S*]-1-(benzylamino)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.95$ min; $m/z = 821$ (M+H)⁺.

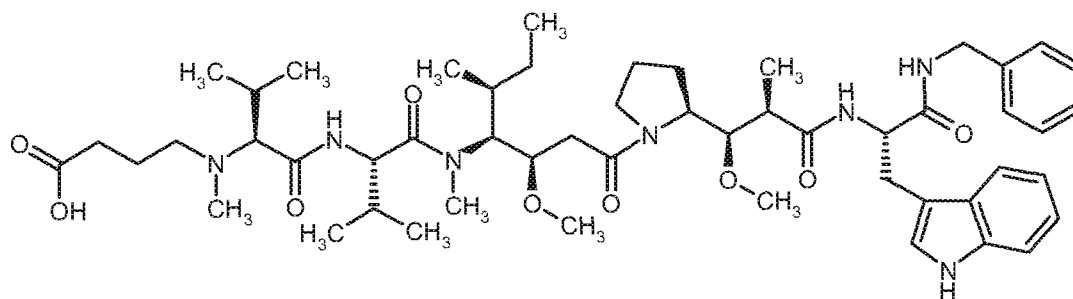
Aus 17 mg (0.018 mmol) dieses Intermediats wurden dann in Analogie zur Herstellung von
10 Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 13 mg (80% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines farblosen Schaums erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.7$ min;

LC-MS (Methode 9): $R_t = 4.97$ min; MS (ESIpos): $m/z = 907$ (M+H)⁺.

Intermediat 80

15 *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[2*S*]-1-(benzylamino)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 74 beschriebenen Synthese durch Kupplung von
20 *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) und *N*-Benzyl-L-tryptophanamid-Trifluoracetat (Intermediat 47) in Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-
25 valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[2*S*]-1-(benzylamino)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-

- 358 -

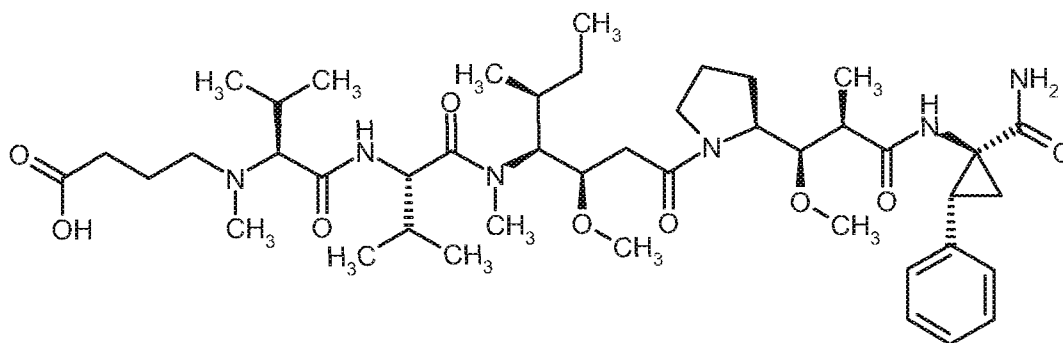
4-yl]-*N*-methyl-*L*-valinamid als Trifluoracetat hergestellt. Aus 10 mg (0.01 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 2.5 mg (26% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

5 HPLC (Methode 5): $R_t = 1.7$ min;

LC-MS (Methode 2): $R_t = 1.13$ min; MS (ESIpos): $m/z = 946$ (M+H)⁺.

Intermediat 81

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-carbamoyl-2-phenylcyclopropyl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-*L*-valinamid



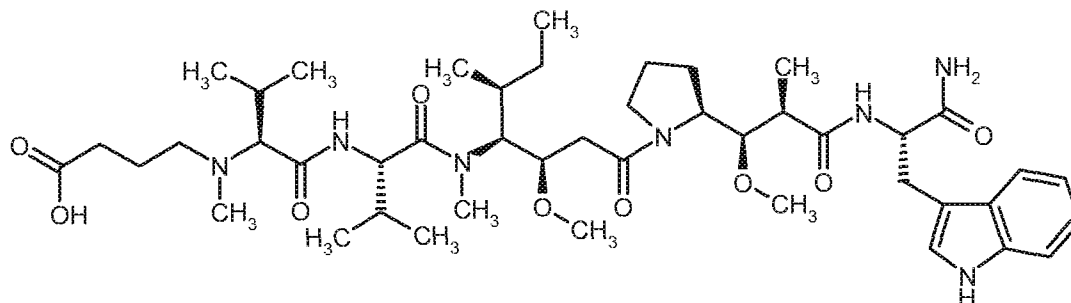
Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 74 beschriebenen Synthese durch Kupplung von *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-*L*-valinamid (Intermediat 26) und (1*S*,2*R*)-1-Amino-2-phenylcyclopropanocarboxamid-Trifluoracetat (Intermediat 48) in Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure die Amin-Verbindung *N*-Methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-carbamoyl-2-phenylcyclopropyl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-*L*-valinamid als Trifluoracetat hergestellt. Aus 14 mg (0.0163 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 8 mg (57% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.6$ min;

25 LC-MS (Methode 9): $R_t = 4.64$ min; MS (ESIpos): $m/z = 829$ (M+H)⁺.

Intermediat 82

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



5

Zunächst wurde in Analogie zu der in den Intermediat 69 beschriebenen Synthese durch Kupplung von *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 4) und *N*^α-{(2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}-L-tryptophanamid-Trifluoracetat (Intermediat 49) in
 10 Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N,N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe mittels Piperidin die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat hergestellt. Aus 78 mg (0.088 mmol)
 15 dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 68 mg (90% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

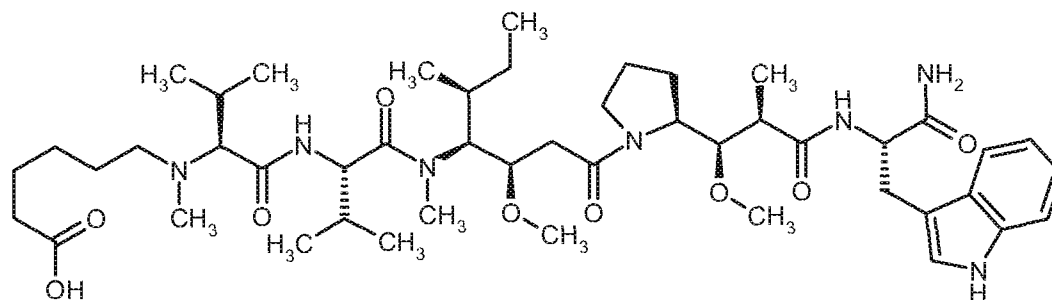
HPLC (Methode 5): $R_t = 1.8$ min;

LC-MS (Methode 9): $R_t = 4.49$ min; MS (ESIpos): $m/z = 856$ (M+H)⁺.

20 **Intermediat 83**

N-(5-Carboxypentyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

- 360 -



Diese Verbindung wurde in Analogie zu der Verbindung in Intermediat 82 hergestellt ausgehend von 20 mg (26 μmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid hergestellt.

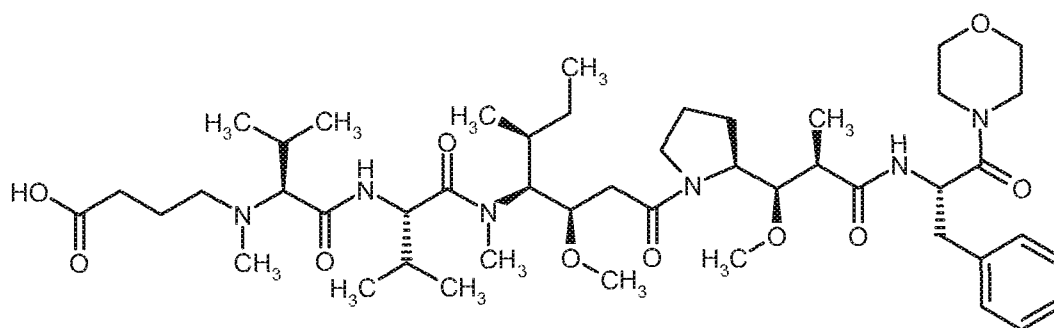
Ausbeute: 5 mg (25% d. Th.)

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.6$ min;

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.72$ min; MS (ESIpos): $m/z = 884$ (M+H) $^+$.

10 Intermediat 84

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-1-(morpholin-4-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino)-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



15 Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 79 beschriebenen Synthese durch Kupplung von *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxy-2-phenylethyl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 46) und Morpholin in Gegenwart von EDC und HOBT und anschließender Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure die

- 361 -

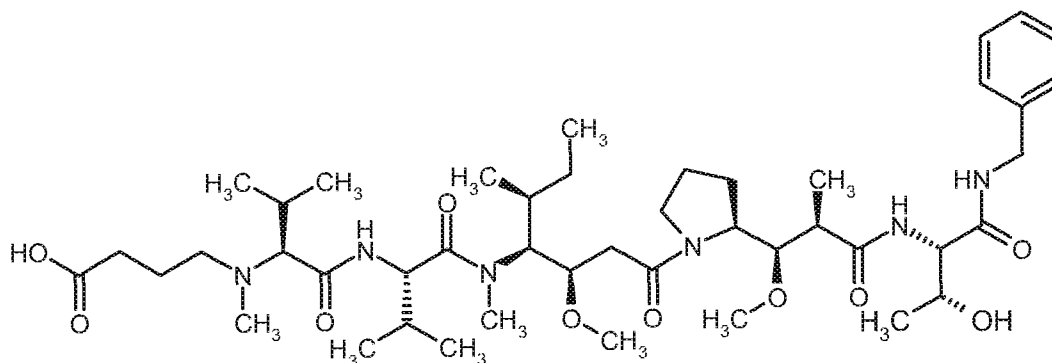
Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-1-(morpholin-4-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat hergestellt. Aus 30 mg (0.033 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 22 mg (76% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.6$ min;

LC-MS (Methode 9): $R_t = 4.58$ min; MS (ESIpos): $m/z = 887$ (M+H)⁺.

Intermediat 85

10 *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*,3*R*)-1-(benzylamino)-3-hydroxy-1-oxobutan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 79 beschriebenen Synthese durch Kupplung von *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxy-2-phenylethyl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 46) und *N*-Benzyl-L-threoninamid-Trifluoracetat in Gegenwart von HATU und anschließender Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[2*S*,3*R*)-1-(benzylamino)-3-hydroxy-1-oxobutan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxo- propyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat hergestellt. Aus 21 mg (0.024 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 20 mg (97% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

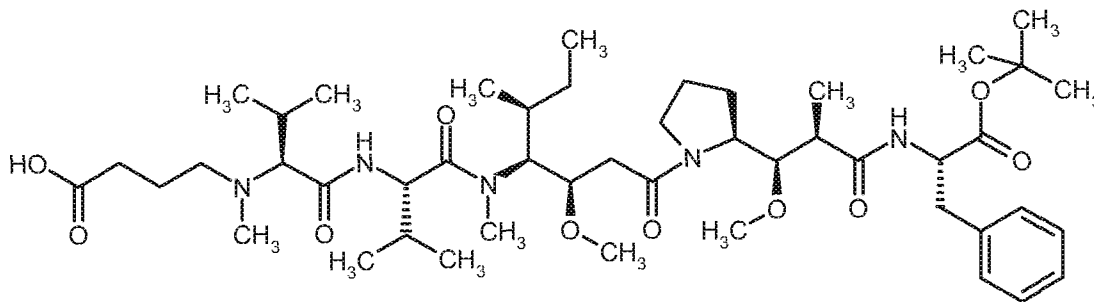
25 HPLC (Methode 5): $R_t = 1.54$ min;

- 362 -

LC-MS (Methode 9): $R_t = 4.49$ min; MS (ESIpos): $m/z = 861$ (M+H)⁺.

Intermediat 86

N-(3-Carboxypropyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-tert-butoxy-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 74 beschriebenen Synthese durch Kupplung von *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) und *tert*-Butyl-L-phenylalaninat-hydrochlorid in Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure unter Erhalt des *tert*-Butylesters (40 min Rühren mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan) die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-*tert*-butoxy-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoressigsäurehergatterung hergestellt. Aus 22 mg (0.02 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 16 mg (94% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

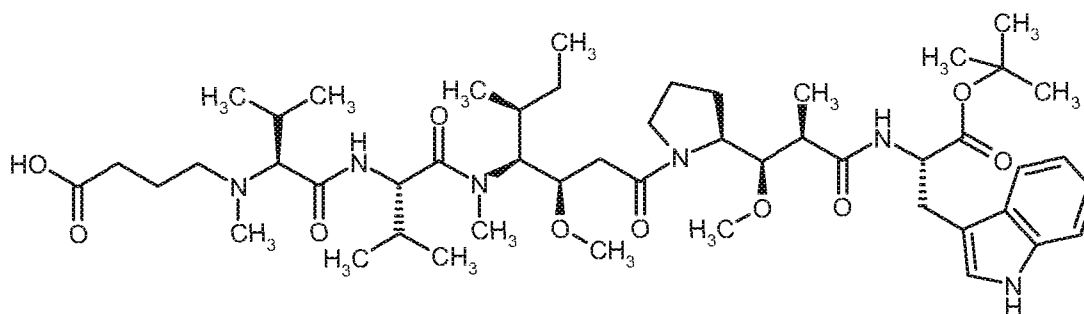
HPLC (Methode 5): $R_t = 2.0$ min;

LC-MS (Methode 9): $R_t = 5.05$ min; MS (ESIpos): $m/z = 874$ (M+H)⁺.

Intermediat 87

N-(3-Carboxypropyl)-N-methyl-L-valyl-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-*tert*-butoxy-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

- 363 -



Die Herstellung dieser Verbindung erfolgte in Analogie zur in Intermediat 86 beschriebenen Synthese ausgehend von 230 mg (336 μmol) *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-
 5 [(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl)-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) und *tert*-Butyl-L-tryptophanat-Hydrochlorid über 3 Stufen.

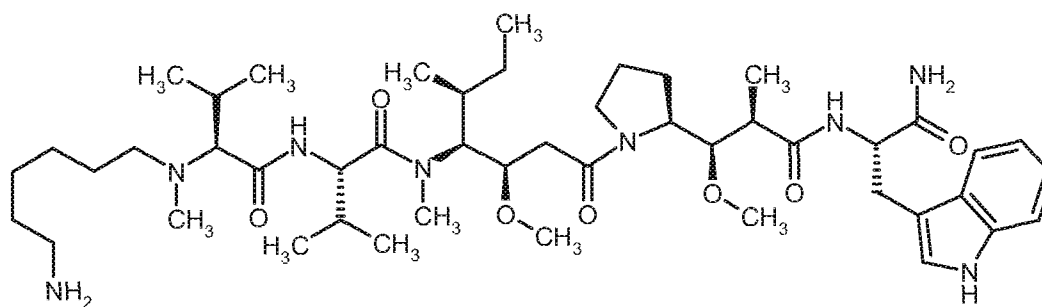
Ausbeute: 95 mg (31% d.Th. über 3 Stufen)

HPLC (Methode 5): $R_t = 2.0$ min;

10 LC-MS (Methode 9): $R_t = 5.05$ min; MS (ESIpos): $m/z = 913$ (M+H)⁺.

Intermediat 88

N-(6-Aminoheptyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-((2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl)-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



15

Zunächst wurde in Analogie zu der in den Intermediat 69 beschriebenen Synthesen durch Kupplung von *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 4) und *N*^α-{(2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}-L-tryptophanamid-Trifluoracetat
 20 Intermediat 49) in Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe mittels Piperidin die Amin-

- 364 -

Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat hergestellt. Aus 30 mg (0.03 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung der Verbindung von

5 Intermediat 61 durch Umsetzung mit Benzyl-(6-oxohexyl)carbammat, das vorher durch Oxidation von Benzyl-(6-hydroxyhexyl)carbammat gewonnen wurde, in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 17 mg (45% d. Th.) der *Z*-geschützten Verbindung erhalten. Anschließend wurde durch Hydrogenolyse in Methanol über 10% Palladium/Aktivkohle die Titelverbindung erhalten.

Ausbeute: 14 mg (95% d. Th.)

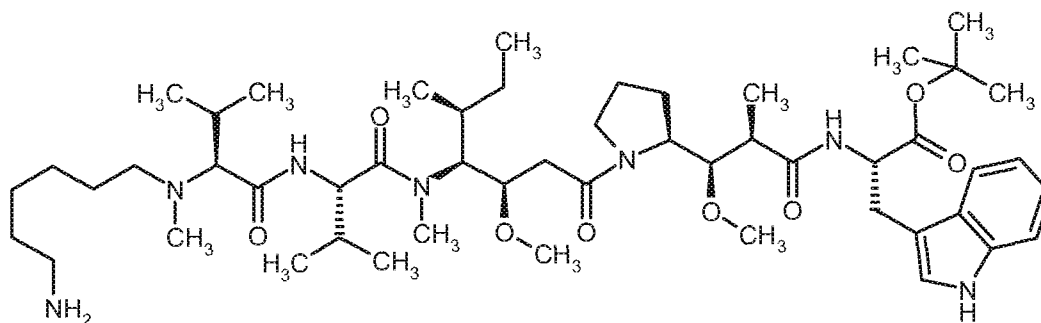
10 HPLC (Methode 5): $R_t = 1.5$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.73$ min; MS (ESIpos): $m/z = 869$ (M+H)⁺.

Intermediat 89

N-(6-Aminoheptyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-*tert*-butoxy-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

15



Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 86 beschriebenen Synthese durch Kupplung von *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

20 (Intermediat 26) und *tert*-Butyl-L-tryptophanat-hydrochlorid in Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure unter Erhalt des *tert*-Butylesters (30 min Rühren mit Trifluoressigsäure/Dichlormethan 1:10) die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-*tert*-butoxy-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-

25 yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat hergestellt. Aus 71 mg (0.075 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung der Verbindung von Intermediat 61 durch

- 365 -

Umsetzung mit Benzyl-(6-oxohexyl)carbamate, das vorher durch Oxidation von Benzyl-(6-hydroxyhexyl)carbamate gewonnen wurde, in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 35 mg (44% d. Th.) der Z-geschützten Verbindung erhalten. Anschließend wurde durch Hydrogenolyse in Methanol über 10% Palladium/Aktivkohle die Titelverbindung erhalten.

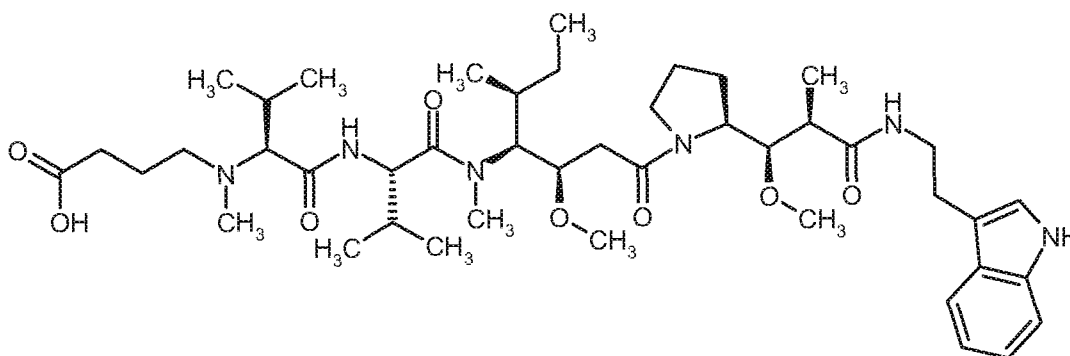
5 Ausbeute: 30 mg (98% d. Th.)

HPLC (Methode 5): Rt = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): Rt = 0.77 min; MS (ESIpos): m/z = 926 (M+H)+.

Intermediat 90

10 *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

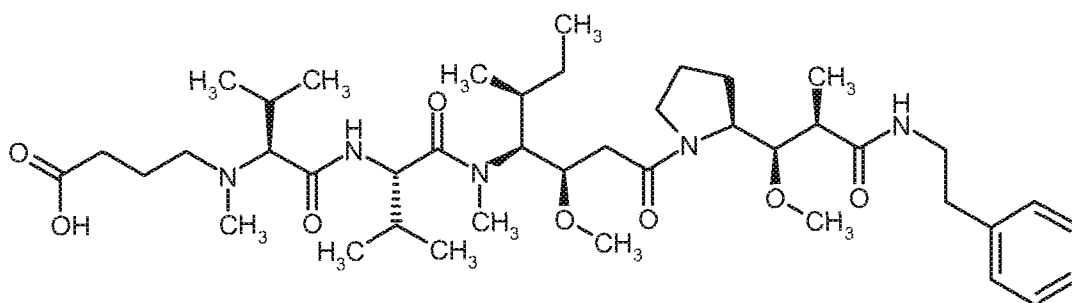


Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 74 beschriebenen Synthese durch Kupplung von *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) und 2-(1*H*-Indol-3-yl)ethanamin in Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoressigsäure hergestellt. Aus 100 mg (0.119 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 50 mg (49% d. Th.) der Titelverbindung erhalten. Die Reinigung der Titelverbindung erfolgte hier durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan/Methanol/Ammoniak 17% als Eluent, wobei das Mischungsverhältnis von zunächst 15/2/0.2 auf 15/4/0.5 umgestellt wurde.

- 366 -

HPLC (Methode 6): $R_t = 1.8$ min;LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.87$ min; MS (ESIpos): $m/z = 813$ (M+H)⁺.**Intermediat 91**

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-{(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(2-phenylethyl)amino]propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

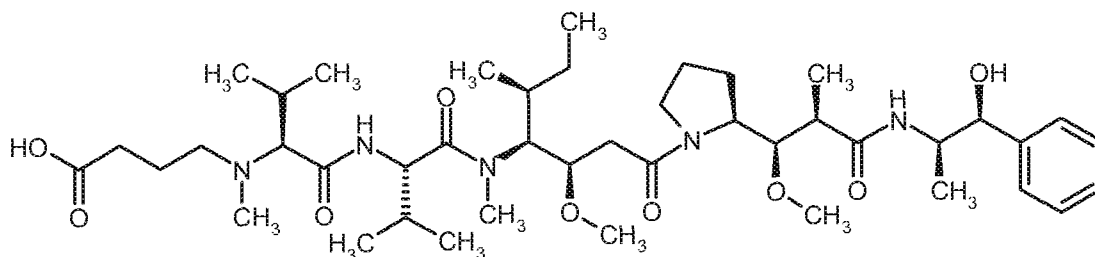


Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 74 beschriebenen Synthese durch Kupplung von *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) und Phenylethylamin in Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-{(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(2-phenylethyl)amino]propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoressigsäure hergestellt. Aus 57 mg (0.071 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 44 mg (80% d. Th.) der Titelverbindung erhalten. Die Reinigung der Titelverbindung kann auch hier durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan/Methanol/Ammoniak 17% als Eluent erfolgen (15/2/02 -> 15/4/0.5).

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.7$ min;LC-MS (Methode 9): $R_t = 4.64$ min; MS (ESIpos): $m/z = 774$ (M+H)⁺.**Intermediat 92**

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

- 367 -



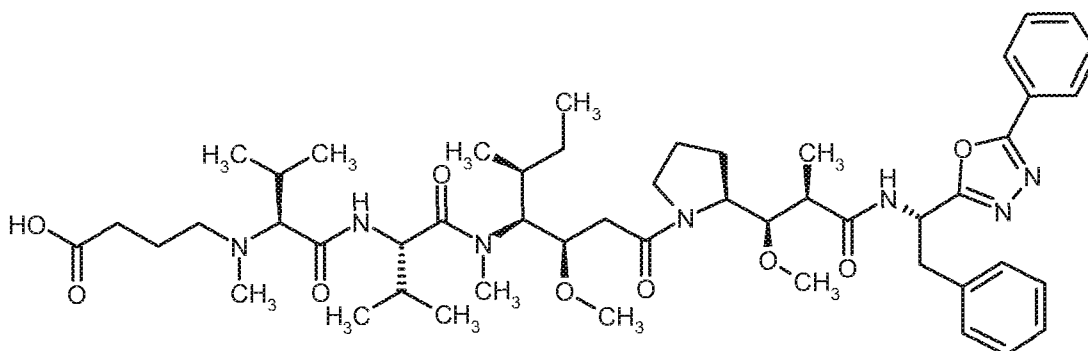
Aus 100 mg (0.139 mmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 40) wurden in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 94 mg (84% d. Th.) der Titelverbindung erhalten. Die Reinigung der Titelverbindung erfolgte durch präparative HPLC.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.5$ min;

10 LC-MS (Methode 9): $R_t = 4.46$ min; MS (ESIpos): $m/z = 804$ (M+H)⁺.

Intermediat 93

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(1*S*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



15

22.4 mg (24 μ mol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(1*S*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat wurden in 1.4 ml Dioxan/Wasser gelöst und analog zur Herstellung von Intermediat 61 mit 15%-iger wässriger Lösung von 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid umgesetzt. Nach

20

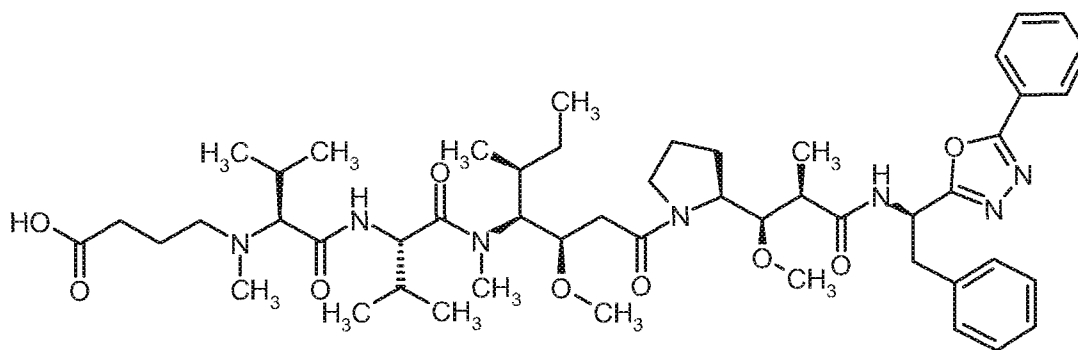
Lyophilisation aus Dioxan wurden 8.2 mg (38% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines weißen Feststoffs erhalten.

HPLC (Methode 10): $R_t = 2.54$ min

LC-MS (Methode 12): $R_t = 0.94$ min; MS (ESIpos): $m/z = 919$ (M+H)⁺

5 Intermediat 94

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(1*R*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



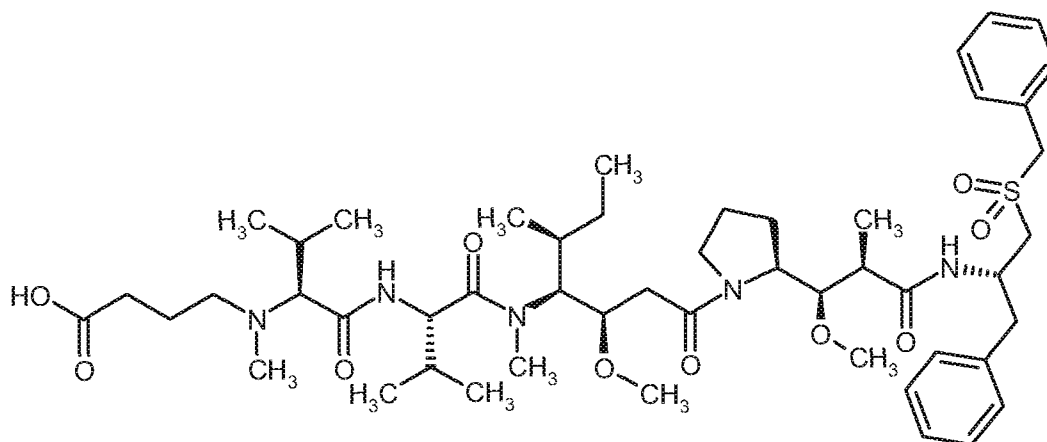
- 10 17.1 mg (18 μ mol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(1*R*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat wurden in 1.1 ml Dioxan/Wasser gelöst und analog zur Herstellung von Intermediat 61 mit 15%-iger wässriger Lösung von 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid umgesetzt. Nach
- 15 Lyophilisation aus Dioxan wurden 14.8 mg (89% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines weißen Feststoffs erhalten.

HPLC (Methode 10): $R_t = 2.54$ min;

LC-MS (Methode 12): $R_t = 0.92$ min; MS (ESIpos): $m/z = 919$ (M+H)⁺

Intermediat 95

- 20 *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzylsulfonyl)-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

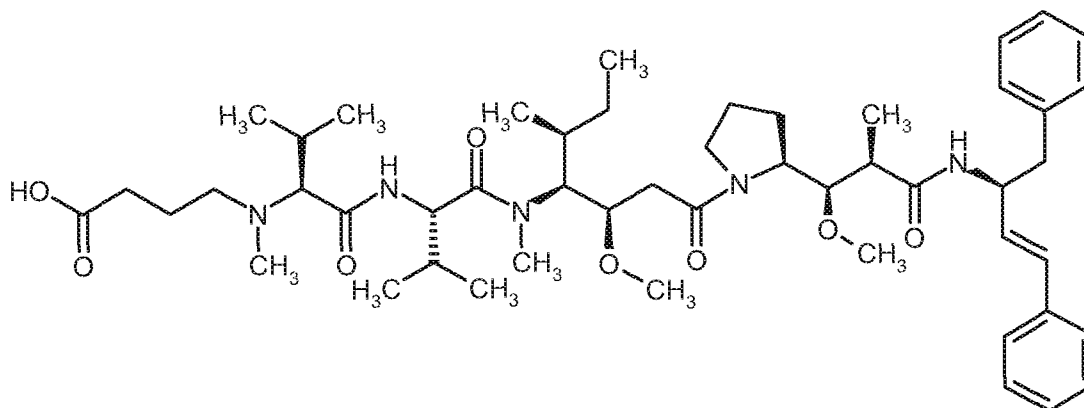


- 19.3 mg (20 μmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{(2*S*)-1-(benzylsulfonyl)-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoacetat wurden in 1.2 ml Dioxan/Wasser gelöst und analog zur Herstellung von Intermediat 61 mit 15%-iger wässriger Lösung von 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid umgesetzt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 8.6 mg (45% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines Feststoffs erhalten.

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.85$ min; MS (ESIpos): $m/z = 943$ (M+H)⁺

Intermediat 96

- 10 *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{(2*S*,3*E*)-1,4-diphenylbut-3-en-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



- 15.5 mg (10 μmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{(2*S*,3*E*)-1,4-diphenylbut-3-en-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoacetat wurden in 1.0 ml Dioxan/Wasser gelöst und analog zur Herstellung von Intermediat 61 mit 15%-iger wässriger Lösung von 4-Oxobutansäure in

- 370 -

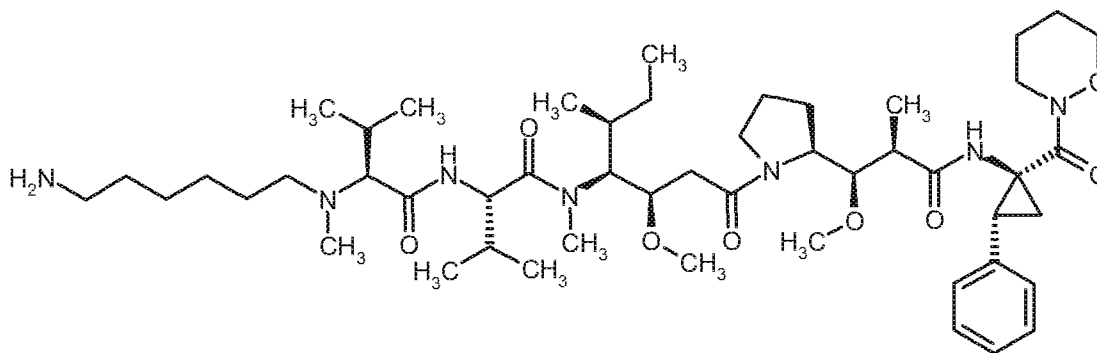
Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid umgesetzt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 10.3 mg (68% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines weißen Feststoffs erhalten.

HPLC (Methode 10): $R_t = 2.59$ min;

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.94$ min; MS (ESIpos): $m/z = 877$ (M+H)⁺

5 Intermediat 97

N-(6-Aminoethyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[[{(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



- 10 Die Titelverbindung wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 66 durch Umsetzung von 200 mg (0.108 mmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[[{(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]-pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoacetat (Intermediat 16) mit Benzyl-(6-oxohexyl)carbamat und nachfolgende hydrogenolytische Abspaltung der Z-
- 15 Schutzgruppe (mit 5% Palladium auf Kohle als Katalysator, in Methanol als Lösungsmittel) hergestellt.

Ausbeute: 69 mg (65% d. Th. über zwei Stufen)

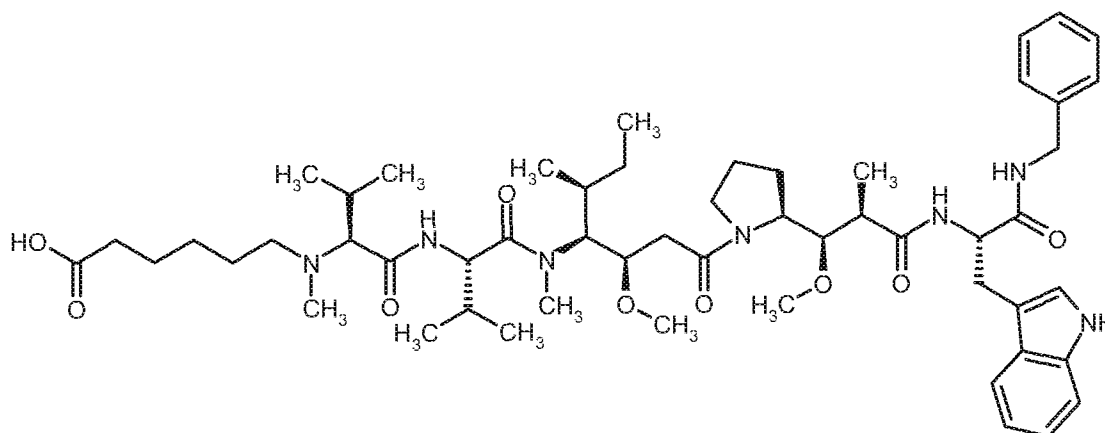
HPLC (Methode 5): $R_t = 1.7$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.76$ min; MS (ESIpos): $m/z = 912$ (M+H)⁺.

20 Intermediat 98

N-(5-Carboxypentyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[{(2*S*)-1-(benzylamino)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

- 371 -



Die Herstellung dieser Verbindung erfolgte in Analogie zur in Intermediat 80 beschriebenen Synthese. Die Reinigung erfolgte durch präparative HPLC.

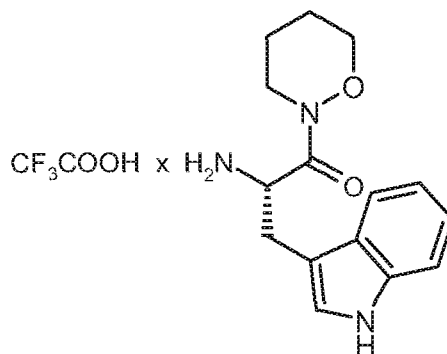
Ausbeute: 40 mg (29% d.Th. über 3 Stufen)

5 HPLC (Methode 5): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.92$ min; MS (ESIpos): $m/z = 974$ (M+H)⁺.

Intermediat 99

(2*S*)-2-Amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)propan-1-on-Trifluoacetat



- 10 324 mg (0.81 mmol) 2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl-*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-L-tryptophanat wurden in 20 ml DMF gelöst und mit 200 mg (1.62 mmol) 1,2-Oxazinan-Hydrochlorid (Ausgangsverbindung 5) und 850 μ l *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei 50°C gerührt und anschließend im Vakuum eingengt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und mit Wasser extrahiert. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat
- 15 getrocknet und eingengt. Der Rückstand wurde durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethylacetat 4:1 als Laufmittel gereinigt. Die Produktfraktionen wurden eingengt

- 372 -

und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Man erhielt so 147.5 mg (48% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.03$ min; MS (ESIpos): $m/z = 374$ (M+H)⁺.

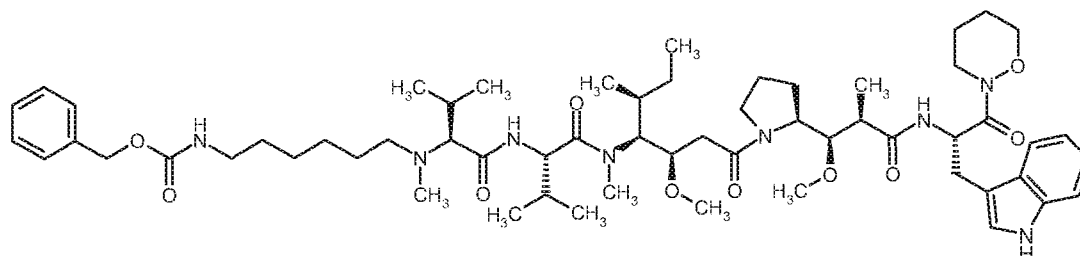
- 5 Aus 166 mg (444.5 μ mol) dieses Intermediats wurde nach Standardbedingungen mit 3 ml Trifluoressigsäure in 20 ml Dichlormethan die Boc-Schutzgruppe abgespalten und nach HPLC Reinigung 155 mg (86% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.43$ min;

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.56$ min; MS (ESIpos): $m/z = 274$ (M+H)⁺.

10 Intermediat 100

N-(6-[[[(Benzyloxy)carbonyl]amino]hexyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[[(2*S*)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



- 15 177 mg (260 μ mol) *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) und 100 mg (260 μ mol) (2*S*)-2-Amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)propan-1-on-Trifluoacetat (Intermediat 99) wurden in 15 ml DMF aufgenommen und mit 118 mg (310 μ mol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 140 μ l *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde
- 20 30 min bei RT gerührt, anschließend im Vakuum eingengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die Produktfraktionen wurden vereinigt und eingengt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 170 mg (68% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.36$ min; $m/z = 940$ (M+H)⁺.

- 25 170 mg dieses Intermediats wurden zur Abspaltung der Boc-Schutzgruppe 30 min mit 3 ml Trifluoressigsäure in 30 ml Dichlormethan behandelt. Dann wurde das Reaktionsgemisch im

- 373 -

Vakuum eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt, wobei 155 mg (86% d.Th.) des entschützten Intermediats *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[2*S*]-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid erhalten wurden.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.85$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.86$ min; MS (ESIpos): $m/z = 840$ (M+H)⁺.

Aus 50 mg (0.052 mmol) dieses Intermediats wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 97 mit Benzyl-(6-oxohexyl)carbammat in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid und nachfolgender hydrogenolytischer Abspaltung der *Z*-Schutzgruppe (mit 5% Palladium auf Kohle als Katalysator, in Methanol als Lösungsmittel) hergestellt die Titelverbindung hergestellt.

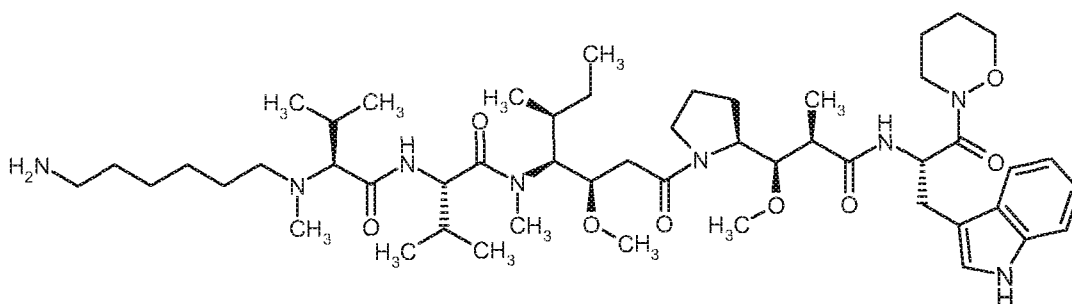
Ausbeute: 21 mg (37% d. Th.)

HPLC (Methode 12): $R_t = 2.1$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.02$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1073$ (M+H)⁺.

15 Intermediat 101

N-(6-Aminoheptyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[2*S*]-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



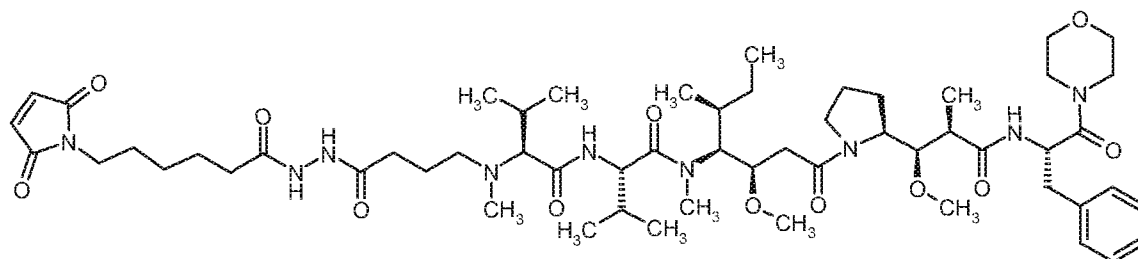
20 26.7 mg (24.87 μ mol) von Intermediat 100 wurden in 10 ml Methanol gelöst und über Palladium/Aktivkohle (5%) 30 min bei Wasserstoff-Normaldruck hydriert. Der Katalysator wurde abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum abgedampft. Nach Trocknung des Rückstands im Hochvakuum wurden 22.5 mg (96% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.7$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.76$ min; MS (ESIpos): $m/z = 939$ (M+H)⁺.

Intermediat 102

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{(2*S*)-1-(morpholin-4-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde in Analogie zur in Intermediat 157 beschriebenen Synthese aus *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{(2*S*)-1-(morpholin-4-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid und kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid hergestellt.

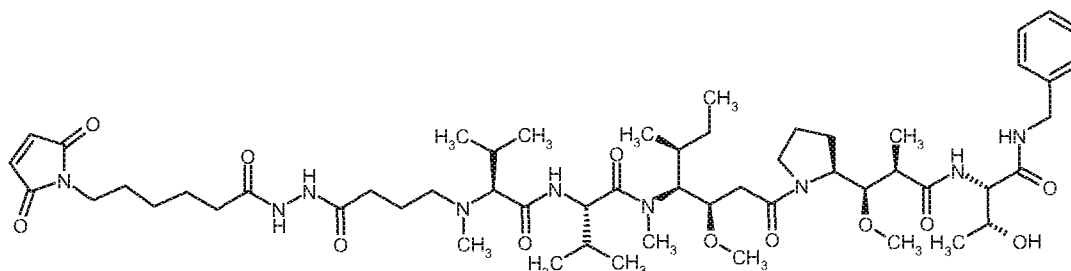
Ausbeute: 8 mg (71% d.Th.)

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.87$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1094$ (M+H)⁺.

Intermediat 103

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{(2*S*,3*R*)-1-(benzylamino)-3-hydroxy-1-oxobutan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



- 375 -

Diese Verbindung wurde in Analogie zur in Intermediat 157 beschriebenen Synthese aus *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*,3*R*)-1-(benzyl-amino)-3-hydroxy-1-oxobutan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid und kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid hergestellt.

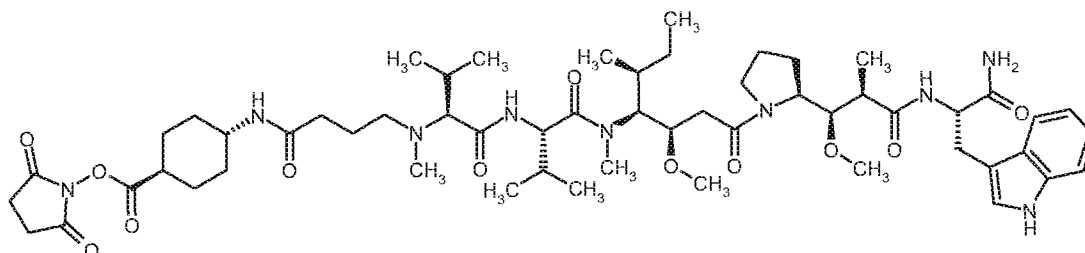
Ausbeute: 3 mg (22% d.Th.)

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.6$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.78$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1069$ (M+H)⁺.

Intermediat 104

10 *N*-{4-[(trans-4-[[2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl]oxy]carbonyl)cyclohexyl]amino}-4-oxobutyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



15 Zunächst wurde Benzyl-trans-4-aminocyclohexancarboxylat-Trifluoracetat aus *trans*-4-Aminocyclohexancarbonsäure durch Einführung der Boc-Schutzgruppe, anschließende Einführung der Benzylesterschutzgruppe und nachfolgende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe nach klassischen Methoden der Peptidchemie hergestellt.

15 mg (18 μ mol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-
20 [[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden dann in 5 ml Dimethylformamid gelöst und anschließend mit 13 mg (35 μ mol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat, 9 μ L *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 15 mg (44 μ mol) Benzyl-*trans*-4-aminocyclohexancarboxylat-Trifluoracetat versetzt. Die Mischung
25 wurde 1 h bei RT gerührt und anschließend im Vakuum eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden vereinigt und das Lösungsmittel im Vakuum abgedampft. Nach Trocknung des Rückstands im

- 376 -

Hochvakuum wurden 14.7 mg (78% d. Th.) des geschützten Intermediats als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 6): $R_t = 2.0$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.95$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1072$ (M+H)⁺.

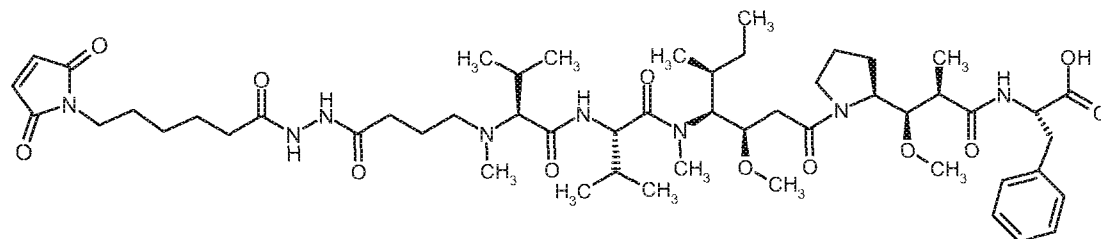
- 5 Von diesem geschützten Intermediat wurde zunächst hydrogenolytisch der Benzylester entfernt und die freie Carboxylkomponente in quantitativer Ausbeute erhalten. 14 mg (14 μ mol; 1 Äquiv.) der entschützten Verbindung wurden in 5 ml DMF aufgenommen und mit 3.3 mg (29 μ mol; 2.1 Äquiv.) *N*-Hydroxysuccinimid in Gegenwart von 4.1 mg (21 μ mol; 1.5 Äquiv.) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 7.5 μ L (44 μ mol; 3.1 Äquiv.) *N,N*-Diisopropylethylamin und 0.9 mg (7 μ mol; 0.5 Äquiv.) 4-Dimethylaminopyridin umgesetzt und über Nacht bei RT gerührt. Dann wurden nochmals 10 Äquiv. *N*-Hydroxysuccinimid, 5 Äquiv. 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 5 Äquiv. *N,N*-Diisopropylethylamin und 0.5 Äquiv. 4-Dimethylaminopyridin nachgesetzt und das Reaktionsgemisch 5 h im Ultraschallbad behandelt. Anschließend wurde das Lösungsmittel abgedampft, der Rückstand
15 mittels präparativer HPLC gereinigt und die entsprechenden Fraktionen vereinigt und eingengt. Nach Lyophilisation des Rückstandes aus Dioxan wurden 9.7 mg (62% d. Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 6): $R_t = 1.8$ min;

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.77$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1078$ (M+H)⁺.

20 Intermediat 105

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxy-2-phenylethyl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



- 25 Diese Verbindung wurde in Analogie zur in Intermediat 157 beschriebenen Synthese ausgehend von 4-[(2*S*)-1-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-*tert*-Butoxy-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-

- 377 -

oxoheptan-4-yl](methyl)amino}-3-methylbutan-2-yl]amino}-3-methyl-1-oxobutan-2-yl](methyl)amino}butansäure und kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid hergestellt. Das Ester-Intermediat wurde in 42%-iger Ausbeute erhalten. In einem zweiten Schritt wurde aus 6 mg (6 μmol) dieses Intermediats mit Trifluoressigsäure der tert.-

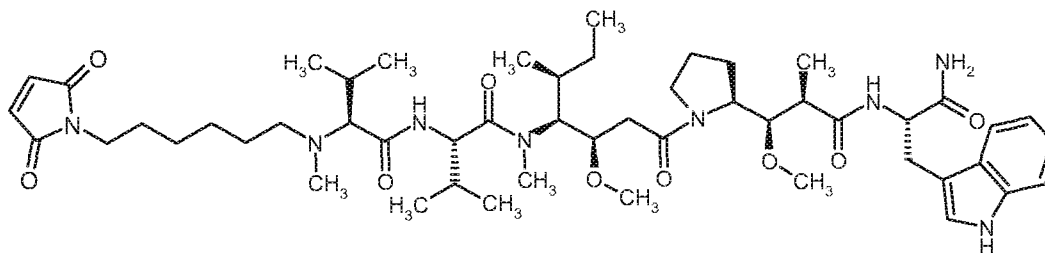
5 Butylester gespalten. Nach HPLC Reinigung wurden 3.4 mg (48% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.66$ min;

LC-MS (Methode 2): $R_t = 1.04$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1025$ (M+H)⁺.

Intermediat 106

10 *N*-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



14 mg (16 μmol) *N*-(6-Aminohexyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 88)

15 wurden in 750 μl Dioxan aufgenommen und mit 1.5 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und anschließend mit 3.2 mg (21 μmol) Methyl-2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-carboxylat versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 1h bei RT gerührt und danach im Vakuum

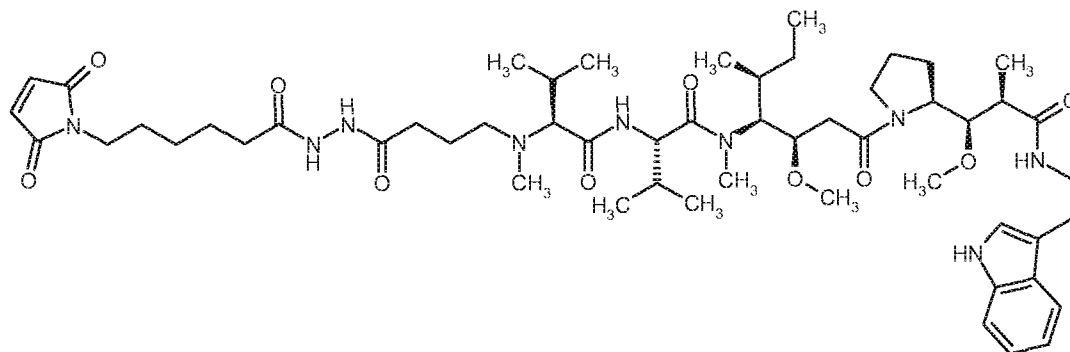
20 eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 5.5 mg (36% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.7$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.84$ min; MS (ESIpos): $m/z = 949$ (M+H)⁺.

Intermediat 107

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



5

38 mg (47 μ mol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 37 ml DMF gelöst und anschließend mit 71 mg (187 μ mol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat, 33 μ L *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 37 mg (140 μ mol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid versetzt. Die Mischung wurde 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde im Hochvakuum eingengt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 12.2 mg (26 % d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

15 HPLC (Methode 5): $R_t = 1.6$ min;

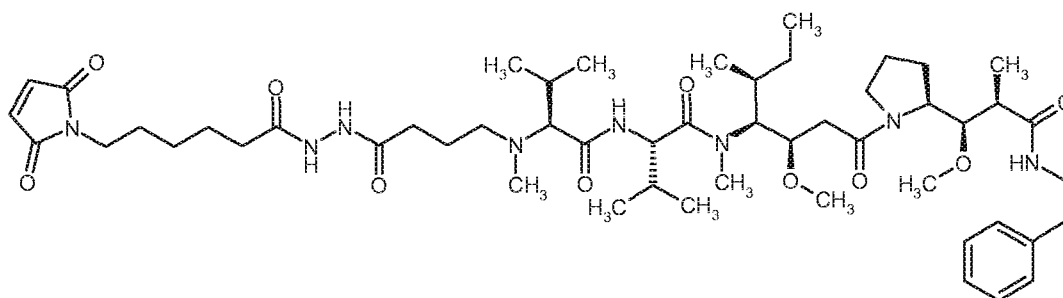
LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.85$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1020$ (M+H)⁺.

Intermediat 108

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(2-phenylethyl)amino]propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

20

- 379 -



Die Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 107 hergestellt.

Ausbeute: 2.5 mg (30 % d.Th.)

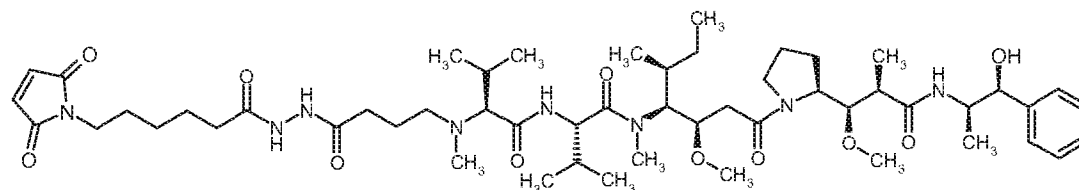
HPLC (Methode 12): $R_t = 1.9$ min;

- 5 LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.9$ min; MS (ESIpos): $m/z = 981$ (M+H)⁺.

Intermediat 109

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

10



Die Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 107 aus der Verbindung in Intermediat 92 hergestellt.

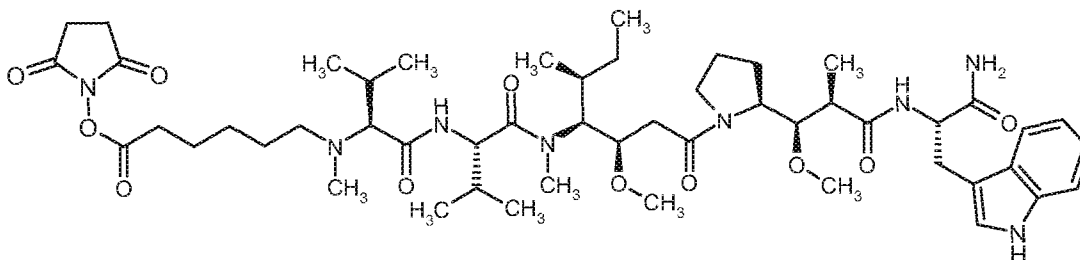
Ausbeute: 35 mg (65 % d.Th.)

- 15 HPLC (Methode 5): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.76$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1011$ (M+H)⁺.

Intermediat 110

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



5

Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 147 aus der Verbindung in Intermediat 83 hergestellt.

Ausbeute: 2.4 mg (24 % d.Th.)

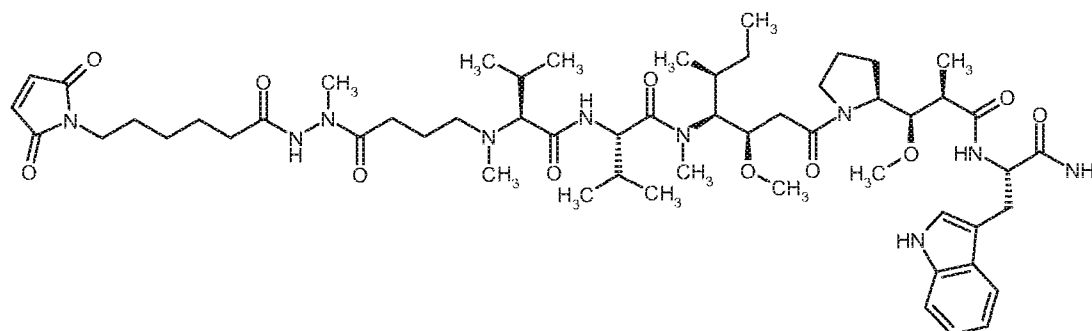
HPLC (Methode 6): $R_t = 1.8$ min;

10 LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.87$ min; MS (ESIpos): $m/z = 981$ (M+H)⁺.

Intermediat 111

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]-1-methylhydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

15



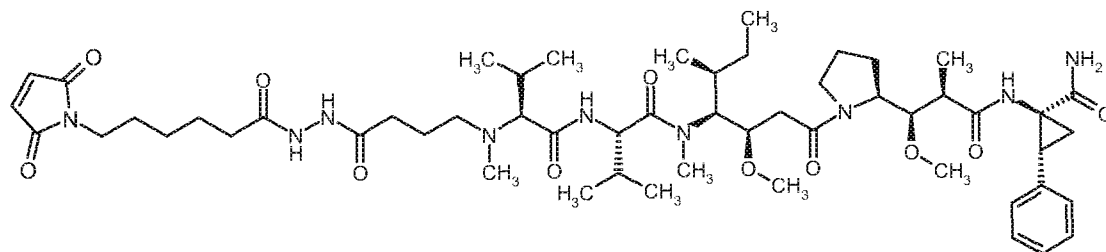
Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 140 aus Intermediat 82 und Intermediat 22 hergestellt.

- 381 -

Ausbeute: 6.5 mg (51 % d.Th.)

HPLC (Methode 6): $R_t = 1.8$ min;LC-MS (Methode 1): $R_t = 4.71$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1077$ (M+H)⁺.**Intermediat 112**

- 5 *N*-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-carbamoyl-2-phenylcyclopropyl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



10

Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 157 aus der Verbindung in Intermediat 81 hergestellt.

Ausbeute: 5.7 mg (57 % d.Th.)

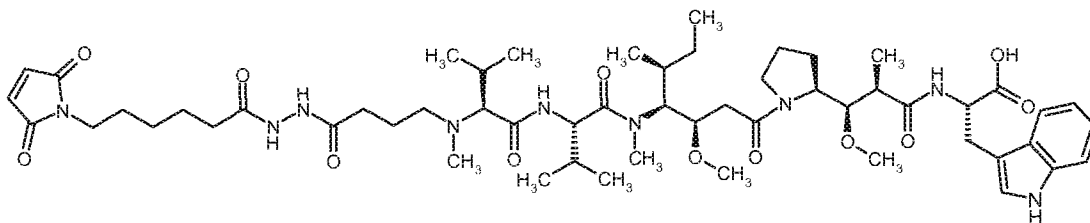
HPLC (Methode 5): $R_t = 1.6$ min;

- 15 LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.87$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1036$ (M+H)⁺.

Intermediat 113

- 20 *N*-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxy-2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

- 382 -



95 mg (104 μmol) von 4-[[[(2*S*)-1-[[[(2*S*)-1-[[[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[[(2*S*)-1-*tert*-
 Butoxy-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-
 5 1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl](methylamino)-3-methylbutan-2-yl]amino]-3-
 methyl-1-oxobutan-2-yl](methylamino)butansäure wurden in DMF gelöst und anschließend mit
 79.5 mg (209 μmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-
 hexafluorophosphat, 73 μL *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 68 mg (261 μmol) von
 kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid versetzt. Die
 10 Mischung wurde 2 h bei RT gerührt. Anschließend wurde im Hochvakuum eingeeengt und der
 verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 104 mg (89 % d.Th.)
 des *tert*-Butylesters der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 2.0$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.93$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1121$ (M+H)⁺.

15 Das Intermediat wurde in 33.4 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 17 ml Trifluoressigsäure
 versetzt und 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeeengt
 und der Rückstand durch präparative HPLC gereinigt.

So wurden 61 mg (62 % d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

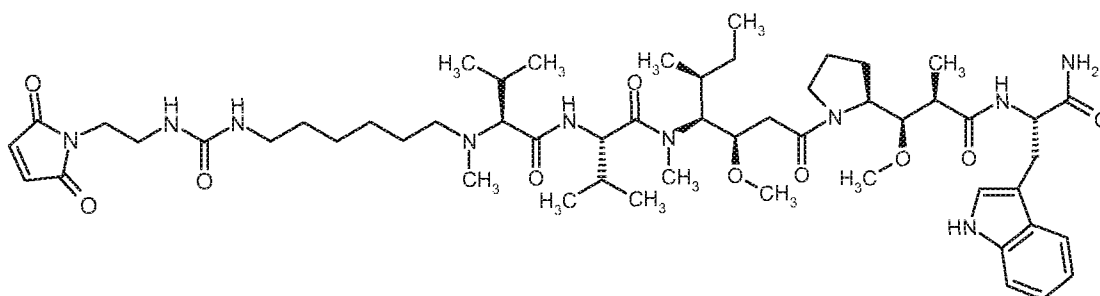
HPLC (Methode 5): $R_t = 1.7$ min;

20 LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.86$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1064$ (M+H)⁺.

Intermediat 114

N-[6-({[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)ethyl]carbonyl]amino)hexyl]-*N*-methyl-*L*-
 valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-
 yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-
 25 yl]-*N*-methyl-*L*-valinamid

- 383 -



5 mg (5 μ mol) von *N*-(6-Aminoethyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-
 5 {[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-
 oxopropyl]pyrrolidin-1-yl)-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden
 in 885 μ l DMF aufgenommen und mit 5.3 mg (8 μ mol) 4-Nitrophenyl-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-
 1*H*-pyrrol-1-yl)ethyl]carbammat sowie 2.8 μ l *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Das
 Reaktionsgemisch wurde 2h bei RT gerührt und anschließend bis zur Trockene eingengt. Der
 Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt.

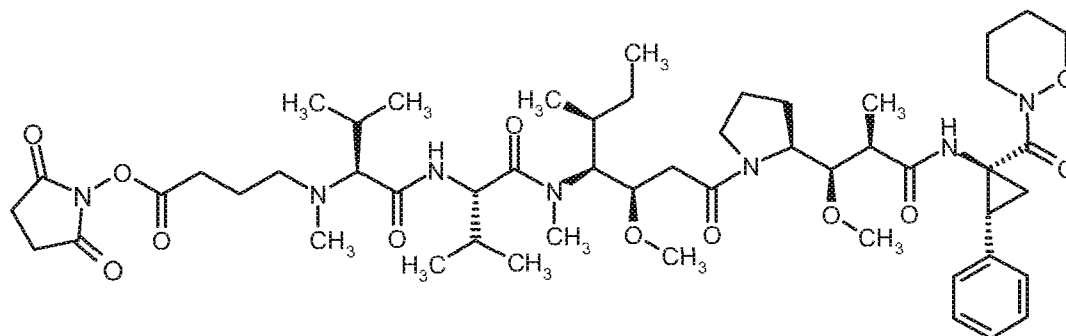
10 Ausbeute: 0.58 mg (11% d.Th.) eines farblosen Schaums

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.6$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.83$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1035$ (M+H)⁺.

Intermediat 115

N-{4-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-4-oxobutyl}-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-
 15 {(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-
 phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl)-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-
 valinamid



Diese Verbindung wurde in Analogie zu der Verbindung in Intermediat 147 ausgehend von 8 mg
 20 (9 μ mol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-

- 384 -

methoxy-2-methyl-3-[[[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid hergestellt. Nach dem Einengen wurde der aktivierte Ester mittels präparativer HPLC gereinigt und nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum sofort mit dem Antikörper umgesetzt.

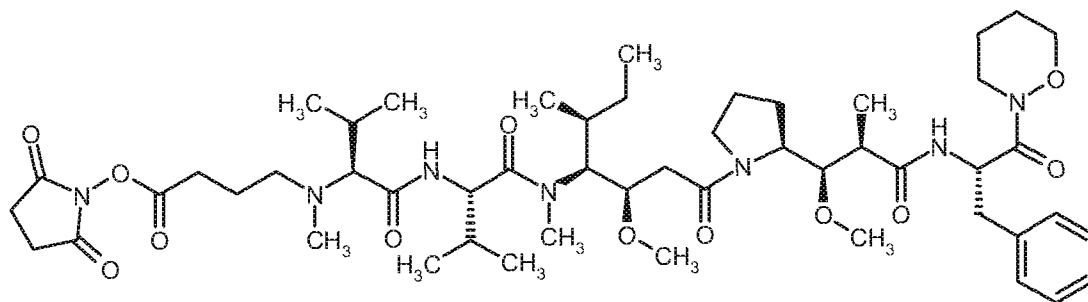
5 Ausbeute: 3 mg (27% d.Th.) (hydrolyseempfindlich)

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.7$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.87$ min; MS (ESIpos): $m/z = 996$ (M+H)⁺.

Intermediat 116

10 *N*-{4-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-4-oxobutyl}-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-
 {(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[[[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



15 Diese Verbindung wurde in Analogie zu der Verbindung in Intermediat 147 ausgehend von 5 mg
 (6 μ mol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-
 {(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-
 methoxy-2-methyl-3-[[[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-3-
 oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid hergestellt. Nach
 dem Einengen wurde der aktivierte Ester mittels präparativer HPLC gereinigt und nach Entfernung
 des Lösungsmittels im Vakuum sofort mit dem Antikörper umgesetzt.

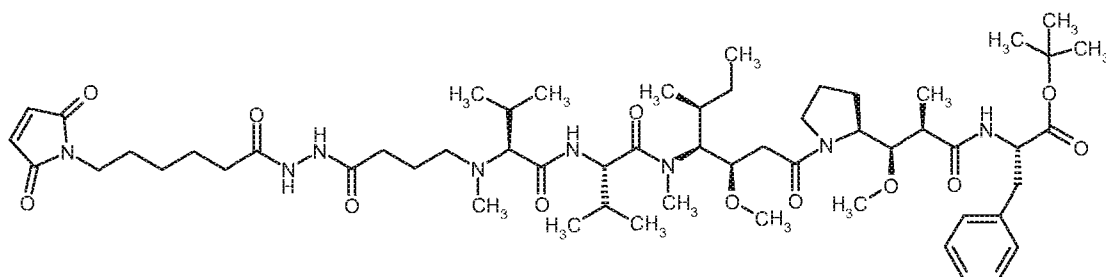
20 Ausbeute: 3.2 mg (43% d.Th.) (hydrolyseempfindlich)

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.7$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.92$ min; MS (ESIpos): $m/z = 984$ (M+H)⁺.

Intermediat 117

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-tert.-butoxy-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 157 aus der Verbindung in Intermediat 86 hergestellt.

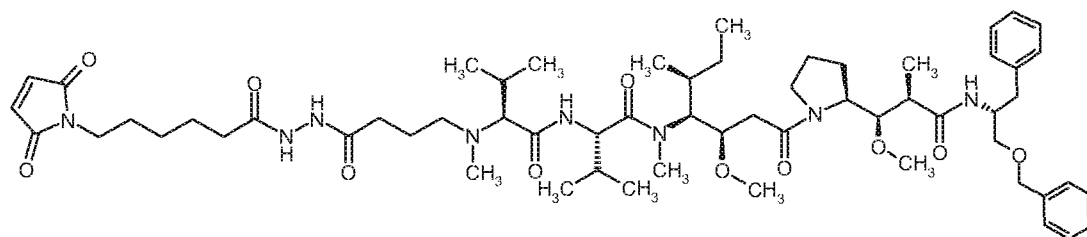
10 Ausbeute: 7 mg (42 % d.Th.)

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.6$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.94$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1081$ (M+H)⁺.

Intermediat 118

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*R*)-1-(benzyloxy)-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

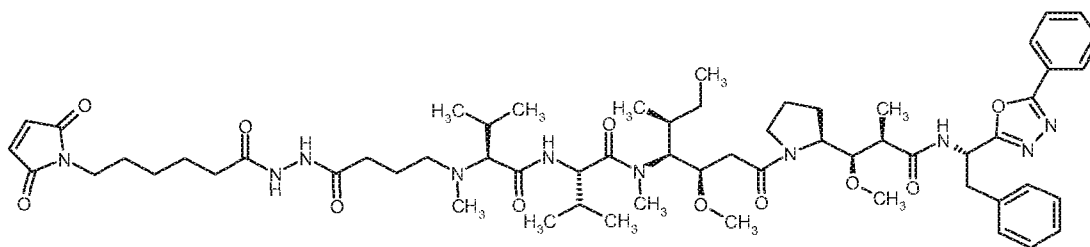


Die Zielverbindung wurde analog zu Intermediat 157 aus 7 mg (7.8 μ mol) der Verbindung in Intermediat 68 hergestellt. Ausbeute: 6.3 mg (53% d.Th.)

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.00$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1102$ (M+H)⁺.

Intermediat 119

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(1*S*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

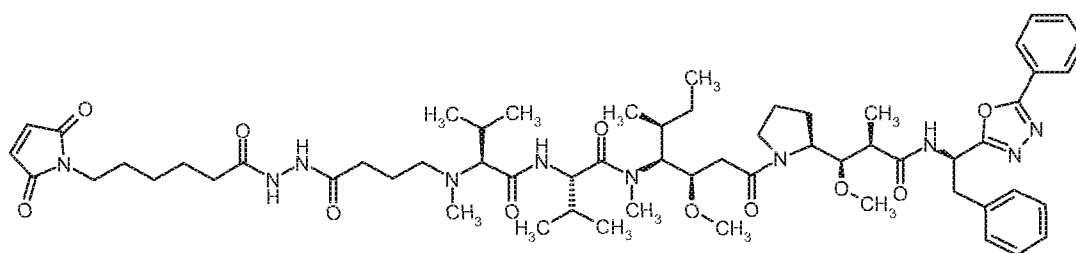


7.4 mg (8.1 mmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(1*S*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid und 6.3 mg (24.2 mmol) 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid-hydrochlorid wurden in Analogie zu Intermediat 157 gekuppelt und aufgearbeitet. Es wurden 1.6 mg (13% d. Th.) der Titelverbindung als Feststoff erhalten.

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.89$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1126$ (M+H)⁺

15 **Intermediat 120**

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(1*R*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



20

12.8 mg (13.9 mmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(1*R*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid und

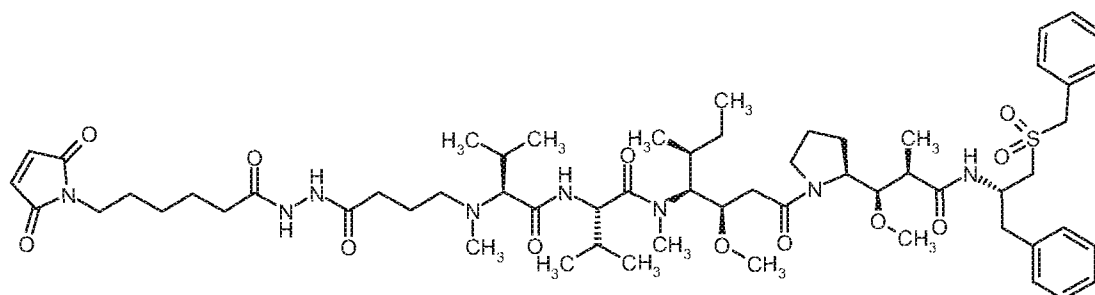
- 387 -

10.9 mg (41.8 mmol) 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid-Hydrochlorid wurden in Analogie zu Intermediat 157 gekuppelt und aufgearbeitet. Es wurden 10.8 mg (59% d. Th.) der Titelverbindung als Feststoff erhalten.

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.90$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1126$ (M+H)⁺

5 Intermediat 121

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzylsulfonyl)-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



10

7.4 mg (7.9 mmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzylsulfonyl)-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-

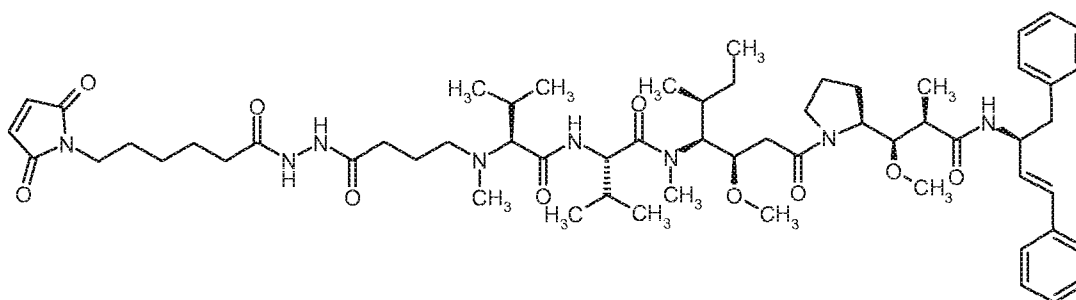
15 6.2 mg (23.5 mmol) 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid-Hydrochlorid wurden in Analogie zu Intermediat 157 gekuppelt und aufgearbeitet. Es wurden 6.9 mg (7.4% d. Th.) der Titelverbindung als Feststoff erhalten.

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.87$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1150$ (M+H)⁺

Intermediat 122

20 *N*-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*,3*E*)-1,4-diphenylbut-3-en-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

- 388 -

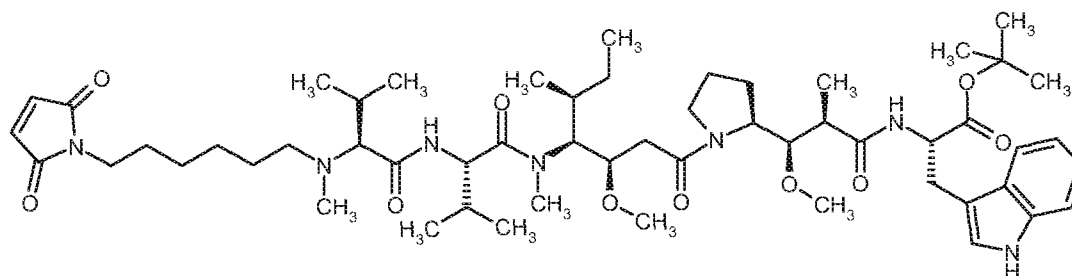


- 8 mg (9.1 mmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*,3*E*)-1,4-diphenylbut-3-en-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid und 7.2 mg (27.4 mmol) 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid-Hydrochlorid wurden in Analogie zu Intermediat 157 gekuppelt und aufgearbeitet. Es wurden 8.2 mg (82 % d. Th.) der Titelverbindung als weißer Feststoff erhalten.

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.95$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1083$ (M+H)⁺

Intermediat 123

- 10 *N*-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-*tert*-butoxy-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



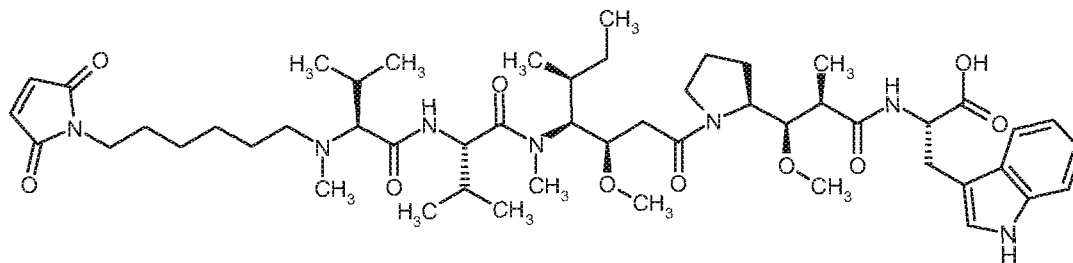
- 15 30 mg (30 μ mol) von Intermediat 89 wurden in 2 ml 1,4-Dioxan aufgenommen und mit 4 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und anschließend mit 7.5 mg (50 μ mol) Methyl-2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-carboxylat versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 1h bei RT gerührt und danach im Vakuum eingeeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 24 mg (74% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

- 20 HPLC (Methode 5): $R_t = 2.2$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.01$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1006$ (M+H)⁺.

Intermediat 124

N-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxy-2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



5

22 mg (20 μ mol) von Intermediat 123 wurden mit 4 ml Trifluoressigsäure in 8 ml Dichlormethan 1 h bei RT umgesetzt. Danach wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 11 mg (54% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

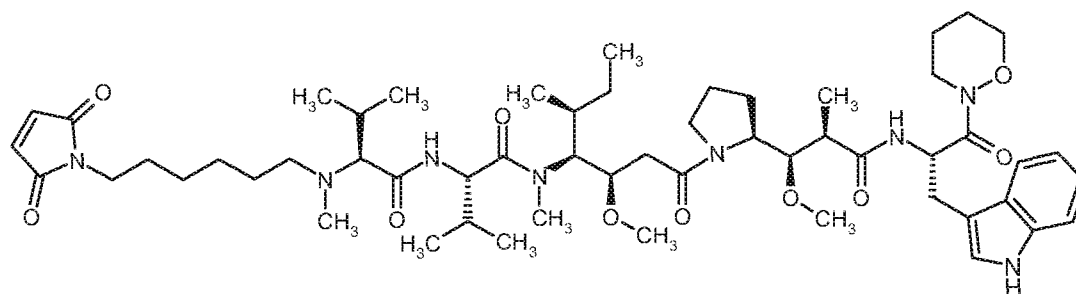
10 HPLC (Methode 5): $R_t = 1.8$ min;

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.85$ min; MS (ESIpos): $m/z = 950$ (M+H) $^+$.

Intermediat 125

N-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-((2*S*)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

15



22.5 mg (20 μ mol) von Intermediat 101 wurden in 2 ml Dioxan/Wasser 1:1 aufgenommen und anschließend mit 5.6 mg (40 μ mol) Methyl-2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-carboxylat sowie mit 0.25 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 20 30 min bei RT gerührt. Dann wurden nochmals 0.25 ml der gesättigten Natrium-

- 390 -

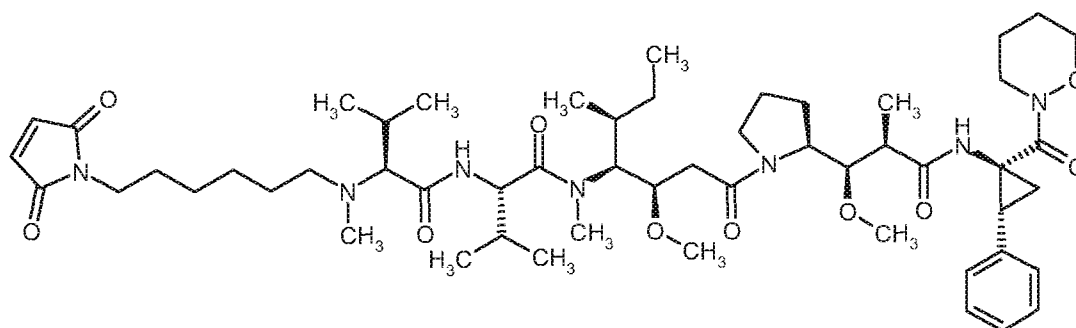
hydrogencarbonatlösung zugegeben und das Reaktionsgemisch weitere 15 min bei RT gerührt und anschließend im Vakuum eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 12.8 mg (50% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

5 HPLC (Methode 5): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.95$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1019$ (M+H)⁺.

Intermediat 126

N-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexyl]-*N*-methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-((2*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-((1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl)amino)-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-*L*-valinamid

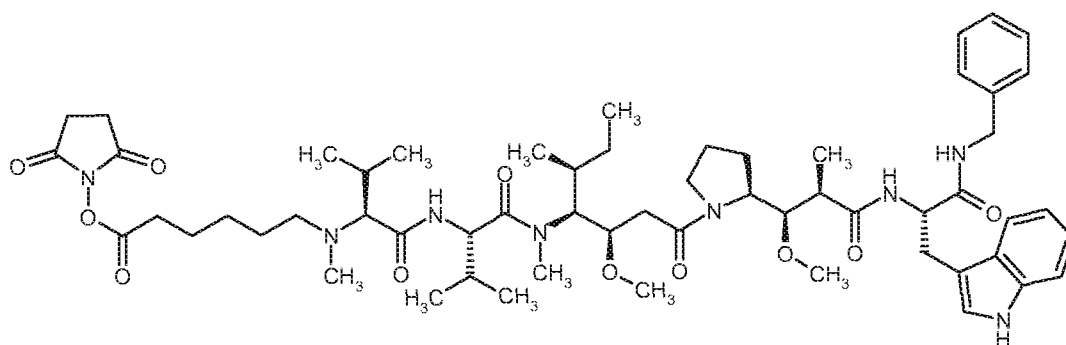


64 mg (70 μ mol) *N*-(6-Aminoheptyl)-*N*-methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-((2*S*)-2-((1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-((1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl)amino)-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-*L*-valinamid (Intermediat 97) wurden in 3 ml Dioxan/Wasser 1:1 aufgenommen, dann mit 4 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung auf pH 9 eingestellt und anschließend mit 16.3 mg (110 μ mol) Methyl-2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-carboxylat versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 1 h bei RT gerührt und danach im Vakuum eingengt. Dann wurden nochmals 8 mg (55 μ mol) Methyl-2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-carboxylat nachgesetzt, das Reaktionsgemisch erneut auf pH 9 eingestellt und eine weitere Stunde bei RT gerührt. Anschließend wurde eingengt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Isoliert wurden zunächst 31 mg eines noch nicht cyclisierten Intermediats. 27 mg von diesem Intermediat wurden erneut in 2 ml Dioxan/Wasser 1:1 aufgenommen und dann mit 250 μ l gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung versetzt. Nach 2 Stunden Rühren bei RT wurde das Reaktionsgemisch eingengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 20 mg (29% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

- 391 -

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.96$ min;LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.97$ min; MS (ESIpos): $m/z = 992$ (M+H)⁺.**Intermediat 127**

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-
 5 [(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzylamino)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-
 methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-
 valinamid

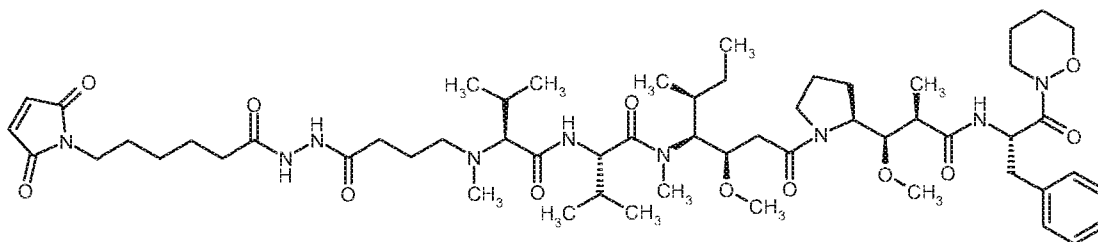


17 mg (18 μ mol) *N*-(5-Carboxypentyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-
 10 {[(2*S*)-1-(benzylamino)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-
 oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Inter-
 mediat 98) wurden in 2.8 ml Dichlormethan gelöst und mit 20 mg (174 μ mol) 1-Hydroxy-
 pyrrolidin-2,5-dion und anschließend mit 10 mg (52 μ mol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethyl-
 carbodiimid-Hydrochlorid und 0.21 mg (0.17 μ mol) DMAP versetzt. Nach 4 h Rühren bei RT
 15 wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels
 präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 8.2 mg (43% d.Th.) der Titelverbindung
 erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 2.0$ min;LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.98$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1071$ (M+H)⁺.**Intermediat 128**

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-
 valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-
 2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-
 yl]-*N*-methyl-L-valinamid

- 392 -



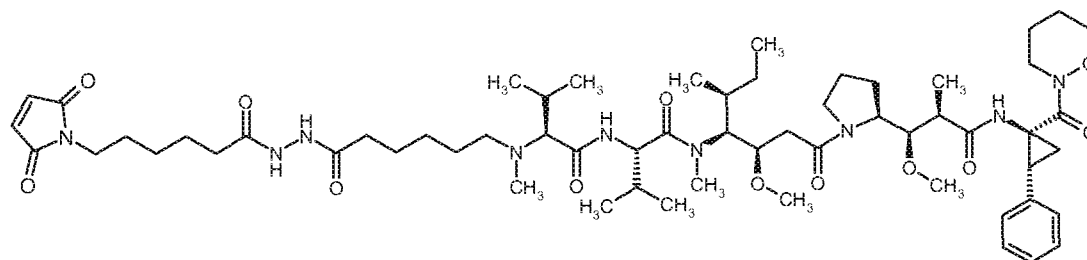
5 mg (5.6 μmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-
 [(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{{(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl}amino}-
 3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 845 μl
 5 DMF gelöst und anschließend mit 3.2 mg (17 μmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-
 ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 2.6 mg (17 μmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat, 1.96 μL
N,N-Diisopropylethylamin sowie mit 5.9 mg (22.5 μmol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-
 Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei
 10 RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels
 präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 2.2 mg (36%) der Titelverbindung als farbloser
 Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.7$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.88$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1094$ (M+H)⁺.

15 Intermediat 129

N-(6-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-6-oxohexyl)-*N*-methyl-L-
 valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{{(1*S*,2*R*)-1-(1,2-
 oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl}amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-
 oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



20

4 mg (4.3 μmol) *N*-(5-Carboxypentyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-
 [(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{{(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl}
 amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden

- 393 -

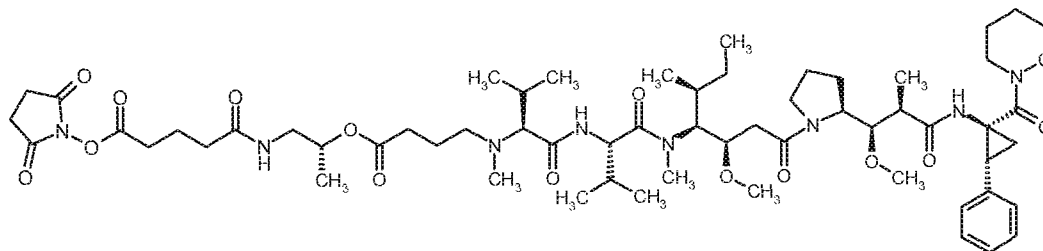
in 646 μl DMF gelöst und anschließend mit 2.5 mg (13 μmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 2.0 mg (13 μmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat, 2.25 μL *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 4.5 mg (17 μmol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid versetzt. Die Mischung wurde 3h bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 1.9 mg (39%) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.7$ min;

LC-MS (Methode 9): $R_t = 4.9$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1134$ (M+H)⁺.

10 Intermediat 130

N-(4-{{(2*R*)-1-({5-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-5-oxopentanoyl)amino)propan-2-yl}oxy}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{{(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-*L*-valinamid



15

10.5 mg (11.7 μmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{{(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-*L*-valinamid wurden in 3.7 ml Dichlormethan gelöst und anschließend mit 6.7 mg (35 μmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 0.7 mg (5.8 μmol) 4-Dimethylaminopyridin sowie mit 8.2 mg (47 μmol) von kommerziell erhältlichem *tert*-Butyl-[(2*R*)-2-hydroxypropyl]carbamat versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 7.5 mg (61% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats als farbloser Schaum erhalten.

25 HPLC (Methode 5): $R_t = 2.0$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.03$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1056$ (M+H)⁺.

- 394 -

Anschließend wurde die Boc-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure abgespalten. 4.9 mg (0.005 mmol) des entschützten Rohprodukts wurden dann ohne weitere Reinigung in 1.8 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 3.7 mg (0.011 mmol) 1,1'-[(1,5-Dioxopentan-1,5-diyl)bis(oxy)]dipyrrolidin-2,5-dion, 2.4 μ l (0.014 mmol) *N,N*-Diisopropylethylamin und 0.6 mg (5 μ mol) 4-Dimethylaminopyridin versetzt. Die Mischung wurde 2h bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 0.77 mg (15% d. Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

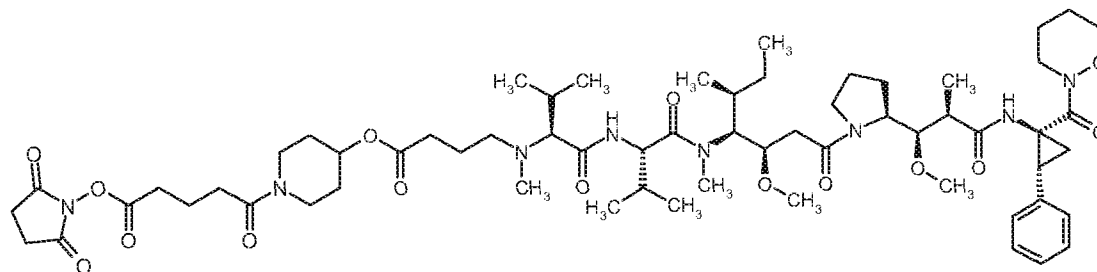
HPLC (Methode 5): $R_t = 1.8$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.93$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1167$ (M+H)⁺.

10 Intermediat 131

N-{4-[(1-{5-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-5-oxopentanoyl}piperidin-4-yl)oxy]-4-oxobutyl}-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

15



10 mg (11 μ mol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 2 ml Dichlormethan gelöst und anschließend mit 4.3 mg (22 μ mol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 0.88 mg (6 μ mol) 4-Dimethylaminopyridin sowie mit 5.2 mg (22 μ mol) kommerziell erhältlichem Benzyl-4-hydroxypiperidin-1-carboxylat versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 5 mg (40% d. Th.) des *Z*-geschützten Intermediats als farbloser Schaum erhalten.

25

HPLC (Methode 5): $R_t = 2.1$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.04$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1116$ (M+H)⁺.

- 395 -

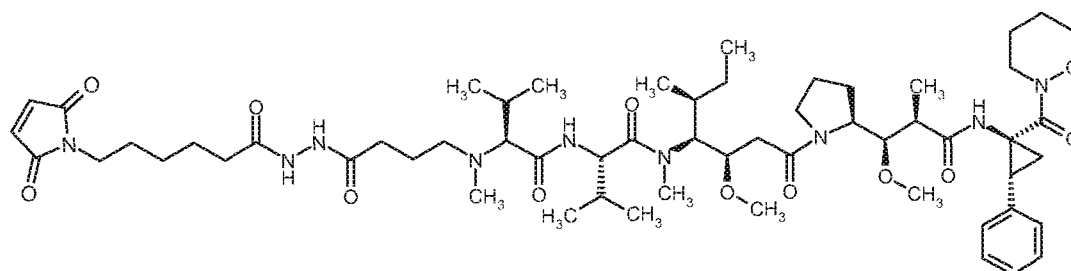
Anschließend wurde die Z-Schutzgruppe hydrogenolytisch in Ethanol über Palladium/Aktivkohle abgespalten. 4.6 mg (0.005 mmol) des entschützten Rohprodukts wurden dann ohne weitere
 Reinigung in 1.8 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 3.8 mg (0.012 mmol) 1,1'-[(1,5-Dioxopentan-1,5-diyl)bis(oxy)]dipyrrolidin-2,5-dion, 0.8 µl (0.005 mmol) *N,N*-Diisopropylethyl
 5 amin und 0.6 mg (5 µmol) 4-Dimethylaminopyridin versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 0.96 mg (16% d. Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.8$ min;

10 LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.94$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1193$ (M+H)⁺.

Intermediat 132

N-(4-{2-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazinyl}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-L-
 valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-
 oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-
 15 oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



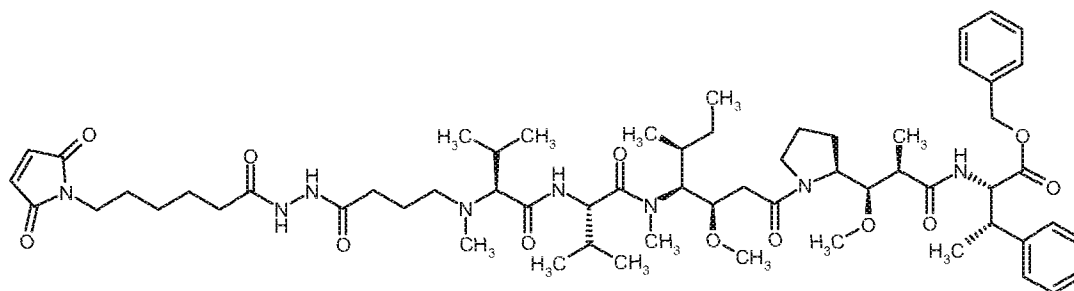
15 mg (16.7 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-
 [(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]
 amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden
 20 in 2500 µl DMF gelöst und anschließend mit 9.6 mg (50 µmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 7.6 mg (50 µmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat, 5.8 µL *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 17.4 mg (67 µmol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels
 25 präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 11.2 mg (52% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.7$ min;

LC-MS (Methode 2): $R_t = 1.09$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1106$ (M+H)⁺.

Intermediat 133

N-(4-{2-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazinyl}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-((2*S*,3*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



5.8 mg (6.3 μ mol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-((2*S*,3*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 943 μ l DMF gelöst und anschließend mit 3.6 mg (19 μ mol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 2.9 mg (19 μ mol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat, 2.2 μ l *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 6.6 mg (25 μ mol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 4.5 mg (64% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 2.0$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.03$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1129$ (M+H)⁺.

20 Intermediat 134

N-[3-({2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)ethyl]carbamoyl)amino]propyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-((1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino)-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

- 398 -

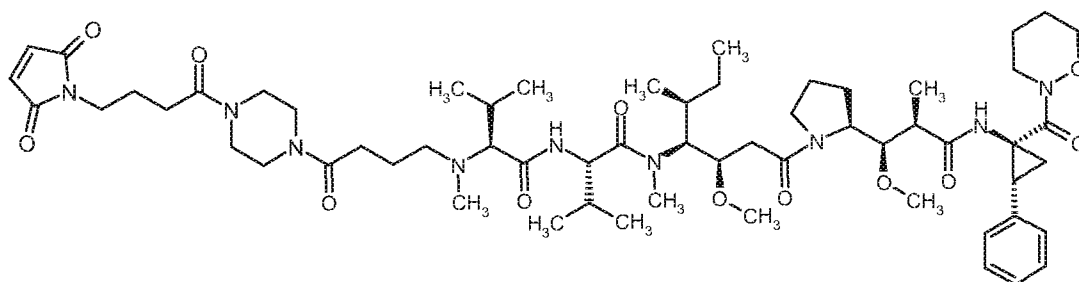
10 mg (11 μ mol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-
 5 {{{(2*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrro-
 lidin-1-yl)}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 4000 μ l DMF
 gelöst und anschließend mit 6.3 mg (33 μ mol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-
 Hydrochlorid, 4.5 mg (33 μ mol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat, 5.7 μ L *N,N*-
 Diisopropylethylamin sowie mit 11.5 mg (44 μ mol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-
 2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT
 gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels
 präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 2.6 mg (14% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser
 10 Schaum erhalten.

HPLC (Methode 6): $R_t = 2.1$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.01$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1115$ (M+H)⁺.

Intermediat 136

N-(4-{4-[4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)butanoyl]piperazin-1-yl}-4-oxobutyl)-*N*-
 15 methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(1*S*,2*R*)-1-
 (1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino)-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-
 1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Zunächst wurde 1-[4-Oxo-4-(piperazin-1-yl)butyl]-1*H*-pyrrol-2,5-dion-Trifluoracetat nach
 20 Standardbedingungen ausgehend von tert.-Butylpiperazin-1-carboxylat und 4-(2,5-Dioxo-2,5-
 dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)butansäure über 2 Stufen hergestellt.

5 mg (5.6 μ mol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-((2*S*)-2-
 25 [[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]
 amino)-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl)-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden
 in 1000 μ l DMF gelöst und anschließend mit 2.1 mg (11 μ mol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-
 ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 1.7 mg (11 μ mol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat, 2 μ L *N,N*-
 Diisopropylethylamin sowie mit 3.5 mg (5.6 μ mol) 1-[4-Oxo-4-(piperazin-1-yl)butyl]-1*H*-pyrrol-

- 399 -

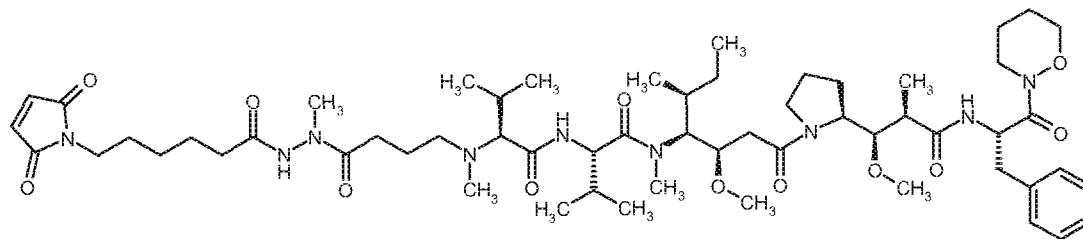
2,5-dion-Trifluoracetat versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt. Dann wurden 2.1 mg (5.6 μ mol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat hinzugegeben und das Reaktionsgemisch weitere 3h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden eingengt und durch Lyophilisation aus Wasser wurden 0.6 mg (10% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 6): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.9$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1132$ (M+H)⁺.

Intermediat 137

- 10 *N*-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]-1-methylhydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



- 15 Zunächst wurde 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-*N'*-methylhexanhydrazid-Trifluoracetat nach Standardbedingungen ausgehend von kommerziell erhältlicher 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexansäure und *tert.*-Butyl-1-methylhydrazincarboxylat über 2 Stufen hergestellt.

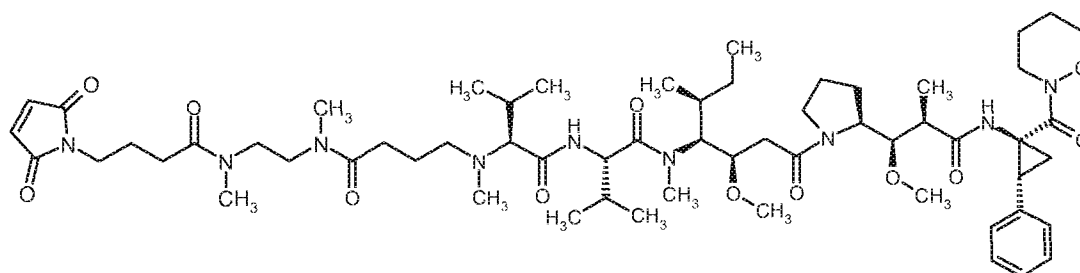
6.9 mg (8 μ mol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 2540 μ l DMF gelöst und anschließend mit 3.6 mg (9 μ mol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat, 3 μ l *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 4.1 mg (12 μ mol) 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-*N'*-methylhexanhydrazid-Trifluoracetat versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 3.9 mg (45% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.8$ min;

- 400 -

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.93$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1108$ (M+H)⁺.**Intermediat 138**

N-{4-[(2-{{4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)butanoyl}(methyl)amino}ethyl)(methyl)amino]-4-oxobutyl}-*N*-methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-*L*-valinamid



Ausgehend von *tert*-Butyl-methyl[2-(methylamino)ethyl]carbamid und 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)butansäure wurde zunächst über 2 Stufen 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-*N*-methyl-*N*-[2-(methylamino)ethyl]butanamid-Trifluoracetat nach hergestellt.

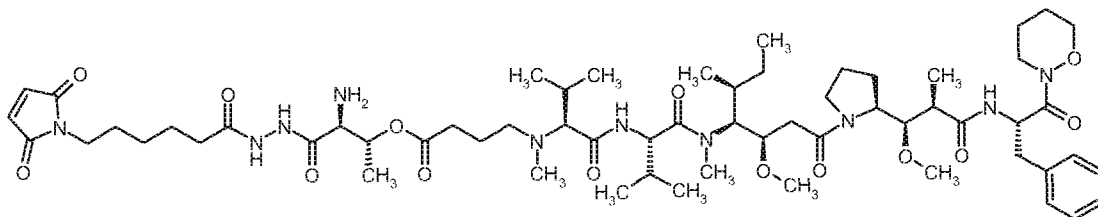
6.6 mg (7.3 μ mol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-*L*-valinamid wurden in 2000 μ l DMF gelöst und anschließend mit 5.6 mg (14.7 μ mol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N,N*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat, 2.6 μ l *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 4.1 mg (9 μ mol) 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-*N*-methyl-*N*-[2-(methylamino)ethyl]butanamid-Trifluoracetat versetzt. Nach 3 h Rühren bei RT wurden noch mal die gleichen Mengen an HATU und *N,N*-Diisopropylethylamin zugesetzt und das Reaktionsgemisch dann über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 4 mg (44% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 6): $R_t = 2.0$ min;LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.91$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1134$ (M+H)⁺.**Intermediat 139**

(2*R*,3*S*)-3-Amino-4-{2-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutan-2-yl-(3*R*,4*S*,7*S*,10*S*)-4-[(2*S*)-butan-2-yl]-7,10-diisopropyl-3-(2-{{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-

- 401 -

methoxy-2-methyl-3-{{(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl}amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-2-oxoethyl)-5,11-dimethyl-6,9-dioxo-2-oxa-5,8,11-triazapentadecan-15-olat



5

13 mg (14.7 μmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{{(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl}amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 10 ml Dichlormethan gelöst und anschließend mit 8.4 mg (44 μmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 5.4 mg (44 μmol) 4-Dimethylaminopyridin sowie mit 9 mg (29.3 μmol) von kommerziell erhältlichem Benzyl-*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-L-threoninat versetzt. Die Mischung wurde 5h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch zweimal mit Wasser ausgeschüttelt und die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Nach Lyophilisation aus Dioxan/Wasser wurden 14 mg (81% d. Th.) des geschützten Intermediats als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 2.3$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.13$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1178$ (M+H)⁺.

Anschließend wurde die *Z*-Schutzgruppe hydrogenolytisch in Methanol über 10% Palladium/Aktivkohle abgespalten. 9.5 mg (0.0087 mmol) des entschützten Rohprodukts wurden dann ohne weitere Reinigung in 5 ml DMF aufgenommen und 5 mg (26.2 μmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 4 mg (26.2 μmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat, 54.6 μL *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 9.1 mg (34.9 μmol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid versetzt. Die Mischung wurde 1 h bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 9.5 mg (84% d.Th.) des Boc-geschützten Intermediats erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 2.1$ min;

- 402 -

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.97$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1295$ (M+H)⁺.

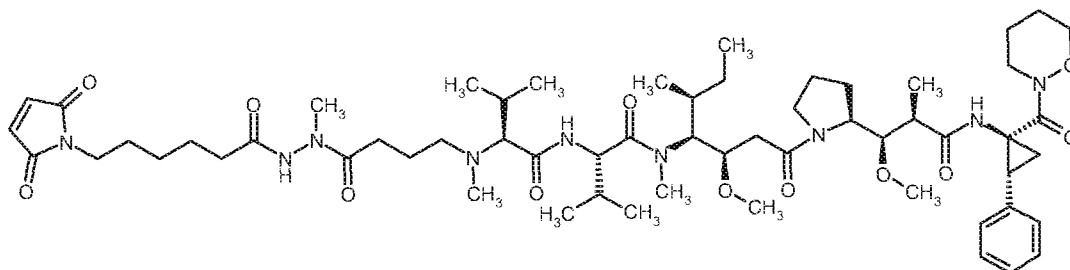
Anschließend wurden 9.5 mg (7.3 μ mol) mit 0.5 ml Trifluoressigsäure in 2 ml Dichlormethan des Boc-geschützten Intermediats entschützt und nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 9 mg (82% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

5 HPLC (Methode 12): $R_t = 2.1$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.84$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1195$ (M+H)⁺.

Intermediat 140

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]-1-methylhydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



4.1 mg (12 μ mol) 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-*N*'-methylhexanhydrazid-Trifluoracetat (Intermediat 22) wurden zusammen mit 6.9 mg (8 μ mol) der Verbindung aus Intermediat 61 in 2.5 ml DMF gelöst und anschließend mit 3.5 mg (9 μ mol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 3 μ L *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 2.6 mg (30% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

20 HPLC (Methode 5): $R_t = 1.8$ min;

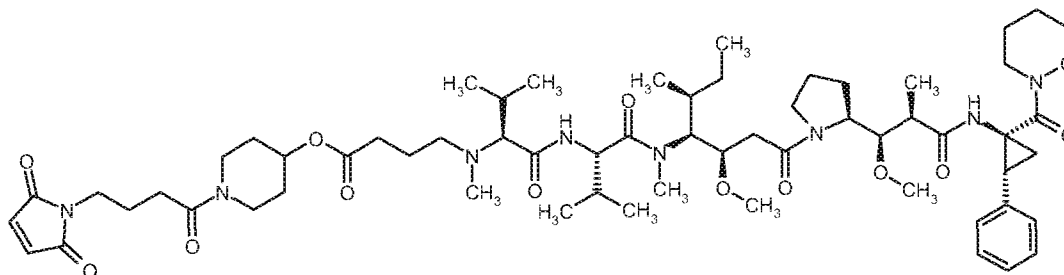
LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.90$ und 0.91 min; MS (ESIpos): $m/z = 1120$ (M+H)⁺.

Intermediat 141

N-[4-({1-[4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)butanoyl]piperidin-4-yl}oxy)-4-oxobutyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(1*S*,2*R*)-1-

- 403 -

(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



44 mg (49 μ mol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-
 5 [(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]
 amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden
 in 2 ml Dichlormethan gelöst und anschließend mit 18.8 mg (98 μ mol) 1-(3-Dimethylamino-
 propyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 3.8 mg (24 μ mol) 4-Dimethylaminopyridin sowie mit 23
 mg (98 μ mol) von kommerziell erhältlichem Benzyl-4-hydroxypiperidin-1-carboxylat versetzt. Die
 10 Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeeengt. Der
 verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 22 mg (40% d.
 Th.) des *Z*-geschützten Intermediats als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 2.1$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.04$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1116$ (M+H)⁺.

15 Anschließend wurde die *Z*-Schutzgruppe hydrogenolytisch in Ethanol über Palladium/Aktivkohle
 abgespalten.

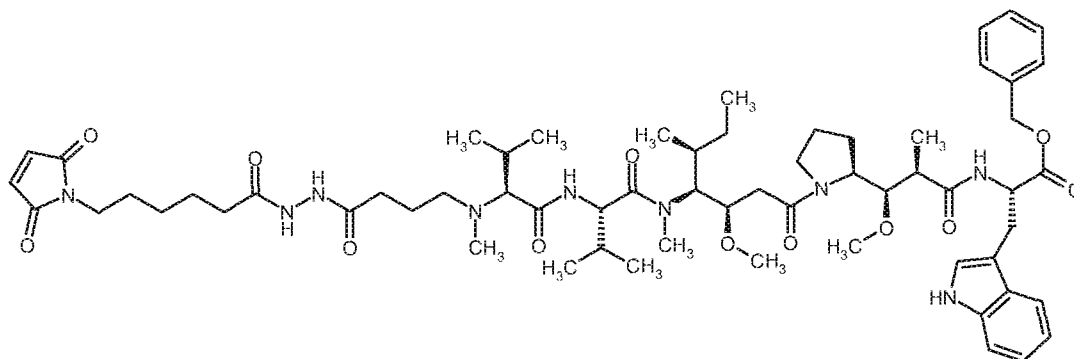
19 mg (19 μ mol) des entschützten Rohprodukts wurden dann ohne weitere Reinigung in 4 ml DMF
 aufgenommen und mit 7 mg (39 μ mol) 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)butansäure, 11
 mg (29 μ mol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N,N*'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und
 20 5 μ L *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde 1 h bei RT gerührt und
 anschließend im Hochvakuum eingeeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer
 HPLC aufgereinigt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 7.5 mg (34% d.Th.) der
 Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.8$ min;

25 LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.94$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1147$ (M+H)⁺.

Intermediat 142

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{(2*S*)-1-(benzyloxy)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



9 mg (9.5 μ mol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{(2*S*)-1-(benzyloxy)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 72) wurden in 1000 μ l DMF gelöst und anschließend mit 10 mg (38 μ mol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid, 7.2 mg (19 μ mol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 8 μ l *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt und das Reaktionsgemisch 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden eingengt und durch Lyophilisation wurden 6.4 mg (58% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

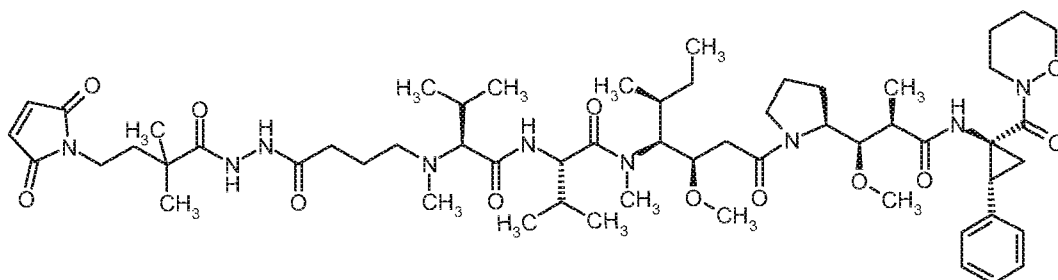
HPLC (Methode 5): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.99$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1154$ (M+H)⁺.

Intermediat 143

N-(4-{2-[4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-2,2-dimethylbutanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

- 405 -



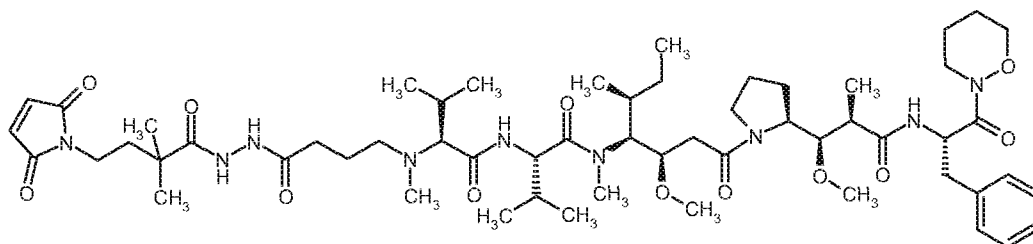
- 6 mg (6.7 μmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino)-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid
- 5 (Intermediat 61) wurden mit 3 mg (8.7 μmol) 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-2,2-dimethylbutanhydrazid-Trifluoracetat in Analogie zu Intermediat 142 zu 2 mg (27% d.Th.) der Titelverbindung umgesetzt.

HPLC (Methode 12): $R_t = 2.1$ min;

LC-MS (Methode 3): $R_t = 1.92$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1106$ (M+H)⁺.

10 Intermediat 144

N-(4-{2-[4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-2,2-dimethylbutanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino)-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



15

- Zu einer Lösung von 5 mg (5.6 μmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino)-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid in 1 ml DMF wurden 7.65 mg (22.5 μmol) 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-2,2-dimethylbutanhydrazid-Trifluoracetat, 3.2 mg (16.9 μmol) EDC, 1.96 μl (11.3 μmol) Diisopropylethylamin sowie 2.6 mg (16.9 μmol) HOBt gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 3 h bei RT gerührt. Anschließend wurden weitere 0.95 mg (2.8 μmol) 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-2,2-dimethylbutanhydrazid-Trifluoracetat nachgegeben. Nach Rühren über Nacht
- 20

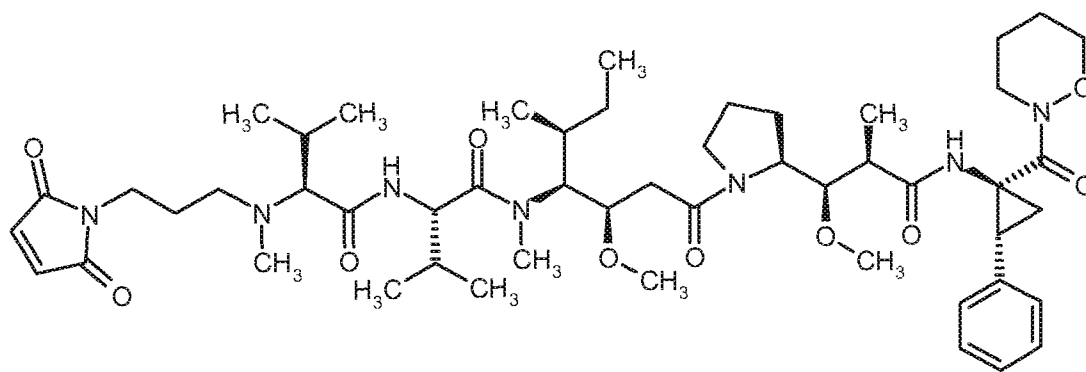
- 406 -

wurde das Reaktionsgemisch eingeengt und per präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 3.5 mg (85%ig, 48% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 3): $R_t = 1.86$ min; $m/z = 1094$ (M+H)⁺.

Intermediat 145

- 5 *N*-[3-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)propyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino)-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



10

- 12 mg (14 μ mol) *N*-(3-Aminopropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino)-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 66) wurden in 750 μ l Dioxan aufgenommen und mit 1.5 ml gesättigter
- 15 Natriumhydrogencarbonat-Lösung und anschließend mit 3.2 mg (21 μ mol) Methyl-2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-carboxylat versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 1h bei RT gerührt und danach im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 4.2 mg (32% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.7$ min;

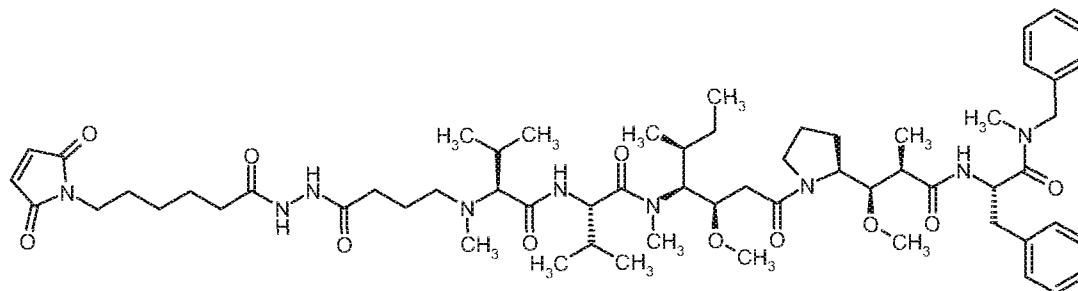
- 20 LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.94$ min; MS (ESIpos): $m/z = 950$ (M+H)⁺.

Intermediat 146

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-((2*S*)-1-[benzyl(methyl)amino]-1-oxo-3-phenylpropan-

- 407 -

2-yl}amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



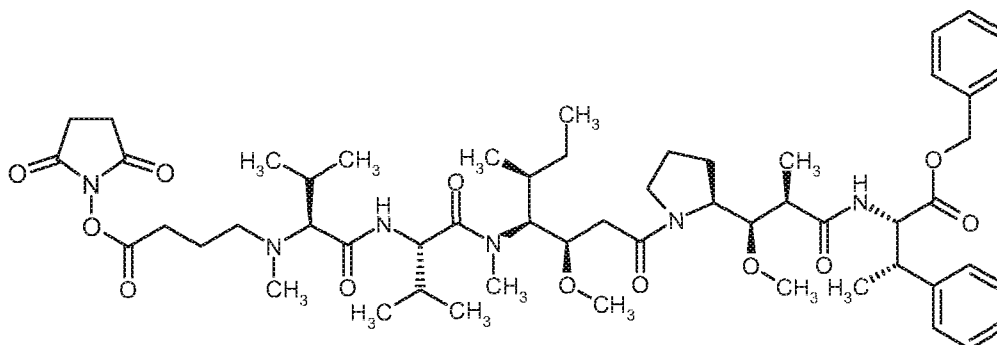
- 9 mg (9.8 μmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-
5 {[(2*S*)-1-[benzyl(methyl)amino]-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 73) wurden in Analogie zu Intermediat 133 mit 10 mg (39 μmol) 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid zu 1.8 mg (15% d.Th.) der Titelverbindung umgesetzt.

HPLC (Methode 12): $R_t = 2.2$ min;

- 10 LC-MS (Methode 9): $R_t = 5.11$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1128$ (M+H)⁺.

Intermediat 147

N-{4-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-4-oxobutyl}-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-
[[1*R*,2*R*)-3-[(2*S*,3*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



15

- 16 mg (17 μmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-
{[(2*S*,3*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-
propyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Inter-
mediat 70) wurden in 2 ml Dichlormethan gelöst und mit 2.6 mg (23 mmol) 1-Hydroxypyrrolidin-

- 408 -

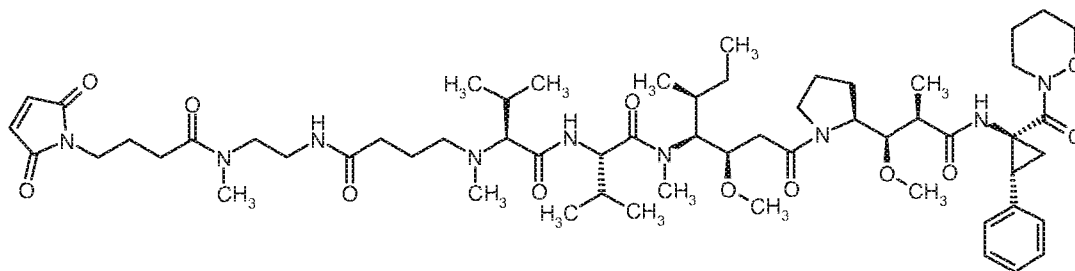
2,5-dion und anschließend mit 4 mg (21 μ mol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid versetzt. Nach 2 h Rühren bei RT wurden nochmals die gleichen Mengen an 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion und 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid nachgesetzt. Dann Rühren über Nacht bei RT wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeeengt.

- 5 Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 10 mg (56% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 2.0 min;

Intermediat 148

- 10 *N*-{4-[(2-{{4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)butanoyl}(methyl)amino} ethyl)amino]-4-oxobutyl}-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{{(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



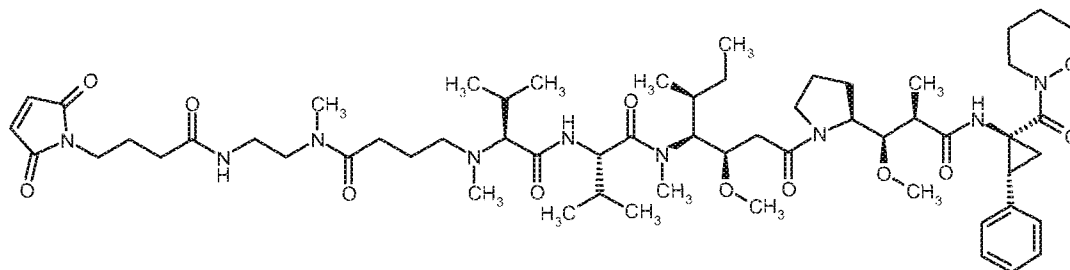
- 6 mg (7 μ mol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{{(2*S*)-2-[[1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{{(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 61) wurden mit 2.8 mg (8 μ mol) *N*-(2-Aminoethyl)-4-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-*N*-methylbutanamid-Trifluoracetat, 10.1 mg (27 μ mol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 5 μ l *N,N*-Diisopropylethylamin in 2 ml DMF zusammengegeben und über Nacht bei RT gerührt. Dann wurden nochmals 5 mg (23.5 μ mol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 3 μ l *N,N*-Diisopropylethylamin nachgesetzt. Nach weiteren 5 h Rühren bei RT wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden eingeeengt und durch Lyophilisation aus Dioxan wurden 1.3 mg (15% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.1 min;

LC-MS (Methode 2): R_t = 1.21 min; MS (ESIpos): m/z = 1120 (M+H)⁺.

Intermediat 149

N-{4-[(2-[[4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)butanoyl]amino)ethyl](methyl)amino]-4-oxobutyl}-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[[[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



6 mg (7 μ mol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[[[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 61) wurden mit 3.1 mg (9 μ mol) 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-*N*-[2-(methylamino)ethyl]butanamid-Trifluoracetat, 10.1 mg (27 μ mol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 5 μ l *N,N*-Diisopropylethylamin in 2 ml DMF zusammengegeben und 4 h bei RT gerührt. Dann wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden eingeengt und durch Lyophilisation aus Dioxan wurden 1 mg (13.4% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

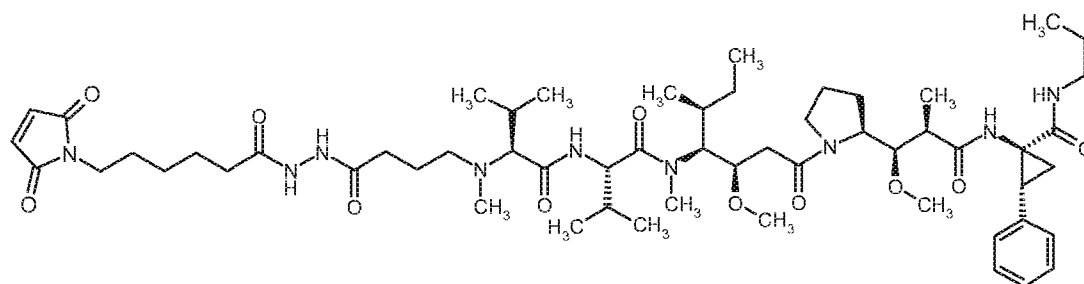
HPLC (Methode 12): $R_t = 2.1$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.89$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1121$ (M+H)⁺.

Intermediat 150

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[[[(1*S*,2*R*)-2-phenyl-1-(propylcarbamoyl)cyclopropyl]amino]propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

- 410 -



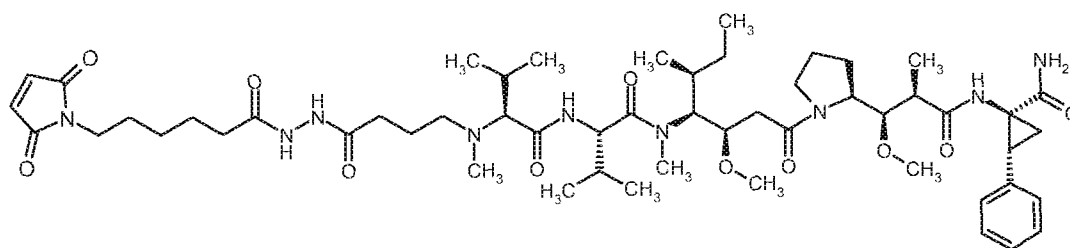
7.9 mg (9 μ mol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-((1*S*,2*R*)-2-phenyl-1-(propylcarbamoyl)cyclopropyl)amino)propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 3 ml
 5 DMF gelöst und anschließend mit 10.4 mg (54 μ mol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 8.3 mg (54 μ mol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat, 9 μ L *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 9.5 mg (36 μ mol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels
 10 präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 4.3 mg (22% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 6): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 9): $R_t = 4.93$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1078$ (M+H)⁺.

Intermediat 151

15 *N*-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-((1*S*,2*R*)-1-carbamoyl-2-phenylcyclopropyl)amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

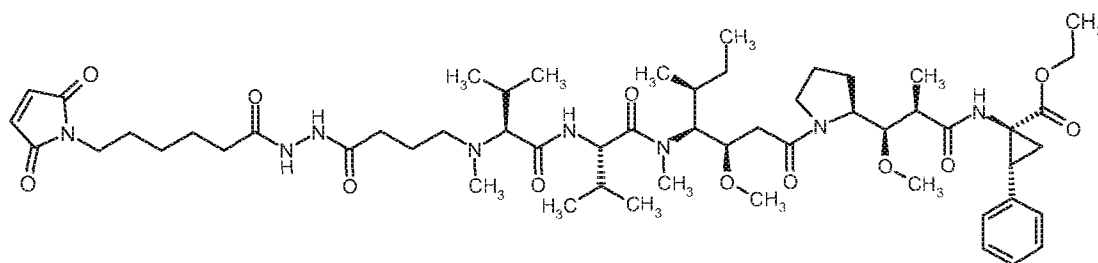


20 Die Verbindung wurde ausgehend von der Verbindung in Intermediat 81 analog zu Intermediat 150 hergestellt.

- 411 -

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.7$ min;LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.87$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1036$ (M+H)⁺.**Intermediat 152**

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-(ethoxycarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

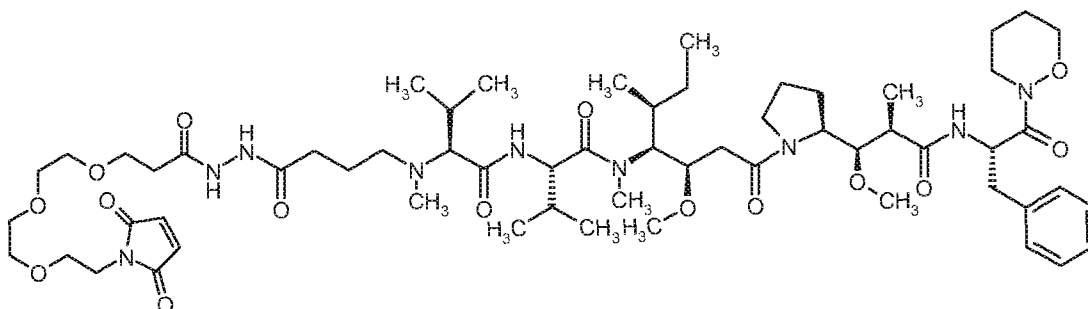


10 mg (12 μ mol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-
10 {{{(1*S*,2*R*)-1-(ethoxycarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]
pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 3 ml
DMF gelöst und anschließend mit 8.9 mg (23 μ mol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-
tetramethyluronium-hexafluorophosphat, 10 μ L *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 12 mg (47
15 μ mol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid
versetzt. Die Mischung wurde 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde im Hochvakuum eingeengt
und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 5.8 mg (37 %
d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 6): $R_t = 2.0$ min;LC-MS (Methode 9): $R_t = 4.99$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1066$ (M+H)⁺.20 **Intermediat 153**

N-[1-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-12,15-dioxo-3,6,9-trioxa-13,14-diazaoctadecan-18-
yl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[[*(2S)*-
1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-
1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

- 412 -



Zu einer Lösung von 5 mg (5.6 μmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-

5 valinamid in 1 ml DMF wurden 9.7 mg (22.5 μmol) 3-(2-{2-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)ethoxy]ethoxy}ethoxy)propanhydrazid-Trifluoracetat, 3.2 mg (16.9 μmol) EDC, 1.96 μl (11.3 μmol) *N,N*-Diisopropylethylamin sowie 2.6 mg (16.9 μmol) HOBT gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 3 h bei RT gerührt. Anschließend wurden weitere 1.2 mg (2.8 μmol) 3-

10 (2-{2-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)ethoxy]ethoxy}ethoxy)propanhydrazid-Trifluoracetat nachgegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend per präparativer HPLC gereinigt.

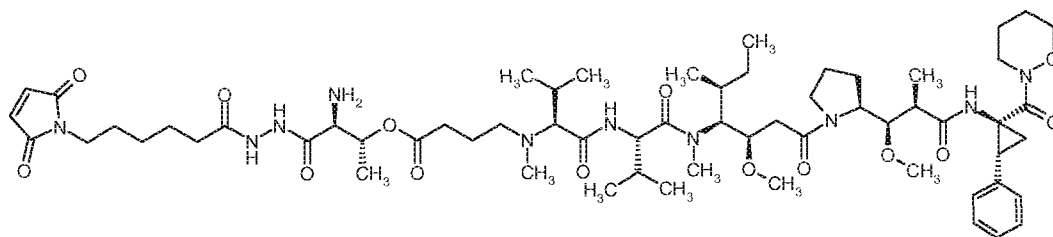
Es wurden 3.6 mg (51% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.90$ min; $m/z = 1185$ ($M+H$)⁺.

Intermediat 154

15 (2*R*,3*S*)-3-Amino-4-{2-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutan-2-yl-(3*R*,4*S*,7*S*,10*S*)-4-[(2*S*)-butan-2-yl]-7,10-diisopropyl-3-(2-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-2-oxoethyl)-5,11-dimethyl-6,9-dioxo-2-oxa-5,8,11-triazapentadecan-

15-olat



20

15 mg (17 μmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden

- 413 -

in 10 ml Dichlormethan gelöst und anschließend mit 12.8 mg (67 μmol) 1-(3-Dimethylamino-propyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 10 mg (83 μmol) 4-Dimethylaminopyridin sowie mit 10.3 mg (33 μmol) von kommerziell erhältlichem Benzyl-*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-L-threoninat versetzt. Die Mischung wurde 4 h zum Rückfluß erhitzt. Dann wurden erneut die gleichen Mengen an Kupplungsreagenz und 4-Dimethylaminopyridin nachgesetzt und das Reaktionsgemisch über Nacht unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch mit Dichlormethan verdünnt, einmal mit Wasser ausgeschüttelt, die organische Phase abgetrennt und im Hochvakuum eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 7.7 mg (37% d. Th.) des geschützten Intermediats als farbloser Schaum erhalten.

10 HPLC (Methode 12): $R_t = 2.5$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.13$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1190$ (M+H)⁺.

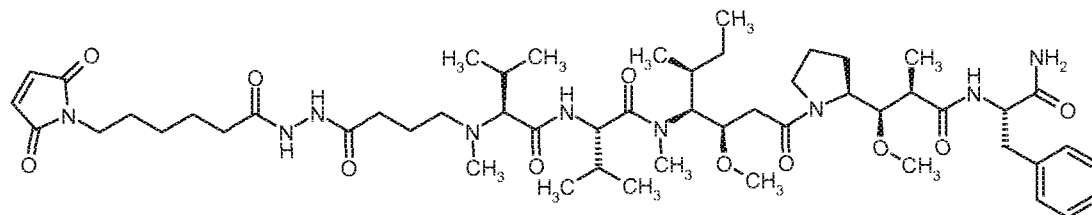
Anschließend wurde die Benzylester-Schutzgruppe durch Hydrierung unter Wasserstoff-Normaldruck in Methanol über 10% Palladium/Aktivkohle entfernt, und die so erhaltene Säure wie in Intermediat 151 beschrieben mit 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid verknüpft. In einem letzten Schritt wurde die Boc-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure abgelöst. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 0.22 mg (2.5% d. Th. über 3 Stufen) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 2.0$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.81$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1207$ (M+H)⁺.

20 Intermediat 155

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



25

- 414 -

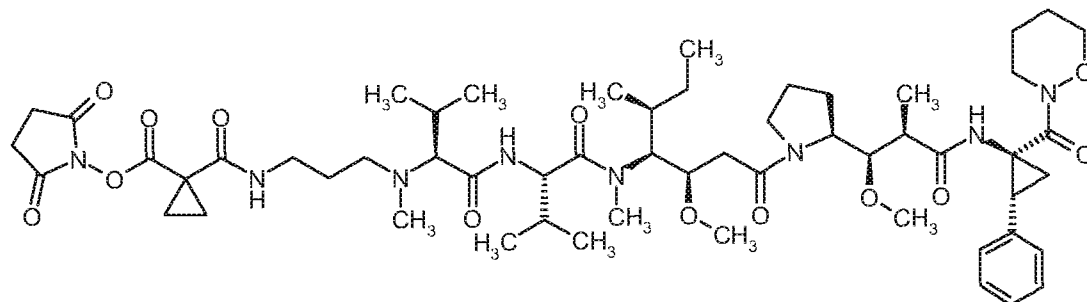
Diese Verbindung wurde in Analogie zur in Intermediat 152 beschriebenen Synthese aus *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid und kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid hergestellt.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.6$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.82$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1024$ (M+H)⁺.

Intermediat 156

N-(3-{(1-{(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]carbonyl} cyclopropyl)carbonyl]amino)propyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde in Analogie zur letzten Stufe der in Intermediat 131 beschriebenen Synthese aus *N*-(3-Aminopropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid und 1,1'-[Cyclopropan-1,1-diylbis(carbonyloxy)]dipyrrolidin-2,5-dion, das zuvor aus der entsprechenden Dicarbonsäure gewonnen wurde, hergestellt.

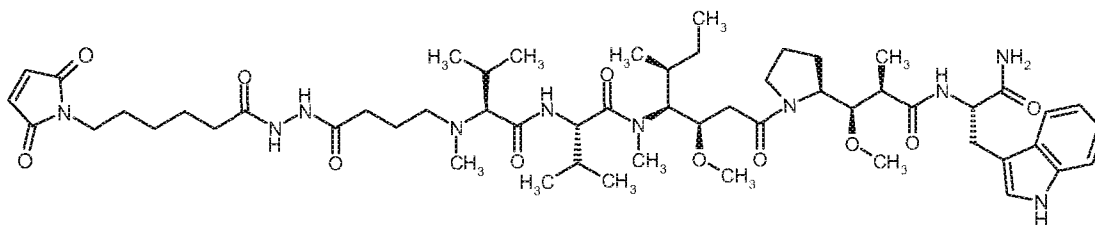
HPLC (Methode 12): $R_t = 2.0$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.92$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1080$ (M+H)⁺.

Intermediat 157

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-

yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



15 mg (18 μ mol) (*N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-
5 {[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-
oxopropyl]pyrrolidin-1-yl)-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden
in 3.8 ml DMF gelöst und anschließend mit 27 mg (70 μ mol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-
N,N,N',N'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat, 12 μ L *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 14
10 mg (53 μ mol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-
yl)hexanhydrazid versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde
im Hochvakuum eingengt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt.
So wurden 6.2 mg (33 % d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

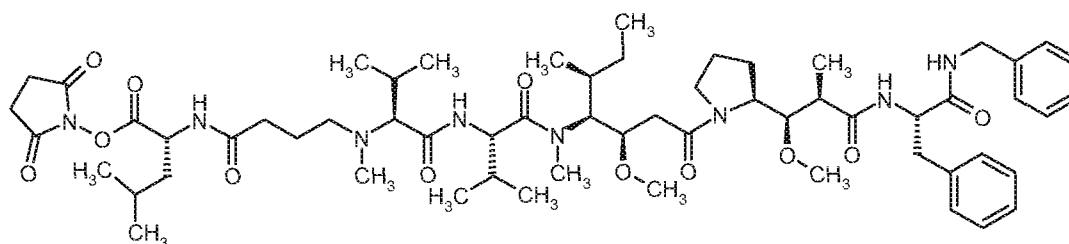
HPLC (Methode 5): $R_t = 1.6$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.85$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1063$ (M+H)⁺.

15 ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆, charakteristische Signale): $\delta = 10.8$ (d, 1H), 9.8-9.7 (m, 2H), 9.6
und 9.4 (2m, 1H), 8.9, 8.88, 8.78 und 8.75 (4d, 1H), 8.08 und 7.85 (2d, 1H), 7.6-6.9 (m, 9H), 4.7-
4.4 (m, 3H), 3.4 (t, 2H), 3.23, 3.2, 3.18, 3.0, und 2.99 (5s, 9H), 2.8 (m, 3H), 2.1 (t, 2H), 1.06 und
1.01 (2d, 3H), 0.95-0.8 (m, 15H), 0.8-0.75 (dd, 3H).

Intermediat 158

20 *N*-[4-((2*R*)-1-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-4-methyl-1-oxopentan-2-yl)amino]-4-oxobutyl]-*N*-
methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-((2*S*)-1-(benzylamino)-1-oxo-3-
phenylpropan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-
methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



- 416 -

13 mg (14.7 μmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-
 5-yl]-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat, 6 μL *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit
 7 mg (31 μmol) von kommerziell erhältlichem *tert.*-Butyl-D-leucinat-Hydrochlorid versetzt. Die
 Mischung wurde 5h bei RT gerührt und anschließend im Vakuum eingengt. Der verbliebene
 Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Nach Lyophilisation aus Dioxan/Wasser
 wurden 6.5 mg (49% d. Th.) des geschützten Intermediats als farbloser Schaum erhalten.

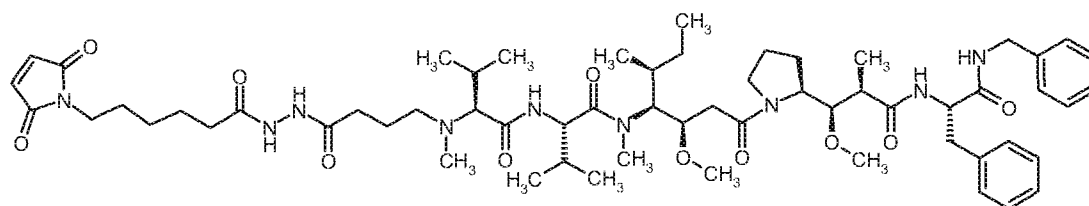
10 HPLC (Methode 5): $R_t = 2.2$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.21$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1076$ (M+H)⁺.

Aus diesem geschützten Intermediat wurde zunächst mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan die
 Boc-Schutzgruppe abgespalten, wobei 6.2 mg (99% d.Th.) der entschützten Verbindung erhalten
 wurden. 5.2 mg (5 μmol) dieses Intermediats wurden in 1.5 ml Dichlormethan aufgenommen und
 15 mit 0.8 mg (7 μmol) *N*-Hydroxysuccinimid in Gegenwart von 1.2 mg (6 μmol) 1-(3-
 Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid und 0.16 mg (1 μmol) 4-
 Dimethylaminopyridin umgesetzt. Nach 2h Rühren bei RT wurde das Reaktionsgemisch eingengt
 und mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 1.3 mg der Titelverbindung erhalten, die
 teilweise zum Edukt hydrolysierte.

20 Intermediat 159

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-
 valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzylamino)-1-oxo-3-phenylpropan-2-
 yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-
 yl]-*N*-methyl-L-valinamid



25 Diese Verbindung wurde in Analogie zur in Intermediat 157 beschriebenen Synthese aus *N*-(3-
 Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzylamino)-1-
 oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-
 5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid und kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-
 30 2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid hergestellt.

- 417 -

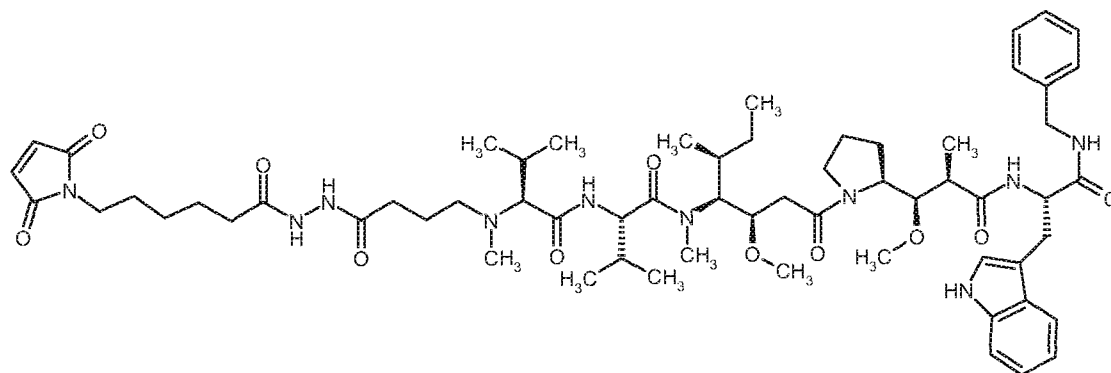
Ausbeute: 6 mg (53% d.Th.)

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.94$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1114$ (M+H)⁺.

Intermediat 160

- 5 *N*-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-L-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzylamino)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



- 10 Diese Verbindung wurde in Analogie zur in Intermediat 157 beschriebenen Synthese aus 20 mg (21 μ mol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzylamino)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid und kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid hergestellt.

- 15 Ausbeute: 13 mg (52% d.Th.)

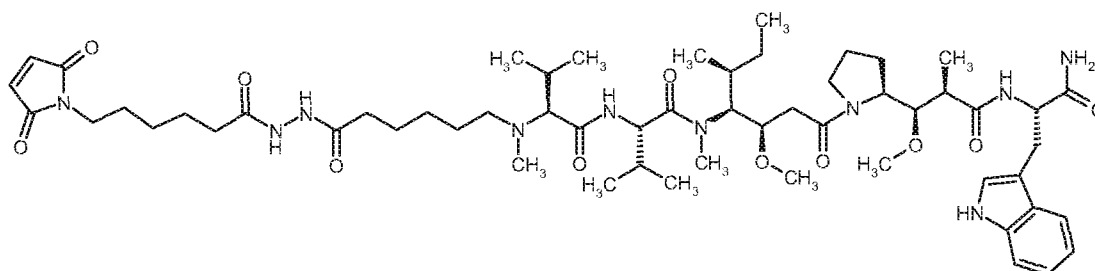
HPLC (Methode 5): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.92$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1153$ (M+H)⁺.

Intermediat 161

- 20 *N*-(6-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-6-oxohexyl)-*N*-methyl-L-valyl-L-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

- 418 -



- Diese Verbindung wurde in Analogie zur in Intermediat 157 beschriebenen Synthese aus *N*-(5-Carboxypentyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid und kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid hergestellt.

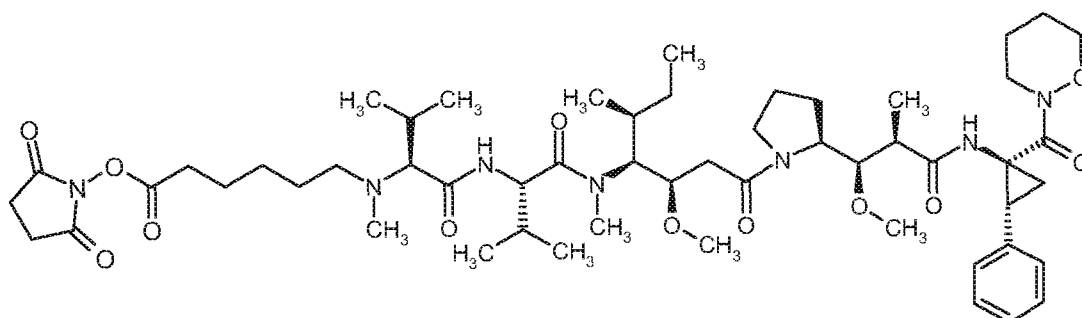
Ausbeute: 0.8 mg (16% d.Th.)

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.6$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.78$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1092$ (M+H)⁺.

10 Intermediat 162

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino)-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



15

- 18 mg (20 μ mol) *N*-(5-Carboxypentyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino)-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 64) wurden in 3.2 ml Dichlormethan gelöst und mit 22 mg (190 mmol) 1-Hydroxypyrrrolidin-2,5-dion und anschließend mit 11 mg (60 μ mol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid und 0.24 mg (0.17 μ mol) DMAP versetzt. Nach 2 h Rühren bei RT wurden erneut 22 mg (190 mmol) 1-Hydroxypyrrrolidin-2,5-dion, 11 mg (60 μ mol) 1-(3-

- 419 -

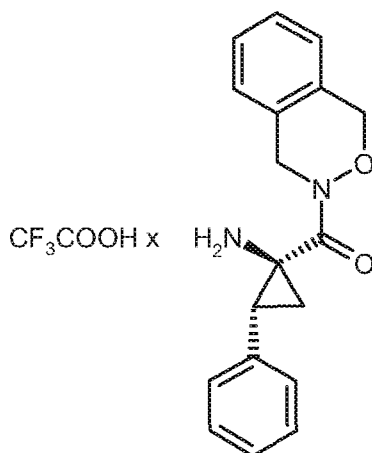
Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid und 0.24 mg (0.17 μmol) DMAP zugegeben und das Reaktionsgemisch eine weitere Stunde bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 8.2 mg (41% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

5 HPLC (Methode 5): $R_t = 2.0$ min;

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.9$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1024$ (M+H)⁺.

Intermediat 163

[(1*S*,2*R*)-1-Amino-2-phenylcyclopropyl][(1,4-dihydro-3*H*-2,3-benzoxazin-3-yl)methanon-Trifluoracetat



10

Zunächst wurde ausgehend von 265 mg (0.82 mmol) *tert.*-Butyl-[(1*S*,2*R*)-1-(hydroxycarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]carbammat (Ausgangsverbindung 7) durch Reaktion mit 1,2-Bis(bromomethyl)benzol analog einer Literaturvorschrift (siehe H. King, *J. Chem. Soc.* 1942, 432) das Boc-geschützte Intermediat *tert.*-Butyl-[(1*S*,2*R*)-1-(1,4-dihydro-3*H*-2,3-benzoxazin-3-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]carbammat hergestellt.

15 Ausbeute: 108 mg (34% d. Th.)

LC-MS (Methode 2): $R_t = 1.3$ min; MS (ESIpos): $m/z = 395$ (M+H)⁺.

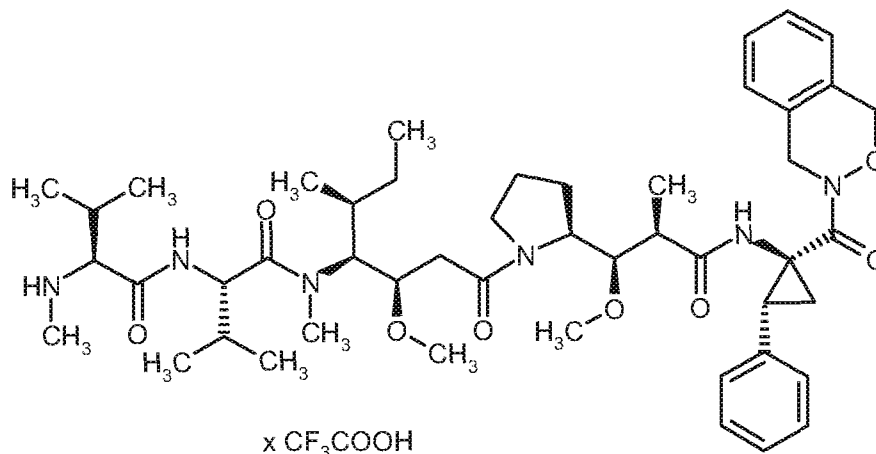
108 mg (0.27 mmol) dieses Intermediats wurden in 3.7 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 1.8 ml Trifluoressigsäure versetzt und 15 min bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingengt und der verbliebene Rückstand aus Dioxan lyophilisiert. Es wurden 112 mg der Titelverbindung in quantitativer Ausbeute als farbloser Schaum erhalten.

20

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.7$ min; MS (ESIpos): $m/z = 295$ (M+H)⁺.

Intermediat 164

N-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-(1,4-dihydro-3*H*-2,3-benzoxazin-3-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



5

166 mg (0.196 mmol) *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 10) wurden in 40 ml DMF aufgenommen und nacheinander mit 80 mg (0.196 mmol) [(1*S*,2*R*)-1-Amino-2-phenylcyclopropyl](1,4-dihydro-3*H*-2,3-benzoxazin-3-yl)methanon-Trifluoracetat (Intermediat 163), 112 mg (0.294 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) sowie 682 μ l (3.9 mmol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde anschließend über Nacht bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde danach im Vakuum eingedunstet, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und die Lösung mit gesättigter wässriger Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingedunstet. Der Rückstand wurde schließlich durch präparative HPLC gereinigt. Man erhielt auf diese Weise 19 mg (9% d. Th.) des Fmoc-geschützten Intermediats *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-(1,4-dihydro-3*H*-2,3-benzoxazin-3-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid.

20

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.68$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.51$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1083$ (M+H)⁺.

19 mg (0.015 mmol) dieses Intermediats wurden in 4 ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 817 μ l Piperidin wurde das Reaktionsgemisch 5 min bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum

- 421 -

eingengt und der Rückstand zunächst mit Diethylether digeriert und anschließend mittels präparativer HPLC gereinigt (Eluent: Acetonitril + 0.1% TFA / 0.1% aq. TFA). Die entsprechenden Fraktionen wurden vereinigt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand dann aus Dioxan/Wasser lyophilisiert. Es wurden 12 mg (92% d. Th.) der Titel-

5 verbindung als farbloser Schaum erhalten.

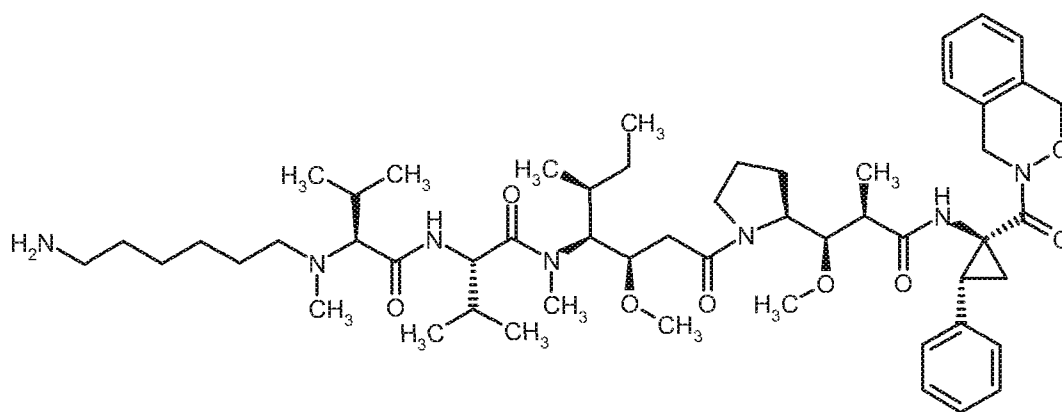
HPLC (Methode 6): $R_t = 2.0$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.94$ min; MS (ESIpos): $m/z = 861$ (M+H)⁺.

Intermediat 165

N-(6-Aminoethyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S,2R)-1-(1,4-

10 dihydro-3H-2,3-benzoxazin-3-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Aus 20 mg (0.021 mmol) von Intermediat 164 wurden in Analogie zur Herstellung von Intermediat 97 mit Benzyl-(6-oxohexyl)carbamat in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid und

15 nachfolgender hydrogenolytischer Abspaltung der Z-Schutzgruppe (mit 5% Palladium auf Kohle als Katalysator, in Methanol als Lösungsmittel) die Titelverbindung hergestellt.

Ausbeute: 4.5 mg (23% d. Th. Über 2 Stufen)

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.9$ min;

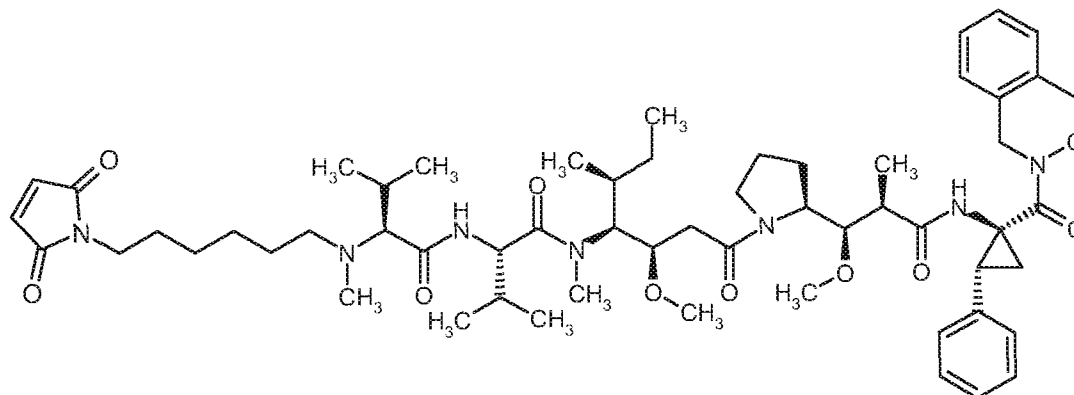
LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.9$ min; MS (ESIpos): $m/z = 960$ (M+H)⁺.

20 Intermediat 166

N-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S,2R)-1-(1,4-dihydro-3H-2,3-benzoxazin-3-ylcarbonyl)-2-

- 422 -

phenylcyclopropyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



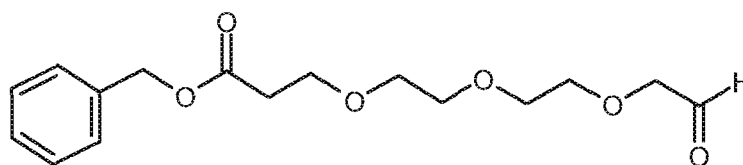
4.4 mg (4.5 μmol) von Intermediat 165 wurden in 1 ml Dioxan/Wasser 1:1 aufgenommen und
 5 anschließend mit 1 mg (6.8 μmol) Methyl-2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-carboxylat sowie mit
 50 μl gesättigter wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung versetzt. Das Reaktionsgemisch
 wurde 30 min bei RT gerührt. Dann wurden nochmals 50 μl der gesättigten wässrigen Natrium-
 hydrogencarbonatlösung zugegeben und das Reaktionsgemisch weitere 15 min bei RT gerührt und
 anschließend im Vakuum eingeeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC
 10 gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 1 mg (21% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum
 erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 2.1$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.08$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1040$ (M+H) $^+$.

Intermediat 167

15 Benzyl-3-{2-[2-(2-oxoethoxy)ethoxy]ethoxy}propanoat



Die Titelverbindung wurde aus 6 g (21.55 mmol) von kommerziell erhältlichlicher 3-{2-[2-(2-
 Hydroxyethoxy)ethoxy]ethoxy}propansäure nach Standardbedingungen zunächst durch
 Veresterung mit Benzylchlorid und Caesiumcarbonat und anschließender Oxidation mit
 20 Schwefeltrioxid-Pyridin-Komplex hergestellt.

Ausbeute: 611 mg (10% d.Th. über 2 Stufen)

- 424 -

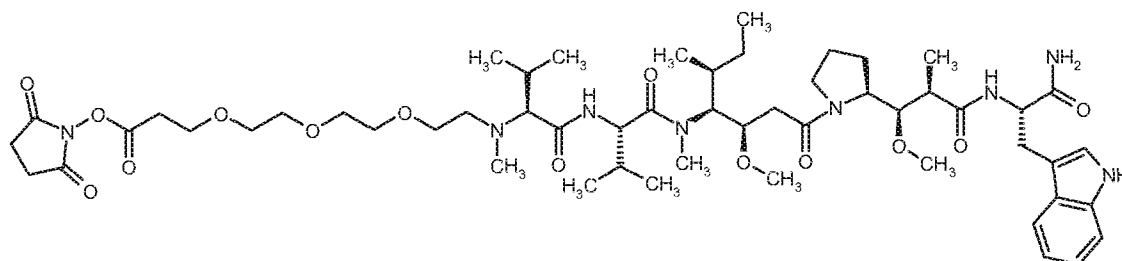
Katalysator wurde danach abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Lyophilisation aus Dioxan erhielt man 19.7 mg (85% d.Th.) der Titelverbindung.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.8$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.83$ min; MS (ESIpos): $m/z = 974$ (M+H)⁺.

5 Intermediat 169

N-{2-[2-(2-{3-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-3-oxopropoxy}ethoxy)ethoxy]ethyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-amino-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



10

10 mg (10 μ mol) von Intermediat 168 wurden in 3 ml DMF gelöst und mit 3.5 mg (30 mmol) 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion und anschließend mit 2.4 mg (10 μ mol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid und 5 μ l N,N-Diisopropylethylamin versetzt. Nach 20 h Rühren bei RT wurden 8 mg (0.02 mmol) HATU zugegeben und das Reaktionsgemisch nochmals über

15 Nacht bei RT gerührt und dann im Vakuum eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 8.6 mg (64% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

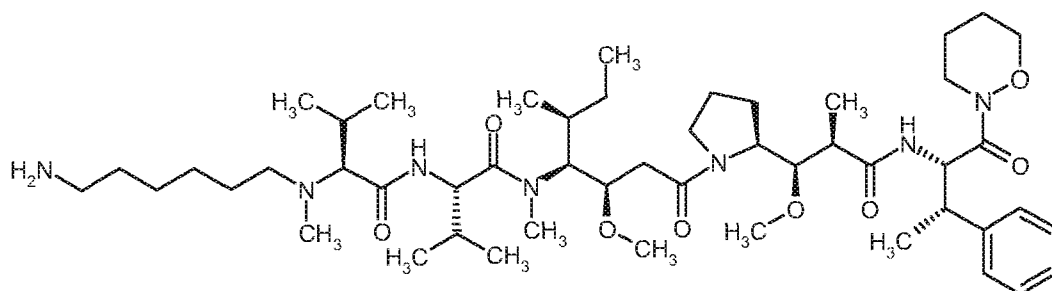
HPLC (Methode 12): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.81$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1071$ (M+H)⁺.

20 Intermediat 170

N-(6-Aminoheptyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2S,3S)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid

- 425 -



Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 101 über 2 Stufen ausgehend von 26 mg (0.028 mmol) Intermediat 15 hergestellt.

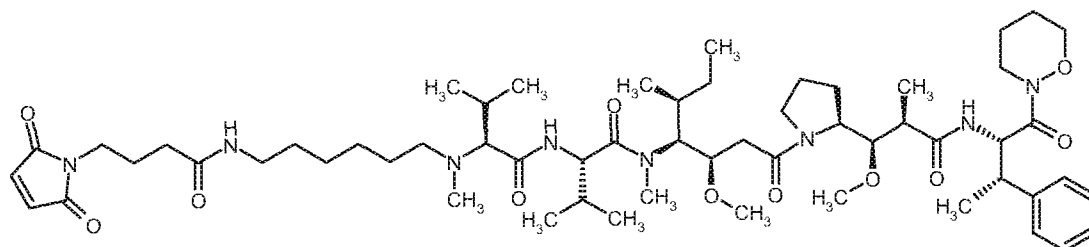
Ausbeute: 16.7 mg (63% d.Th. über 2 Stufen)

5 HPLC (Methode 12): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.81$ min; MS (ESIpos): $m/z = 914$ (M+H)⁺.

Intermediat 171

N-(6-{[4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)butanoyl]amino}hexyl)-N-methyl-L-valyl-N-
 10 [(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2S,3S)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-
 N-methyl-L-valinamid

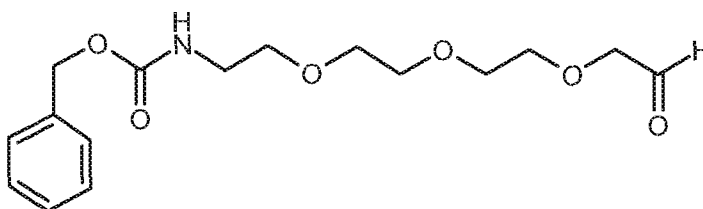


6.7 mg (7.3 μ mol) der Verbindung aus Intermediat 170 und 3 mg (14.7 μ mol) von kommerziell
 15 erhältlicher 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)butansäure wurden in 2 ml DMF
 aufgenommen und mit 5.6 mg (14.7 μ mol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyl-
 uronium-hexafluorophosphat (HATU) sowie 2 μ l *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die
 Mischung wurde 30 min bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde eingeeengt und der
 Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden vereinigt,
 20 das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand anschließend aus Dioxan lyophilisiert.
 So wurden 4.5 mg (56% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

- 426 -

HPLC (Methode 12): $R_t = 2.0$ min;LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.12$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1079$ (M+H)⁺.**Intermediat 172**

Benzyl-(2-{2-[2-(2-oxoethoxy)ethoxy]ethoxy}ethyl)carbamate

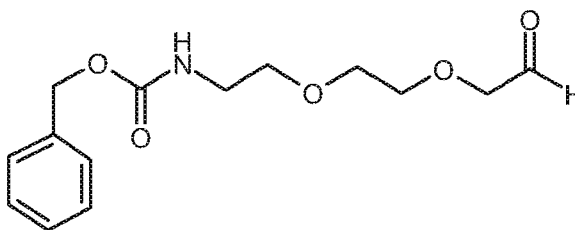


5

Die Titelverbindung wurde aus kommerziell erhältlichem 2-{2-[2-(2-Aminoethoxy)ethoxy]ethoxy}ethanol nach Standardbedingungen zunächst durch Einführung der Z-Schutzgruppe und anschließender Oxidation mit Schwefeltrioxid-Pyridin-Komplex hergestellt.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.4$ min;10 LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.65$ min; MS (ESIpos): $m/z = 326$ (M+H)⁺.**Intermediat 173**

Benzyl-{2-[2-(2-oxoethoxy)ethoxy]ethyl}carbamate



Die Titelverbindung wurde analog zu Intermediat 172 aus kommerziell erhältlichem 2-[2-(2-
15 Aminoethoxy)ethoxy]ethanol nach Standardbedingungen zunächst durch Einführung der Z-Schutzgruppe und anschließender Oxidation mit Schwefeltrioxid-Pyridin-Komplex hergestellt.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.3$ min;LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.68$ min; MS (ESIpos): $m/z = 282$ (M+H)⁺.

- 428 -

Die Herstellung erfolgte in Analogie zu Intermediat 166 ausgehend von 34 mg (0.03 mmol) von Intermediat 174.

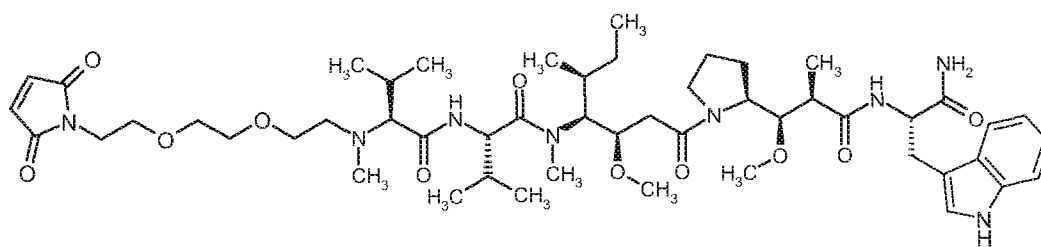
Ausbeute: 8.3 mg (23% d.Th.)

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.9$ min;

5 LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.97$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1068$ (M+H)⁺.

Intermediat 176

N-(2-{2-[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)ethoxy]ethoxy} ethyl)-N-methyl-L-valyl-N-
 [(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-amino-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino)-1-
 methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-
 10 methyl-L-valinamid



Die Herstellung erfolgte in Analogie zu den Intermediaten 174 und 175 beginnend mit der reduktive Aminierung von Intermediat 16 mit Intermediat 173, anschließender Entschützung und Aufbau des Maleinimids.

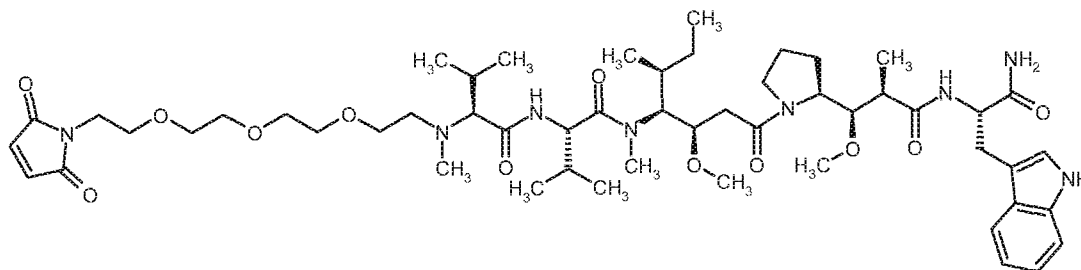
15 HPLC (Methode 12): $R_t = 1.8$ min;

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.8$ min; MS (ESIpos): $m/z = 981$ (M+H)⁺.

Intermediat 177

N-[2-(2-{2-[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)ethoxy]ethoxy} ethoxy)ethyl]-N-methyl-L-
 valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-amino-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-
 20 yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-
 yl]-N-methyl-L-valinamid

- 429 -



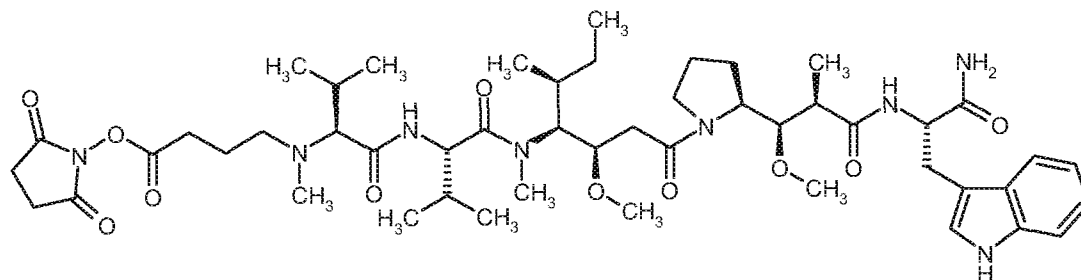
Die Herstellung erfolgte in Analogie zu den Intermediaten 174 und 175 beginnend mit der reduktive Aminierung von Intermediat 16 mit Intermediat 172, anschließender Entschützung und Aufbau des Maleinimids.

5 HPLC (Methode 12): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.86$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1025$ (M+H)⁺.

Intermediat 178

N-{4-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-4-oxobutyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-
 [(1R,2R)-3-[[2S)-1-amino-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-
 10 oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



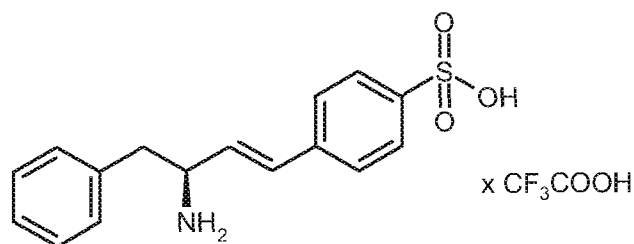
Die Herstellung erfolgte in Analogie zu Intermediaten 162 ausgehend von 6 mg von Intermediat 82.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.82$ min; MS (ESIpos): $m/z = 953$ (M+H)⁺.

15 Intermediat 179

4-[(1E,3S)-3-Amino-4-phenylbut-1-en-1-yl]benzolsulfonsäure-Trifluoracetat

- 430 -



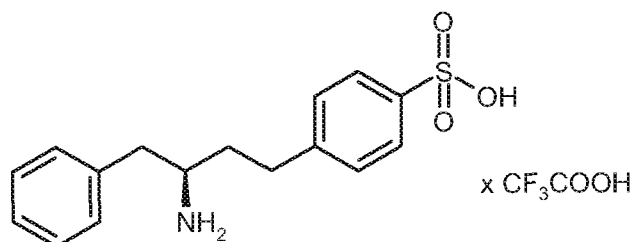
Eine Mischung aus 13.6 mg (0.06 mmol) Palladium(II)-Acetat, 469 mg (1.46 mmol) Kalium-4-iodbenzolsulfonat, 300 mg (1.21 mmol) (S)-tert.-Butyl-1-phenylbut-3-en-2-yl-carbammat, 16.5 mg (0.12 mmol) Phenylharnstoff und 167.6 mg (1.21 mmol) Kaliumcarbonat in 7.5 mL DMF wurde in der Mikrowelle für 15 min. auf 160°C erhitzt. Das Rohprodukt wurde anschließend direkt per präparativer HPLC gereinigt. Es wurden so 312 mg eines Gemisches aus 31% der BOC-geschützten Verbindung und 69% des freien Amins erhalten.

Dieses Gemisch wurde anschließend in 30 mL Dichlormethan aufgenommen, mit 1 mL Trifluoressigsäure versetzt und 20h bei RT gerührt. Nach Einengen im Vakuum wurde der Rückstand mit Diethylether verrührt, der entstandene Niederschlag abgesaugt und mit Diethylether nachgewaschen. Es wurden so 200 mg (62% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.44$ min; MS (ESIpos): $m/z = 304$ (M+H)⁺.

Intermediat 180

4-[(3R)-3-Amino-4-phenylbutyl]benzolsulfonsäure



15

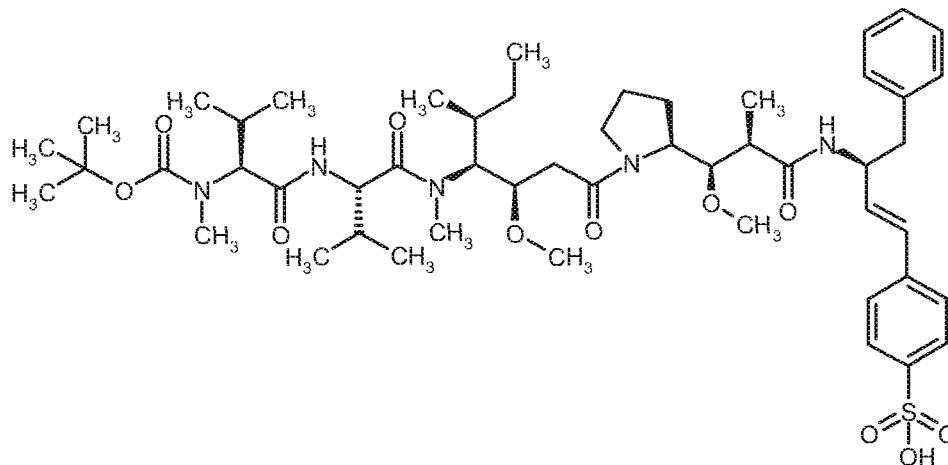
100 mg (0.25 mmol) 4-[(1E,3S)-3-Amino-4-phenylbut-1-en-1-yl]benzolsulfonsäure-Trifluoroacetat wurden in 10 mL Essigsäure sowie einigen Tropfen DMF und Wasser suspendiert, mit 70 mg (0.07 mmol) Palladium auf Kohle (10%-ig) versetzt und 24h bei 2.2 bar Wasserstoff-Druck hydriert. Die Lösung wurde filtriert, das Filtrat per präp. HPLC gereinigt.

Es wurden 29 mg (76%ig, 21% d.Th.) Produkt erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.46$ min; MS (ESIpos): $m/z = 306$ (M+H)⁺.

Intermediat 181

N-(tert.-Butoxycarbonyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[[[(2S,3E)-1-phenyl-4-(4-sulfofenyl)but-3-en-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



5

Zu einer Lösung von 90 mg (0.13 mmol) N-(tert.-Butoxycarbonyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid in 4 mL DMF wurden 60 mg (0.16 mmol) HATU und 69 μ L (0.39 mmol) Hünig-Base gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min. bei RT gerührt und anschließend mit 60 mg (0.15 mmol) 60.3 mg (0.13 mmol) 4-[(1E,3S)-3-Amino-4-phenylbut-1-en-1-yl]benzolsulfonsäure-Trifluoracetat versetzt. Nach Rühren über Nacht wurde das Reaktionsgemisch per präp. HPLC gereinigt. Es wurden so 127 mg eines 44:56-Gemisches der Titelverbindung und des bereits geschützten Amins erhalten.

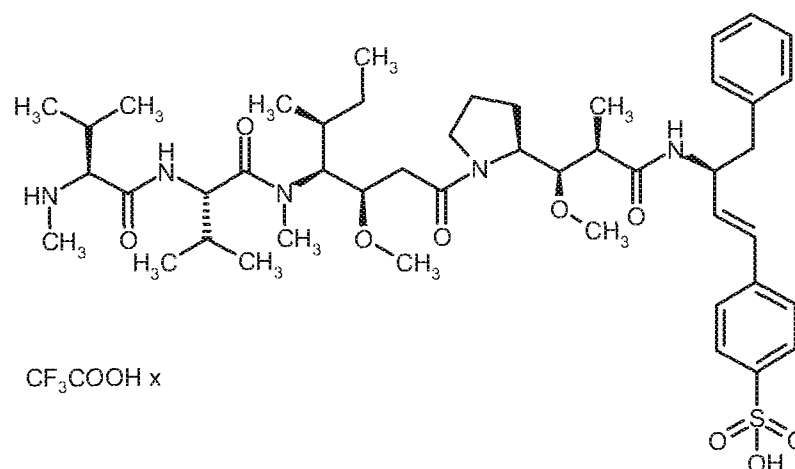
LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.21$ min; MS (ESIpos): $m/z = 971$ (M+H)⁺; $R_t = 0.84$ min; MS (ESIpos): $m/z = 871$ (M+H)⁺ für die entschützte Verbindung.

15

Intermediat 182

N-Methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[[[(2S,3E)-1-phenyl-4-(4-sulfofenyl)but-3-en-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat

- 432 -



90 mg Intermediat 180 wurden in 4.6 mL Dichlormethan gelöst und mit 0.92 mL Trifluoressigsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min. bei RT gerührt und anschließend eingengt. Das erhaltene Rohprodukt wurde per präp. HPLC gereinigt.

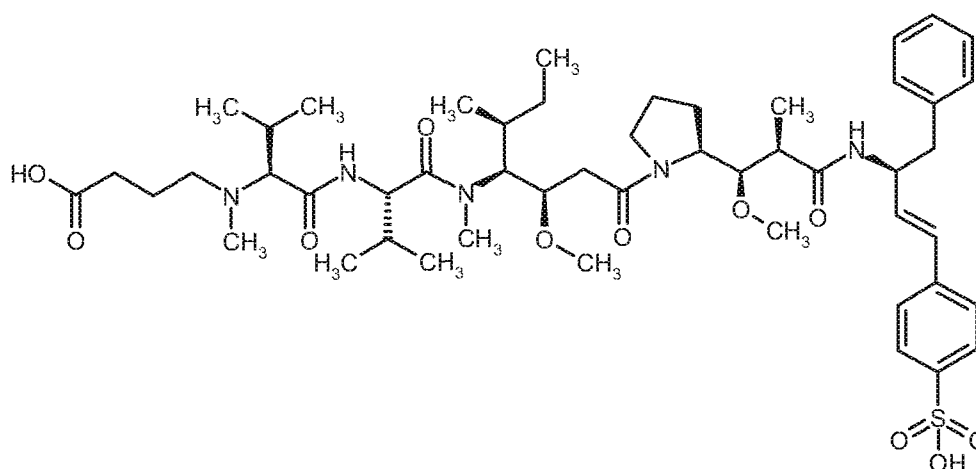
5 Es wurden 91 mg (98% d.Th.) der Zielverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.85$ min; MS (ESIpos): $m/z = 871$ (M+H)⁺

Intermediat 183

N-(3-Carboxypropyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(2S,3E)-1-phenyl-4-(4-sulfofenyl)but-3-en-2-

10 yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Es wurden 16.7 μL (0.03 mmol) einer 15%igen wässrigen Bernsteinaldehyd-Lösung in 943 μL Methanol vorgelegt und mit 17 mg (0.02 mmol) N-Methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(2S,3E)-1-phenyl-4-(4-sulfofenyl)but-3-en-2-

- 433 -

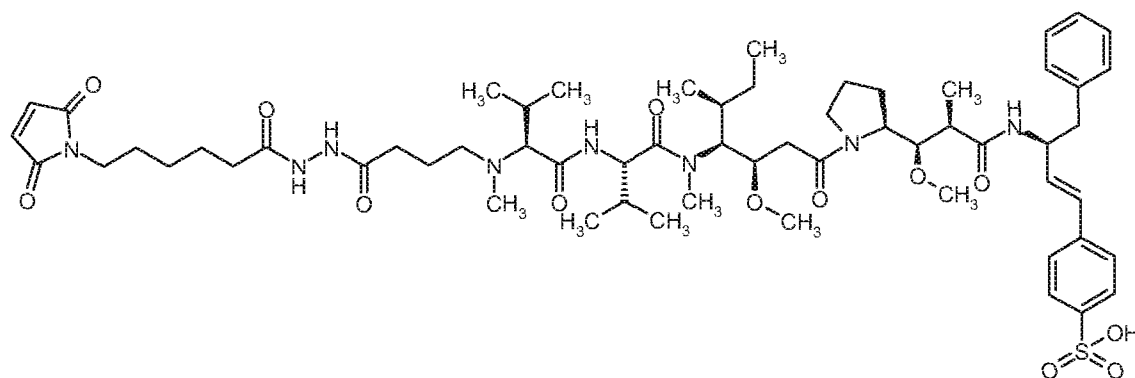
yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat (Intermediat 181) sowie 1.1 μL (0.02 mmol) Essigsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 5 min. bei RT gerührt und anschließend mit 2.9 μL (0.02 mmol) Boran-Pyridin-Komplex versetzt. Nach 1h wurden jeweils weitere 2 Äquivalente Bernsteinaldehyd, Essigsäure und Boran-Pyridin-Komplex zugegeben und 20h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde dann per präp. HPLC gereinigt.

Es wurden so 20 mg (83%ig, 80% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.87$ min; MS (ESIpos): $m/z = 957$ (M+H)⁺

Intermediat 184

10 N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(2S,3E)-1-phenyl-4-(4-sulfofenyl)but-3-en-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



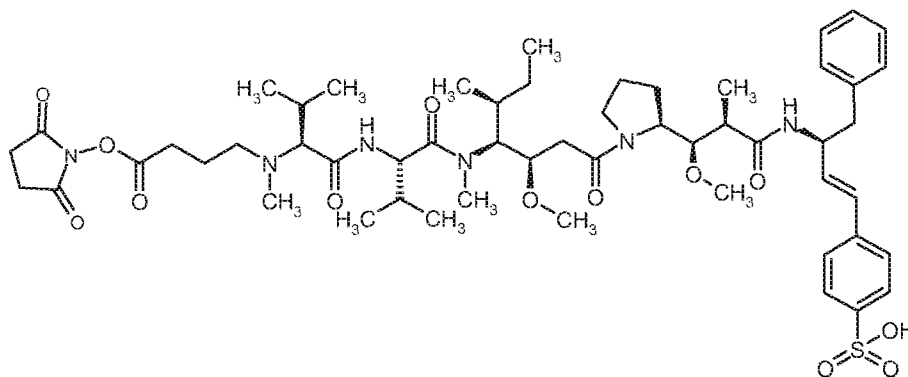
15 Es wurden 8 mg (7.5 μmol) N-(3-Carboxypropyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(2S,3E)-1-phenyl-4-(4-sulfofenyl)but-3-en-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid, 2.8 mg (8.2 μmol) 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid-Trifluoracetat, 3.4 mg (9 μmol) HATU sowie 3.9 μL Hünig-Base in 0.77 mL DMF 20h bei RT gerührt. Anschließend wurde das
20 Reaktionsgemisch per präp. HPLC gereinigt.

Es wurden 3 mg (31% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.90$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1164$ (M+H)⁺

Intermediat 185

N-{4-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-4-oxobutyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(2S,3E)-1-phenyl-4-(4-sulfofenyl)but-3-en-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



5

Zu einer Lösung von 8 mg (7.5 μ mol) N-(3-Carboxypropyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(2S,3E)-1-phenyl-4-(4-sulfofenyl)but-3-en-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid in 2 mL DMF wurden 8.6 mg (74.8 μ mol) N-Hydroxysuccinimid, 8.5 mg (22.4 μ mol) EDCI und 0.1 mg (0.75 μ mol) DMAP gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 20h bei RT gerührt. Anschließend wurden 1.3 μ L (7.5 μ mol) Hünig-Base zugegeben und 1h nachgerührt. Das Reaktionsgemisch wurde dann per präp. HPLC gereinigt. Es wurden 2.6 mg (72% Reinheit; 21% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

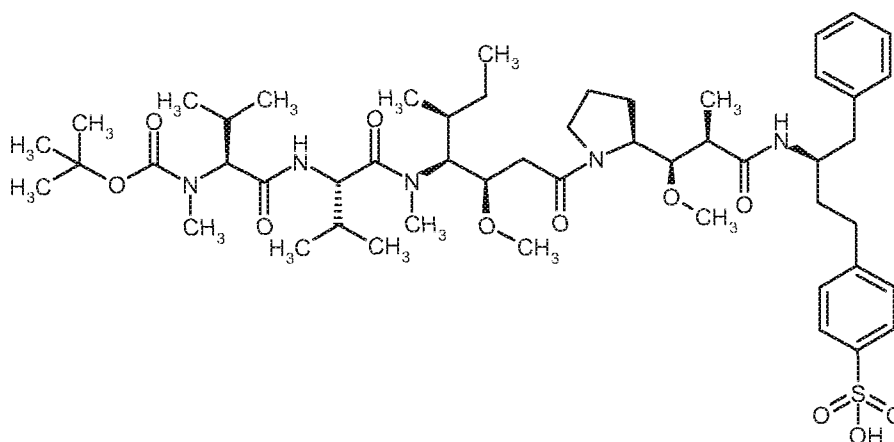
10

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.89$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1054$ (M+H)⁺

15 **Intermediat 186**

N-(tert.-Butoxycarbonyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(2R)-1-phenyl-4-(4-sulfofenyl)butan-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid

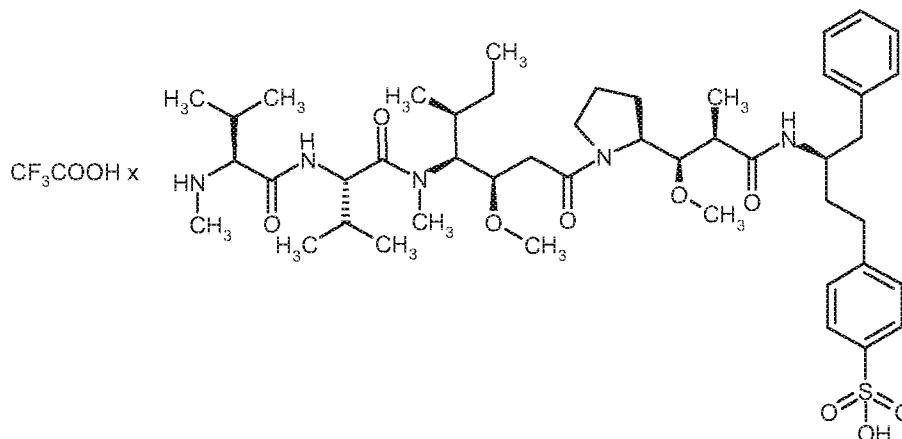
- 435 -



- Zu einer Lösung von 43 mg (0.06 mmol) N-(tert.-Butoxycarbonyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl)-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid in 1.9 mL DMF wurden 29 mg (0.07 mmol) HATU und 33 μ L (0.19 mmol) Hünig-Base gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min. bei RT gerührt und anschließend mit 29 mg (0.07 mmol) 4-[(3R)-3-Amino-4-phenylbutyl]benzolsulfonsäure-Trifluoacetat versetzt. Nach Rühren über Nacht wurde das Reaktionsgemisch per präp. HPLC gereinigt. Es wurden so 58 mg eines 45:55-Gemisches der Titelverbindung und des bereits entschützten Amins erhalten.
- 10 LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.09$ min; MS (ESIpos): $m/z = 973$ (M+H)⁺; $R_t = 0.87$ min; MS (ESIpos): $m/z = 873$ (M+H)⁺ für die entschützte Verbindung.

Intermediat 187

- N-Methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-((2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[[2R)-1-phenyl-4-(4-sulfofenyl)butan-2-yl]amino]propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid-Trifluoacetat
- 15



- 436 -

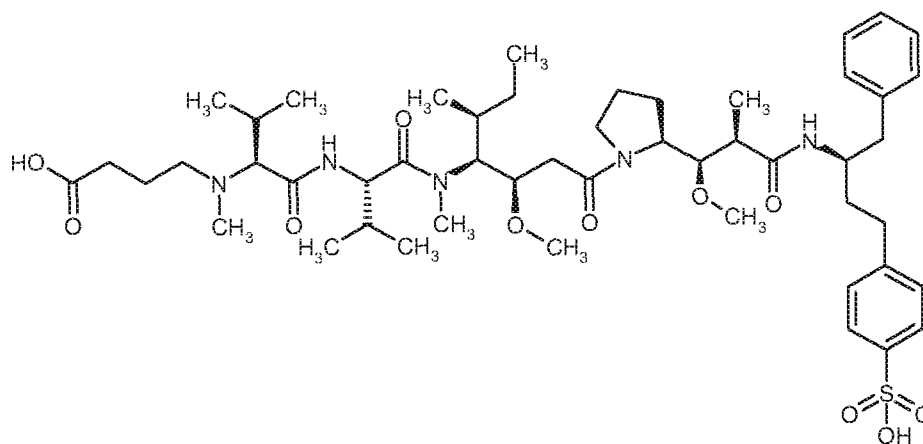
58 mg Intermediat 186 wurden in 4.1 mL Dichlormethan gelöst, mit 0.41 mL Trifluoressigsäure versetzt und 30 min. bei RT gerührt. Nach Einengen im Vakuum wurde das Rohprodukt per präp. HPLC gereinigt.

Es wurden 50 mg (90%-ige Reinheit; 85% d.Th.) Titelverbindung erhalten.

- 5 LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.87$ min; MS (ESIpos): $m/z = 873$ (M+H)⁺

Intermediat 188

N-(3-Carboxypropyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(2R)-1-phenyl-4-(4-sulfofenyl)butan-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



10

Es wurden 171 μ L (0.26 mmol) einer 15%igen wässrigen Bernsteinaldehyd-Lösung in 2.5 mL Methanol vorgelegt und mit 50 mg (0.05 mmol) N-Methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(2R)-1-phenyl-4-(4-sulfofenyl)butan-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid-

- 15 Trifluoracetat sowie 11.6 μ L (0.2 mmol) Essigsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 5 min. bei RT gerührt und anschließend mit 30 μ L (0.24 mmol) Boran-Pyridin-Komplex versetzt. Nach 24stündigem Rühren wurde ein weiteres Äquivalent Boran-Pyridin-Komplex zugegeben und 2h nachgerührt. Das Reaktionsgemisch wurde dann per präp. HPLC gereinigt.

Es wurden 40 mg (90%-ige Reinheit; 66% d.Th.) Titelverbindung erhalten.

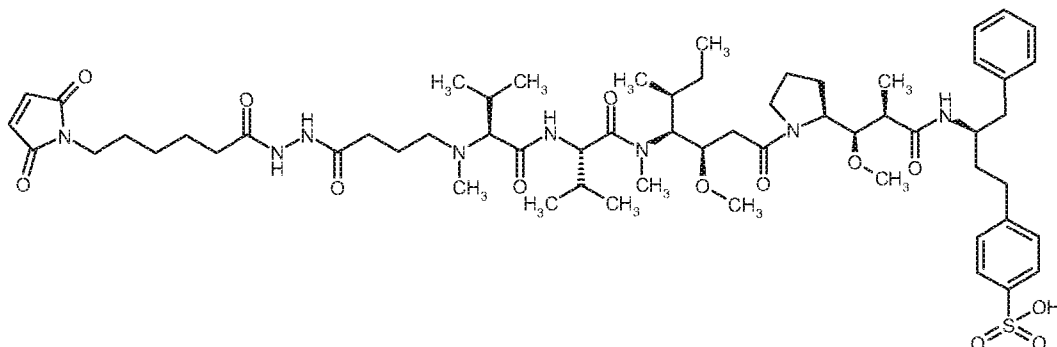
- 20 LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.91$ min; MS (ESIpos): $m/z = 959$ (M+H)⁺

Intermediat 189

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(2R)-1-

- 437 -

phenyl-4-(4-sulfofenyl)butan-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



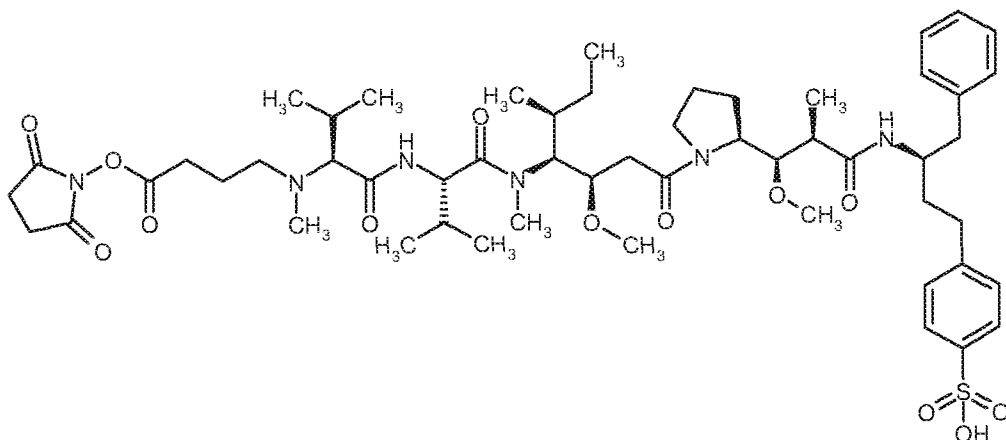
Es wurden 10 mg (9.3 μmol) N-(3-Carboxypropyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-
 5 { (2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(2R)-1-phenyl-4-(4-sulfofenyl)butan-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid, 3.5 mg (10.3 μmol) 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid-Trifluoracetat, 4.3 mg (11.2 μmol) HATU sowie 4.9 μL (28 μmol) Hünig-Base in 1 mL DMF 20h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch per präp. HPLC gereinigt.

10 Es wurden 4.2 mg (92%-ige Reinheit; 33% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.91$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1166$ (M+H)⁺

Intermediat 190

N-{4-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-4-oxobutyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-
 15 { (2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(2R)-1-phenyl-4-(4-sulfofenyl)butan-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



- 438 -

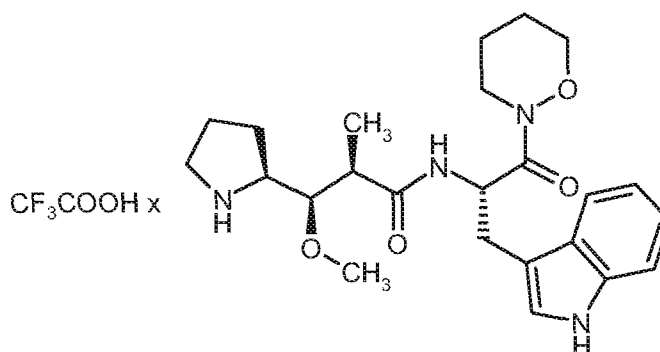
- Zu einer Lösung von 10 mg (9.3 μmol) N-(3-Carboxypropyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(2R)-1-phenyl-4-(4-sulfophenyl)butan-2-yl]amino)propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid in 2.5 mL DMF wurden 10.7 mg (93 μmol) N-Hydroxysuccinimid, 10.6 mg (28 μmol) EDCI sowie 0.12 mg (0.9 μmol) DMAP gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 20h bei RT gerührt und anschließend per präp. HPLC gereinigt.

Es wurden 3.8 mg (72%-ige Reinheit; 25% d.Th.) Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.90$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1055$ (M+H)⁺

Intermediat 191

- 10 (2R,3R)-N-[(2S)-3-(1H-Indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]-3-methoxy-2-methyl-3-[(2S)-pyrrolidin-2-yl]propanamid-Trifluoracetat



- Die Titelverbindung wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 7 über zwei Stufen aus Ausgangsverbindung 1 und (2S)-2-Amino-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)propan-1-on
15 Trifluoracetat (Intermediat 99) hergestellt.

Ausbeute über 2 Stufen: 62 mg (67% d. Th.)

HPLC (Methode 6): $R_t = 1.65$ min;

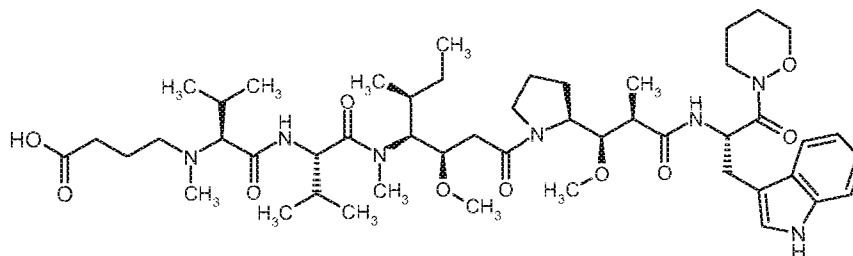
LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.7$ min; MS (ESIpos): $m/z = 443$ (M+H)⁺.

Intermediat 192

- 20 N-Methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid

Intermediat 193

N-(3-Carboxypropyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



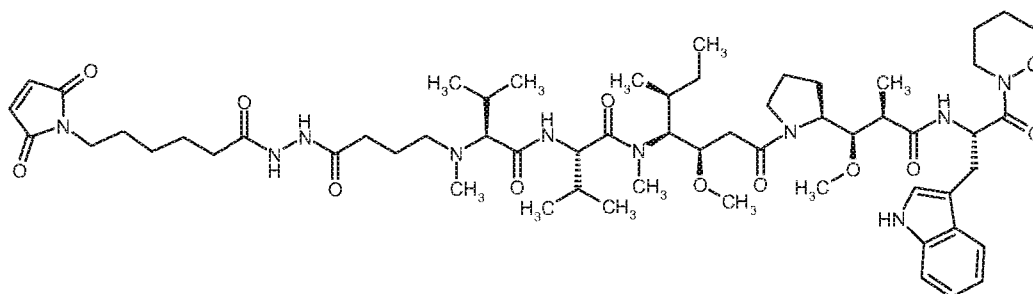
5

50 mg (0.052 mmol) N-Methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid (Intermediat 192) und 204 µl einer 15%igen wässrigen Lösung von 4-Oxobutansäure wurden in 2 ml Methanol zusammengegeben und mit 23.4 mg (0.252 mmol) Boran-Pyridin-Komplex und 6 µl Essigsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Einengen der entsprechenden Fraktionen wurden 38 mg (78% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.7$ min;
 15 LC-MS (Methode 9): $R_t = 4.7$ min; MS (ESIpos): $m/z = 926$ (M+H)⁺.

Intermediat 194

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



20

- 441 -

Diese Verbindung wurde in Analogie zur in Intermediat 157 beschriebenen Synthese aus 10 mg (11 µmol) N-(3-Carboxypropyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid und kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid hergestellt.

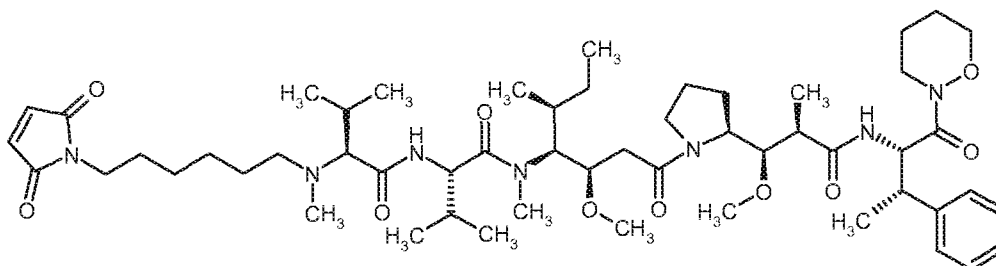
Ausbeute: 4.4 mg (35% d.Th.)

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.8$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.90$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1133$ (M+H)⁺.

Intermediat 195

10 N-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-[[[(2S,3S)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 166 ausgehend von 9 mg (0.010 mmol) Intermediat 170 hergestellt.

Ausbeute: 1.1 mg (10% d.Th.)

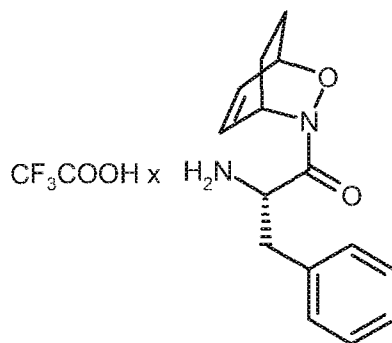
HPLC (Methode 12): $R_t = 2.0$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.99$ min; MS (ESIpos): $m/z = 994$ (M+H)⁺.

Intermediat 196

20 (2S)-2-Amino-1-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)-3-phenylpropan-1-on-Trifluoracetat

- 442 -



41 mg (0.37 mmol) 2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl-*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-L-phenylalaninat wurden in 10 ml DMF aufgenommen und mit 149 mg (0.41 mmol) 2-Oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en (Ausgangs-
 5 verbindung 6) sowie 72 μ l (0.41 mmol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde 1 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde danach im Vakuum entfernt, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und mit 5%-iger wässriger Zitronensäure-Lösung und anschließend mit 5%-iger wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde eingeeengt und der Rückstand durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Toluol/Ethanol 10:1 als Eluent gereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden vereinigt und das Lösungsmittel im
 10 Vakuum entfernt. Nach Trocknen des Rückstands im Hochvakuum wurden so 69 mg (47% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats *tert*-Butyl-[(2*S*)-1-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]carbammat als Diastereomeregemisch erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.1$ min; MS (ESIpos): $m/z = 359$ (M+H)⁺.

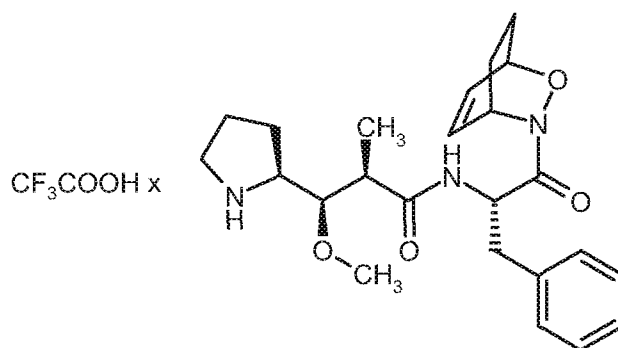
64 mg (0.18 mmol) dieses Intermediats wurden in 10 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 1 ml
 15 Trifluoressigsäure versetzt und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingeeengt und der verbliebene Rückstand aus Wasser/Dioxan lyophilisiert. Auf diese Weise wurden 66 mg (quant.) der Titelverbindung als Schaum erhalten.

HPLC (Methode 6): $R_t = 1.45$ min;

LC-MS (Methode 3): $R_t = 1.12$ min; MS (ESIpos): $m/z = 259$ (M+H)⁺.

20 Intermediat 197

(2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-*N*-[(2*S*)-1-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanamid-Trifluoressigsäure



Zunächst wurde (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert*-Butoxycarbonyl)pyrrolidin-2-yl]-3-methoxy-2-methylpropanoic acid (Ausgangsverbindung 1) aus 83 mg (0.18 mmol) ihres Dicyclohexylamin-Salzes durch Aufnehmen in Ethylacetat und Ausschütteln mit 5%-iger wässriger Kaliumhydrogensulfat-Lösung freigesetzt. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt. Der Rückstand wurde in 10 ml DMF aufgenommen und nacheinander mit 66 mg (0.18 mmol) (2*S*)-2-Amino-1-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)-3-phenylpropan-1-on-Trifluoacetat (Intermediat 196), 101 mg (0.266 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-Hexafluorophosphat (HATU) sowie 93 μ l (0.53 mmol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde 30 min bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde danach eingeeengt und der Rückstand durch präparative HPLC gereinigt. Man erhielt so 52 mg (56% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats *tert*-Butyl-(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-1-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-carboxylat.

HPLC (Methode 6): $R_t = 2.13$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.13$ min; MS (ESIpos): $m/z = 528$ (M+H)⁺.

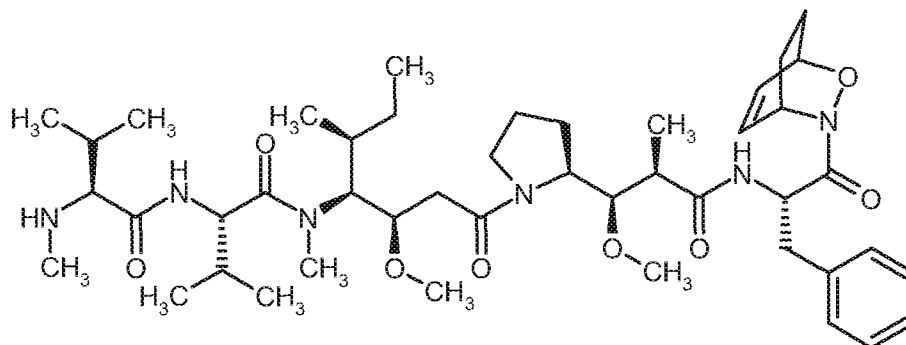
52 mg (0.1 mmol) dieses Intermediats wurden in 10 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 1 ml Trifluoressigsäure versetzt und 20 min bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingeeengt und der verbliebene Rückstand mit 20 ml Diethylether verrührt. Nach 10 min wurde abfiltriert und der Filter-Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Auf diese Weise wurden 39 mg (72% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 6): $R_t = 1.62$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.68$ min; MS (ESIpos): $m/z = 428$ (M+H)⁺.

Intermediat 198

N-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-1-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



x CF₃COOH

5

44.5 mg (0.071 mmol) *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 4) wurden in 10 ml DMF aufgenommen und nacheinander mit 38.6 mg (0.071 mmol) (2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-*N*-[(2*S*)-1-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanamid-Trifluoracetat (Intermediat 197), 32.5 mg (0.086 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N,N*-tetramethyluronium-Hexafluorophosphat (HATU) sowie 41 μ l (0.235 mmol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde 1 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde dann im Vakuum eingeeengt und der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wurde nacheinander mit 5%-iger wässriger Zitronensäure-Lösung und 5%-iger wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeeengt. Es wurden so 73 mg (98% d. Th.) des Fmoc-geschützten Intermediats *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-1-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid erhalten.

20

HPLC (Methode 6): R_t = 2.78 min;

LC-MS (Methode 3): R_t = 2.96 min; MS (ESIpos): m/z = 1047 (M+H)⁺.

73 mg (0.071 mmol) dieses Intermediats wurden in 5 ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 0.5 ml Piperidin wurde das Reaktionsgemisch 10 min bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingeeengt und der Rückstand mehrfach mit Diethylether digeriert. Nach Abdekantieren des

25

- 445 -

Diethylethers wurde der Rückstand durch präparative HPLC gereinigt (Eluent: Acetonitril / 0.1% aq. TFA). Es wurden 16 mg (26% d. Th.) der Titelverbindung als Schaum erhalten.

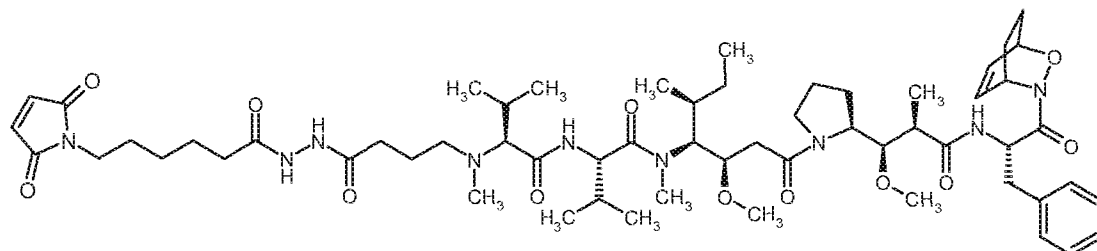
HPLC (Methode 6): $R_t = 1.94$ min;

LC-MS (Methode 3): $R_t = 1.71$ min; MS (ESIpos): $m/z = 825$ (M+H)⁺

- 5 ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 8.9-8.6$ (m, 3H), 8.4, 8.3, 8.1 und 8.0 (4d, 1H), 7.3-7.1 (m, 5H), 6.7-6.5 (m, 2H), 5.2-4.8 (m, 3H), 4.75-4.55 (m, 3H), 4.05-3.95 (m, 1H), 3.7-3.4 (m, 4H), 3.22, 3.17, 3.15, 3.05, 3.02 und 2.95 (6s, 9H), 3.0 und 2.7 (2 br. m, 2H), 2.46 (m, 3H), 2.4-1.2 (br. m, 13H), 1.1-0.85 (m, 18H), 0.75 (m, 3H) [weitere Signale unter H₂O-Peak verborgen].

Intermediat 199

- 10 N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2S)-1-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



- 15 Die Titelverbindung wurde in Analogie zu den Intermediaten 193 und 194 ausgehend von 23 mg (24 μ mol) N-Methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2S)-1-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat (Intermediat 198) hergestellt.

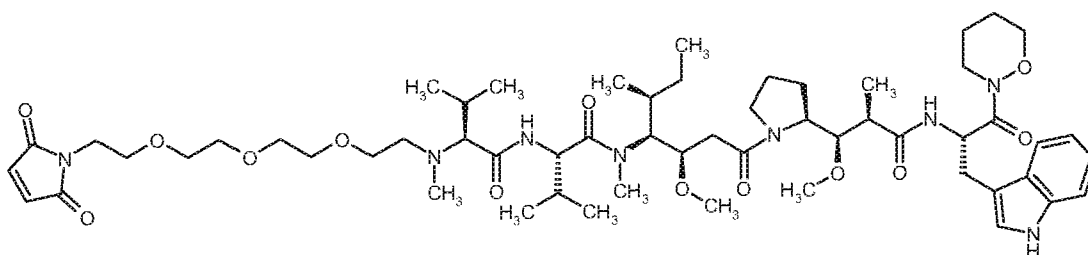
- 20 HPLC (Methode 12): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 2): $R_t = 2.1$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1118$ (M+H)⁺.

Intermediat 200

- N-[2-(2-{2-[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)ethoxy]ethoxy}ethoxy)ethyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid
- 25

- 446 -



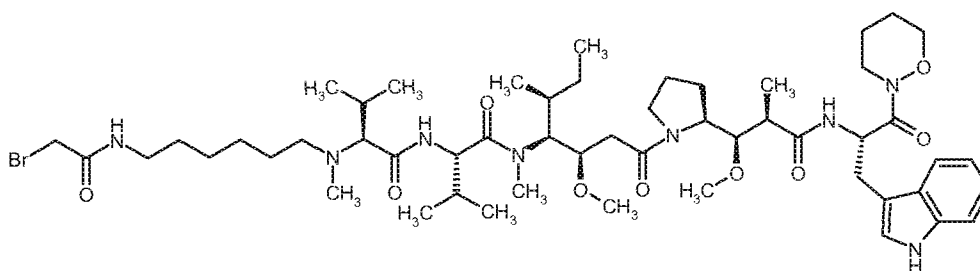
Die Herstellung erfolgte in Analogie zu den Intermediaten 174 und 175 beginnend mit der
 reduktive Alkylierung von Intermediat 192 mit Intermediat 172, anschließender Entschützung und
 5 Aufbau des Maleinimids.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.86$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1025$ (M+H)⁺.

Intermediat 201

N-{6-[(Bromacetyl)amino]hexyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-
 10 3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-
 oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



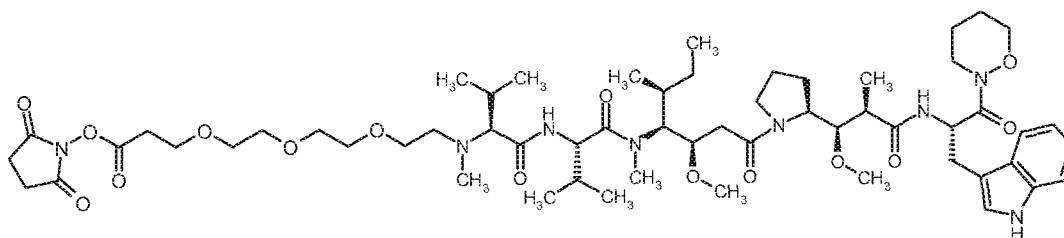
22 mg (0.023 mmol) N-(6-Aminohexyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-
 15 {[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-
 oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid (Inter-
 mediat 101) wurden in 9.5 ml THF gelöst und bei 0°C wird mit 4.2 µl Triethylamin versetzt. Eine
 Lösung aus Bromacetylchlorid in THF wurde zutropft und das Reaktionsgemisch 30 min bei 0°C
 gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde eingengt und der Rückstand durch präparative HPLC
 gereinigt. So wurden 6.9 mg (26% d.Th.) der Titelverbindung als Schaum erhalten.

20 HPLC (Methode 5): $R_t = 1.8$ min;

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.9$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1059$ und 1061 (M+H)⁺.

Intermediat 202

N-{2-[2-(2-{3-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-3-oxopropoxy}ethoxy)ethoxy]ethyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Die Herstellung erfolgte zunächst in Analogie zu Intermediat 168 beginnend mit der reduktiven Alkylierung von Intermediat 192 mit Intermediat 167 und anschließender hydrogenolytischer Spaltung des Benzylesters zu N-(2-{2-[2-(2-Carboxyethoxy)ethoxy]ethoxy}ethyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid.

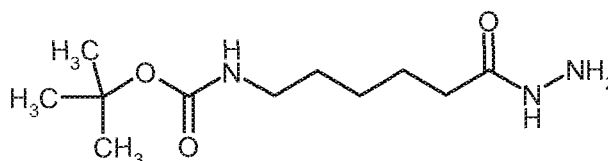
13 mg (10 μ mol) dieses Intermediats wurden in 5 ml DMF gelöst und mit 2.1 mg (20 mmol) 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion, 6.5 μ l *N,N*-Diisopropylethylamin und 7.1 mg (0.02 mmol) HATU versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Vakuum eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation aus Acetonitril/Wasser wurden 9.2 mg (62% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 2.0$ min;

LC-MS (Methode 2): $R_t = 2.1$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1141$ (M+H)⁺.

20 **Intermediat 203**

tert.-Butyl-(6-hydrazino-6-oxohexyl)carbamate



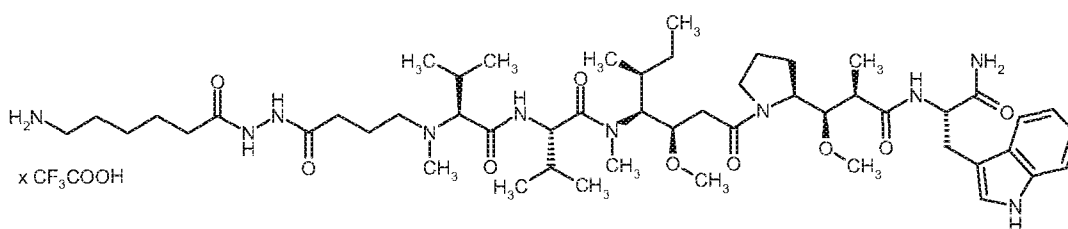
Diese Verbindung wurde nach Standardmethoden der Peptidchemie hergestellt durch Kupplung von 6-[(*tert.*-Butoxycarbonyl)amino]hexansäure mit Benzylhydrazincarboxylat in Gegenwart von

EDCI und HOBT und anschließender hydrogenolytischer Spaltung der Benzyloxy-carbonylschutzgruppe.

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.59$ min; MS (ESIpos): $m/z = 246$ (M+H)⁺.

Intermediat 204

- 5 N-{4-[2-(6-Aminohexanoyl)hydrazino]-4-oxobutyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-amino-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



- 10 146 mg (50 μ mol) (N-(3-Carboxypropyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-amino-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-
- 15 propyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid wurden in 5 ml DMF gelöst und anschließend mit 30.6 mg (80 μ mol) O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-Hexafluorophosphat, 19 μ l N,N-Diisopropylethylamin sowie mit 22.4 mg (60
- 20 μ mol) von *tert.*-Butyl-(6-hydrazino-6-oxohexyl)carbammat versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 1.5 h bei RT gerührt. Anschließend wurde im Hochvakuum eingedunstet und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 43 mg (68 % d.Th.) des geschützten Intermediats erhalten, welche dann in 10 ml Dichlormethan aufgenommen wurden und mit 1 ml Trifluoressigsäure entschützt wurden. Das Reaktionsgemisch wurde eingedunstet und der Rückstand mit Dichlormethan verrührt und das Lösungsmittel erneut im Vakuum entfernt. So wurden 45 mg (68% d.Th. über 2 Stufen) der Titelverbindung erhalten.

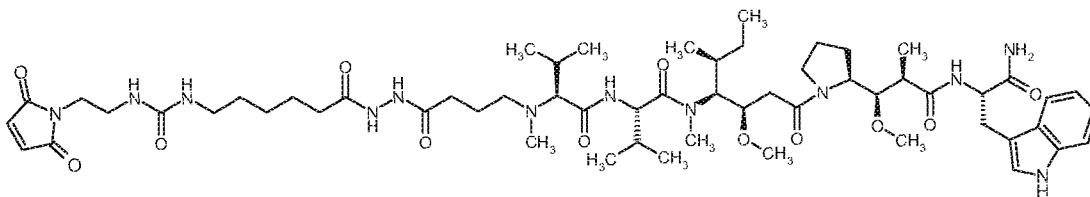
HPLC (Methode 12): $R_t = 1.6$ min;

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.66$ min; MS (ESIpos): $m/z = 983$ (M+H)⁺.

Intermediat 205

- 25 N-(4-{2-[6-({[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)ethyl]carbamoyl)amino]hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-amino-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid

- 449 -



Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 114 ausgehend von den Intermediaten 50 und 204 hergestellt.

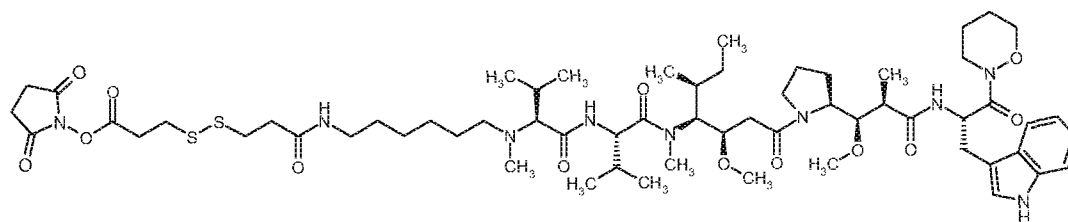
5 Ausbeute: 4 mg (78% d.Th.)

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.7$ min;

LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.73$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1149$ (M+H)⁺.

Intermediat 206

N-(6-{{3-({3-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-3-oxopropyl) disulfanyl}propanoyl}amino)hexyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{{(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl}amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl}pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



8 mg (10 μ mol) von Intermediat 101 wurden in 2 ml DMF gelöst und mit 8.6 mg (20 μ mol) 1,1'-{Disulfandiylbis[(1-oxopropan-3,1-diyloxy]}dipyrrolidin-2,5-dion und 3.7 μ l *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2 h bei RT gerührt und anschließend das Lösungsmittel im Vakuum abgedampft und der Rückstand durch präparative HPLC gereinigt. Es wurden 7.2 mg (68% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

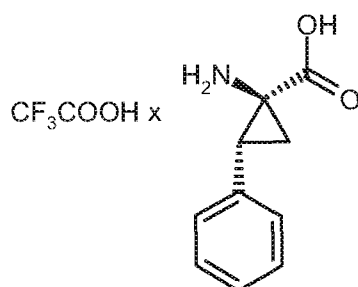
HPLC (Methode 5): $R_t = 1.9$ min;

20 LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.94$ min; MS (ESIpos): $m/z = 615$ [$\frac{1}{2}$ (M+2H)⁺]

Intermediat 207

(1S,2R)-1-Amino-2-phenylcyclopropan-carbonsäure-Trifluoracetat

- 450 -

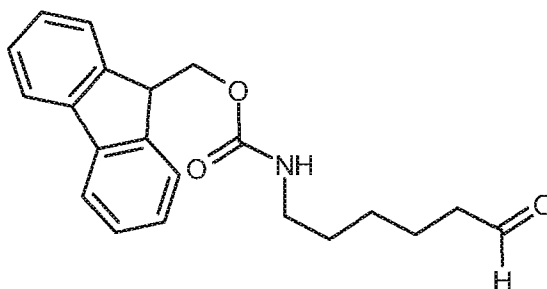


Die Titelverbindung wurde durch Entschützung von 210 mg (0.76 mmol) kommerziell erhältlich (1*S*,2*R*)-1-[(*tert.*-Butoxycarbonyl)amino]-2-phenylcyclopropanecarbonsäure mit Trifluoressigsäure in quantitativer Ausbeute erhalten.

- 5 LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.23$ min; MS (ESIpos): $m/z = 178$ (M+H)⁺.

Intermediat 208

9H-Fluoren-9-ylmethyl-(6-oxohexyl)carbamate



- Die Titelverbindung wurde aus 1 g (2.95 mmol) von kommerziell erhältlichem 9H-Fluoren-9-ylmethyl-(6-hydroxyhexyl)carbamate nach Standardbedingungen durch Oxidation mit Schwefeltrioxid-Pyridin-Komplex hergestellt. Es wurden 840 mg (85% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 2.0$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.1$ min; MS (ESIpos): $m/z = 338$ (M+H)⁺.

15 Intermediat 209

N-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[1*S*,2*R*]-1-carboxy-2-phenylcyclopropyl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid

- 452 -

Natriumhydrogencarbonatlösung zugegeben und das Reaktionsgemisch weitere 30 min bei RT gerührt. Dann wurde das Reaktionsgemisch mit Trifluoressigsäure auf pH 2 angesäuert und anschließend im Vakuum eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation aus Acetonitril/Wasser wurden 4 mg (60% d.Th.) der Titel-

5 verbindung als Schaum erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.9$ min;

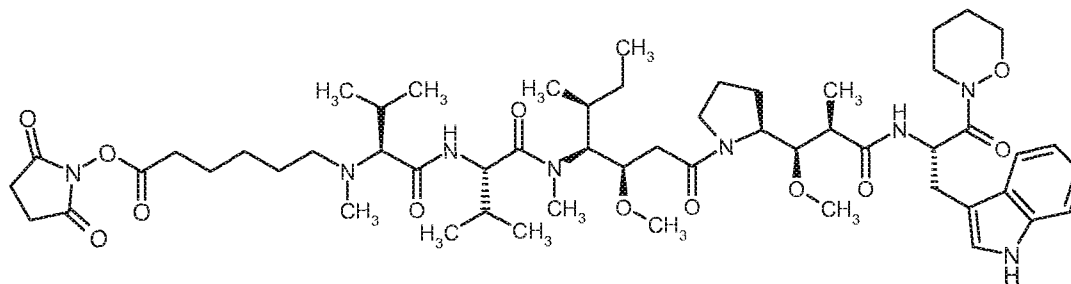
LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.88$ min; MS (ESIpos): $m/z = 923$ (M+H)⁺.

Intermediat 210

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-

10 [(1R,2R)-3-[[[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-

valinamid



Zunächst wurde 6-Oxohexansäure nach Literaturvorschrift hergestellt (J.Org.Chem. 58, 1993,

15 2196-2200).

80 mg (0.08 mmol) N-Methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid (Intermediat 192) und 65.4 mg (0.5 mmol) 6-Oxohexansäure wurden in 9 ml Methanol zusammengegeben und mit 10 μ l Essigsäure und 37.4 mg (0.4 mmol) Boran-Pyridin-Komplex versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingengt und der Rückstand in Acetonitril/Wasser 1:1 aufgenommen und mit Trifluoressigsäure auf pH 2 gebracht. Das Reaktionsgemisch wurde erneut eingengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Einengen der entsprechenden Fraktionen wurden 70 mg (86% d. Th.) N-(5-Carboxypentyl)-

25 N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid als Trifluoressigsäure erhalten.

- 453 -

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.87$ min; MS (ESIpos): $m/z = 955$ (M+H)⁺.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆, charakteristische Signale): $\delta = 12.0$ (br. M, 1H), 10.8 (s, 1H), 9.4 (m, 1H), 8.9 und 8.8 (2d, 1H), 8.3 und 8.02 (2d, 1H), 7.5 (m, 1H), 7.3 (m, 1H), 7.15 und 7.1 (2s, 1H) 7.05-6.9 (m, 2H), 5.12 und 4.95 (2m, 1H), 4.7-4.5 (m, 2H), 4.1-3.8 (m, 4H), 3.75 (d, 1H), 3.25, 3.2, 3.18, 3.13, 2.98 und 2.88 (6s, 9H), 2.8 (m, 3H), 1.08 und 1.04 (2d, 3H), 0.95-0.8 (m, 15H), 0.8-0.65 (dd, 3H).

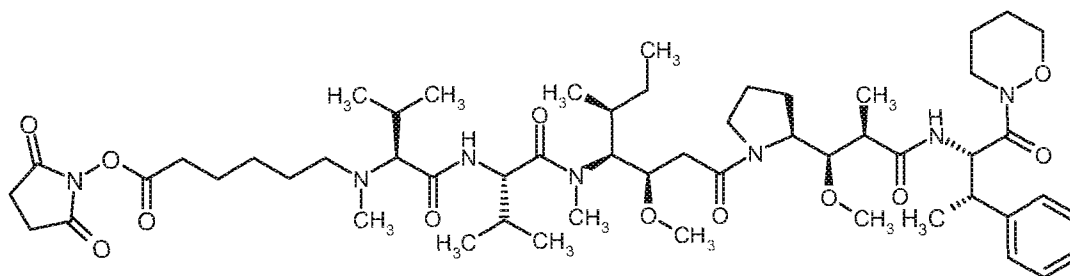
22 mg (23 μ mol) dieses Intermediats wurden in 1.8 ml Dichlormethan gelöst und mit 13.2 mg (70 μ mol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 26.5 mg (230 μ mol) 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion sowie 0.28 mg (2 μ mol) Dimethylaminopyridin versetzt und das Reaktionsgemisch 2h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingengt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation aus Acetonitril/Wasser wurden 21.3 mg (88% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.9$ min;

15 LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.94$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1052$ (M+H)⁺.

Intermediat 211

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2S,3S)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



20

15 mg (20 μ mol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*,3*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoacetat (Intermediat 15) wurden in Analogie zu Intermediat 210 mit 6-Oxohexansäure reaktiv alkyliert.

25 Ausb.: 9.2 mg (61% d.Th.)

- 454 -

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.87$ min; MS (ESIpos): $m/z = 929$ (M+H)⁺.

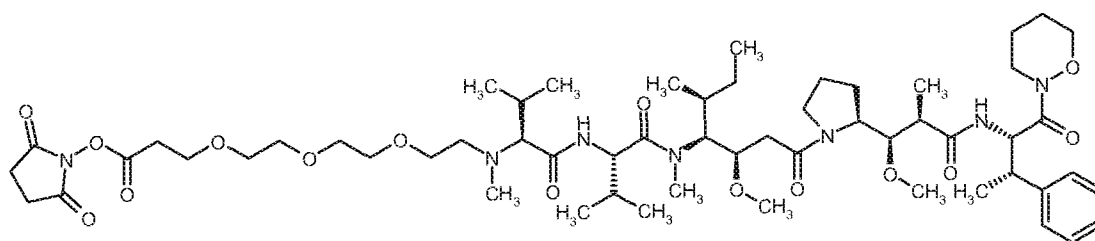
9 mg (10 μ mol) dieses Intermediats wurden in 3 ml DMF gelöst und mit 5.6 mg (48 μ mol) 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion, 5 μ l *N,N*-Diisopropylethylamin und 5.5 mg (0.015 mmol) HATU
 5 versetzt und das Reaktionsgemisch 6 h im Ultraschallbad behandelt. Dabei wurden stündlich 5.5 mg HATU nachgesetzt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingedunstet, der Rückstand in Acetonitril/Wasser aufgenommen und mit Trifluoressigsäure auf pH 2 gebracht. Nach erneutem Einengen im Vakuum wurde der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation aus Acetonitril/Wasser wurden 5.8 mg (57 % d. Th.) der
 10 Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 2.0$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.95$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1027$ (M+H)⁺.

Intermediat 212

N-{2-[2-(2-{3-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-3-oxopropoxy}ethoxy)ethoxy]ethyl}-N-methyl-L-
 15 valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2S,3S)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



20 Die Herstellung erfolgte zunächst in Analogie zu Intermediat 168 beginnend mit der reduktiven Alkylierung von Intermediat 15 mit Intermediat 167 und anschließender hydrogenolytischer Spaltung des Benzylesters zu N-(2-{2-[2-(2-Carboxyethoxy)ethoxy]ethoxy}ethyl)-N-methyl-L-
 valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-[(2S,3S)-1-(1,2-
 oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-
 25 oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid.

8.4 mg (8 μ mol) dieses Intermediats wurden in 3 ml DMF gelöst und mit 9.5 mg (80 μ mol) 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion, 10 μ l *N,N*-Diisopropylethylamin und 9.4 mg (25 μ mol) HATU

- 455 -

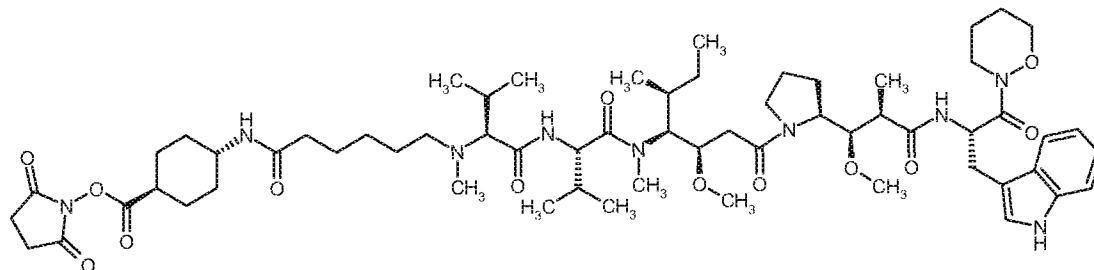
versetzt und das Reaktionsgemisch über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Vakuum eingengt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingengt, der Rückstand in Acetonitril/Wasser aufgenommen und mit Trifluoressigsäure auf pH 2 gebracht. Nach erneutem Einengen im Vakuum wurde der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach
 5 Lyophilisation aus Acetonitril/Wasser wurden 4 mg (32% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 2.0$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.96$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1117$ (M+H)⁺.

Intermediat 213

N-{6-[(trans-4-{{(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy}carbonyl)cyclohexyl}amino]-6-oxohexyl}-N-
 10 methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{{(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl}amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



15 Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 104 ausgehend von N-(5-Carboxypentyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{{(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl}amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid, dessen Synthese unter Intermediat 210
 20 erhalten.

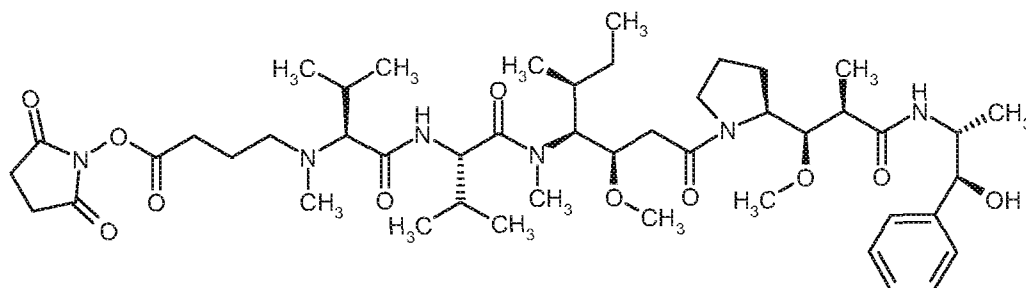
HPLC (Methode 12): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.9$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1177$ (M+H)⁺.

Intermediat 214

N-{4-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-4-oxobutyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{{(2S)-2-
 25 [[(1R,2R)-3-{{(1S,2R)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl}amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid

- 456 -



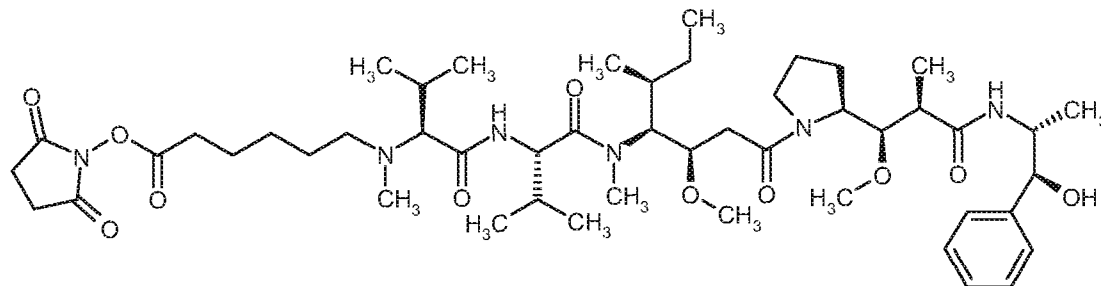
Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 210 durch Überführung von Intermediat 92 in den Aktivester hergestellt.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.6$ min;

- 5 LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.82$ min; MS (ESIpos): $m/z = 901$ (M+H)⁺.

Intermediat 215

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S,2R)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



10

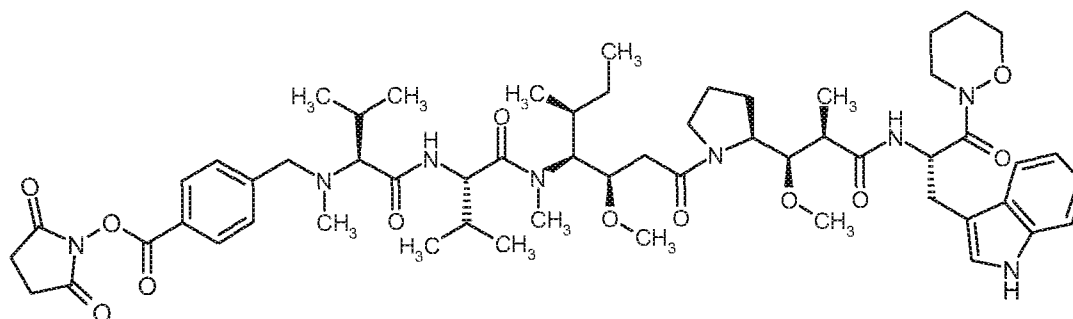
- Zunächst wurde aus Intermediat 40 in Analogie zu Intermediat 183 mit Boran-Pyridin-Komplex N-(5-Carboxypentyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S,2R)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl]amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid hergestellt. Aus dieser Verbindung wurde dann in Analogie zu Intermediat 210 der Aktivester generiert. Es wurden 34 mg (36% d.Th. über 2 Stufen) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.6$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.85$ min; MS (ESIpos): $m/z = 930$ (M+H)⁺.

Intermediat 216

N-(4-{{(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy}carbonyl}benzyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{{(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



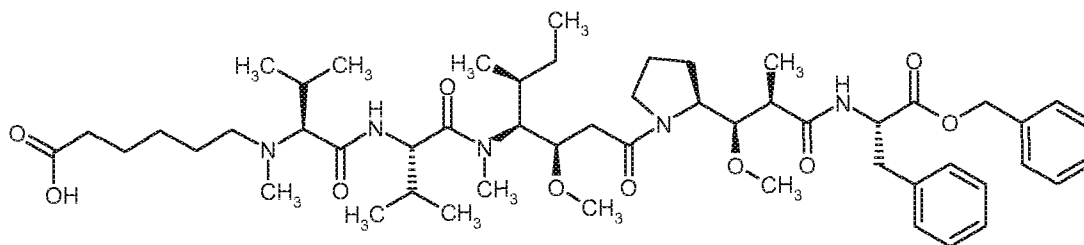
Zunächst wurde in Analogie zur Herstellung von Intermediat 183 Intermediat 192 mit 4-Formylbenzoesäure mit Boran-Pyridin-Komplex zu N-(4-Carboxybenzyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{{(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid umgesetzt. Aus dieser Verbindung wurden dann in Analogie zu Intermediat 210 11 mg (68% d. Th.) der Titelverbindung generiert.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.8$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.13$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1072$ (M+H)⁺.

15 **Intermediat 217**

N-(5-Carboxypentyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{{(2S)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



20 53 mg (84 μ mol) N-[(9H-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(2R,3S,4S)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-N-methyl-L-valinamid (Intermediat 4) und 45 mg (84 μ mol)

- 458 -

Benzyl-*N*-{(2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}-*L*-phenylalaninat-Tri-
 fluoracetat (Intermediat 12) wurden in 2 ml DMF aufgenommen, mit 19 μ l *N,N*-Diisopropyl-
 ethylamin, 14 mg (92 μ mol) HOBt sowie 17.6 mg (92 μ mol) EDC versetzt und dann über Nacht
 bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch eingeengt und der Rückstand mittels
 5 präparativer HPLC gereinigt. Es wurden so 59 mg (68% d. Th.) des Fmoc-geschützten Intermediats
N-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-
 {[(2*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]-
 pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-*L*-valinamid erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.55$ min; $m/z = 1044$ (M+H)⁺.

10 57 mg (0.055 mmol) dieses Intermediats wurden zur Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe mit
 1.2 ml Piperidin in 5 ml DMF behandelt. Nach Einengen und Reinigung mittels präparativer HPLC
 wurden 39 mg (76% d. Th.) des freien Amin-Intermediats *N*-Methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-
 {[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-
 methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-*L*-
 15 valinamid als Trifluoracetat erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.01$ min; $m/z = 822$ (M+H)⁺.

60 mg (0.06 mmol) dieses Intermediats wurden in Analogie zu Intermediat 210 mit 6-
 Oxohexansäure in Gegenwart von Boran-Pyridin-Komplex umgesetzt. Es wurden 45 mg (75% d.
 20 Th.) der Titelverbindung als Schaums erhalten.

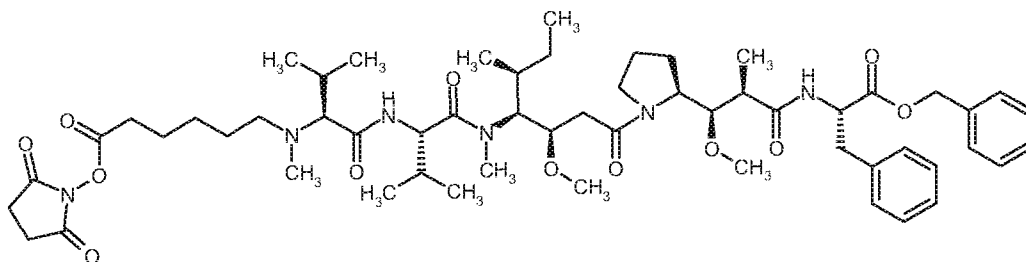
HPLC (Methode 5): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.97$ min; MS (ESIpos): $m/z = 9936$ (M+H)⁺.

Intermediat 218

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-*N*-methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-
 25 [(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-
 oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-*L*-valinamid

- 459 -



Diese Verbindung wurde durch Überführung von 42 mg (0.05 mmol) von Intermediat 217 in den Aktivester hergestellt.

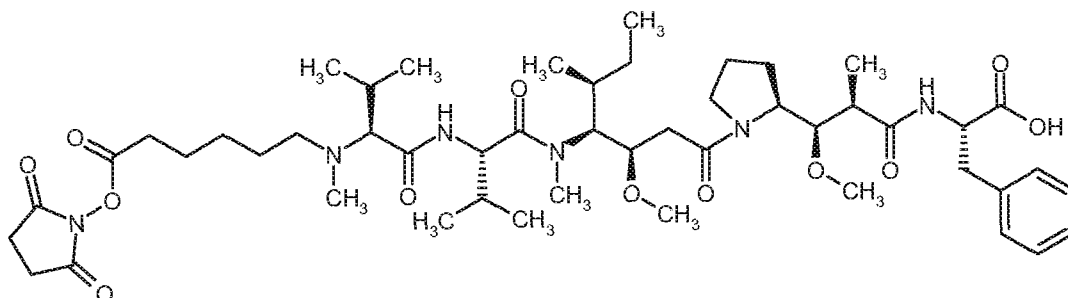
Ausbeute: 26 mg (54%)

5 HPLC (Methode 5): $R_t = 2.1$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.01$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1034$ (M+H)⁺.

Intermediat 219

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxoheptyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-
 [(1R,2R)-3-[[1S]-1-carboxy-2-phenylethyl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-
 10 1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



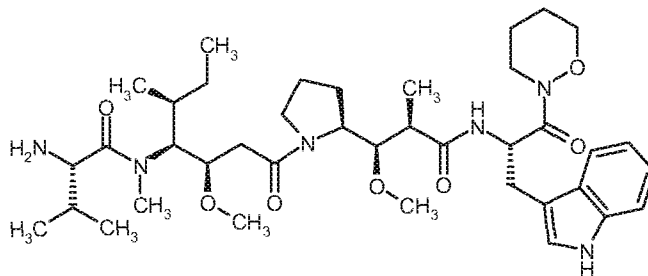
20 mg (0.02 mol) der Verbindung aus Intermediat 218 wurden in 2.4 ml Methanol aufgenommen und über 5%-igem Palladium auf Aktivkohle 30 min lang bei RT unter Wasserstoff-Normaldruck hydriert. Der Katalysator wurde danach abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der
 15 Rückstand wurde aus Acetonitril/Wasser 1:1 lyophilisiert. Man erhielt 14 mg (92% d.Th.) der Titelverbindung als farblosen Schaum.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.7$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.86$ min; MS (ESIpos): $m/z = 944$ (M+H)⁺.

Intermediat 220

N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(1H-Indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



5

0.5 g (1.01 mmol) von Intermediat 1 wurden in 10 ml Dichlormethan mit 1 ml Trifluoressigsäure versetzt. Nach 30 min Behandlung im Ultraschallbad wurde der Ansatz eingengt und zunächst mit DCM und dann mit Diethylether nachdestilliert und im Hochvakuum getrocknet. Der ölige Rückstand wurde ohne weitere Reinigung in die nächste Stufe eingesetzt.

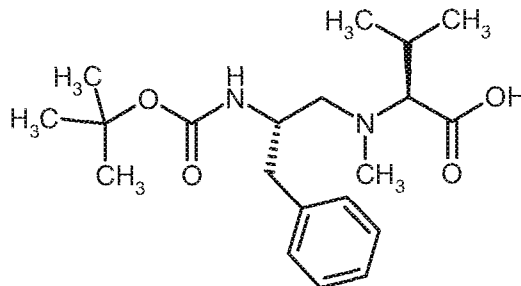
10 500 mg dieses Zwischenproduktes wurden in 20 ml DMF gelöst und mit 466 mg (3.8 mmol) von Intermediat 191, 382 mg (1.01 mmol) O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) sowie 440 μ L (2.5 mmol) N,N-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde 1 h bei RT gerührt und danach eingengt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und zuerst zweimal mit 5%-iger wässriger Zitronensäure-Lösung und dann mit
15 gesättigter wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde eingengt und der Rückstand durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan/Methanol 95:5 als Eluent gereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden vereinigt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Trocknen des Rückstands im Hochvakuum wurden 562 mg (65% d. Th. über 2 Stufen) des Z-geschützten Intermediats erhalten.

20 562 mg (0.57 mmol) dieser Zwischenstufe wurden in 50 ml Methanol aufgenommen und mit 155 mg 10%-igem Palladium auf Aktivkohle 20 min lang bei RT unter Wasserstoff-Normaldruck hydriert. Der Katalysator wurde danach abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde durch präparative HPLC gereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden vereinigt, das Lösungsmittel im Vakuum abgedampft und der Rückstand aus Dioxan lyophilisiert.
25 Man erhielt 361 mg (87% d.Th.) der Titelverbindung als Schaum.

HPLC (Methode 5): Doppelpeak mit $R_t = 1.75$ und 1.86 min;

LC-MS (Methode 1): Doppelpeak bei $R_t = 0.84$ min und 0.91 min mit gleicher Masse; MS (ESIpos): $m/z = 944$ (M+H)⁺.

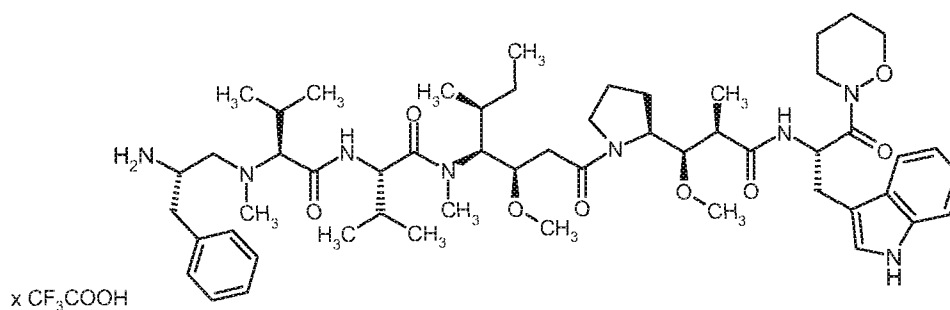
- 461 -

Intermediat 221N-[(2S)-2-[(*tert.*-Butoxycarbonyl)amino]-3-phenylpropyl]-N-methyl-L-valin

- 100 mg (0.76 mmol) von kommerziell erhältlichem N-Methyl-L-valin und 285 mg (1.14 mmol)
 5 von kommerziell erhältlichem *tert.*-Butyl-[(2S)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]carbammat wurden in 22 ml Methanol zusammengegeben und mit 340 mg (3.66 mmol) Boran-Pyridin-Komplex und 70 μ L Essigsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingeeengt und der Rückstand durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan/Methanol/17%iger wässriger Ammoniak-Lösung als Eluent gereinigt. Nach
 10 Einengen der entsprechenden Fraktionen und Lyophilisation aus Dioxan/Wasser 1:1 wurden 259 mg (93%d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.6$ min;LC-MS (Methode 11): $R_t = 0.76$ min; MS (ESIpos): $m/z = 365$ (M+H)⁺.**Intermediat 222**

- 15 N-[(2S)-2-Amino-3-phenylpropyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



- 20 40 mg (0.11 mmol) N-[(2S)-2-[(*tert.*-Butoxycarbonyl)amino]-3-phenylpropyl]-N-methyl-L-valin (Intermediat 221) wurden in 5 ml DMF gelöst und mit 80 mg (0.11 mmol) N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-

- 463 -

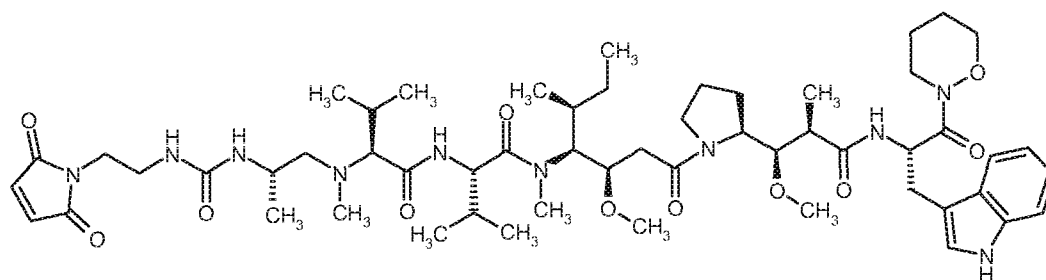
Die Herstellung erfolgte in Analogie zur Synthese von Intermediat 134 ausgehend von 5 mg (4.6 μmol) von Intermediat 222. Es wurden 3.4 mg (65% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 2.0$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.99$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1140$ (M+H)⁺.

5 Intermediat 224

N-[(2S)-2-({[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)ethyl]carbamoyl} amino)propyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



10

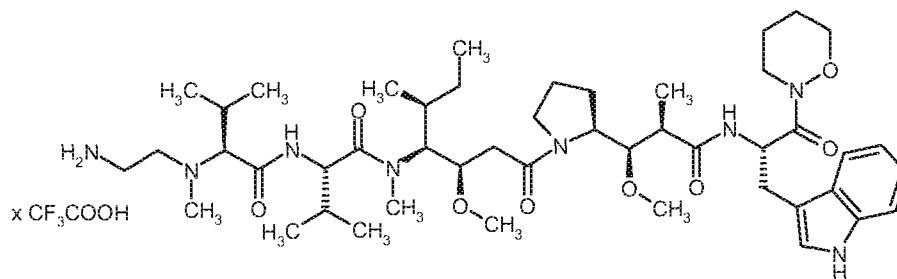
Die Herstellung erfolgte in Analogie zur Synthese von Intermediat 223.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.92$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1064$ (M+H)⁺.

Intermediat 225

15 N-(2-Aminoethyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



100 mg (0.76 mmol) von kommerziell erhältlichem N-Methyl-L-valin und 182 mg (1.14 mmol)
20 von kommerziell erhältlichem *tert.*-Butyl-(2-oxoethyl)carbammat wurden in 20 ml Methanol

- 464 -

zusammengegeben und mit 340 mg (3.66 mmol) Boran-Pyridin-Komplex und 65 μ L Essigsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingengt und der Rückstand durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan/Methano/17%iger wässriger Ammoniak-Lösung (15/4/0.5) als Eluent gereinigt.

- 5 Nach Einengen der entsprechenden Fraktionen und Lyophilisation aus Dioxan/Wasser 1:1 wurden 190 mg in 39%-iger Reinheit (35% d.Th.) des Intermediats erhalten, das ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt wurde.

- 50 mg (0.07 mmol) dieses Intermediats wurden in 10 ml DMF gelöst und mit 52 mg (0.07 mmol) N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(1H-Indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid (Intermediat 220), 32 mg (0.09 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-Hexafluorophosphat (HATU) sowie 37 μ L (0.2 mmol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und danach eingengt. Der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und zuerst mit 5%-iger wässriger Zitronensäure-Lösung und dann mit Wasser ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde eingengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden vereinigt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 53 mg (76% d. Th.) des geschützten Intermediats erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.0 min;

- 20 LC-MS (Methode 1): R_t = 1.02 min; MS (ESIpos): m/z = 984 (M+H)⁺.

53 mg (0.05 mmol) dieses Intermediats wurden in 10 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 2 ml Trifluoressigsäure versetzt und das Reaktionsgemisch 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingengt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden vereinigt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand aus Dioxan/Wasser lyophilisiert. Auf diese Weise wurden 21 mg (40% d.Th.) der Titelverbindung in 65%-iger Reinheit erhalten.

- 25

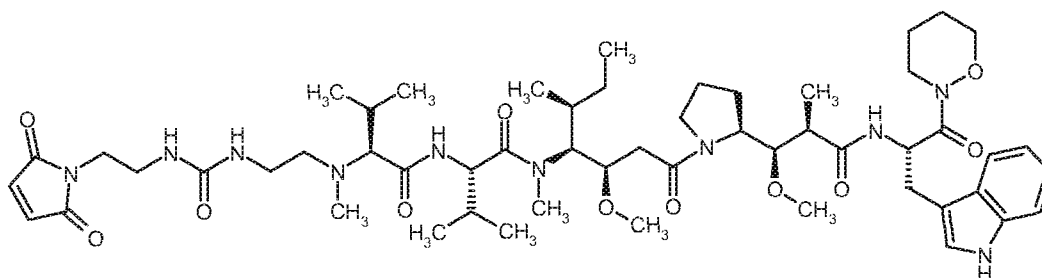
HPLC (Methode 12): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.87 min; MS (ESIpos): m/z = 884 (M+H)⁺.

Intermediat 226

- 30 N-[2-({[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)ethyl]carbamoyl}amino)ethyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid

- 465 -



Die Herstellung erfolgte ausgehend von Intermediat 225 in Analogie zur Synthese von Intermediat 134. Es wurden 11.6 mg (59% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

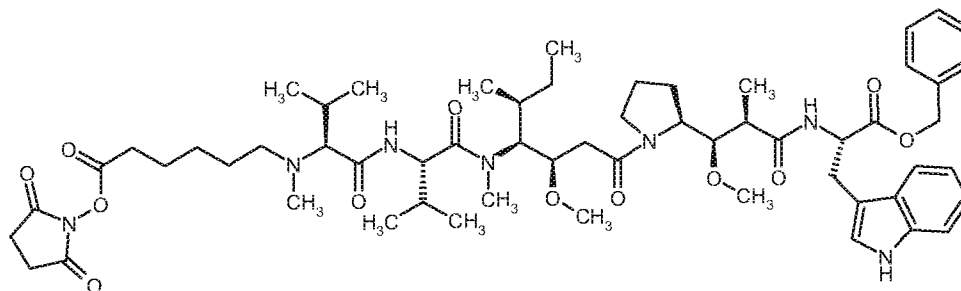
HPLC (Methode 12): $R_t = 1.9$ min;

- 5 LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.90$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1050$ (M+H)⁺.

Intermediat 227

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-(benzyloxy)-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl)-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-

10 valinamid



Diese Verbindung wurde analog zu Intermediat 218 durch Überführung in den Aktivester hergestellt.

Ausbeute: 18 mg (51% d. Th.)

- 15 HPLC (Methode 5): $R_t = 2.1$ min;

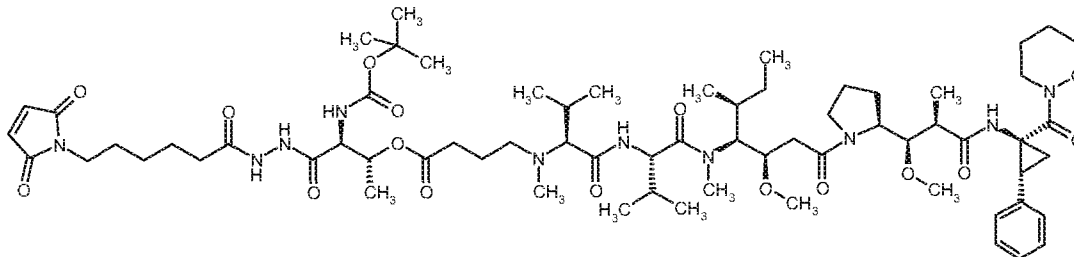
LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.98$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1073$ (M+H)⁺.

Intermediat 228

(2R,3S)-3-[(*tert.*-Butoxycarbonyl)amino]-4-{2-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutan-2-yl-(3R,4S,7S,10S)-4-[(2S)-butan-2-yl]-7,10-diisopropyl-3-

- 466 -

(2-((2S)-2-((1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-(((1S,2R)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl)amino)-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl)-2-oxoethyl)-5,11-dimethyl-6,9-dioxo-2-oxa-5,8,11-triazapentadecan-15-oyl



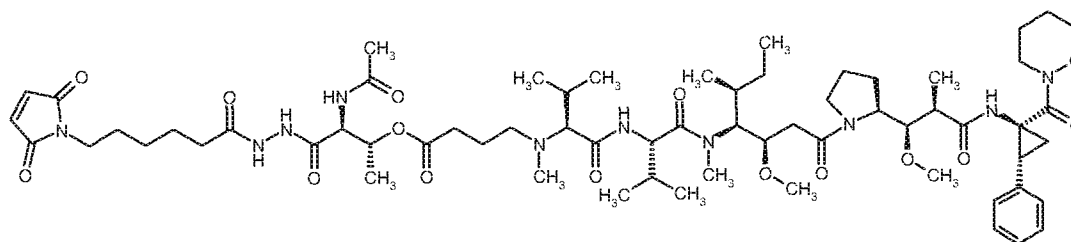
- 5 Die Titelverbindung wurde durch Kupplung der bei der Synthese von Intermediat 154 angefallenen Boc-geschützten Zwischenstufe mit kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid hergestellt.

HPLC (Methode 12): $R_t = 2.1$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.97$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1308$ (M+H)⁺.

10 Intermediat 229

(2R,3S)-3-Acetamido-4-{2-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutan-2-yl-(3R,4S,7S,10S)-4-[(2S)-butan-2-yl]-7,10-diisopropyl-3-(2-((2S)-2-((1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-(((1S,2R)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl)amino)-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl)-2-oxoethyl)-5,11-dimethyl-6,9-dioxo-2-oxa-5,8,11-triazapentadecan-15-oyl



Die Titelverbindung wurde aus 7.5 mg (2.5 μ mol) von Intermediat 154 durch Acetylierung mit 2.3 μ l Acetanhydrid in 1 ml DMF in Gegenwart von 0.4 μ l *N,N*-Diisopropylethylamin hergestellt.

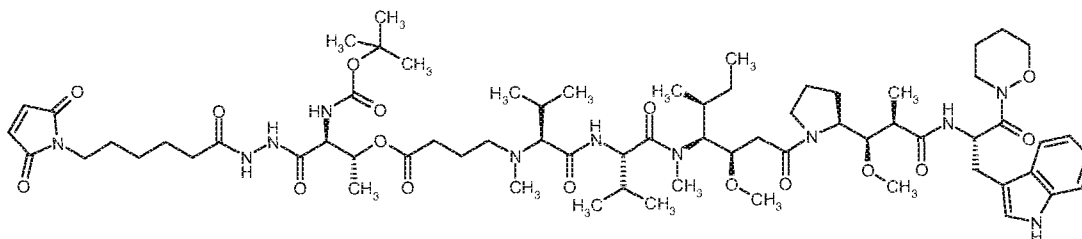
Ausbeute: 1.4 mg (40% d. Th.)

- 20 HPLC (Methode 12): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.86$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1250$ (M+H)⁺.

Intermediat 230

(2R,3S)-3-[(*tert.*-Butoxycarbonyl)amino]-4-{2-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutan-2-yl-(3R,4S,7S,10S)-4-[(2S)-butan-2-yl]-3-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl)-2-oxoethyl)-7,10-diisopropyl-5,11-dimethyl-6,9-dioxo-2-oxa-5,8,11-triazapentadecan-15-olat



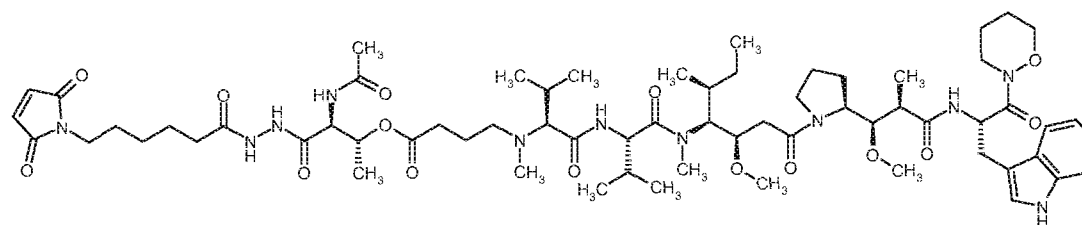
Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 228 ausgehend von Intermediat 193 hergestellt. Es wurden 16 mg (30% d. Th. über 3 Stufen) der Titelverbindung erhalten.

10 HPLC (Methode 12): $R_t = 2.0$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.02$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1335$ (M+H)⁺.

Intermediat 231

(2R,3S)-3-Acetamido-4-{2-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutan-2-yl-(3R,4S,7S,10S)-4-[(2S)-butan-2-yl]-3-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl)-2-oxoethyl)-7,10-diisopropyl-5,11-dimethyl-6,9-dioxo-2-oxa-5,8,11-triazapentadecan-15-olat



Diese Verbindung wurde aus 8 mg (6 μ mol) von Intermediat 230 zunächst durch Entschützung mit Trifluoressigsäure und nachfolgende Acetylierung mit Acetanhydrid in DMF in Gegenwart von *N,N*-Diisopropylethylamin hergestellt. Es wurden 2 mg (37% d. Th. über 2 Stufen) der Titelverbindung erhalten.

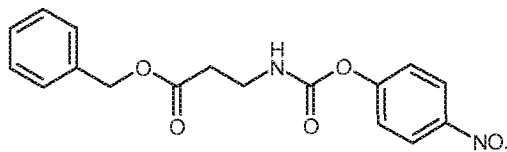
HPLC (Methode 12): $R_t = 1.9$ min;

- 468 -

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.88$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1277$ (M+H)⁺.

Intermediat 232

Benzyl-N-[(4-nitrophenoxy)carbonyl]-beta-alanin



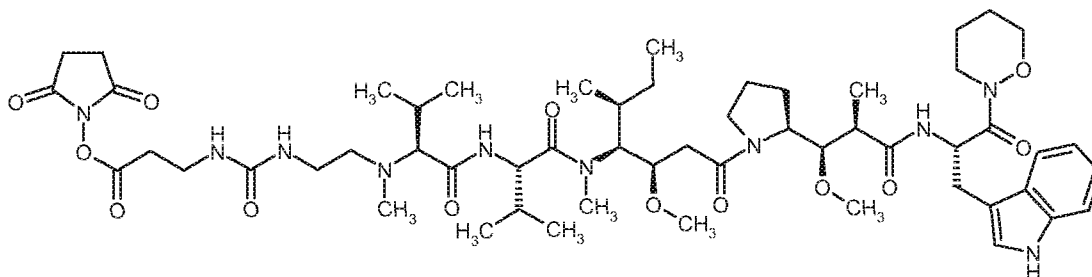
- 5 200 mg (0.57 mmol) von kommerziell erhältlichem 4-Methylbenzolsulfonsäure-benzyl-beta-alanin sowie 229 mg (1.14 mmol) 4-Nitrophenylchlorocarbonat wurden in 15 ml Tetrahydrofuran aufgenommen und das Reaktionsgemisch dann 30 min zum Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Einengen der entsprechenden Fraktionen und Trocknen des Rückstandes im
- 10 Hochvakuum wurden 86 mg (44% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.8$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.07$ min; MS (ESIpos): $m/z = 345$ (M+H)⁺.

Intermediat 233

- N-{2-[(3-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-3-oxopropyl)carbamoyl]amino}ethyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid
- 15



- 13 mg (10 μ mol) von Intermediat 225 und 6.7 mg (20 μ mol) von Intermediat 232 wurden in 3 ml
- 20 DMF gelöst und anschließend mit 7 μ L N,N-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Nach Einengen der entsprechenden Fraktionen und Trocknen des Rückstandes im Hochvakuum wurden 5.4 mg (38% d.Th.) des geschützten Intermediats erhalten.

- 469 -

HPLC (Methode 5): $R_t = 2.1$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.6$ in; MS (ESIpos): $m/z = 1089$ (M+H)⁺.

5.4 mg (5 μ mol) dieses Intermediats wurden in 5 ml Methanol gelöst und nach Zugabe von 2 mg 10%-igem Palladium auf Aktivkohle 20 min lang bei RT unter Wasserstoff-Normaldruck hydriert.

- 5 Der Katalysator wurde danach abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Trocknen des Rückstands im Hochvakuum wurden 5 mg (quant.) des Säure-Intermediats erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.8$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.84$ min; MS (ESIpos): $m/z = 999$ (M+H)⁺.

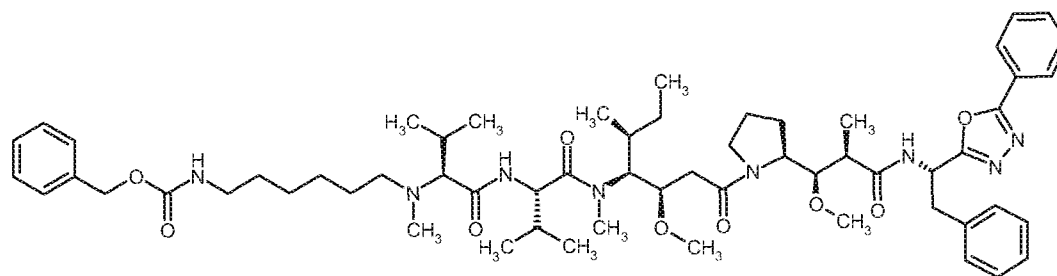
- 5 mg (10 μ mol) dieses Intermediats wurden in 1 ml DMF gelöst und mit 5.8 mg (50 mmol) 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion und anschließend mit 2.6 μ l *N,N*-Diisopropylethylamin und 3.8 mg (10 μ mol) HATU versetzt. Nach 20 h Rühren bei RT wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation aus Dioxan/Wasser 1:1 wurden 1.1 mg (20% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.9$ min;

- 15 LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.87$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1096$ (M+H)⁺.

Intermediat 234

N-(6-[[[(Benzyloxy)carbonyl]amino]hexyl]-*N*-methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(1*S*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino]propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-*L*-valinamid

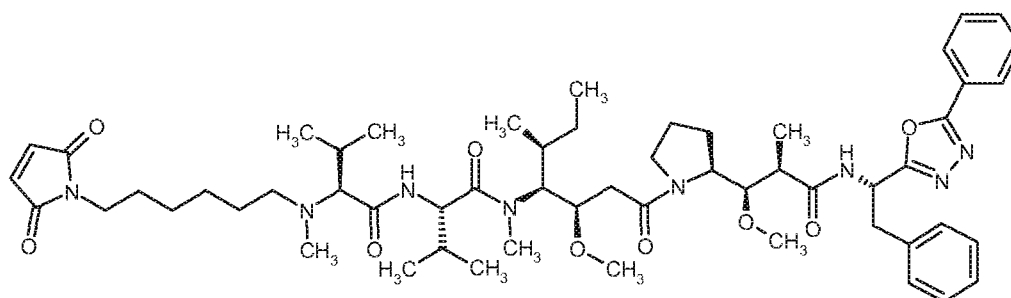


20

- 25 mg (30 μ mol) *N*-Methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(1*S*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino]propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-*L*-valinamid (Intermediat 55) und 45 mg (180 μ mol) Benzyl-(6-oxohexyl)carbammat wurden in 3 ml Methanol aufgenommen und mit Essigsäure sauer gestellt. Bei Raumtemperatur wurden anschliessend 15 μ l (144 μ mol; 9.4M) Boran-Pyridin-

25

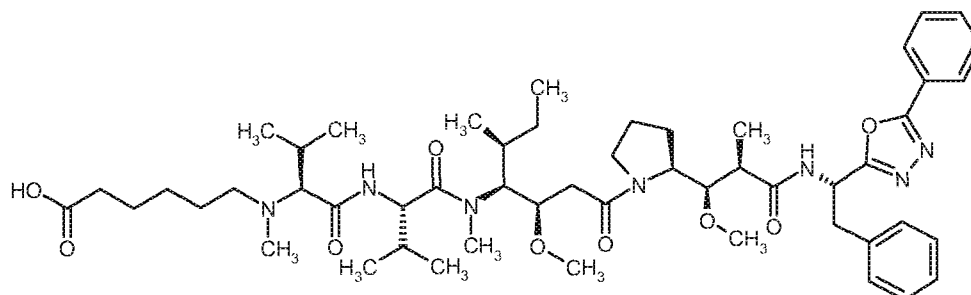
- 471 -



- 11 mg (12 μmol) N-(6-Aminohexyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-((2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[[[(1S)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino]propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl)]-N-methyl-L-valinamid (Intermediat 235) wurden in 500 μl Dioxan/Wasser 1:1 aufgenommen und mit 253 μl IM wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung und anschließend mit 2.8 mg (18 μmol) Methyl-2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-carboxylat versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min bei RT gerührt und danach mit Trifluoressigsäure sauer gestellt. Das Reaktionsgemisch wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 0.8 mg (7% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.
- 10 LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.01$ min; $m/z = 1012$ (M+H) $^+$.

Intermediat 237

N-(5-Carboxypentyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-((2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[[[(1S)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino]propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl)]-N-methyl-L-valinamid



15

- 25 mg (30 μmol) N-Methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-((2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[[[(1S)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino]propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl)]-N-methyl-L-valinamid (Intermediat 55) und 23 mg (180 μmol) 6-Oxohexansäure wurden in 3 ml Methanol aufgenommen und mit Essigsäure sauer gestellt. Bei Raumtemperatur wurden anschliessend 15 μl (144 μmol ; 9.4M) Boran-Pyridin-Komplex zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde anschliessend für 20 h bei RT gerührt, wobei nach 8 h erneut Essigsäure sowie 15 μl (144 μmol ; 9.4M) Boran-Pyridin-Komplex zugegeben wurden. Das
- 20

- 472 -

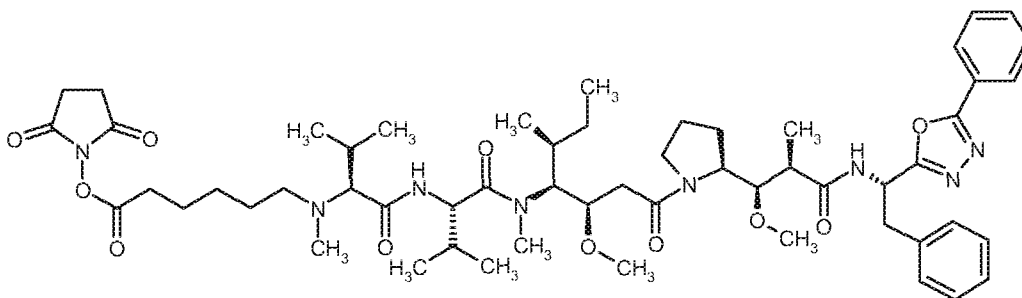
Reaktionsgemisch wurde anschliessend mit Trifluoressigsäure auf pH 2 eingestellt und mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die Produktfraktionen wurden vereinigt, eingengt und der Rückstand lyophilisiert. Es wurden so 21 mg (74% d. Th.) der Titelverbindung als Schaum erhalten.

- 5 LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.91$ min; $m/z = 947$ (M+H)⁺.

Intermediat 238

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(1S)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-

- 10 valinamid



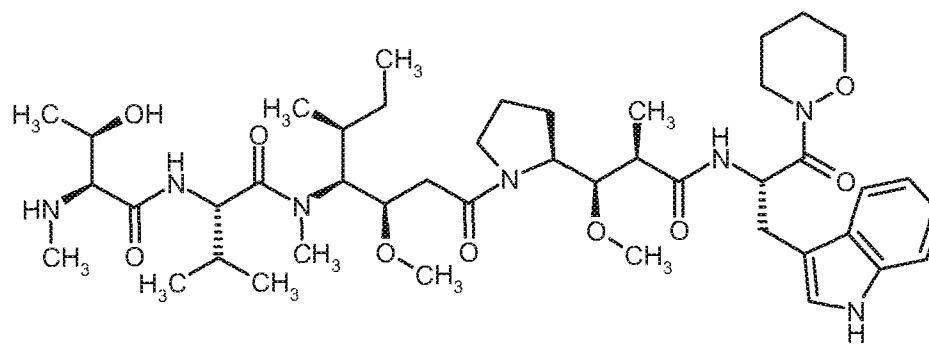
- 21 mg (22 μ mol) von Intermediat 237 wurden in 1 ml DMF gelöst und mit 38 mg (333 μ mol) 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion und anschließend mit 2.4 mg (10 μ mol) O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) und 19 μ l N,N-Diisopropylethylamin versetzt. Nach 2 h Rühren bei RT wurde das Reaktionsgemisch mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 22 mg (96% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.95$ min; $m/z = 1044$ (M+H)⁺.

Intermediat 239

- 20 N-Methyl-L-threonyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid-Trifluoacetat

- 473 -



Zunächst wurde *N*-[(Benzyloxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-threonin aus 237 mg (0.887 mmol) seines Dicyclohexylamin-Salzes durch Aufnehmen in Ethylacetat und Ausschütteln mit 5%-iger wässriger Schwefelsäure freigesetzt. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. 14.7 mg (0.055 mmol) von *N*-[(Benzyloxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-threonin wurden
 5 in 3 ml DMF aufgenommen und nacheinander mit 40 mg (0.055 mmol) von Intermediat 220, 12.7 mg (0.066 mmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid und 10 mg (0.066 mmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat versetzt. Die Mischung wurde anschließend 2 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde danach im Vakuum entfernt und der Rückstand durch präparative HPLC gereinigt. Es wurden so 29 mg (54% d. Th.) des *Z*-geschützten Intermediats
 10 erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.15$ min; MS (ESIpos): $m/z = 976$ (M+H)⁺.

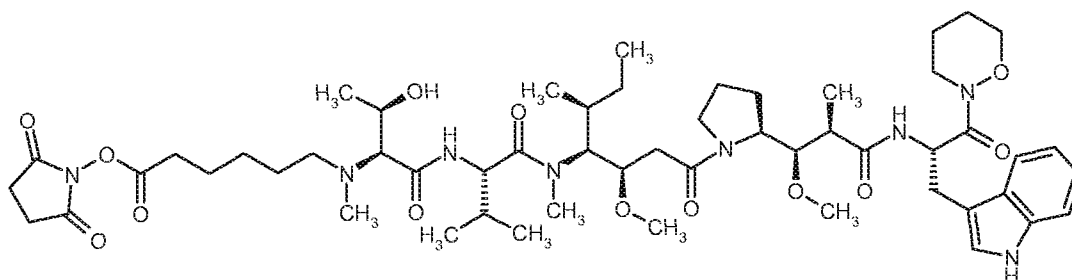
29 mg (0.003 mmol) dieses Intermediats wurden in 5 ml Methanol gelöst und bei RT und Normaldruck 1 h lang über 5 mg 5% Palladium/Kohle hydriert. Der Katalysator wurde anschließend abfiltriert und das Lösungsmittel abgedampft. Der verbliebene Rückstand wurde durch präparative
 15 HPLC gereinigt. Es wurden 17 mg (54% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.77$ min; MS (ESIpos): $m/z = 842$ (M+H)⁺.

Intermediat 240

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-*N*-methyl-L-threonyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-
 20 [(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

- 474 -



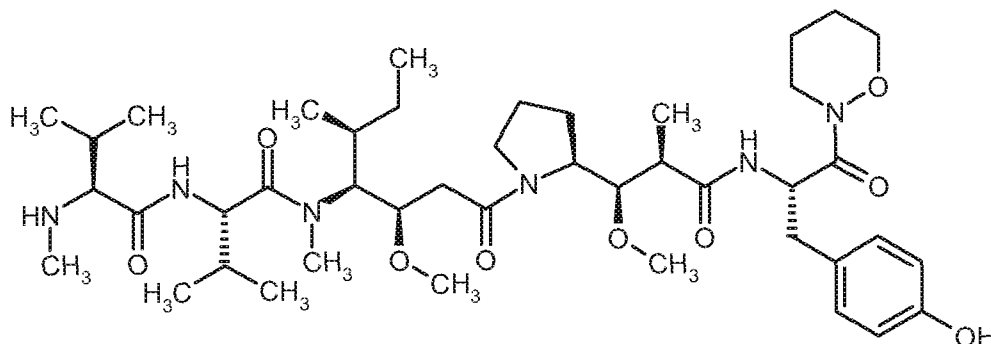
Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 210 aus 15.6 mg (0.016 mmol) Intermediat 239 hergestellt. Es wurden 10.8 mg (67% d. Th. über 2 Stufen) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.7$ min;

- 5 LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.85$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1053$ (M+H)⁺.

Intermediat 241

N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(4-hydroxyphenyl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



10

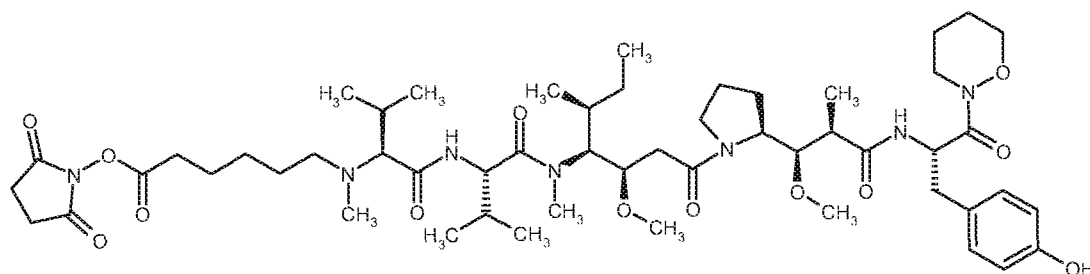
Zunächst wurde in Analogie zu Intermediat 5 Trifluoressigsäure-(2S)-2-amino-3-(4-hydroxyphenyl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)propan-1-on(1:1) hergestellt. Aus diesem Baustein wurde dann in Analogie zu der in Intermediat 75 beschriebenen Synthese durch Kupplung mit *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-carboxy-1-methoxy-
15 propyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) in Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure die Titelverbindung hergestellt.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.7$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.75$ min; MS (ESIpos): $m/z = 817$ (M+H)⁺.

Intermediat 242

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(4-hydroxyphenyl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



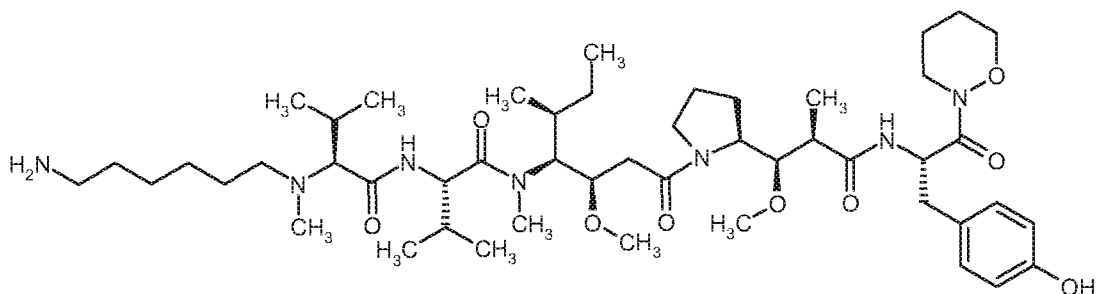
50 mg (0.05 mmol) von Intermediat 241 wurden in Analogie zu Intermediat 210 mit 6-Oxohexansäure in Gegenwart von Boran-Pyridin-Komplex umgesetzt. Anschließend wurden 22.5 mg (0.02 mmol) der erhaltenen Säure in den aktivierten Ester überführt. Es wurden 13.5 mg (36% d. Th. über 2 Stufen) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.8$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.86$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1028$ (M+H)⁺.

Intermediat 243

15 N-(6-Aminoheptyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(4-hydroxyphenyl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



- 476 -

Die Herstellung erfolgte in Analogie zu Intermediat 78 durch reduktive Alkylierung von Intermediat 241 mit Benzyl-(6-oxohexyl)carbamat und Boran-Pyridin-Komplex und anschließender Hydrierung in Methanol als Lösungsmittel.

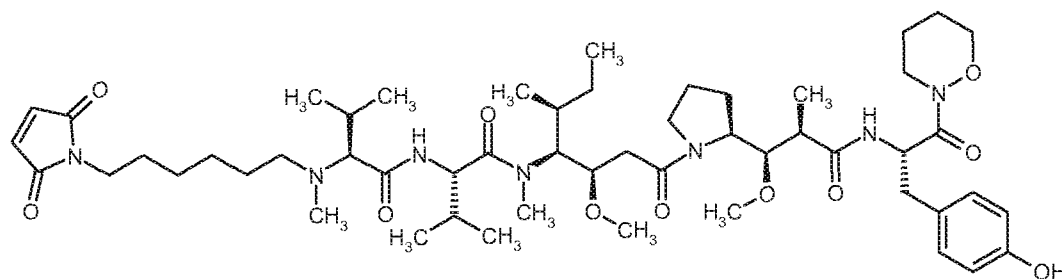
Ausbeute: 17.5 mg (34% d.Th. über 2 Stufen)

5 HPLC (Methode 12): $R_t = 1.7$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.63$ min; MS (ESIpos): $m/z = 916$ (M+H)⁺.

Intermediat 244

N-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-
 10 [(1R,2R)-3-[(2S)-3-(4-hydroxyphenyl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-
 methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-
 methyl-L-valinamid



Die Herstellung erfolgte in Analogie zu Intermediat 166 ausgehend von Intermediat 243.

Ausbeute: 1.3 mg (12% d.Th.)

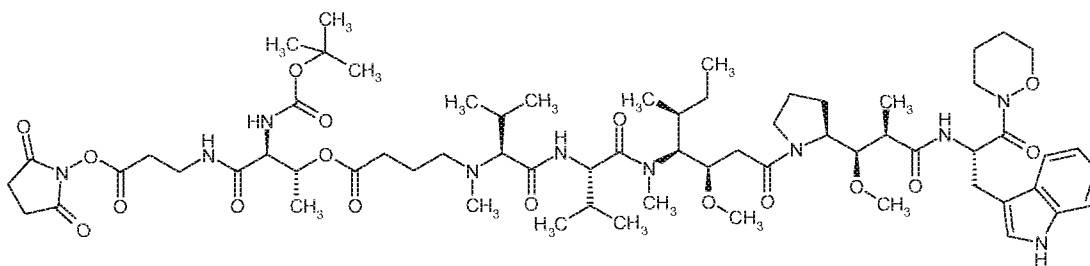
15 HPLC (Methode 12): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.89$ min; MS (ESIpos): $m/z = 996$ (M+H)⁺.

Intermediat 245

2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl-O-[(3R,4S,7S,10S)-4-[(2S)-butan-2-yl]-3-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-
 20 3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-
 oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-2-oxoethyl)-7,10-diisopropyl-5,11-dimethyl-6,9,15-trioxo-2-oxa-
 5,8,11-triazapentadecan-15-yl]-N-(tert.-butoxycarbonyl)-L-threonyl-beta-alaninat

- 477 -



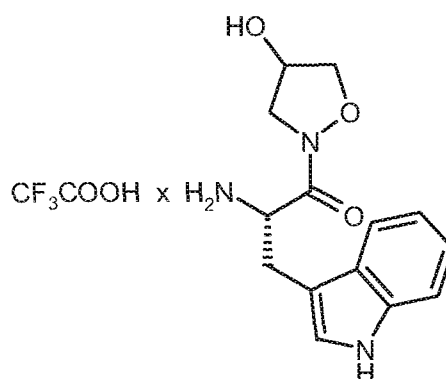
Zunächst wurde Intermediat 193 wie für Intermediat 154 beschrieben mit Benzyl-N-(tert.-
 5 butoxycarbonyl)-L-threoninat umgesetzt und anschließend der Benzylester hydrogenolytisch
 entfernt. 30 mg (0.027 mmol) von dem so erhaltenen N-[4-((1S,2R)-1-[(tert.-
 Butoxycarbonyl)amino]-1-carboxypropan-2-yl)oxy]-4-oxobutyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-
 10 {(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-
 methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-
 valinamid wurden dann mit 4-Methylbenzolsulfonsäure-benzyl-beta-alaninat in Gegenwart von HATU
 15 gekuppelt und der Benzylester erneut durch Hydrogenolyse entfernt (Ausbeute: 24 mg (71% d. Th.
 über 2 Stufen). Schließlich wurden 10 mg (0.008 mmol) der erhaltenen Säure in den aktivierten
 Ester überführt. Nach HPLC Reinigung wurden 2.7 mg (23% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.9$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 1.01$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1295$ (M+H)⁺

15 Intermediat 246a

(2S)-2-Amino-1-(4-hydroxy-1,2-oxazolidin-2-yl)-3-(1H-indol-3-yl)propan-1-on-Trifluoracetat
 (Diastereomer 1)



1.6 g (3.982 mmol) 2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl-N-(tert.-butoxycarbonyl)-L-tryptophanat wurden in
 20 15 ml DMF gelöst und mit 500 mg (3.982 mmol) 1,2-Oxazolidin-4-ol und 100 μ l *N,N*-
 Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt. Dann

- 478 -

wurden nochmals 100 µl *N,N*-Diisopropylethylamin hinzugegeben, der Ansatz zunächst 5 h im Ultraschallbad behandelt, dann über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Vakuum eingeeengt. Der verbliebene Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und zuerst zweimal mit 5%-iger wässriger Zitronensäure-Lösung, dann mit gesättigter wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung und schließlich mit Wasser extrahiert. Die organische Phase wurde eingeeengt und der Rückstand durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan/Methanol 95:5 als Eluent in die Diastereomere aufgetrennt. Die entsprechenden Fraktionen von beiden Diastereomeren wurden vereinigt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Trocknen der Rückstände im Hochvakuum wurden 272 mg (18% d.Th.) von Diastereomer 1 ($R_f = 0.18$) (Dichlormethan/Methanol 95:5) und 236 mg (16% d.Th.) von Diastereomer 2 ($R_f = 0.13$) (Dichlormethan/Methanol 95:5) sowie 333 mg (22% d.Th.) einer Mischfraktion der Boc-geschützten Intermediate erhalten.

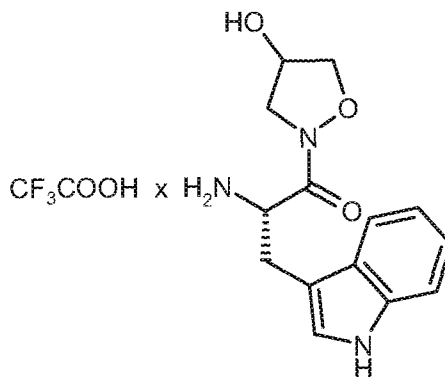
Aus 272 mg (725 µmol) von Diastereomer 1 dieses Intermediats wurde nach Standardbedingungen mit 5 ml Trifluoressigsäure in 20 ml Dichlormethan die Boc-Schutzgruppe abgespalten und nach Lyophilisation aus Dioxan/Wasser 290 mg (quant) der Titelverbindung in 75%iger Reinheit erhalten und ohne weitere Aufreinigung in die nächste Stufe eingesetzt.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.1$ min;

LC-MS (Methode 13): $R_t = 1.80$ min; MS (ESIpos): $m/z = 276$ (M+H)⁺

Intermediat 246b

(2*S*)-2-Amino-1-(4-hydroxy-1,2-oxazolidin-2-yl)-3-(1*H*-indol-3-yl)propan-1-on-Trifluoracetat (Diastereomer 2)



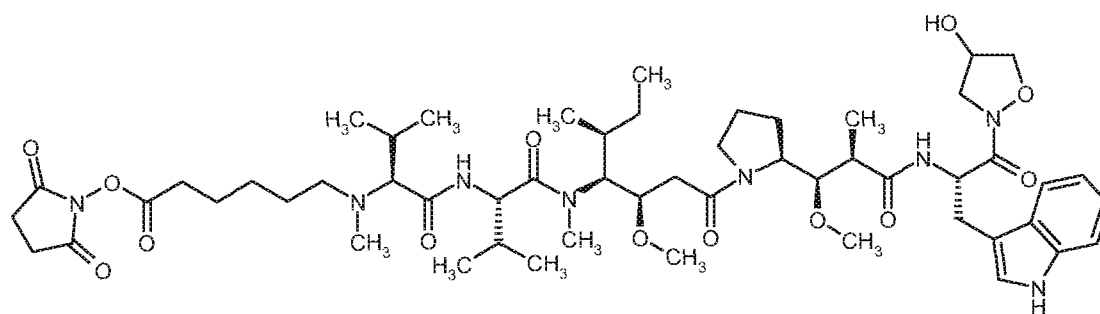
Aus 236 mg (630 µmol) von Diastereomer 2 des unter 246a beschriebenen Intermediats wurden nach Standardbedingungen mit 5 ml Trifluoressigsäure in 20 ml Dichlormethan die Boc-

Schutzgruppe abgespalten und nach Einengen, Verrühren mit Diethylether und Trocknen des Rückstandes im Hochvakuum 214 mg (76%) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 13): $R_t = 1.84$ min; MS (ESIpos): $m/z = 276$ (M+H)⁺

Intermediat 247a

- 5 N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-(4-hydroxy-1,2-oxazolidin-2-yl)-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid (Diastereomer 1)



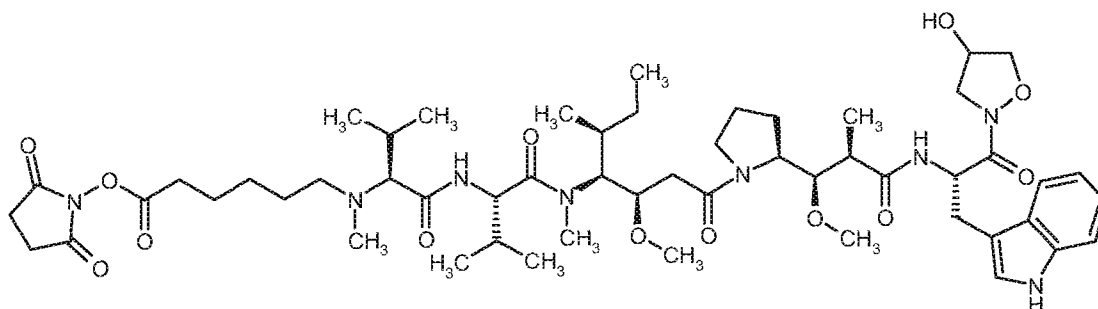
- 10 Zur Synthese dieser Verbindung wurde zunächst wie für Intermediat 74 beschrieben die Kupplung der Intermediate 26 und 246a mit anschließender Abspaltung der Boc-Schutzgruppe durchgeführt. Anschließend wurde wie für Intermediat 210 beschrieben die Alkylierung mit 6-Oxohexansäure in Gegenwart von Boran-Pyridin-Komplex und anschließende Überführung der Säure in den Aktivester durchgeführt. Die Titelverbindung wurde durch präparative HPLC gereinigt.

- 15 HPLC (Methode 12): $R_t = 1.8$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.86$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1053$ (M+H)⁺

Intermediat 247b

- 20 N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-(4-hydroxy-1,2-oxazolidin-2-yl)-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid (Diastereomer 2)



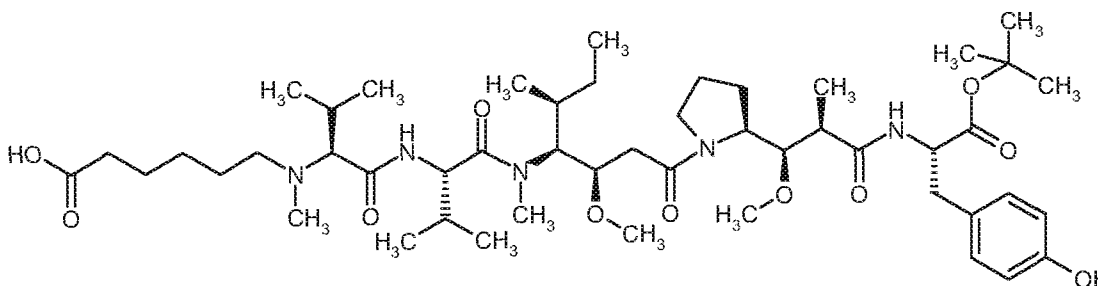
- Zur Synthese dieser Verbindung wurde zunächst wie für Intermediat 74 beschrieben die Kupplung der Intermediate 26 und 246b mit anschließender Abspaltung der Boc-Schutzgruppe durchgeführt. Anschließend wurde wie für Intermediat 210 beschrieben die Alkylierung mit 6-Oxohexansäure in Gegenwart von Boran-Pyridin-Komplex und anschließende Überführung der Säure in den Aktivester durchgeführt. Die Titelverbindung wurde durch präparative HPLC gereinigt.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.8$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.86$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1053$ (M+H)⁺

Intermediat 248

- 10 N-(5-Carboxypentyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-tert.-butoxy-3-(4-hydroxyphenyl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



- 15 Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 86 beschriebenen Synthese durch Kupplung von N-(tert.-Butoxycarbonyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) und tert.-Butyl-L-tyrosinat in Gegenwart von O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure unter Erhalt des tert.-Butylesters (40 min Rühren mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan) die Amin-Verbindung tert.-Butyl-N-[(2R,3R)-3-methoxy-3-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-5-methyl-4-(methyl{(2S)-3-methyl-2-[(N-methyl-L-valyl)amino]butyl)amino]heptanoyl]pyrrolidin-2-yl]-2-methylpropanoyl]-L-tyrosinat als Trifluoressigsäurehergestelltes Salz hergestellt. Aus 38 mg (0.04

- 481 -

mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 210 durch Umsetzung mit 6-Oxohexansäure in Gegenwart von Boran-Pyridin-Komplex 31 mg (99% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.8$ min;

- 5 LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.88$ min; MS (ESIpos): $m/z = 918$ (M+H)⁺.

B: Herstellung von Antikörper-Wirkstoff-Konjugaten (ADC)

Die zuvor beschriebenen Intermediate wurden beispielsweise an den anti-Mesothelin-Antikörper MF-Ta geknüpft, wobei die Verknüpfung nach den nachfolgend aufgeführten Verfahren wahlweise über Cystein- oder Lysin-Seitenketten des Antikörperproteins erfolgte. Die Herstellung des anti-
5 Mesothelin-Antikörpers MF-Ta wurde analog zu den in WO 2009/068204-A1 beschriebenen Verfahren durchgeführt. Der Antikörper MF-Ta wurde in eukaryotischen CHO-Zellen (stabile Zelllinie) exprimiert und über Protein A und Gelfiltration aufgereinigt, bevor er in D-PBS-Puffer der Konjugation unterzogen wurde.

B-1. Allgemeine Arbeitsvorschrift 1 (Kupplung über Cystein):

10 Zu einer Lösung des entsprechenden Antikörpers in PBS-Puffer im Konzentrationsbereich zwischen 1 mg/ml und 15 mg/ml wurden 3 Äquivalente Tris(2-carboxyethyl)phosphin-Hydrochlorid (TCEP), gelöst in PBS-Puffer, gegeben und 1h bei RT gerührt. Anschließend wurden, je nach angestrebter Beladung, zwischen 2 und 10 Äquivalenten der zu kuppelnden Maleinimid-Vorläufer-Verbindung oder Halogenid-Vorläufer-Verbindung aus (Intermediate 102, 103, 105-109,
15 111-114, 117-126, 128, 129, 132-146, 148-155, 157, 159-161, 166, 171, 175-177, 184, 189, 194-195, 199-201, 205, 209, 223-224, 226, 228-231, 236 und 244) als Lösung in DMSO hinzugefügt. Dabei sollte die Menge an DMSO 10% des Gesamtvolumens nicht überschreiten. Der Ansatz wurde 60-120 min bei RT gerührt und anschließend über in PBS equilibrierte PD 10-Säulen (Sephadex® G-25, GE Healthcare) gegeben und mit PBS-Puffer eluiert. Gegebenenfalls wurde
20 noch eine Aufkonzentration mittels Ultrazentrifugation durchgeführt. Falls notwendig wurde zur besseren Abtrennung niedermolekularer Bestandteile die Aufkonzentration mittels Ultrafiltration nach Rückverdünnung mit PBS Puffer wiederholt.

Üblicherweise wurden, wenn nicht anders angegeben, 5 mg des entsprechenden Antikörpers in PBS-Puffer zur Reduktion und der nachfolgenden Kupplung eingesetzt. Nach Aufreinigung über
25 die PD10 Säule wurden so jeweils Lösungen des entsprechenden ADCs in 3.5 ml PBS-Puffer erhalten. Für diese Lösungen wurde dann die jeweils angegebene Proteinkonzentration bestimmt. Weiterhin wurde die Beladung des Antikörpers (Drug/mAb Ratio) nach den unter B-4. beschriebenen Methoden ermittelt.

Nach diesem Verfahren wurden die in den Beispielen 1, 2, 5-19, 21-28, 30, 31, 33-37, 39-46, 48,
30 51-57, 59, 60, 71, 73-76, 78-80, 82-84, 86-87, 96, 98-103, 108 und 112 dargestellten Immunokonjugate hergestellt.

In den dargestellten Strukturformeln hat dabei AK₁ die Bedeutung

AK₁ = MF-Ta (partiell reduziert)-SS¹ ,

- 483 -

wobei

§¹ die Verknüpfung mit der Succinimid-Gruppe bedeutet,

MF-Ta (partiell reduziert) für den partiell reduzierten MF-Ta Antikörper steht (schwere Kette SEQ ID NO: 408 und leichte Kette SEQ ID NO: 409),

5 und

S für das Schwefelatom eines Cystein-Restes des partiell reduzierten Antikörpers steht.

B-2. Allgemeine Arbeitsvorschrift 2 (Kupplung über Lysin-Seitenketten):

Zu einer Lösung des entsprechenden Antikörpers in PBS-Puffer im Konzentrationsbereich
 10 zwischen 1 mg/ml und 15 mg/ml wurden, je nach angestrebter Beladung, zwischen 2 und 5 Äqui-
 valente der zu kuppelnden Vorläufer-Verbindung (Intermediate 104, 110, 115, 116, 127, 130, 131,
 147, 156, 158, 162, 169, 178, 185, 190, 202, 206, 210-216, 218, 219, 227, 233, 238, 240, 242, 245,
 247a und 247b) als Lösung in DMSO gegeben. Nach 30 min Rühren bei RT wurde nochmals die
 gleiche Menge an Vorläufer-Verbindung in DMSO hinzugefügt. Alternativ konnten auch 4 - 10
 15 Äquivalente der zu kuppelnden Vorläufer-Verbindung in einem Schuß zugegeben werden. Dabei
 sollte die Menge an DMSO 10% des Gesamtvolumens nicht überschreiten. Nach weiteren 30 min
 Rühren bei RT wurde der Ansatz über in PBS equilibrierte PD 10-Säulen (Sephadex® G-25, GE
 Healthcare) gegeben und mit PBS-Puffer eluiert. Gegebenenfalls wurde noch eine Auf-
 konzentration mittels Ultrazentrifugation durchgeführt. Falls notwendig wurde zur besseren
 20 Abtrennung niedermolekularer Bestandteile die Aufkonzentration mittels Ultrafiltration nach
 Rückverdünnung mit PBS Puffer wiederholt.

Üblicherweise wurden, wenn nicht anders angegeben, 5 mg des entsprechenden Antikörpers in
 PBS Puffer zur Kupplung eingesetzt. Nach Aufreinigung über die PD10 Säule wurden so jeweils
 Lösungen des entsprechenden ADCs in 3.5 ml PBS-Puffer erhalten. Für diese Lösungen wurde
 25 dann die jeweils angegebene Proteinkonzentration bestimmt sowie die Beladung des Antikörpers
 (Drug/mAb Ratio) nach den unter B-4. beschriebenen Methoden ermittelt.

Nach diesem Verfahren wurden die in den Beispielen 3, 4, 20, 29, 32, 38, 47, 49, 50, 58, 61, 72,
 77, 81, 85, 88- 95, 97, 104, 109-111 und 113-115 dargestellten Immunokonjugate hergestellt.

In den dargestellten Strukturformeln hat dabei AK₂ die Bedeutung

30 $AK_2 = MF-Ta-NH\text{§}^2$,

- 484 -

wobei

§² die Verknüpfung mit der Carbonylgruppe bedeutet,

MF-Ta für den nicht reduzierten MF-Ta Antikörper (schwere Kette SEQ ID NO: 408 und leichte Kette SEQ ID NO: 409) steht,

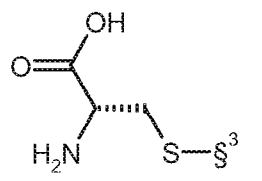
5 und

NH für die Seitenketten-Aminogruppe eines Lysin-Restes des Antikörpers steht.

B-3a. Allgemeines Verfahren zur Herstellung von Cystein-Addukten:

10 10 μmol der oben beschriebenen Maleinimid-Vorläuferverbindungen wurden in 3 ml DMF aufgenommen und mit 2.1 mg (20 μmol) L-Cystein versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2h bei RT gerührt, anschließend im Vakuum eingengt und dann mittels präparativer HPLC gereinigt.

In den dargestellten Strukturformeln hat dabei Cys die Bedeutung



wobei

§³ die Verknüpfung mit der Linker-Toxophor-Einheit bedeutet.

15 B-3b. Allgemeines Verfahren zur Herstellung von Lysin-Addukten:

10 10 μmol der oben beschriebenen Aktivester-Vorläuferverbindungen wurden in 5 ml DMF aufgenommen und in Gegenwart von 30 μmol N,N-Diisopropylethylamin mit α-Amino-geschütztem L-Lysin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2h bei RT gerührt, anschließend im Vakuum eingengt und dann mittels präparativer HPLC gereinigt. Anschließend wurde die
20 Schutzgruppe nach bekannten Methoden entfernt.

Weitere Aufreinigung und Charakterisierung der erfindungsgemäßen Konjugate

Nach erfolgter Umsetzung wurde in einigen Fällen das Reaktionsgemisch beispielsweise durch Ultrafiltration aufkonzentriert und anschließend mittels Chromatographie, beispielsweise mittels einer Sephadex® G-25, entsalzt und gereinigt. Die Elution erfolgte beispielsweise mit Phosphat-

- 485 -

gepufferter Salzlösung (PBS). Anschließend wurde die Lösung sterilfiltriert und eingefroren. Alternativ kann das Konjugat lyophilisiert werden.

B-4. Bestimmung der Toxophorbeladung

Von den erhaltenen Lösungen der in den Ausführungsbeispielen beschriebenen Konjugate in PBS
5 Puffer wurde die Toxophorbeladung wie folgt bestimmt:

Die Bestimmung der Toxophor Beladung von Lysin-verknüpften ADCs erfolgte nach
massenspektrometrischer Bestimmung der Molekulargewichte der einzelnen Konjugatspezies.
Hierbei wurden vorab die Antikörperkonjugate mittels PNGaseF deglycosyliert, die Probe
angesäuert und nach HPLC-Trennung massenspektrometrisch mittels ESI-MicroToFQ (Bruker
10 Daltonik) analysiert. Alle Spektren über das Signal im TIC (Total Ion Chromatogramm) wurden
addiert und das Molekulargewicht der verschiedenen Konjugatspezies auf Basis von MaxEnt
Deconvolution kalkuliert. Nach Signal Integration der verschiedenen Spezies wurde dann die DAR
(= Drug/Antibody Ratio) berechnet.

Zur Protein Identifizierung wurde neben der Molekulargewichtsbestimmung nach Deglykosilierung
15 und/oder Denaturierung ein tryptischer Verdau durchgeführt, der nach Denaturierung, Reduktion
und Derivatisierung die Identität des Proteins anhand der nachgewiesenen tryptischen Peptide
bestätigte.

Die Bestimmung der Toxophorbeladung von Cystein-verknüpften Konjugaten wurde über
Reversed-Phase-Chromatographie des reduzierten und denaturierten ADCs bestimmt. Zur ADC-
20 Lösung (1mg/mL, 50 μ L) wurde Guanidinium-Hydrochlorid (GuHCl) (28.6 mg) und eine Lösung
von DL-Dithiothreitol (DTT) (500mM, 3 μ L) gegeben. Die Mischung wurde für eine Stunde bei 55
°C inkubiert und über HPLC analysiert.

Die HPLC-Analyse wurde auf einem Agilent 1260 HPLC-System mit Detektion bei 220 nm
durchgeführt. Es wurde eine Polymer Laboratories PLRP-S Polymeric Reversed Phase Säule
25 (Katalognummer PL1912-3802) (2.1 x150 mm, 8 μ m particle size, 1000 Å) bei einer Flussrate von
1 mL/min mit folgendem Gradienten verwendet: 0 min, 25 %B; 3 min, 25 %B; 28 min, 50 %B.
Laufmittel A bestand aus 0.05 % Trifluoressigsäure (TFA) in Wasser, Laufmittel B aus 0.05 %
Trifluoressigsäure in Acetonitril.

Die detektierten Peaks wurden durch Retentionszeitvergleich mit der leichten Kette (L0) und der
30 schweren Kette (H0) des nicht konjugierten Antikörpers zugeordnet. Peaks, die ausschließlich in
der konjugierten Probe detektiert wurden, wurden der leichten Kette mit einem Toxophor (L1) und
den schweren Ketten mit einem, zwei und drei Toxophoren (H1, H2, H3) zugeordnet.

- 486 -

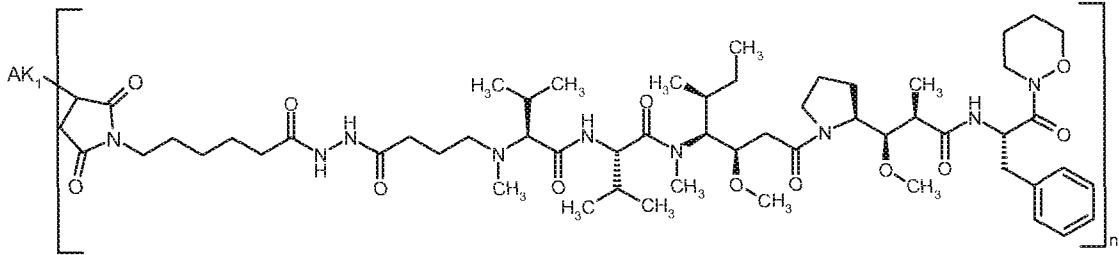
Die durchschnittliche Beladung des Antikörpers mit Toxophoren wurde folgendermaßen berechnet: Zunächst wurde die Leichte-Kette-Beladung aus den durch Integration bestimmten Peakflächen der zu den leichten Ketten gehörenden Peaks L0 und L1 als die Summe der Toxophor-Anzahl gewichteten Integrationsergebnisse von L0 und L1 geteilt durch die Summe der einfach gewichteten Integrationsergebnisse von L0 und L1 berechnet. Genauso wurde die Schwere-Kette-Beladung aus den durch Integration bestimmten Peakflächen der zu den schweren Ketten gehörenden Peaks H0,H1,H2 und H3 als die Summe der Toxophor-Anzahl gewichteten Integrationsergebnisse von H0,H1,H2 und H3 geteilt durch die Summe der einfach gewichteten Integrationsergebnisse von H0,H1,H2 und H3 berechnet. Die DAR ergibt sich aus der Leichte-Kette-Beladung und der Schwere-Kette-Beladung als die zweifache Summe aus Leichte-Kette-Beladung und Schwere-Kette-Beladung. Der Faktor 2 berücksichtigt, dass ein Antikörper aus je zwei leichten und zwei schweren Ketten besteht. In vereinzelt Fällen kann es vorkommen, dass die Toxophorbeladung aufgrund von Ko-Elutionen einiger Peaks nicht exakt möglich ist.

B-5. Überprüfung der Antigen-Bindung des ADCs

Die Bindefähigkeit des Binders an das Zielmolekül wurde nach erfolgter Kopplung überprüft. Dazu sind dem Fachmann vielfältige Methoden bekannt, beispielsweise kann die Affinität des Konjugats mittels ELISA Technologie oder Oberflächenplasmonresonanzanalyse (BIAcore™ Messungen) überprüft werden. Die Konjugatkonzentration kann der Fachmann mit gängigen Methoden messen, beispielsweise für Antikörper-Konjugate mittels Proteinbestimmung. (siehe auch Doronina et al.; Nature Biotechnol. 2003; 21:778-784 und Polson et al., Blood 2007; 1102:616-623).

Ausführungsbeispiele Immunkonjugate

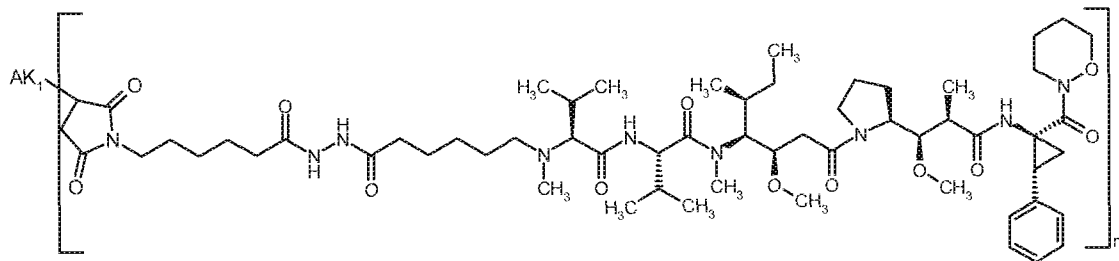
Beispiel 1



Protein Konzentration: 0.96 mg/ml

5 Drug/mAb Ratio: 3.1

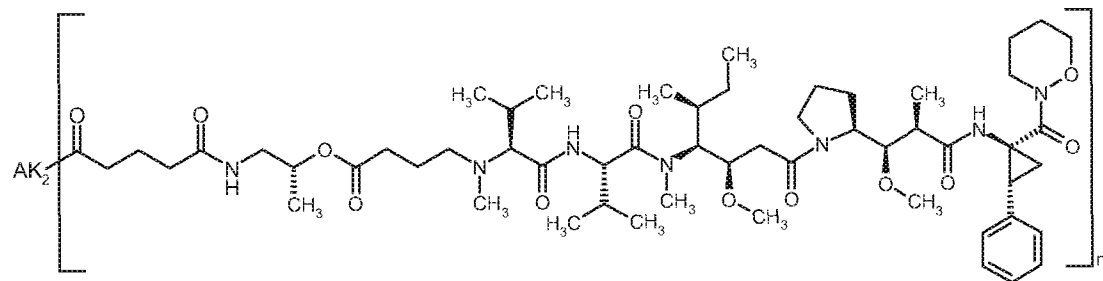
Beispiel 2



Protein Konzentration: 0.44 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 4.6

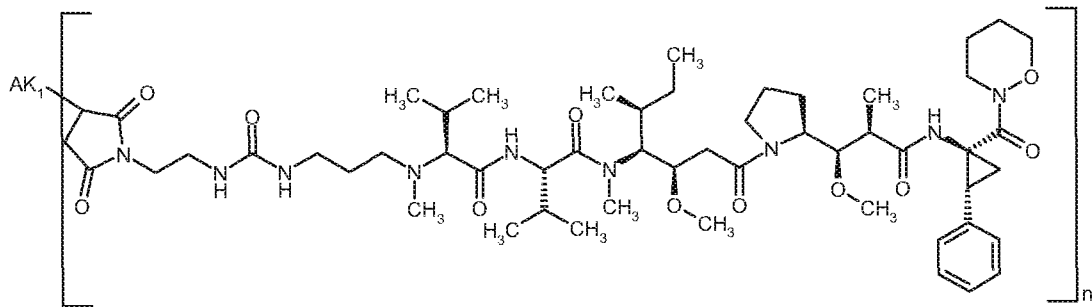
10 **Beispiel 3**



Protein Konzentration: 1.09 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 2.1

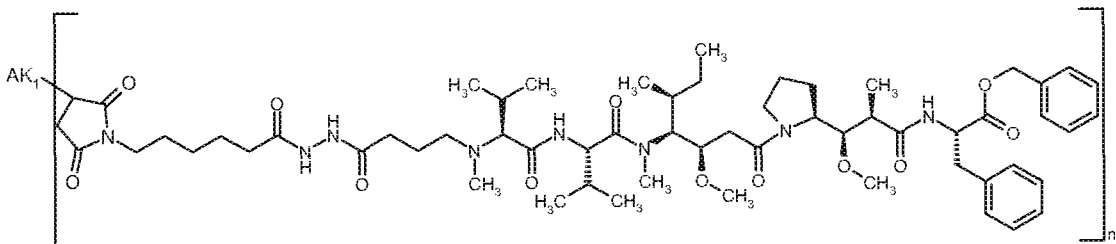
Beispiel 7



Protein Konzentration: 0.94 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 2.8

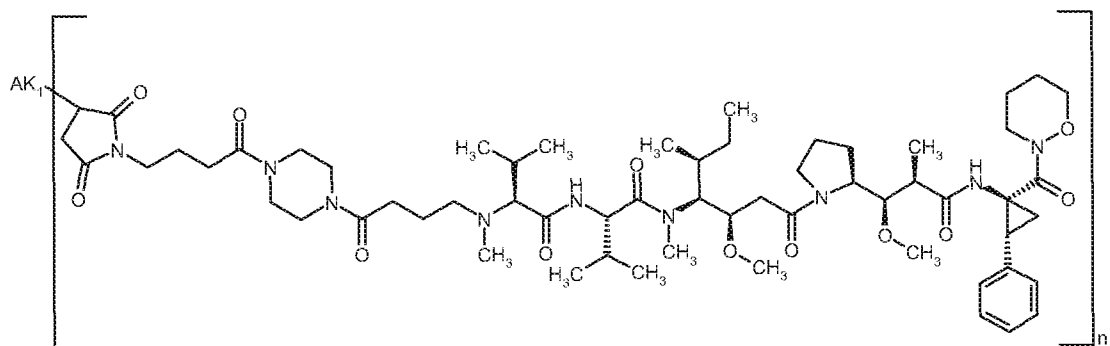
5 **Beispiel 8**



Protein Konzentration: 0.45 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 0.9

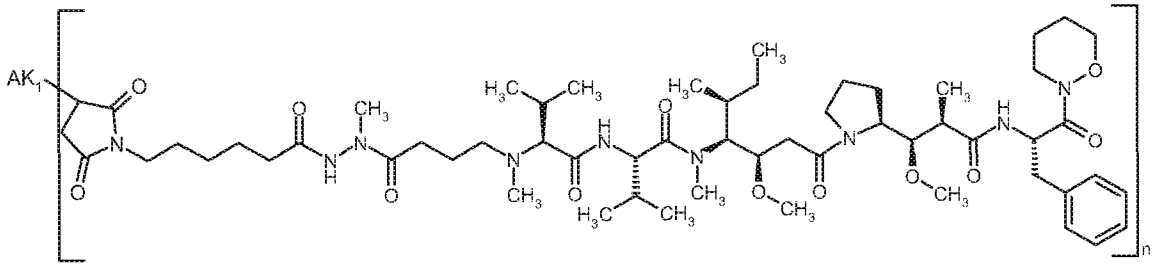
Beispiel 9



10 Protein Konzentration: 0.51 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 6.6

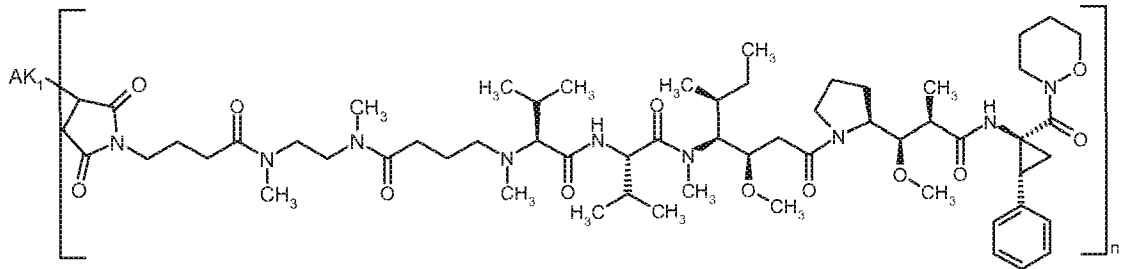
Beispiel 10



Protein Konzentration: 0.47 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 4.2

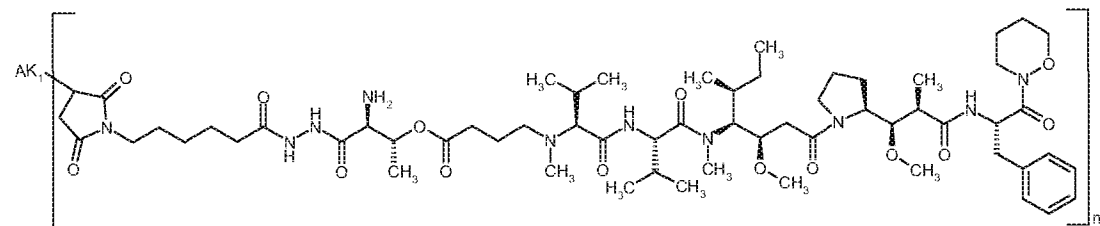
5 **Beispiel 11**



Protein Konzentration: 0.45 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 5.9

Beispiel 12

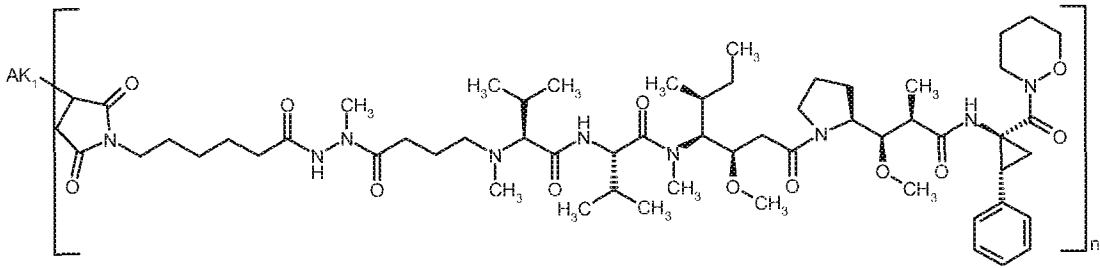


10

Protein Konzentration: 0.47 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 3.3

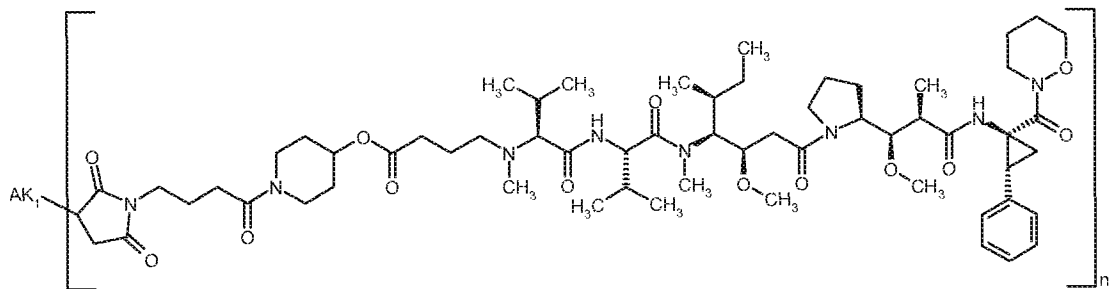
Beispiel 13



Protein Konzentration: 0.53 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 2.8

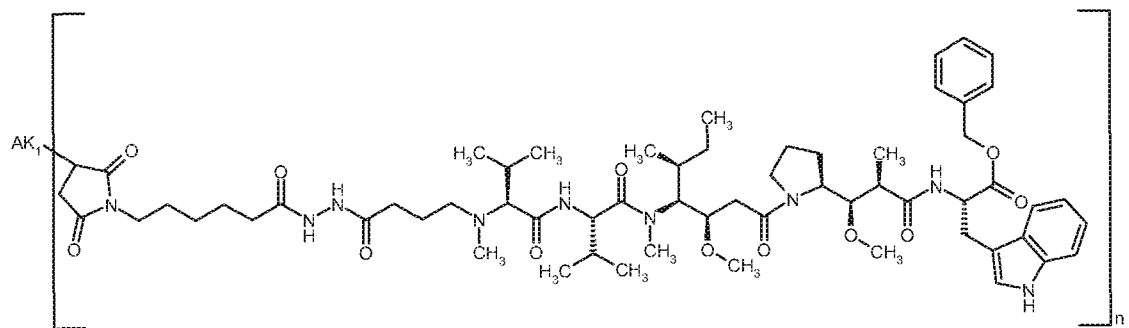
5 **Beispiel 14**



Protein Konzentration: 0.92 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 3.5

Beispiel 15



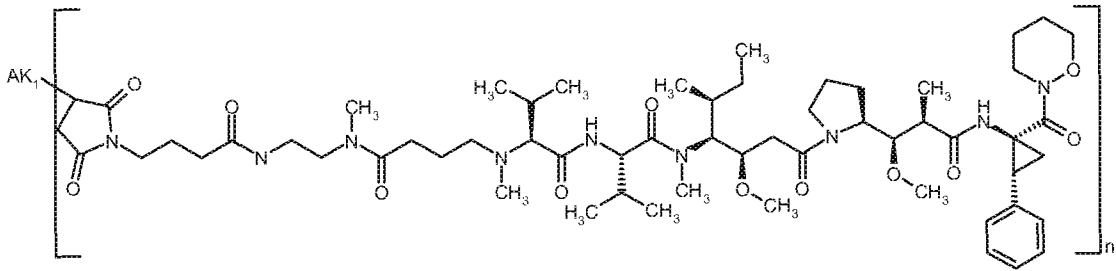
10

Protein Konzentration: 0.09 mg/ml

Drug/mAb Ratio: nd

Drug/mAb Ratio: 0.9

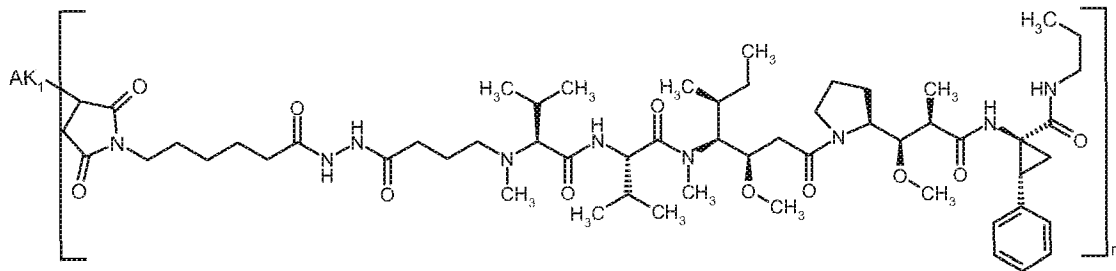
Beispiel 22



5 Protein Konzentration: 0.57 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 1.2

Beispiel 23

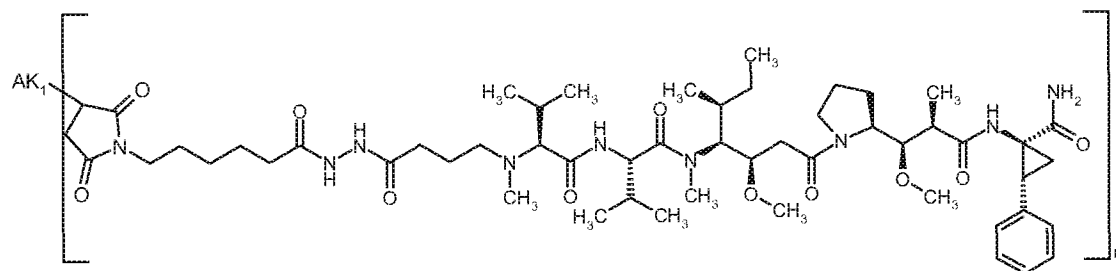


10 Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 100mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert.

Protein Konzentration: 11.2 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 3.4

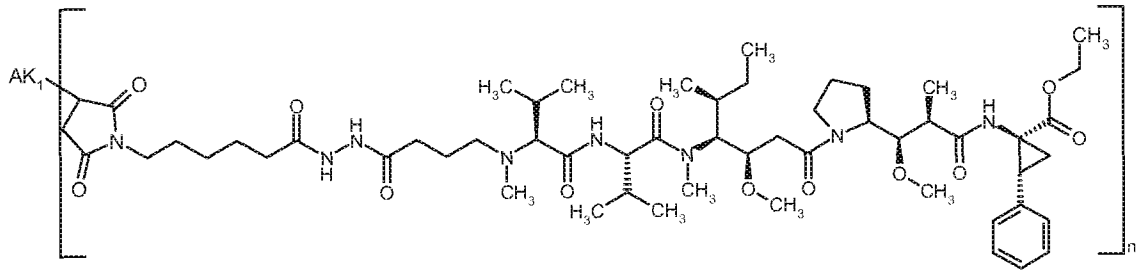
Beispiel 24



Protein Konzentration: 1.56 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 2.8

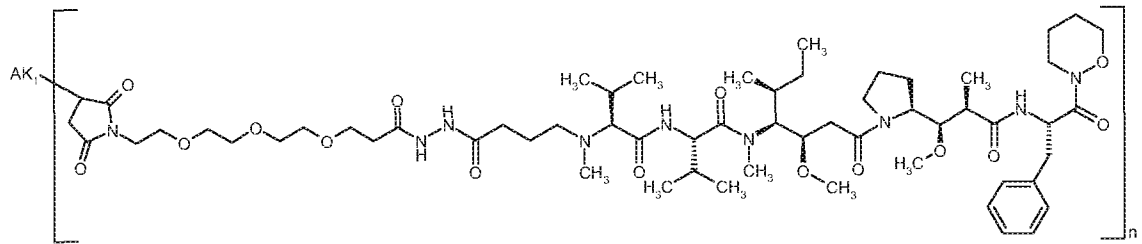
Beispiel 25



5 Protein Konzentration: 0.60 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 2.4

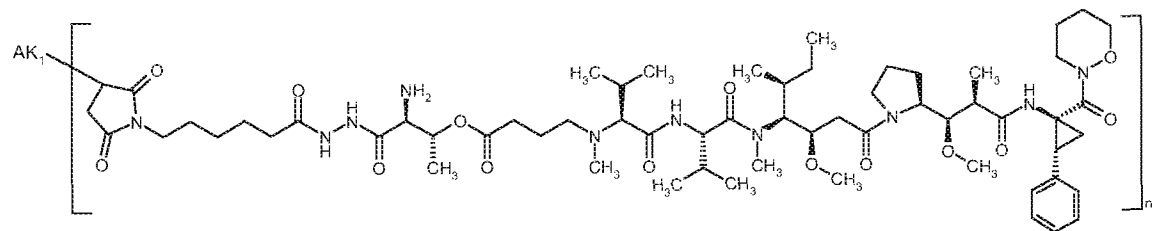
Beispiel 26



10 Proteinkonzentration: 0.58 mg/ml

Drug/mAb-Ratio: 2.6

Beispiel 27



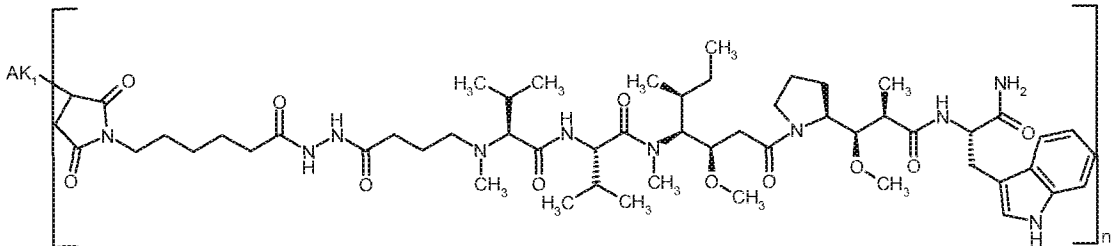
Proteinkonzentration: 0.39 mg/ml

15 Drug/mAb-Ratio: 0.8

Protein Konzentration: 0.55 mg/ml

Drug/mAb Ratio: nicht bestimmbar

Beispiel 31

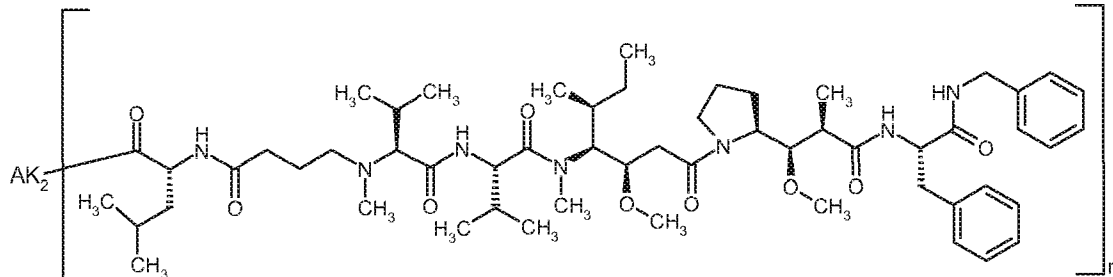


- 5 Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 40 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert.

Protein Konzentration: 10.6 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 4.1

Beispiel 32

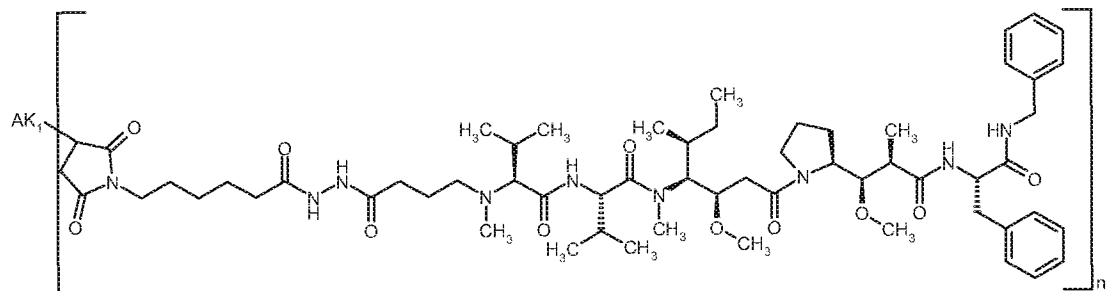


10

Protein Konzentration: 0.96 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 0.4

Beispiel 33



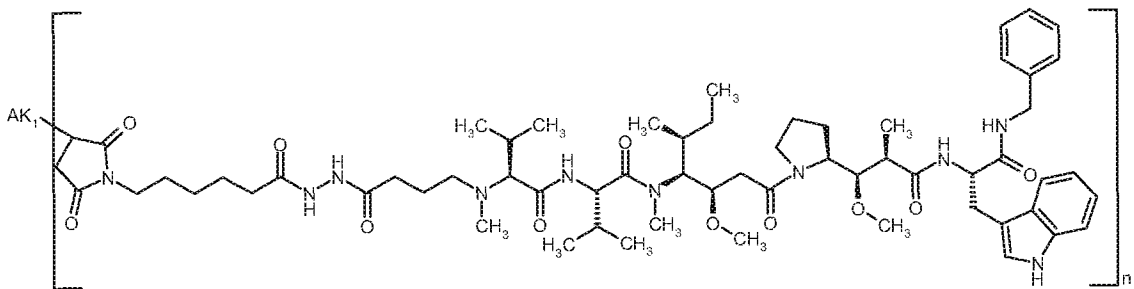
- 498 -

Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 70 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert.

Protein Konzentration: 12.7 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 3.6

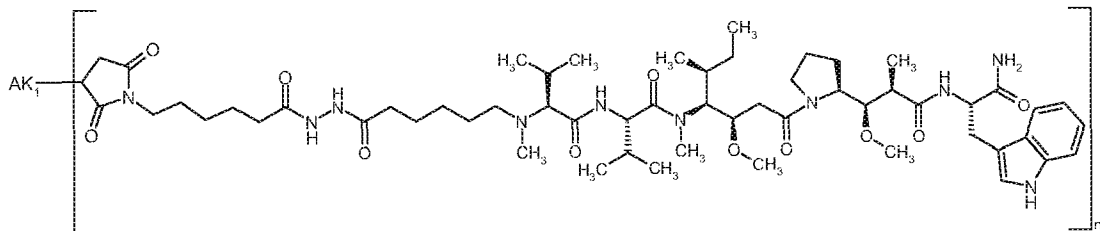
5 Beispiel 34



Protein Konzentration: 1.1 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 2.7

Beispiel 35

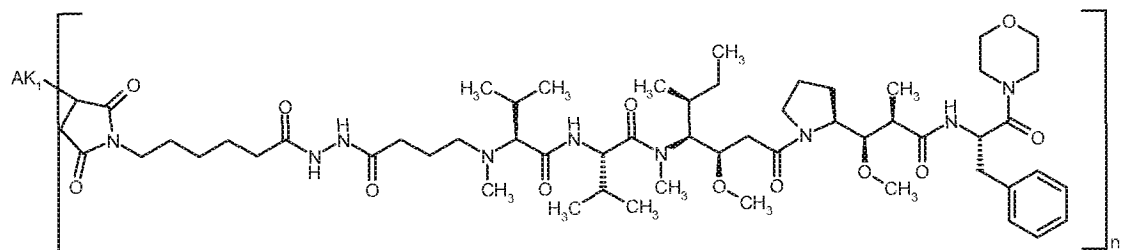


10

Protein Konzentration: 1.24 mg/ml

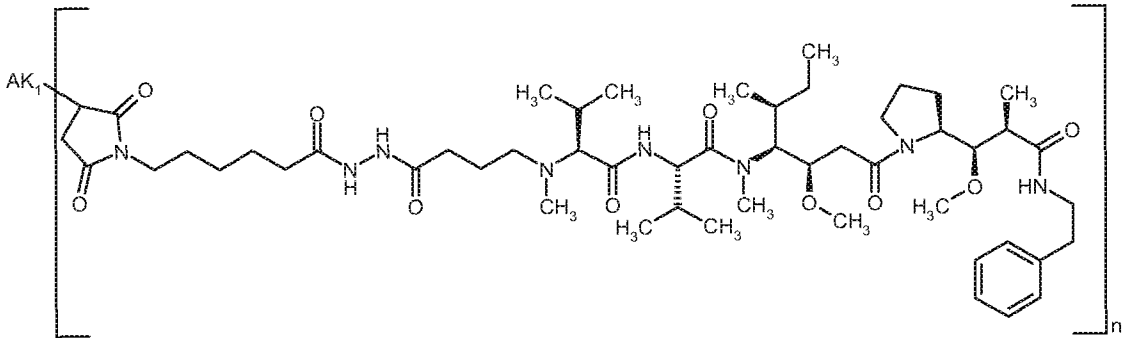
Drug/mAb Ratio: 2.6

Beispiel 36



15

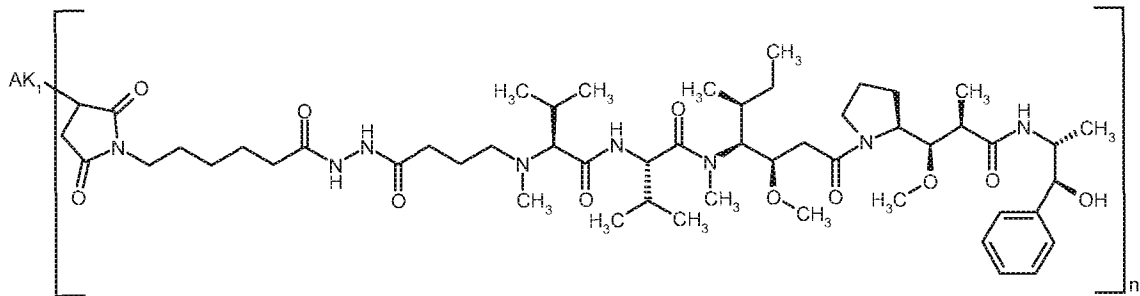
Beispiel 42



Protein Konzentration: 1.08 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 2.8

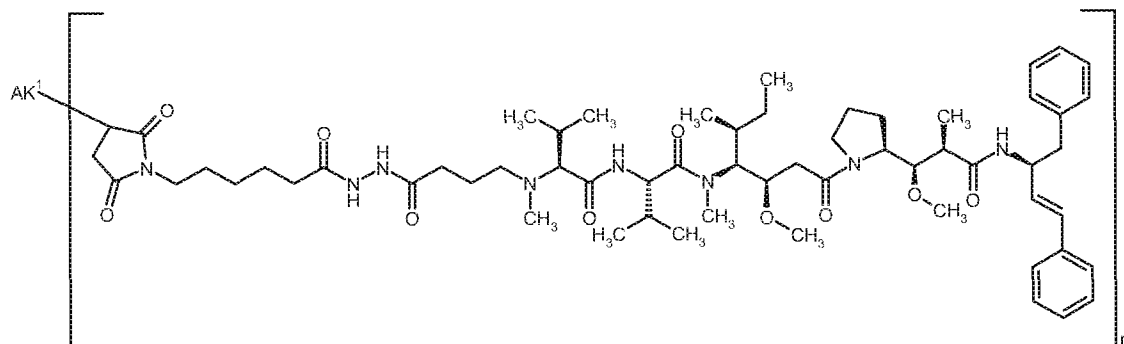
5 **Beispiel 43**



Protein Konzentration: 1.24 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 2.8

Beispiel 44

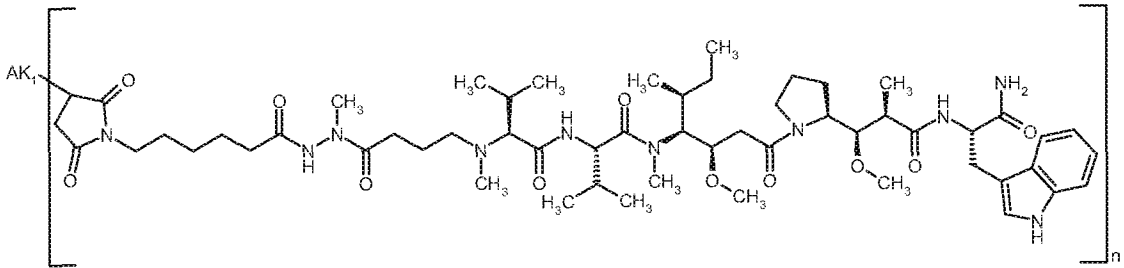


10

Protein Konzentration: 1.28 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 3.8

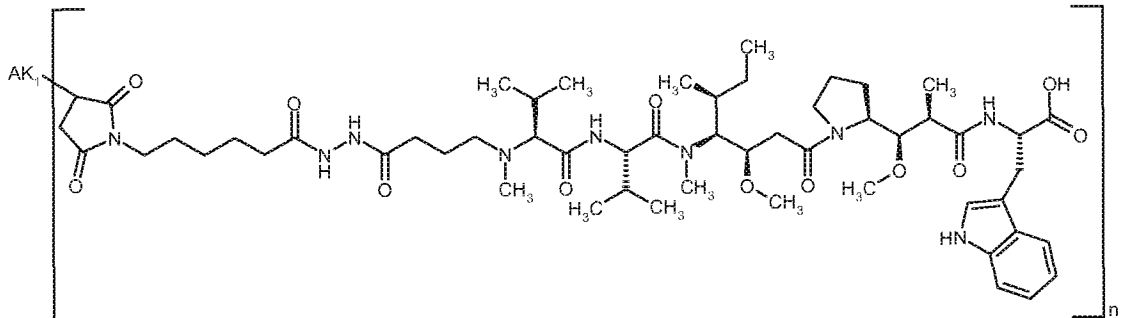
Beispiel 45



Protein Konzentration: 1.07 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 3.0

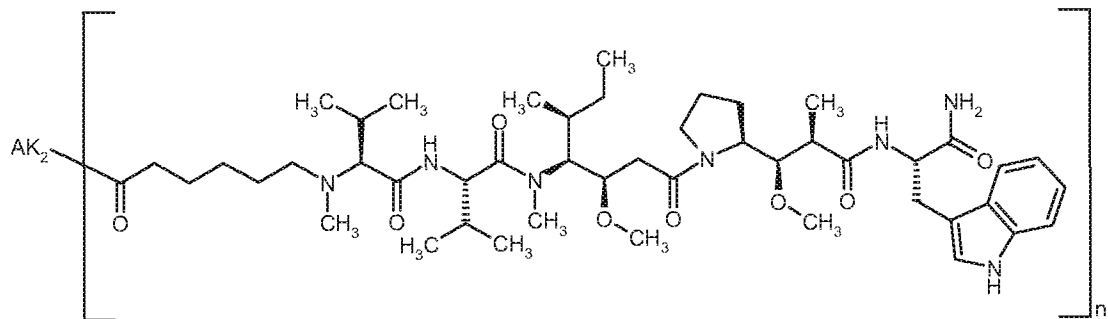
5 **Beispiel 46**



Protein Konzentration: 1.35 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 4.0

Beispiel 47



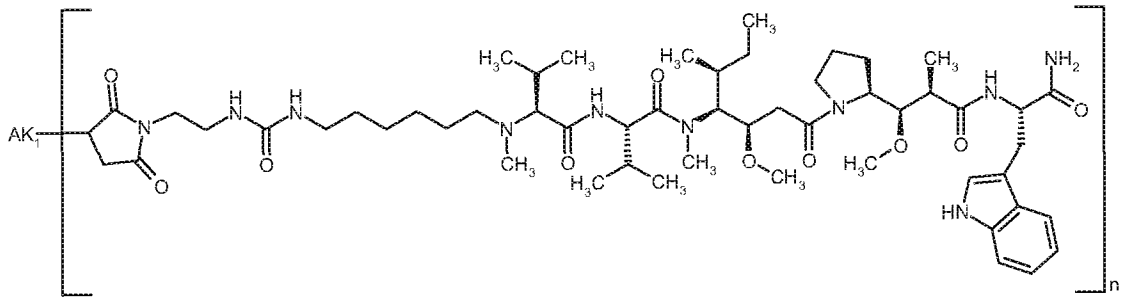
10

Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 100 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert.

Protein Konzentration: 12.2 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 5.6

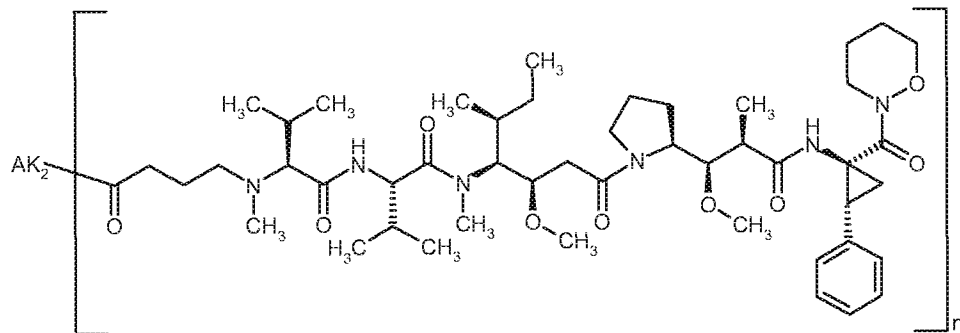
Beispiel 48



Protein Konzentration: 1.32 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 3.2

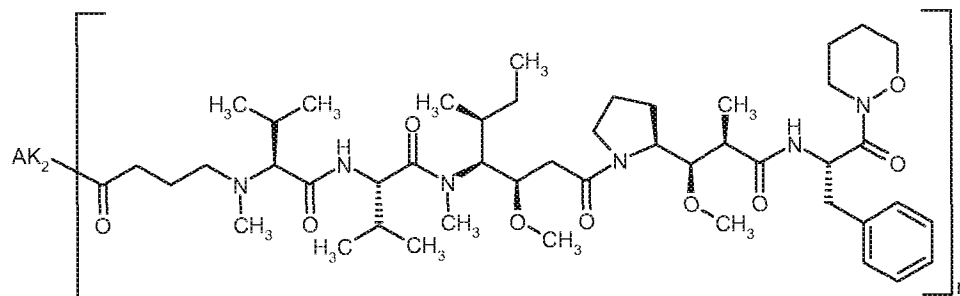
5 **Beispiel 49**



Protein Konzentration: 1.01 mg/ml

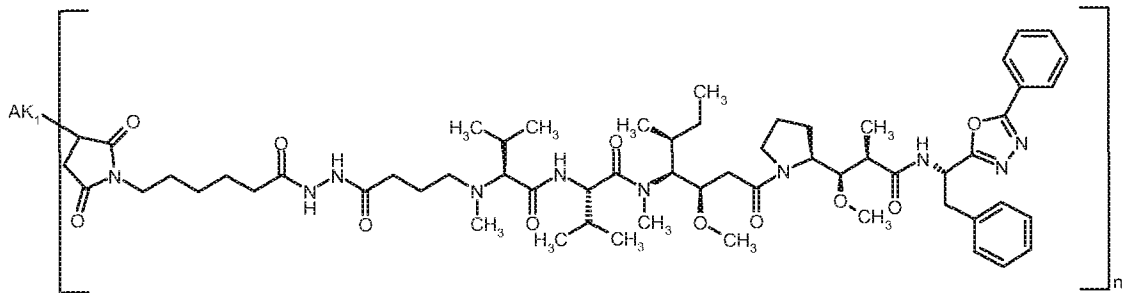
Drug/mAb Ratio: 0.9

Beispiel 50



10

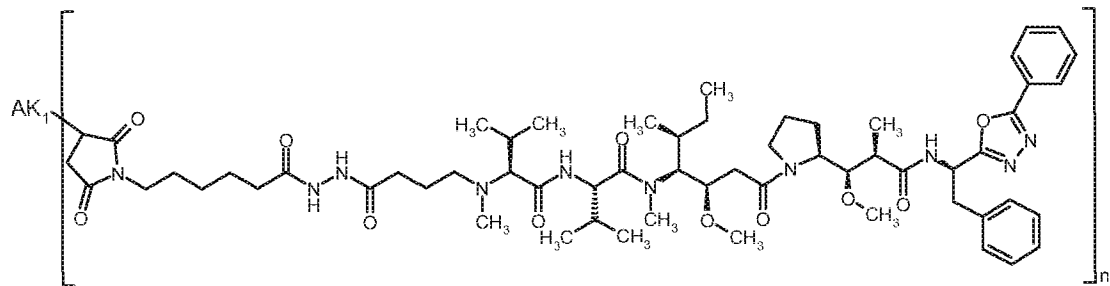
Protein Konzentration: 1.03 mg/ml

Beispiel 53

Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt

5 Proteinkonzentration: 1.21 mg/ml

Drug/mAb Ratio: nicht exakt bestimmbar

Beispiel 54

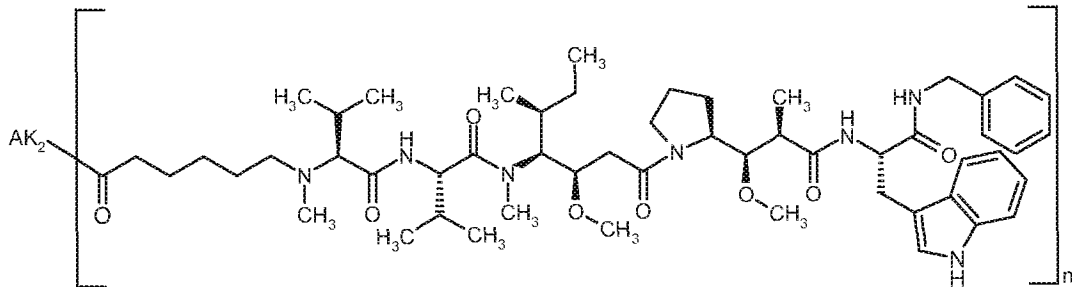
Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt

10 Proteinkonzentration: 0.8 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 2.8

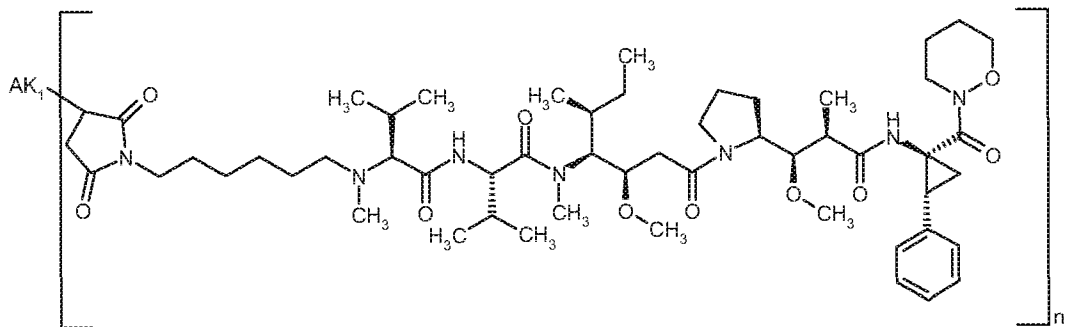
- 507 -

Drug/mAb Ratio: >1.5 (nicht exakt bestimmbar)

Beispiel 58

Protein Konzentration: 1.3 mg/ml

5 Drug/mAb Ratio: 2.0

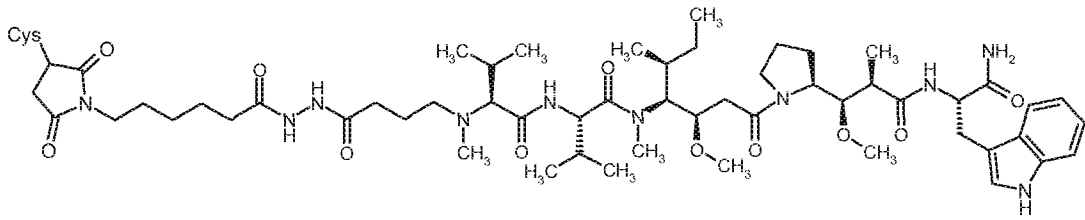
Beispiel 59

Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 150 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert.

10 Protein Konzentration: 11.2 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 3.7

(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



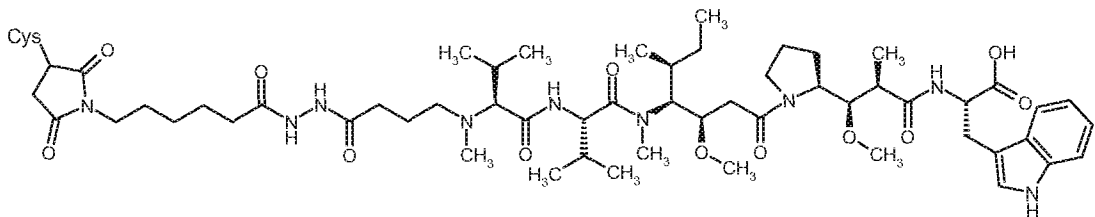
10 10 mg (10 μ mol) von Intermediat 157 wurden in 5.2 ml DMF aufgenommen und mit 2.28 mg (20 μ mol) L-Cystein versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2 h bei RT gerührt, anschließend im Vakuum eingengt und dann mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 5.8 mg (48% d.Th. der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.45$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.74$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1184$ (M+H)⁺.

10 **Beispiel 63**

N-(4-{2-[6-(3-{{(2*R*)-2-Amino-2-carboxyethyl}sulfanyl}-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{{(1*S*)-1-carboxy-2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



15

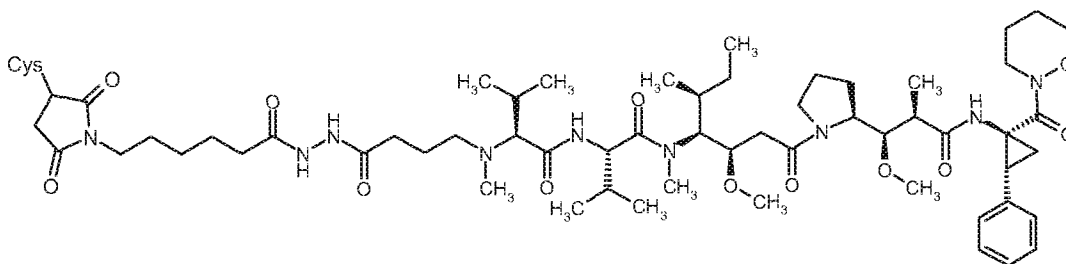
10 mg (10 μ mol) von Intermediat 113 wurden in 5.2 ml DMF aufgenommen und mit 2.28 mg (20 μ mol) L-Cystein versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2 h bei RT gerührt, anschließend im Vakuum eingengt und dann mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 6 mg (54% d.Th. der Titelverbindung erhalten.

20 HPLC (Methode 5): $R_t = 1.5$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.77$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1185$ (M+H)⁺.

Beispiel 64

N-(4-{2-[6-(3-[[*(2R)*-2-Amino-2-carboxyethyl]sulfanyl)-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl]hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(*3R,4S,5S*)-3-methoxy-1-[(*2S*)-2-[(*1R,2R*)-1-methoxy-2-methyl-3-[[*(1S,2R)*-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



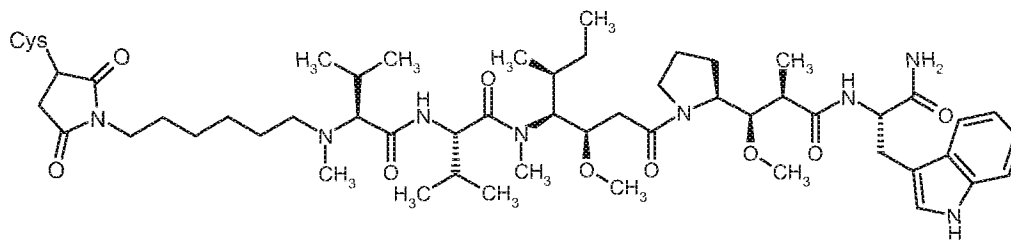
9 mg (8.3 μ mol) von Intermediat 132 wurden in 4 ml DMF aufgenommen und mit 3 mg (24.4 μ mol) L-Cystein versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt, anschließend im Vakuum eingengt und dann mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 6.8 mg (68% d.Th. der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.8$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.78$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1227$ (M+H)⁺.

Beispiel 65

N-[6-(3-[[*(2R)*-2-Amino-2-carboxyethyl]sulfanyl)-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl]hexyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(*3R,4S,5S*)-1-[(*2S*)-2-[(*1R,2R*)-3-[[*(2S)*-1-amino-3-(*1H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



10 mg (10 μ mol) von Intermediat 106 wurden in 5.8 ml DMF aufgenommen und mit 2.5 mg (20 μ mol) L-Cystein versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2h bei RT gerührt, anschließend im Vakuum eingengt und dann mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 5.2 mg (46% d.Th. der Titelverbindung erhalten.

- 512 -

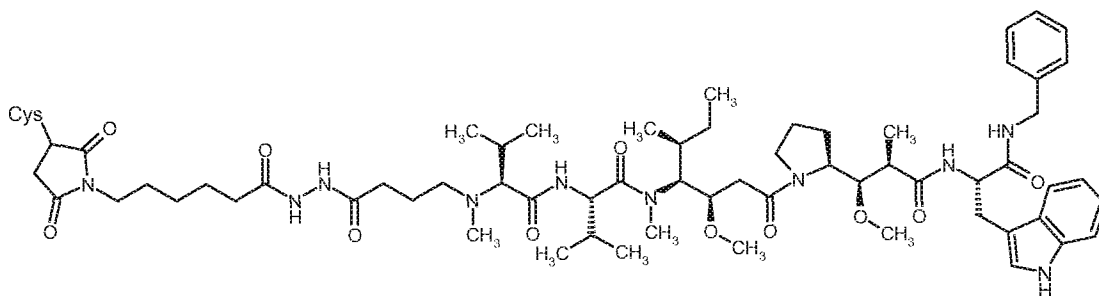
10 mg (10 μ mol) von Intermediat 125 wurden in 4 ml DMF aufgenommen und mit 2.4 mg (20 μ mol) L-Cystein versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2h bei RT gerührt, anschließend im Vakuum eingengt und dann mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 7.7 mg (69% d.Th. der Titelverbindung erhalten.

5 HPLC (Methode 5): $R_t = 1.7$ min;

LC-MS (Methode 2): $R_t = 1.91$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1140$ (M+H)⁺.

Beispiel 68

N-(4-{2-[6-(3-{{(2*R*)-2-Amino-2-carboxyethyl}sulfanyl}-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{{(2*S*)-1-(benzylamino)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



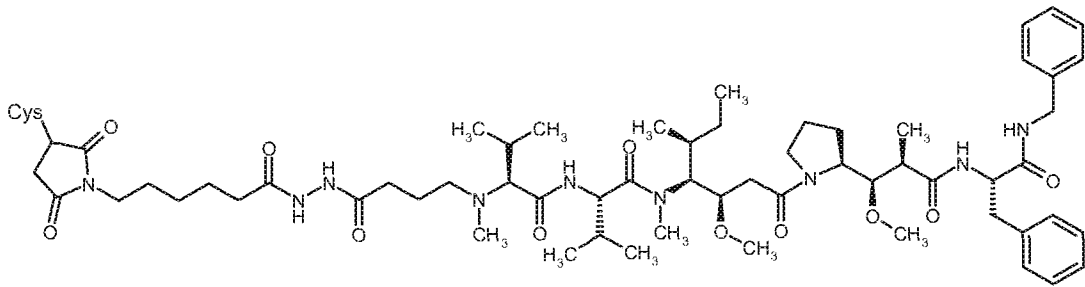
10 mg (10 μ mol) von Intermediat 160 wurden in 3 ml DMF aufgenommen und mit 2.1 mg (20 μ mol) L-Cystein versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2h bei RT gerührt, anschließend im Vakuum eingengt und dann mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 8.1 mg (73% d.Th. der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.7$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.86$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1274$ (M+H)⁺.

20 Beispiel 69

N-(4-{2-[6-(3-{{(2*R*)-2-Amino-2-carboxyethyl}sulfanyl}-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{{(2*S*)-1-(benzylamino)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



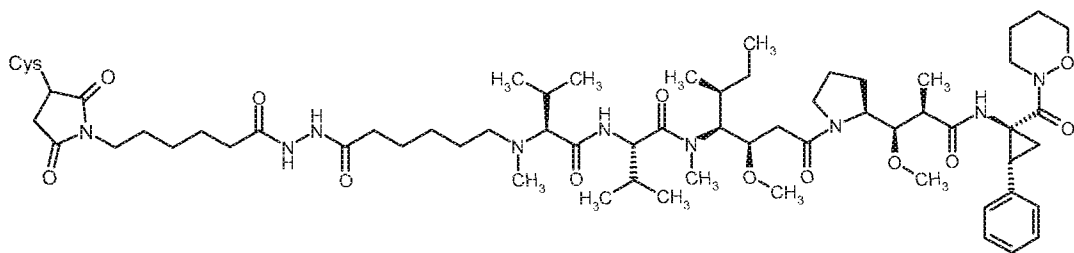
3.5 mg (3 μ mol) von Intermediat 159 wurden in 1 ml DMF aufgenommen und mit 0.76 mg (6 μ mol) L-Cystein versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2h bei RT gerührt, anschließend im Vakuum eingengt und dann mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 2.6 mg (65% d.Th. der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.75$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.85$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1235$ (M+H)⁺.

Beispiel 70

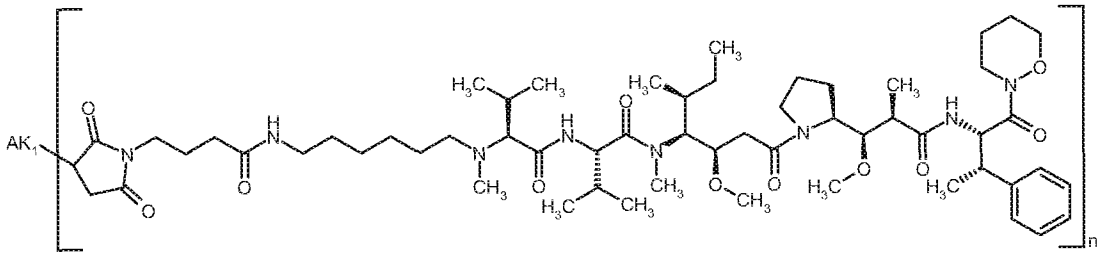
N-(6-{2-[6-(3-[[*(2R)*-2-Amino-2-carboxyethyl]sulfonyl)-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl]hexanoyl]hydrazino}-6-oxohexyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-{[*(3R,4S,5S)*-3-methoxy-1-{{*(2S)*-2-[[*(1R,2R)*-1-methoxy-2-methyl-3-[[*(1S,2R)*-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino]-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



3.6 mg (3 μ mol) von Intermediat 129 wurden in 1 ml DMF aufgenommen und mit 0.77 mg (6 μ mol) L-Cystein versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2h bei RT gerührt, anschließend im Vakuum eingengt und dann mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 1.55 mg (39% d.Th. der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): $R_t = 1.6$ min;

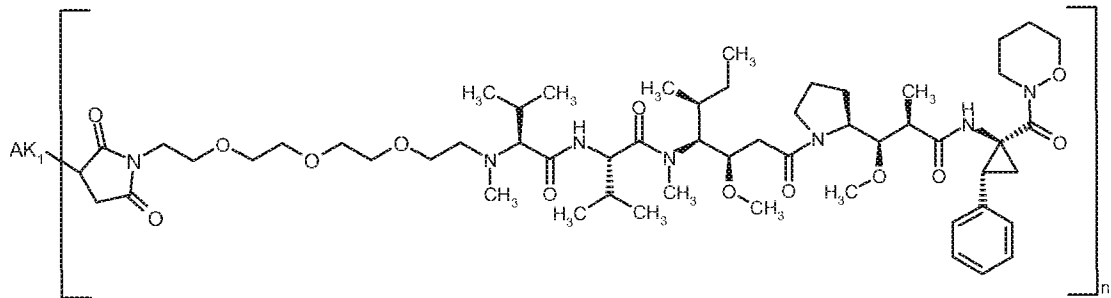
LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.87$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1255$ (M+H)⁺.

Beispiel 73

Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

- 5 Protein Konzentration: 1.05 mg/ml

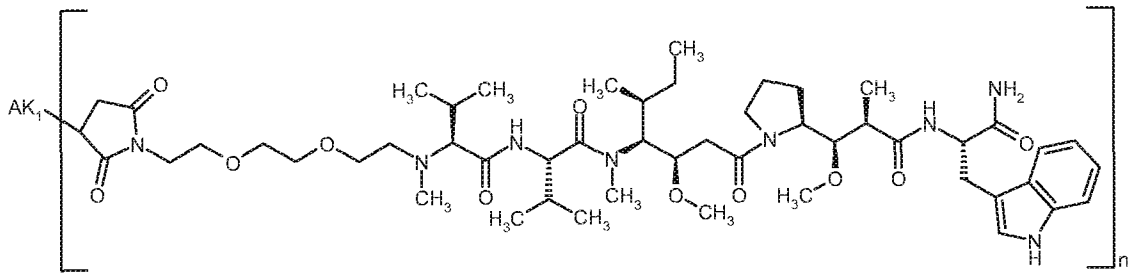
Drug/mAb Ratio: 4.4

Beispiel 74

- 10 Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.13 mg/ml

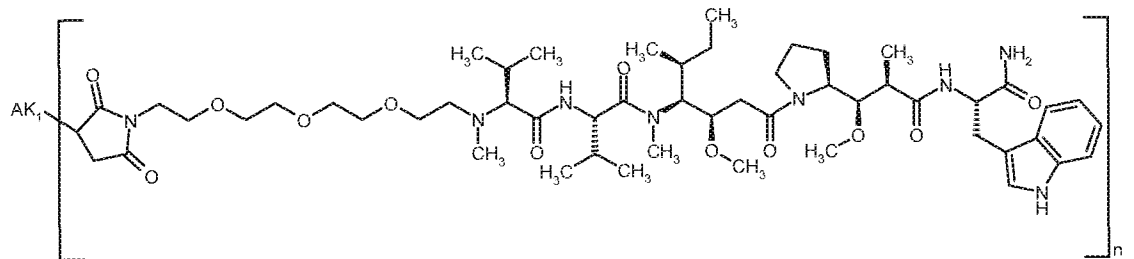
Drug/mAb Ratio: 2.8

Beispiel 75

Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach
5 der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.41 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 3.9

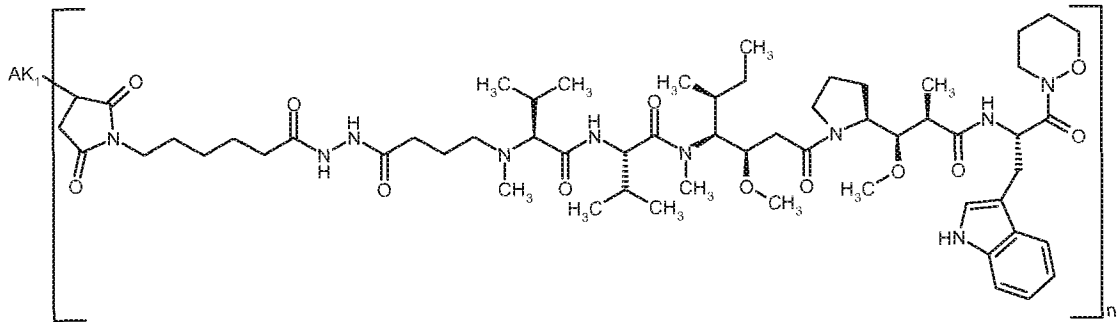
Beispiel 76

10

Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach
der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.38 mg/ml

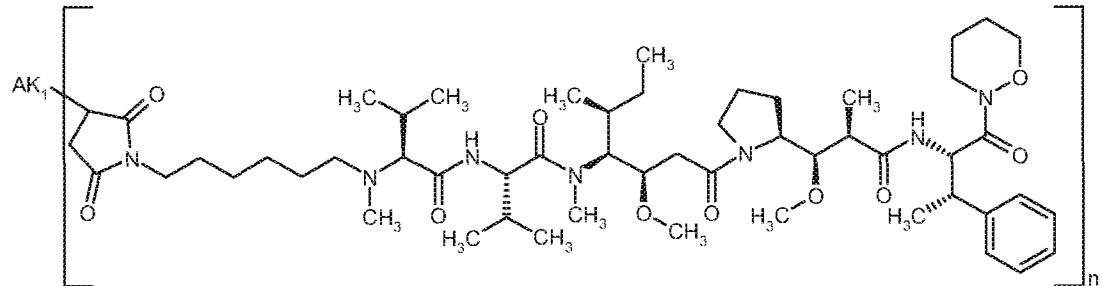
Drug/mAb Ratio: 4.3

Beispiel 79

- 5 Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.25 mg/ml

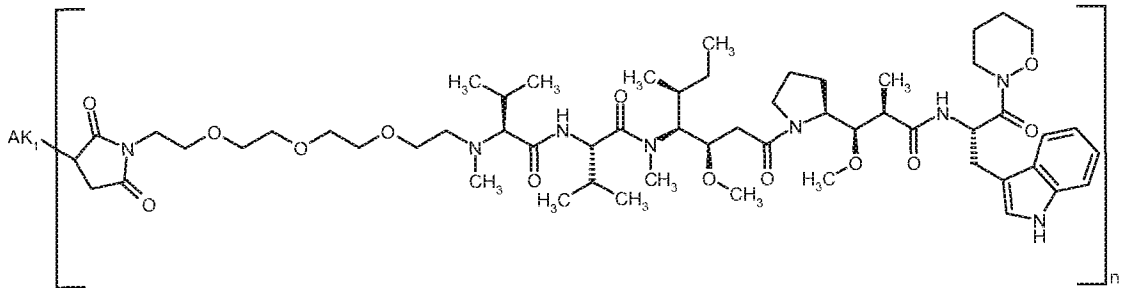
Drug/mAb Ratio: 4.8

Beispiel 80

- 10 Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.12 mg/ml

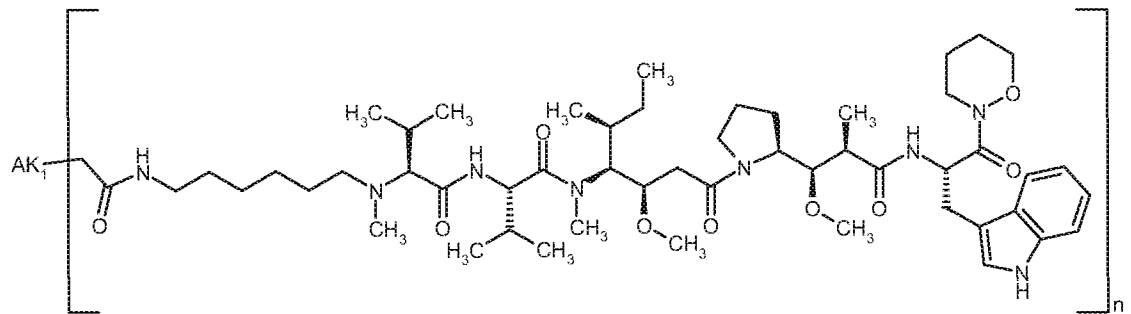
Drug/mAb Ratio: 1.7

Beispiel 83

Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

5 Protein Konzentration: 1.43 mg/ml

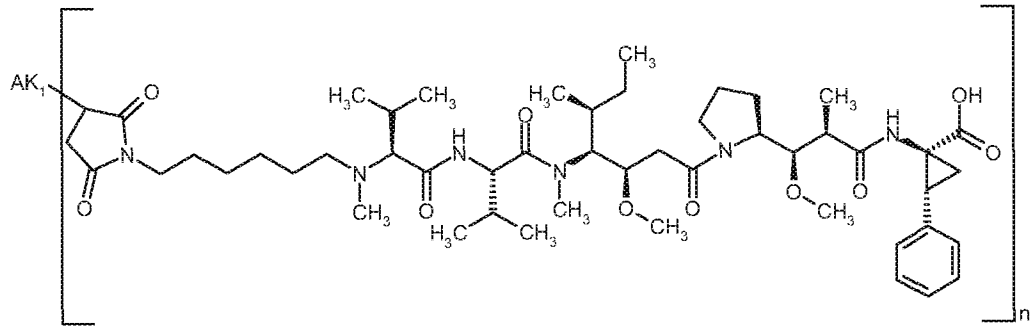
Drug/mAb Ratio: 3.7

Beispiel 84

10 Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 0.8 mg/ml

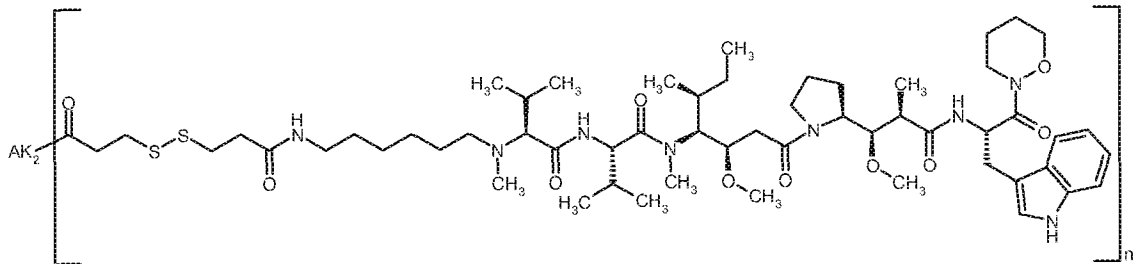
Drug/mAb Ratio: 0.7

Beispiel 87

Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

5 Protein Konzentration: 1.25 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 4.6

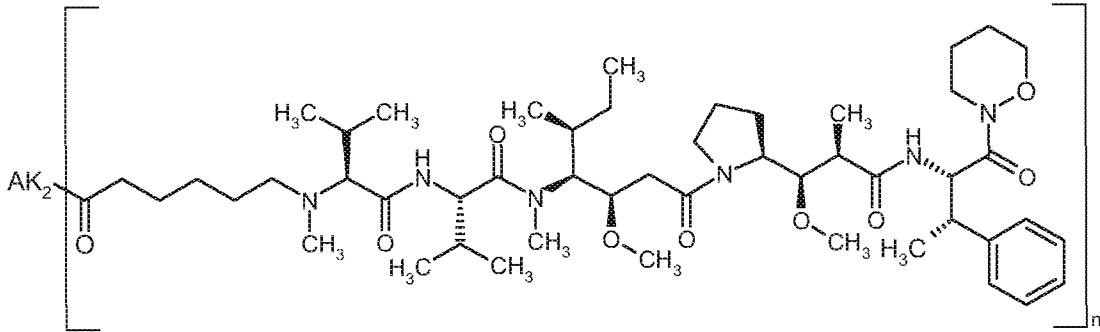
Beispiel 88

10 Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.47 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 1.6

Beispiel 89

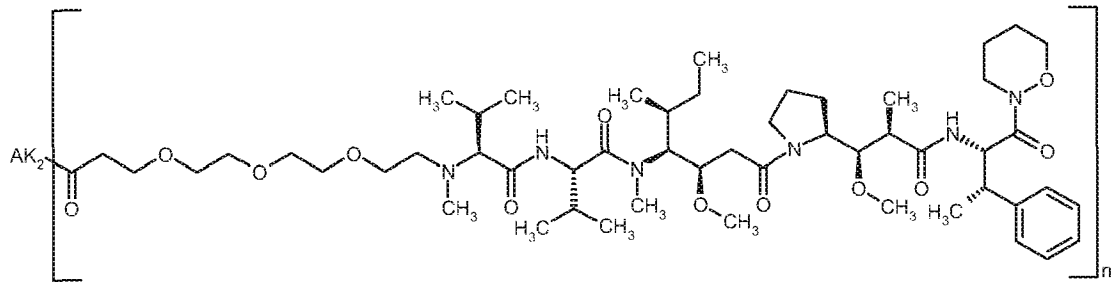


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach
 5 der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 0.99 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 5.5

Beispiel 90

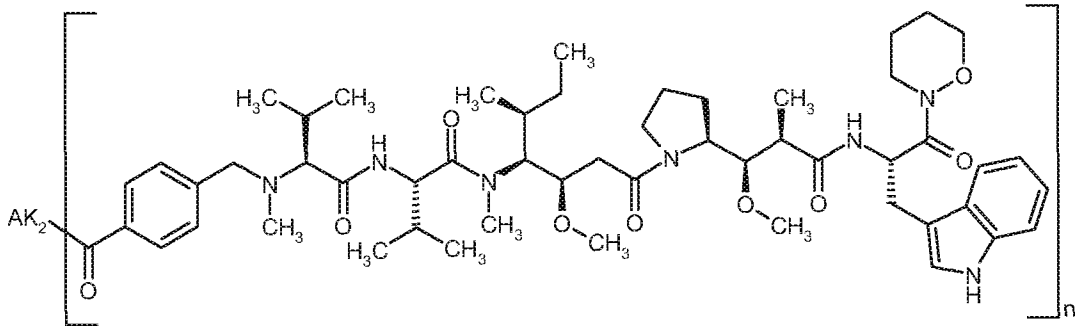


10

Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach
 der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.02 mg/ml

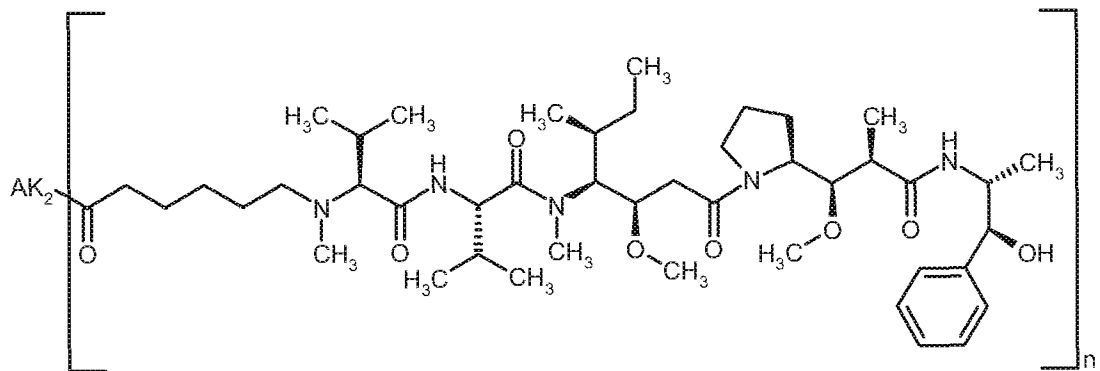
Drug/mAb Ratio: 4.0

Beispiel 93

Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

5 Protein Konzentration: 1.58 mg/ml

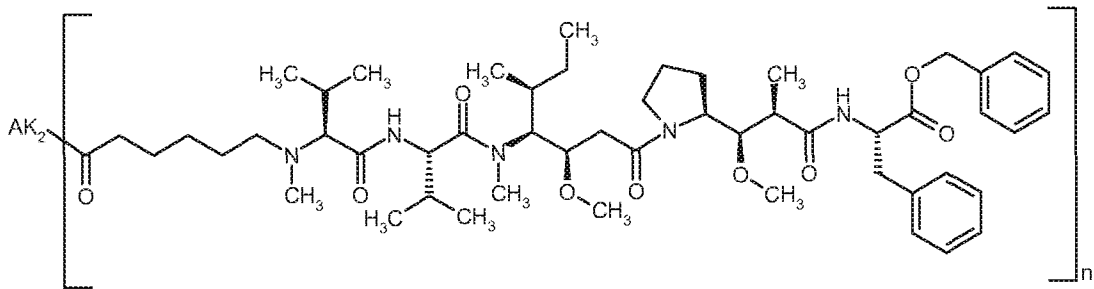
Drug/mAb Ratio: 0.6

Beispiel 94

10 Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.31 mg/ml

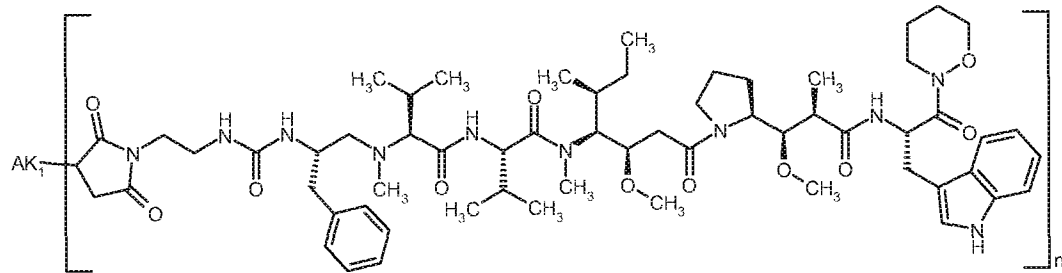
Drug/mAb Ratio: 6.6

Beispiel 95

Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

5 Protein Konzentration: 1.75 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 1.8

Beispiel 96

10 Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.44 mg/ml

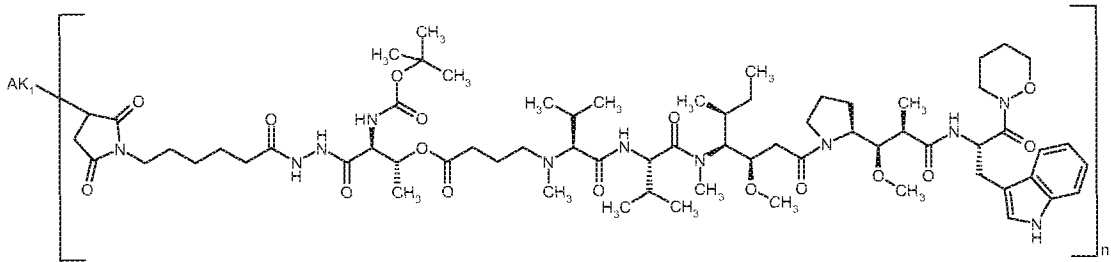
Drug/mAb Ratio: 2.5

Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Proteinkonzentration: 1.3 mg/ml

Drug/mAb-Ratio: 4.3

5 **Beispiel 102**

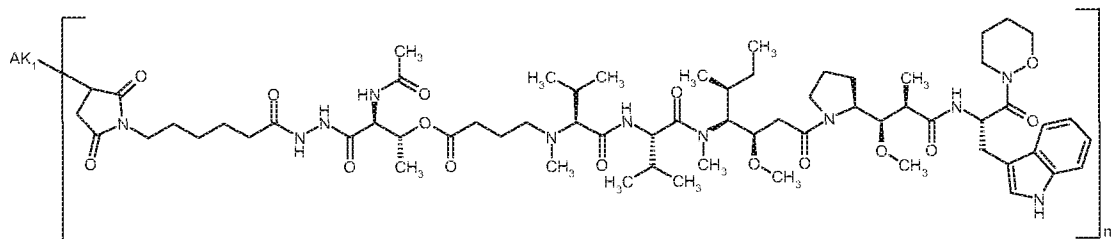


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

10 Proteinkonzentration: 1.62 mg/ml

Drug/mAb-Ratio: 2.2

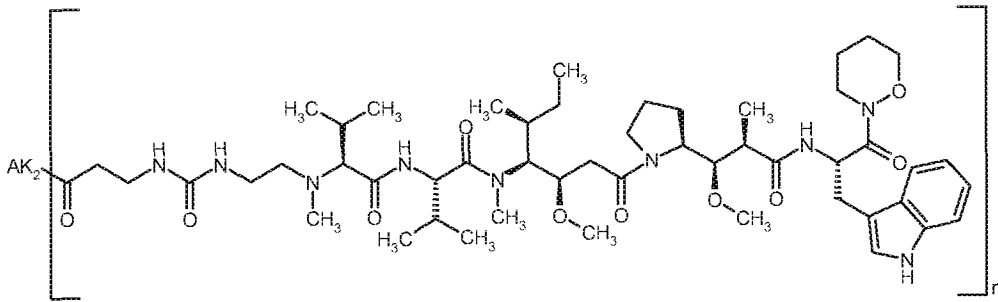
Beispiel 103



15 Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Proteinkonzentration: 1.37 mg/ml

Drug/mAb-Ratio: 2.8

Beispiel 104

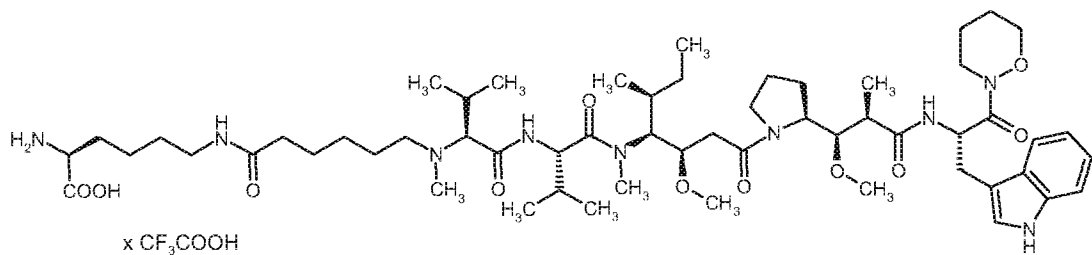
Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

5 Protein Konzentration: 1.43 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 4.0

Beispiel 105

N-(6-[[[(5S)-5-Amino-5-carboxypentyl]amino]-6-oxohexyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-
 10 {(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino]-1-
 methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-
 methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



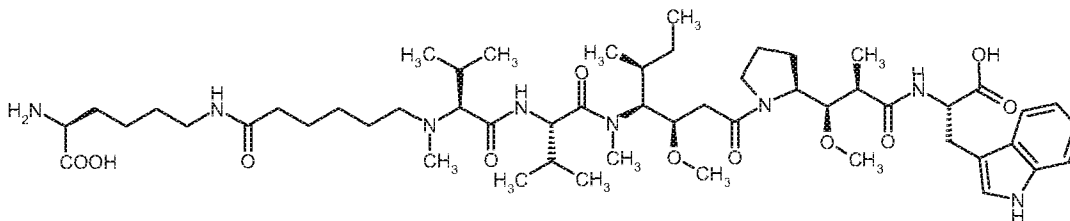
15.5 mg (15 μ mol) von Intermediat 210 wurden in 5 ml DMF aufgenommen und mit 4.4 mg (18
 15 μ mol) N^2 -(*tert*-Butoxycarbonyl)-L-lysin sowie 7.7 μ L (44 μ mol) *N,N*-Diisopropylethylamin
 versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Vakuum
 eingengt. Der Rückstand wurde dann mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 14 mg (81%
 d.Th.) des geschützten Intermediats der Titelverbindung erhalten, das anschließend in 1 ml
 Dichlormethan aufgenommen und mit 1 ml Trifluoressigsäure entschützt wurde. Das
 Reaktionsgemisch wurde eingengt und nach Lyophilisation des Rückstands aus
 20 Acetonitril/Wasser 1:1 wurden 15 mg (97% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): $R_t = 1.8$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.79$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1083$ (M+H)⁺.

Beispiel 106

N-(6-{[(5S)-5-Amino-5-carboxypentyl]amino}-6-oxohexyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-
 {(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(1S)-1-carboxy-2-(1H-indol-3-yl)ethyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-
 5 oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



40 mg (40 μ mol) von Intermediat 227 wurden in 5 ml DMF aufgenommen und mit 11.5 mg (40
 μ mol) N²-[(Benzyloxy)carbonyl]-L-lysin sowie 13 μ L (80 μ mol) *N,N*-Diisopropylethylamin
 versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt, anschließend im Vakuum
 10 eingeengt und dann mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 32.5 mg (70% d.Th.) des
 geschützten Intermediats der Titelverbindung erhalten.

Diese 32.5 mg des Intermediats wurden in 10 ml Methanol gelöst und nach Zugabe von 2 mg 10%-
 igem Palladium auf Aktivkohle 30 min lang bei RT unter Wasserstoff-Normaldruck hydriert. Der
 Katalysator wurde danach abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach
 15 Lyophilisation des Rückstandes aus Dioxan/Wasser 1:1 wurden 26 mg (99% d. Th.) der
 Titelverbindung erhalten.

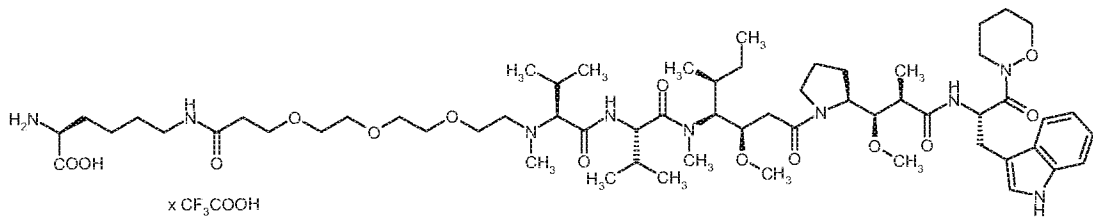
HPLC (Methode 12): $R_t = 1.7$ min;

LC-MS (Methode 1): $R_t = 0.76$ min; MS (ESIpos): $m/z = 1014$ (M+H)⁺.

Beispiel 107

20 N-[(18S)-18-Amino-18-carboxy-12-oxo-3,6,9-trioxa-13-azaoctadec-1-yl]-N-methyl-L-valyl-N-
 [(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-
 yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-
 yl]-N-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat

- 532 -

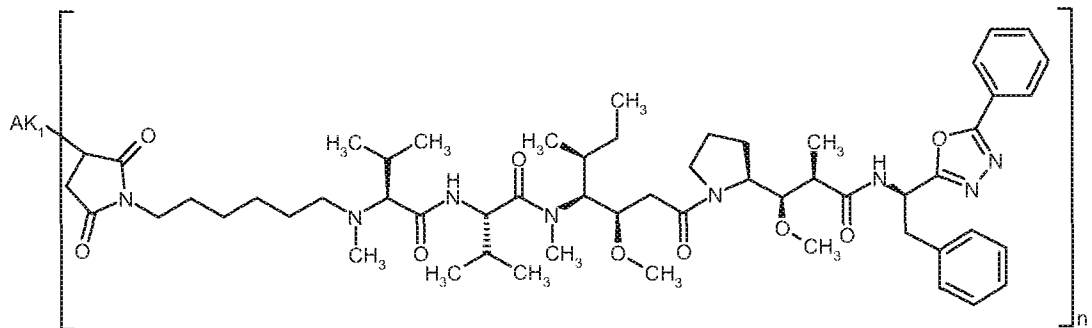


- 3.5 mg (3 μ mol) von Intermediat 202 wurden in 2 ml DMF aufgenommen und mit 0.8 mg (3 μ mol) N²-(tert-Butoxycarbonyl)-L-lysin sowie 1.6 μ l (10 μ mol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Vakuum eingengt. Der
- 5 Rückstand wurde in Acetonitril/Wasser 1:1 aufgenommen, mit Trifluoressigsäure auf pH 2 gebracht und dann mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurde 1 mg (25% d.Th.) des geschützten Intermediats der Titelverbindung erhalten, das anschließend in 500 μ l Dichlormethan aufgenommen und mit 500 μ l Trifluoressigsäure entschützt wurde. Das Reaktionsgemisch wurde eingengt und nach Lyophilisation des Rückstands aus Acetonitril/Wasser 1:1 wurde 1 mg (89% d.
- 10 Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.82 min; MS (ESIpos): m/z = 1173 (M+H)⁺.

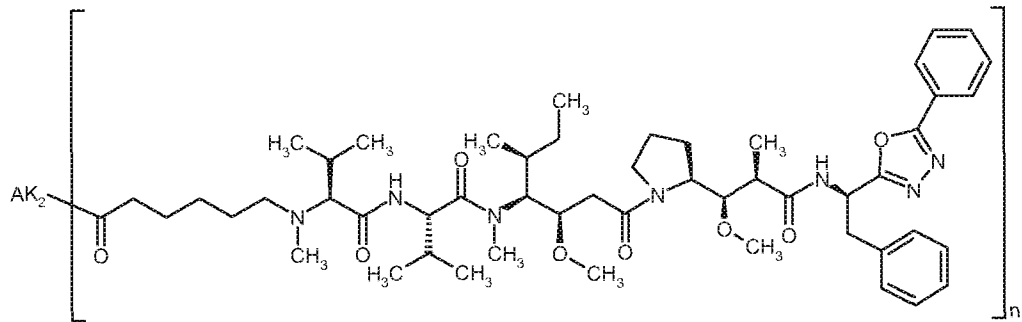
Beispiel 108



- 15 Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Proteinkonzentration: 0.81 mg/ml

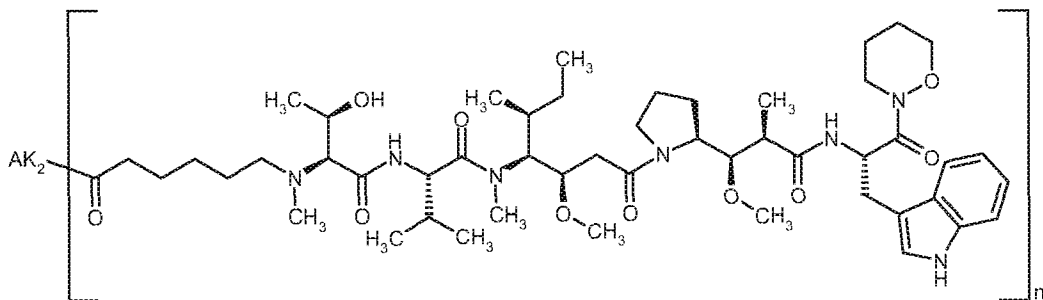
Drug/mAb Ratio: 2.5

Beispiel 109

Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

5 Proteinkonzentration: 1.06 mg/ml

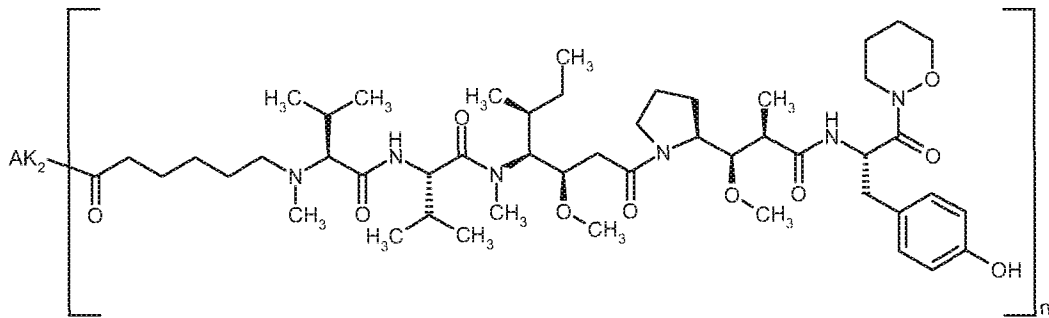
Drug/mAb Ratio: 1.8

Beispiel 110

10 Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt mit PBS.

Protein Konzentration: 1.36 mg/ml

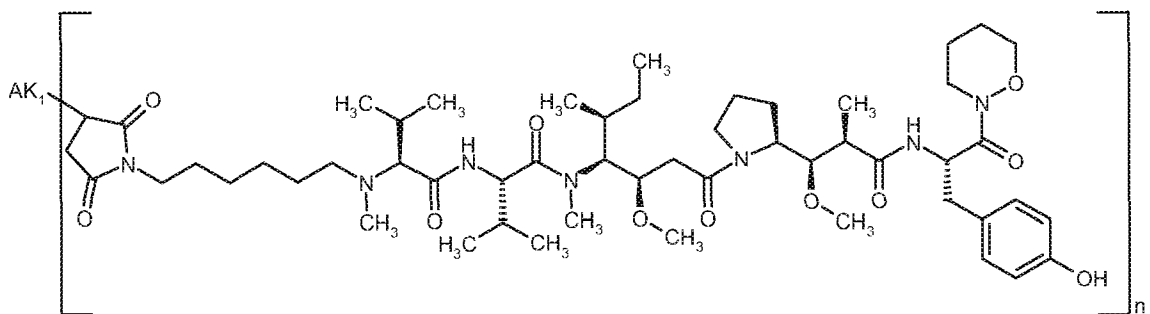
Drug/mAb Ratio: 7.2

Beispiel 111

Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt mit PBS.

5 Protein Konzentration: 1.57 mg/ml

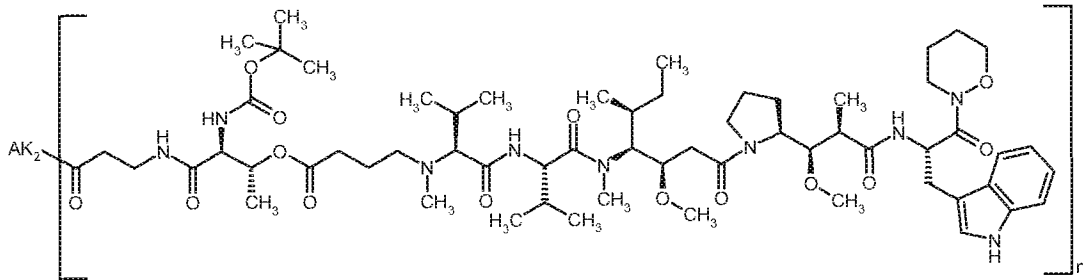
Drug/mAb Ratio: 2.9

Beispiel 112

10 Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.44 mg/ml

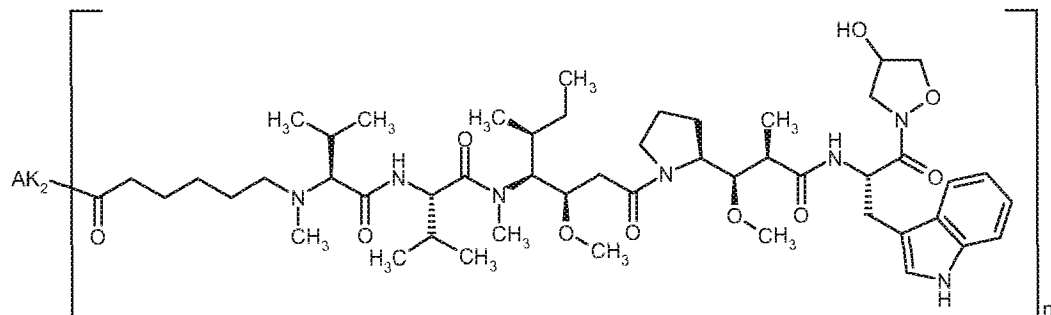
Drug/mAb Ratio: 2.5

Beispiel 113

Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg MF-Ta in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

5 Proteinkonzentration: 1.74 mg/ml

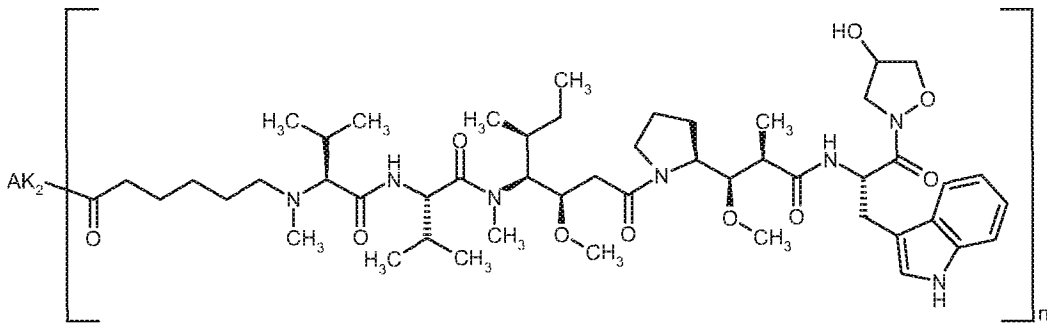
Drug/mAb-Ratio: 3.6

Beispiel 114 (Diastereomer 1)

10 Eingesetzt wurden hier zur Kupplung Intermediat 247a und 5 mg MF-Ta in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt mit PBS.

Protein Konzentration: 1.57 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 4.2

Beispiel 115 (Diastereomer 2)

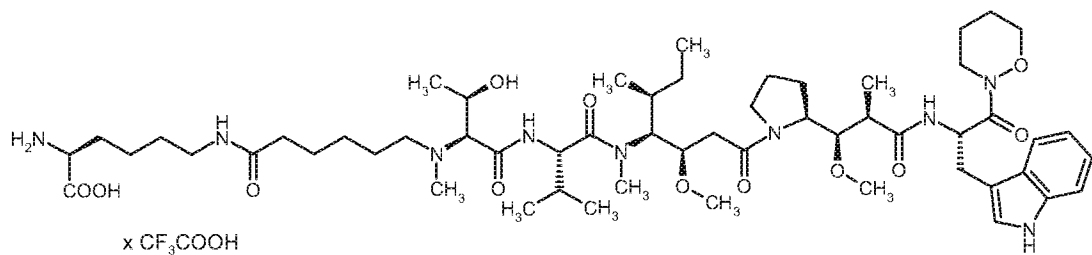
Eingesetzt wurden hier zur Kupplung Intermediat 247b und 5 mg MF-Ta in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt mit PBS.

Protein Konzentration: 1.42 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 4.0

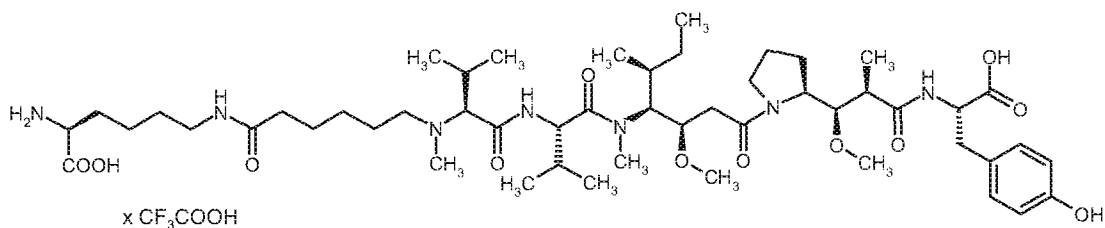
Beispiel 116

N-(6-{{(5S)-5-Amino-5-carboxypentyl}amino}-6-oxohexyl)-N-methyl-L-threonyl-N-[(3R,4S,5S)-1-
 10 {{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{{(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl}amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



8.6 mg (8 μ mol) von Intermediat 240 wurden in 5 ml DMF aufgenommen und mit 4.0 mg (16 μ mol) N²-(tert.-Butoxycarbonyl)-L-lysin sowie 2 μ L (16 μ mol) N,N-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 4h bei RT gerührt, dann nochmals mit den gleichen Mengen N²-(tert.-Butoxycarbonyl)-L-lysin und N,N-Diisopropylethylamin versetzt und über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde der Ansatz im Vakuum eingengt. Der Rückstand wurde dann mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 7 mg (72% d.Th.) des geschützten Intermediats der
 20 Titelverbindung erhalten, das anschließend in 1 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 0.5 ml Trifluoressigsäure entschützt wurde. Der Ansatz wurde eingengt und der Rückstand durch

oxopropyl]pyrrolidin-1-yl]-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid-
Trifluoracetat



38 mg (41 μ mol) von Intermediat 248 wurden zunächst in den N-Hydroxysuccinimid-ester
 5 überführt. 72 mg des erhaltenen Rohproduktes wurden in 5 ml DMF aufgenommen und mit 24 mg
 (100 μ mol) N²-(tert.-Butoxycarbonyl)-L-lysin sowie 23 μ L *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt.
 Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt, dann nochmals mit 16 mg N²-(tert.-
 Butoxycarbonyl)-L-lysin und 12 μ L *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt und anschließend weitere
 2h im Ultraschallbad behandelt. Dann wurde der Ansatz im Vakuum eingeeengt und der Rückstand
 10 mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation aus Acetonitril/Wasser wurden 20 mg
 (50% d.Th.) des geschützten Intermediats der Titelverbindung erhalten.

15 mg (12 μ mol) von diesem Intermediat wurden anschließend in 3 ml Dichlormethan
 aufgenommen und mit 1 ml Trifluoressigsäure versetzt. Nach 40 min Rühren bei RT wurden
 weitere 1.5 ml Trifluoressigsäure zugegeben und der Ansatz 1 h im Ultraschallbad behandelt.
 15 Danach wurde der Ansatz eingeeengt und nach Lyophilisation des Rückstands aus Dioxan/Wasser
 wurden 13 mg (90% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.5 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.68 min; MS (ESIpos): m/z = 990 (M+H)⁺.

C: Bewertung der biologischen Wirksamkeit

Die biologische Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen kann durch die nachstehend beschriebenen Assays gezeigt werden:

C-1. In vitro Zellproliferationstests

- 5 Die zytotoxische Wirkung der erfindungsgemäßen Konjugate wurde in einem in vitro Zellproliferationstest getestet. Dazu wurde eine mammalische Zelle, die entweder das Zielmolekül des Binders endogen oder rekombinant exprimiert, mit dem erfindungsgemäßen Konjugat inkubiert. Die Zellproliferation wurde nach einer Inkubationszeit von mehreren Stunden bis mehreren Tagen anhand der Zellzahl im Vergleich zu einer Kontrolle, welcher kein Konjugat
- 10 zugesetzt wurde, bestimmt. Als weitere Kontrollen können das nicht-konjugierte Toxophor allein zugesetzt werden bzw. Zellen verwendet werden, die das Zielmolekül des Binders nicht exprimieren. Die Zellzahl wurde mittels dem Fachmann bekannter Methoden bestimmt, beispielsweise durch Auszählen oder durch Verwendung eines Testkits, welcher über eine ATP-Messung die Bestimmung der Zellzahl erlaubt (z.B. ATPlite™, Perkin-Elmer). Somit wurde der
- 15 IC₅₀-Wert der erfindungsgemäßen Konjugate ermittelt. Durch Vergleich des IC₅₀-Wertes des Konjugats bei Messungen an Zellen, die das Zielmolekül des Binders tragen und nicht tragenden Zellen, ließ sich die Selektivität des Konjugats bestimmen.

C-2. Bestimmung der anti-proliferativen Wirkung von anti-Mesothelin ADC an der humanen Colonkarzinom-Zelllinie HT29

- 20 Eine definierte Zellzahl der humanen Colonkarzinom Zelllinie HT29wt (2500c/well, wildtype) wurde in einer 96-well MTP im Vollmedium (10%FCS-RPMI) ausgesät und über Nacht bei 37°C/5% Kohlendioxid inkubiert. Parallel hierzu wurden transfizierte HT29 Zellen, die stabil Mesothelin exprimieren, in einer 96-well MTP in Vollmedium ausplattiert und über Nacht inkubiert (2500c/well; 37°C/5% Kohlendioxid).
- 25 Nach 18h wurde das Aussaatmedium durch frisches Medium mit 10% FCS ersetzt. Die Behandlung startete mit der Zugabe der erfindungsgemäßen Verbindungen. Hierbei wurden die transfizierten und die HT29wt Zellen identisch behandelt.

Von den zu untersuchenden Substanzen wurden Dosis-Wirkungskurven in einem Konzentrationsbereich von 10⁻⁵ M-10⁻¹⁴ M (1:10 Verdünnungsreihe) bestimmt.

- 30 Es wurden Inkubationszeiten von 48h-96h gewählt.

Die Detektion der Proliferation erfolgte mit Hilfe des MTT-Assays (ATCC, Manassas, Virginia, USA, Katalog-Nr. 30-1010K). Nach Ablauf der gewählten Inkubationszeit wurden die HT29wt

Zellen mit MTT für 4h inkubiert, bevor durch Zugabe des Detergens die Lyse der Zellen über Nacht erfolgte.

Die Detektion des gebildeten Farbstoffs erfolgte bei 570nm.

Die Proliferation nicht mit Testsubstanz, aber ansonsten identisch behandelte Zellen, wurde als 100% Wert definiert. Die aus diesem Test gewonnenen Daten repräsentieren Dreifachbestimmungen, und es wurden mindestens zwei unabhängige Experimente durchgeführt.

In der folgenden Tabelle 3 sind die IC₅₀-Werte¹⁾ repräsentativer Ausführungsbeispiele aus diesem Assay aufgeführt:

Tabelle 3

Beispiel	HT29 meso ⁺ IC ₅₀ [nM]	HT29 wt IC ₅₀ [nM]	Beispiel	HT29 meso ⁺ IC ₅₀ [nM]	HT29 wt IC ₅₀ [nM]
1	0.17	5.3	52	3	2
2	0.4	162	53	0.74	9.2
3	5	22	54	0.09	1.1
4	1	13	55	0.002	0.28
5	0.06	8	56	0.7	162
5	0.16	5.4	57	0.018	4
6	0.019	0.27	58	0.4	2.5
7	20	>300	59	0.6	4.1
8	0.03	1	60	0.06	10
9	0.11	1.4	61	9,2	46
10	0.14	3.3	71	22	90
11	1.5	8.6	72	1,5	>1000
12	0.015	11	73	2	227
13	2	9	74	5.3	57
14	0.07	20	75	0.13	672
15	0.02	2	76	0.09	769
16	0.6	11	77	3.3	>1000
17	0.05	8	78	2.1	219
18	25	221	79	0.03	199
19	9	>50	80	0.25	317
20	0.2	0.29	81	1.6	3000
21	0.35	3	82	0.04	10

Beispiel	HT29 meso ⁺ IC ₅₀ [nM]	HT29 wt IC ₅₀ [nM]	Beispiel	HT29 meso ⁺ IC ₅₀ [nM]	HT29 wt IC ₅₀ [nM]
22	0.8	3.6	83	0.3	>1000
23	1.1	6	84	70	>1000
24	0.5	5	85	6.8	>1000
25	4.4	14	86	43	>1000
26	0.02	1.4	87	0.27	554
27	24	>1000	88	0.3	54
28	0.3	31	89	2.7	74
29	6	14	90	7.4	135
30	0.2	2	91	13	>1000
31	0.45	>500	92	5.6	18
32	0.9	3	93	425	>1000
33	0.01	0.2	94	3.1	33
34	0.06	3.1	95	<0,1	0,15
35	2.6	60	96	>1000	>1000
36	0.35	1.1	97	4.1	>1000
37	38	167	98	30	>1000
38	52	89	99	2.2	>1000
39	0.6	>500	100	0.5	>500
40	0.013	4.9	101	4.6	>500
41	25	>500	102	0.09	839
42	0.2	0.2	103	0.18	602
43	1.7	6.3	104	177	>500
44	0.27	1.6	108	1.3	16
45	2	44	109	0.06	10
46	3	500	110	3.1	>500
47	7.2	294	111	0.02	14
48	10	32	112	1.6	>500
49	1.8	0.9	113	0.04	>500
50	0.6	1.4	114	7	>500
51	0.8	15	115	15	>500

¹⁾ Die angegebenen Wirkdaten beziehen sich auf die im vorliegenden experimentellen Teil beschriebenen Ausführungsbeispiele mit den angegebenen Drug/mAB-ratios. Die Werte können bei anderen Drug/mAB-ratios gegebenenfalls abweichen.

C-3. Bestimmung des Einflusses auf die Tubulinpolymerisation

Krebszellen sind entartete Zellen, die häufig auch durch eine gesteigerte Zellteilung zu einer Tumorbildung führen. Microtubuli bilden die Spindelfasern des Spindelapparates und sind ein essentieller Bestandteil des Zellzyklus. Der geregelte Auf- und Abbau von Microtubuli ermöglicht die genaue Aufteilung der Chromosomen auf die Tochterzellen und stellt einen kontinuierlich dynamischen Prozess dar. Eine Störung dieser Dynamik führt zu einer fehlerhaften Zellteilung und letztlich zum Zelltod. Die gesteigerte Zellteilung von Krebszellen macht diese jedoch auch besonders empfänglich gegenüber Spindelfasergiften, die einen festen Bestandteil der Chemotherapie darstellen. Spindelfasergifte wie Paclitaxel oder Epothilon führen zu einer stark erhöhten Polymerisationsgeschwindigkeit der Microtubuli, während Vinca-Alkaloide oder auch Monomethylauristatin E (MMAE) zu einer stark reduzierten Polymerisationsgeschwindigkeit der Microtubuli führen. In beiden Fällen ist die notwendige Dynamik des Zellzyklus empfindlich gestört. Die im Rahmen der vorliegenden Erfindung untersuchten Verbindungen führen zu einer reduzierten Polymerisationsgeschwindigkeit der Microtubuli.

Zur Untersuchung der Tubulinpolymerisation wurde das "Fluorescence-based Microtubule Polymerisation Assay Kit" der Firma Cytoskeleton (Denver, Colorado, USA; Bestellnummer: BK011) verwendet. Bei diesem Assay wird unpolymerisiertem Tubulin GTP zugesetzt, womit die Polymerisation spontan stattfinden kann. Der Assay beruht auf der Bindung des Fluorophors 4',6-Diamidino-2-phenylindol (DAPI) an Tubulin. Freies und gebundenes DAPI können aufgrund unterschiedlicher Emissionsspektren differenziert werden. Da DAPI eine deutlich höhere Affinität gegenüber polymerisiertem im Vergleich zu nicht-polymerisiertem Tubulin zeigt, läßt sich die Tubulinpolymerisation über die Zunahme der Fluoreszenz gebundener DAPI-Fluorophore verfolgen.

Zur Durchführung dieses Assays wurden die in DMSO gelösten erfindungsgemäßen Verbindungen von ihrer Ausgangskonzentration von 10 mM auf 1 μ M in Wasser verdünnt. Neben der Pufferkontrolle wurde als Assay-Kontrolle auch polymerisationssteigernd Paclitaxel und andererseits polymerisationshemmend Vinblastin mitgeführt. Für die Messung wurden 96-well-Lochplatten mit halber Bodenfläche verwendet. Die Kinetik der Tubulinpolymerisation wurde 1 h lang bei 37°C in einem Fluorimeter verfolgt. Die Anregungswellenlänge betrug 355 nm, die Emission wurde bei 460 nm verfolgt. Für den Bereich des linearen Anstiegs innerhalb der ersten 10 Minuten wurde die Fluoreszenzänderung pro Minute ($\Delta F/\text{min}$) berechnet, welche die Polymerisationsgeschwindigkeit der Microtubuli darstellt. Die Potenz der Testsubstanzen wurde anhand der jeweiligen Reduktion der Polymerisationsgeschwindigkeit quantifiziert.

Die Reduktion der Tubulinpolymerisationsgeschwindigkeit geschieht abhängig von der Konzentration der zugegebenen Testsubstanz. Während es bei Zugabe von 100 μ M MMAF bis zu einem kompletten Erliegen der Polymerisation kommt, führt die Zugabe von 1 μ M MMAF zu einer

Reduktion der Polymerisationsgeschwindigkeit von 40-45% bei der ein Vergleich der Wirkung verschiedener Substanzen am besten abgebildet wird. Die Verbindung aus Beispiel 64 inhibierte die Polymerisationsgeschwindigkeit bei 1 μ M zu 41%. Die Verbindungen aus den Beispielen 62-70 und 105-107 zeigten eine mit MMAF vergleichbare Hemmung der Tubulinpolymerisation.

- 5 Der Wert der Inhibition von MMAF bei einer Konzentration von 1 μ M wird als 100% gesetzt.

In Tabelle 6 sind Daten zur Inhibition der Tubulin Polymerisation von repräsentativen Ausführungsbeispielen angegeben.

Tabelle 6

Ausführungsbeispiel	Konzentration Toxophor [μ M]	Tubulin-polymerisation in Gegenwart von Toxophor in [%]. Tubulin-polymerisationsgeschwindigkeit bei 1 μ M MMAF gesetzt auf 100%
MMAF	1	100
MMAF	10	34
MMAF	100	0
105	1	45
105	10	1
106	1	80
106	10	14
107	1	60
107	10	0
62	1	88
62	10	25
63	1	109
63	10	27

Ausführungsbeispiel	Konzentration Toxophor [μM]	Tubulin-polymerisation in Gegenwart von Toxophor in [%]. Tubulin-polymerisationsgeschwindigkeit bei $1\mu\text{M}$ MMAF gesetzt auf 100%
64	1	120
65	1	117
65	10	64
66	1	107
66	10	25
67	1	121
67	10	35
68	1	111
68	10	45
69	1	110
107	1	78
107	10	24
116	1	102
116	10	31
117	1	88
117	10	21
118	1	90
118	10	17

Das Toxophore MMAF und die Ausführungsbeispiele hemmen konzentrationsabhängig die Tubulinpolymerisation. Bei $100\mu\text{M}$ MMAF ist die Tubulinpolymerisation vollständig gehemmt.

Das Ausführungsbeispiel 105 hemmt die Tubulinpolymerisationsgeschwindigkeit bei 1 μM auf 45% des Wertes der bei 1 μM MMAF gemessen wird.

C-4. In vitro Tests zur Bestimmung der Zell-Permeabilität

Die Zell-Permeabilität einer Substanz kann mittels *in vitro*-Testung in einem Flux-Assay unter Verwendung von Caco-2-Zellen untersucht werden [M.D. Troutman und D.R. Thakker, *Pharm. Res.* 20 (8), 1210-1224 (2003)]. Hierzu wurden die Zellen auf 24-Loch-Filterplatten für 15-16 Tage kultiviert. Zur Bestimmung der Permeation wurde das jeweilige Ausführungsbeispiel in einem HEPES-Puffer entweder apikal (A) oder basal (B) auf die Zellen gegeben und für 2 h inkubiert. Nach 0 h und nach 2 h wurden Proben aus den Cis- und Transkompartimenten entnommen. Die Proben wurden mittels HPLC (Agilent 1200, Böblingen, Deutschland) unter Verwendung von reverse phase-Säulen aufgetrennt. Das HPLC-System war über ein Turbo Ion Spray-Interface an ein Triple Quadropol-Massenspektrometer API 4000 (Applied Biosystems Applera, Darmstadt, Deutschland) gekoppelt. Die Permeabilität wurde anhand eines P_{app} -Wertes bewertet, welcher mittels der von Schwab *et al.* publizierten Formel berechnet wurde [D. Schwab *et al.*, *J. Med. Chem.* 46, 1716-1725 (2003)].

Von entscheidender Bedeutung für Toxophore, die intrazellulär freigesetzt werden, ist die Permeabilität von B nach A [P_{app} (B-A)]: Je niedriger diese Permeabilität ist, desto länger ist die Verweilzeit des Ausführungsbeispiels in der Zelle nach intrazellulärer Freisetzung und damit auch die Zeit, die für eine Interaktion mit dem biochemischen Target (hier: Tubulin) zur Verfügung steht.

In der folgenden Tabelle 4 sind Permeabilitätsdaten repräsentativer Ausführungsbeispiele aus diesem Assay aufgeführt:

Tabelle 4

Ausführungsbeispiel	P_{app} (B-A) [nm/s]
62	2
63	1.6
64	2.5
65	5
66	1
68	7

Ausführungsbeispiel	P_{app} (B-A) [nm/s]
105	2
106	1
116	1.8
117	1.5

Die Ausführungsbeispiele weisen eine niedrige Permeabilität von B nach A [P_{app} (B-A)] auf und haben daher eine lange Verweildauer in den CaCo-2-Zellen. Im Vergleich hierzu weisen Monomethylauristatin E (MMAE) und Monomethylauristatin F (MMAF) in diesem Test einen P_{app} (B-A)-Wert von 73 nm/s auf und haben damit eine deutlich kürzere Verweildauer in den CaCo-2 Zellen.

C-5. In vitro Tests zur Bestimmung der Substrateigenschaften für P-Glycoprotein (P-gp)

Viele Tumorzellen exprimieren Transporterproteine für Wirkstoffe, was häufig mit einer Resistenzentwicklung gegenüber Cytostatika einhergeht. Substanzen, die keine Substrate von solchen Transporterproteinen wie beispielsweise P-Glycoprotein (P-gp) oder BCRP sind, könnten somit ein verbessertes Wirkprofil aufzeigen.

Die Substrateigenschaften einer Substanz für P-gp (ABCB1) wurden mittels eines Flux-Assays unter Verwendung von LLC-PK1-Zellen, die P-gp überexprimieren (L-MDR1-Zellen), bestimmt [A.H. Schinkel *et al.*, *J. Clin. Invest.* 96, 1698-1705 (1995)]. Hierzu wurden die LLC-PK1- oder L-MDR1-Zellen auf 96-Loch-Filterplatten für 3-4 Tage kultiviert. Zur Bestimmung der Permeation wurde die jeweilige Testsubstanz allein oder in Gegenwart eines Inhibitors (wie z.B. Ivermectin oder Verapamil) in einem HEPES-Puffer entweder apikal (A) oder basal (B) auf die Zellen gegeben und für 2 h inkubiert. Nach 0 h und nach 2 h wurden Proben aus den Cis- und Transkompartimenten entnommen. Die Proben wurden mittels HPLC unter Verwendung von reverse phase-Säulen aufgetrennt. Das HPLC-System war über ein Turbo Ion Spray-Interface an ein Triple Quadrupol-Massenspektrometer API 3000 (Applied Biosystems Applera, Darmstadt, Deutschland) gekoppelt. Die Permeabilität wurde anhand eines P_{app} -Wertes bewertet, welcher mittels der von Schwab *et al.* publizierten Formel berechnet wurde [D. Schwab *et al.*, *J. Med. Chem.* 46, 1716-1725 (2003)].

Von entscheidender Bedeutung für Toxophore, die intrazellulär freigesetzt werden, ist die Permeabilität von B nach A [P_{app} (B-A)]: Je niedriger diese Permeabilität ist, desto länger ist die Verweil-

zeit des Ausführungsbeispiels in der Zelle nach intrazellulärer Freisetzung und damit auch die Zeit, die für eine Interaktion mit dem biochemischen Target (hier: Tubulin) zur Verfügung steht.

In der folgenden Tabelle 5 sind Permeabilitätsdaten repräsentativer Ausführungsbeispiele aus diesem Assay, welches in L-MDR1-Zellen durchgeführt wurde, aufgeführt:

5 **Tabelle 5**

Ausführungsbeispiel	P_{app} (B-A) [nm/s]
62	3
63	3.6
64	2.1
65	3.6
66	4
68	2
105	6
106	4

Die Ausführungsbeispiele weisen eine niedrige Permeabilität von B nach A [P_{app} (B-A)] auf und haben daher eine lange Verweildauer in den L-MDR1-Zellen.

10 C-6. Pharmakokinetik im HT29 Tumormodell mit Mesothelin-transfizierten bzw. nichttransfizierten HT29 Zellen

Nach i.v. Applikation von 16 mg/kg von Beispiel 5 wurden die Plasma- und Tumorkonzentrationen von Beispiel 5 sowie potentiell auftretenden Metaboliten wie beispielsweise von Beispiel 64 gemessen. In den Tieren mit Mesothelin-transfizierten Tumoren betrug die Fläche unter der Kurve (AUC) der Verbindung aus Beispiel 64 in Plasma ca. 0.50 mg*h/l; im Tumor war die Exposition der Verbindung aus Beispiel 64 ca. 400fach höher (AUC = 203 mg*h/L). In den Tieren mit nichttransfizierten Tumortieren war die Exposition von Beispiel 64 in Plasma identisch zu der Exposition in Plasma in Tieren mit transfizierten Tumoren. Hingegen war die AUC im Tumor in den nichttransfizierten Tieren ca. 8fach niedriger, als in den transfizierten Tieren. Dies zeigt einen deutlichen Targetingeffekt im Tumor in Anwesenheit des Antigens.

Analytik zur Quantifizierung der Verbindung aus Beispiel 64

Die Messung der Verbindung aus Beispiel 64 in Plasma und Tumor erfolgte nach Fällung der Proteine mit Methanol durch eine Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC) gekoppelt an ein Tandem-Massenspektrometer (MS).

- 5 Zur Aufarbeitung von 100 μL Plasma wurden diese mit 400 μL Methanol und 10 μL internem Standard (ISTD, 50 ng/mL in Methanol) versetzt und für 10 Sekunden geschüttelt. Nach dem 5minütigen Zentrifugieren bei 16000 g wurden 250 μL Überstand in ein Autosampler-Vial überführt, mit 250 μL Ammoniumacetat-Puffer (AAC, 10 mM, pH 6.8) aufgefüllt und erneut geschüttelt.
- 10 Bei der Aufarbeitung eines Tumors wurde dieser mit der 4fachen Menge an Methanol versetzt. Im Tissuelyser II (Quiagen) wurde die Probe 6 Minuten bei 30 Schlägen pro Minute zerkleinert und anschließend 5 Minuten bei 16000 g abzentrifugiert. 50 μL des Überstandes wurde in ein Autosampler-Vial überführt und mit 50 μL Ammoniumacetat-Puffer (10 mM, pH 6.8), sowie 5 μL ISTD aufgefüllt. Nach erneutem Schütteln war die Tumorprobe messfertig.
- 15 Die Messung beider Matrixproben erfolgte schließlich an dem mit einer HPLC gekoppelten atmospheric pressure ionization/tandem Massenspektrometer mittels TurboIonSpray interface (TISP) auf einem API4000-Gerät der Firma SCIEX. Gemessen wurden folgende m/z-Übergänge:

Beispiel 64 (Quantifier)	614.652	→	570.9
Beispiel 64 (Qualifier 1)	614.652	→	555.0
20 Beispiel 64 (Qualifier 2)	614.652	→	500.4
Interner Standard (ISTD)	726.665	→	694.5

- Die HPLC/LC-MSMS (TISP)-Analytik lief auf einer HP1100-Pumpe (Agilent) mit der Säule Gemini (5 μm C18 110 A, 50 x 3 mm, Phenomenex) unter folgenden Gradientenbedingungen: Fluss 0.4 mL/min; Gradient: 0.0 min – 1.0 min 10% Acetonitril/90% AAC, 1.0 min – 3.0 min 10% Acetonitril/90% AAC → 50% Acetonitril/50% AAC, 3.0 min – 5.5 min 50% Acetonitril/50% AAC, 5.5 min – 5.6 min 50% Acetonitril/50% AAC → 10% Acetonitril/90% AAC, 5.6 min – 6.0 min 10% Acetonitril/90% AAC.

Zur Kalibrierung wurden Plasmaproben mit Konzentrationen von 0.5 – 2000 $\mu\text{g/L}$ versetzt. Die Nachweisgrenze (LOQ) lag bei 2 $\mu\text{g/L}$. Der lineare Bereich erstreckte sich von 2 bis 1000 $\mu\text{g/L}$

- 549 -

Zur Kalibrierung der Tumorproben wurde der Überstand unbehandelter Tumore mit Konzentrationen von 0.5 – 200 µg/L versetzt. Die Nachweisgrenze lag bei 5 µg/L. Der lineare Bereich erstreckte sich von 5 bis 200 µg/L.

Qualitätskontrollen zur Gültigkeitsprüfung enthielten 5 und 50 µg/L, in Plasma zusätzlich 500 µg/L. Die bestimmten Konzentrationen dieser Proben wichen bis zu 20% vom Sollwert ab (Daten nicht angefügt).

C-7. Wirksamkeitstest in vivo

Die Wirksamkeit der erfindungsgemäßen Konjugate wurde in vivo beispielsweise mittels Xenograft-Modellen getestet. Der Fachmann kennt Methoden im Stand der Technik, anhand derer die Wirksamkeit der erfindungsgemäßen Verbindungen getestet werden kann (siehe z.B. WO 2005/081711; Polson et al., Cancer Res. 2009 Mar 15;69(6):2358-64). Beispielsweise wurde hierzu Nagern (z.B. Mäusen) eine Tumorzelllinie, welche das Zielmolekül des Binders exprimiert, implantiert. Anschließend wurde den Implantat-Tieren entweder ein erfindungsgemäßes Konjugat oder ein Kontrollantikörper oder isotonische Salzlösung appliziert. Die Applikation erfolgte einmalig oder öfters. Nach einer Inkubationszeit von mehreren Tagen wurde die Tumorgröße im Vergleich von Konjugat-behandelten Tieren und der Kontrollgruppe bestimmt. Die Konjugat-behandelten Tiere zeigten eine geringere Tumorgröße.

C-7a. Testung von anti-Mesothelin ADCs in experimentellen Tumoren in der Maus

Humane Tumorzellen, die Mesothelin exprimieren, werden subcutan in die Flanke von immunsupprimierten Mäusen gespritzt, beispielsweise Nude-Mäuse oder SCID-Mäuse. 1-10 Millionen Zellen werden aus der Zellkultur abgelöst, zentrifugiert und mit 100 µl Medium oder Medium / Matrigel 1:1 resuspendiert. Die Zellsuspension wird unter die Haut der Maus gespritzt.

Innerhalb von einigen Tagen wächst ein Tumor heran. Die Behandlung beginnt frühestens bei einer Tumorgröße von 20 mm². Um die Wirkung auf bereits etablierte Tumore zu untersuchen, kann die Behandlung auch erst bei einer Tumorgröße von 50-100 mm² begonnen werden.

Die Behandlung mit ADCs erfolgt über die intravenöse Route in die Schwanzvene der Maus. Das ADC wird in PBS gelöst und mit einem Volumen von 5 ml / kg appliziert.

Das Behandlungsschema richtet sich nach der Pharmakokinetik des Antikörpers. Als Standard wird drei Mal in Folge jeden vierten Tag behandelt. Die Behandlung kann aber auch weiter fortgesetzt werden oder es kann sich zu einem späteren Zeitpunkt ein zweiter Zyklus mit drei Behandlungstagen anschließen.

Standardmäßig werden 8 Tiere pro Behandlungsgruppe eingesetzt. Diese Zahl kann sich erhöhen, wenn besonders starke Schwankungen beim Tumorwachstum oder nach der Behandlung zu erwarten sind. Neben den Gruppen, die die Wirksubstanzen bekommen wird eine Gruppe als Kontrollgruppe nur mit dem Puffer nach dem gleichen Schema behandelt.

- 5 Im Verlauf des Experiments wird die Tumorfläche regelmäßig mit einer Schieblehre in zwei Dimensionen (Länge / Breite) gemessen.

Am Ende des Experiments werden die Tumore entnommen und gewogen. Der Quotient der mittleren Tumorgewichte der Therapiegruppe (T) mit der Kontrollgruppe (C) wird als T/C angegeben.

- 10 C-7b. Wirksamkeit im HT29 Colonkarzinom-Tumormodell mit Mesothelin-transfizierten HT29 Zellen

Eine Million HT29 Zellen (stabil transfiziert mit Mesothelin) werden subcutan in die Flanke von NMRI-nude Mäusen inokuliert. Bei einer mittleren Tumorgöße von 30 mm² an Tag 6 beginnt die Behandlung intravenös (Tag 6, 10, 14). Im Anschluß an die Behandlung wird das Tumorwachstum bis Tag 26 verfolgt. Die Tiere der Kontrollgruppe müssen an Tag 26 aufgrund der großen Tumore aus tierschutzrechtlichen Gründen fachgerecht getötet werden.

- 15

Die ADCs bewirken eine deutliche Tumorwachstumshemmung. An Tag 26 wird der Versuch beendet und die Tumore von allen Tieren gewogen. Daraus wird T / C als Tumorgewicht der Behandlungsgruppe im Verhältnis zur Kontrollgruppe errechnet.

- 20 Tabelle 7:

ADC	Dosis	T / C
Vehikel	--	1
Beispiel 60	5 mg / kg	0.32
Beispiel 81	5 mg / kg	0.33

- C-7c. Wirksamkeit im Ovar3 Ovarialkarzinom Tumormodell

Drei Millionen Ovar3 Zellen werden subcutan in die Flanke von NMRI-nude Mäusen inokuliert.

- 25 Bei einer mittleren Tumorgöße von 40 mm² an Tag 49 beginnt die Behandlung intravenös mit einer Dosis von 5 mg / kg (Tag 38, 42, 46 und Tag 70, 74). Im Anschluß an die Behandlung wird das Tumorwachstum bis Tag 78 verfolgt. Am Ende des Experiments werden die Tumore entnommen und gewogen.

Die ADCs bewirken eine deutliche Tumorstillung. An Tag 78 wird der Versuch beendet und die Tumore von allen Tieren gewogen. Daraus wird T / C als Tumorgewicht der Behandlungsgruppe im Verhältnis zur Kontrollgruppe errechnet.

Tabelle 8:

ADC	Dosis	T / C
Vehikel	--	1
Beispiel 60	5 mg / kg	0.3
Beispiel 81	5 mg / kg	0.23
Beispiel 60	10 mg / kg	0.32
Beispiel 81	10 mg / kg	0.16

5

C-7d. Wirksamkeit im NCI-H322 Lungenkarzinom-Tumormodell, welches endogen Mesothelin exprimiert. Behandlungsschema q4dx3.

Fünf Millionen NCI-H322 Zellen werden subcutan in die Flanke von NMRI-nude Mäusen inokuliert. Bei einer Tumorstillung von ca. 50 mm² an Tag 21 beginnt die Behandlung intravenös (Tag 21, 25, 29). Im Anschluß an die Behandlung wird das Tumorstillung bis Tag 42 verfolgt. Die Tiere der Kontrollgruppe müssen an Tag 42 aufgrund der großen Tumore aus tierschutzrechtlichen Gründen fachgerecht getötet werden.

Die ADCs bewirken eine deutliche Tumorstillung. An Tag 42 wird der Versuch beendet und die Tumore von allen Tieren gewogen. Daraus wird T / C als Tumorgewicht der Behandlungsgruppe im Verhältnis zur Kontrollgruppe errechnet.

15

Tabelle 9:

ADC	Dosis	T/C
Vehikel	--	1
Beispiel 60	5 mg / kg	0.31
Beispiel 60	15 mg / kg	0.09
Beispiel 81	5 mg / kg	0.09

C-7e. Wirksamkeit im NCI-H322 Lungenkarzinom-Tumormodell, welches endogen Mesothelin exprimiert. Behandlungsschema: Einmalgabe.

20

Fünf Millionen NCI-H322 Zellen werden subcutan in die Flanke von NMRI-nude Mäusen inokuliert. Bei einer Tumorstillung von ca. 45 mm² an Tag 22 wird einmalig mit den ADCs bzw.

- 552 -

Vehikel intravenös behandelt. Im Anschluß an die Behandlung wird das Tumorwachstum verfolgt. Die Tiere der Kontrollgruppe müssen an Tag 50 aufgrund der großen Tumore aus tierschutzrechtlichen Gründen fachgerecht getötet werden.

Die ADCs bewirken eine deutliche Tumorwachstumshemmung. Die Tumorflächen (Länge x
5 Breite) an Tag 50 werden zur Bestimmung des T / C herangezogen.

Tabelle 10:

ADC	Dosis	T / C
Vehikel	--	1
Beispiel 60	5 mg / kg 1x	0.73
Beispiel 81	5 mg / kg 1x	0.33
Beispiel 60	15 mg / kg 1x	0.32
Beispiel 81	15 mg / kg 1x	0.23

D. Ausführungsbeispiele für pharmazeutische Zusammensetzungen

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können folgendermaßen in pharmazeutische Zubereitungen überführt werden:

i.v.-Lösung:

- 5 Die erfindungsgemäße Verbindung wird in einer Konzentration unterhalb der Sättigungslöslichkeit in einem physiologisch verträglichen Lösungsmittel (z.B. isotonische Kochsalzlösung, D-PBS, oder einer Formulierung mit Glycin und Natriumchlorid in Citratpuffer unter Zusatz von Polysorbat 80) gelöst. Die Lösung wird steril filtriert und in sterile und pyrogenfreie Injektionsbehältnisse abgefüllt.

10 i.v.-Lösung:

- Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in die angeführten Applikationsformen überführt werden. Dies kann in an sich bekannter Weise durch „Mischen mit“ bzw. „Lösen in“ inerten, nichttoxischen, pharmazeutisch geeigneten Hilfsstoffen (z.B. Puffersubstanzen, Stabilisatoren, Lösungsvermittler, Konservierungsmittel) geschehen. Z.B können enthalten sein: Aminosäuren (Glycin, Histidin, Methionin, Arginin, Lysin, Leucin, Isoleucin, Threonin, Glutaminsäure, Phenylalanin und weitere), Zucker und verwandte Stoffe (Glucose, Saccharose, Mannitol, Trehalose, Sucrose, Mannose, Lactose, Sorbitol), Glycerin, Natrium-, Kalium, Ammonium-, und Calciumsalze (z.B. Natriumchlorid, Kaliumchlorid oder Dinatriumhydrogenphosphat und v.a. mehr), Acetat/Essigsäure - Puffersysteme, Phosphatpuffersysteme, Zitronensäure u.
- 15 (Glycin, Histidin, Methionin, Arginin, Lysin, Leucin, Isoleucin, Threonin, Glutaminsäure, Phenylalanin und weitere), Zucker und verwandte Stoffe (Glucose, Saccharose, Mannitol, Trehalose, Sucrose, Mannose, Lactose, Sorbitol), Glycerin, Natrium-, Kalium, Ammonium-, und Calciumsalze (z.B. Natriumchlorid, Kaliumchlorid oder Dinatriumhydrogenphosphat und v.a. mehr), Acetat/Essigsäure - Puffersysteme, Phosphatpuffersysteme, Zitronensäure u.
- 20 Citratpuffersysteme, Trometamol (TRIS und TRIS-Salze), Polysorbate (z.B. Polysorbat 80 und Polysorbat 20), Poloxamere (z.B. Poloxamer 188 und Poloxamer 171), Macrogole (PEG-Derivate, z.B. 3350), Triton X-100, EDTA-Salze, Glutathion, Albumine (z.B. human), Harnstoff, Benzylalkohol, Phenol, Chlorocresol, Metacresol, Benzalkoniumchlorid und viele andere mehr.

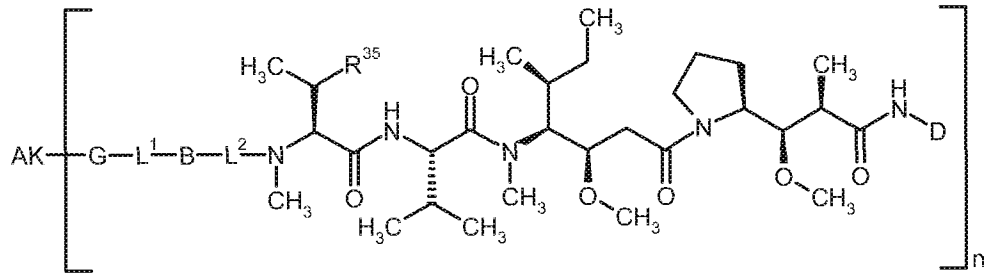
Lyophilisat zur späteren Überführung in eine i.v., s.c. oder i.m.-Lösung:

- 25 Alternativ können die erfindungsgemäßen Verbindungen in ein stabiles Lyophilisat (e.v. durch Mithilfe von oben genannten Hilfsstoffen) überführt werden und vor Applikation mit einem geeigneten Lösungsmittel (z.B. Wasser für Injektionszwecke, isoton. Kochsalzlösung) rekonstituiert und appliziert werden.

Ansprüche

Ansprüche

1. Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia)



5

(Ia),

in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 50 steht,

AK für einen Binder steht,

die Gruppe §-G-L¹-B-L²-§§ für einen Linker steht,

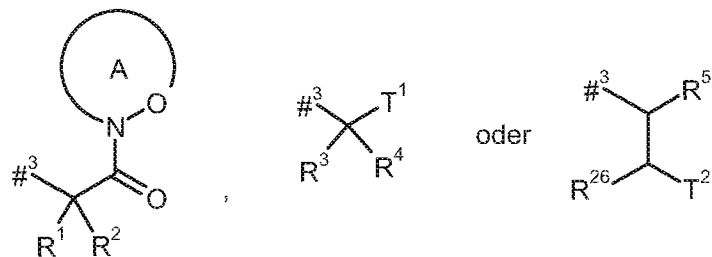
10

wobei

§ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe AK kennzeichnet und

§§ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



15

steht, wobei

#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

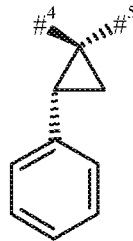
R¹ für Wasserstoff oder Methyl steht,

- 555 -

R² für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

5 oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

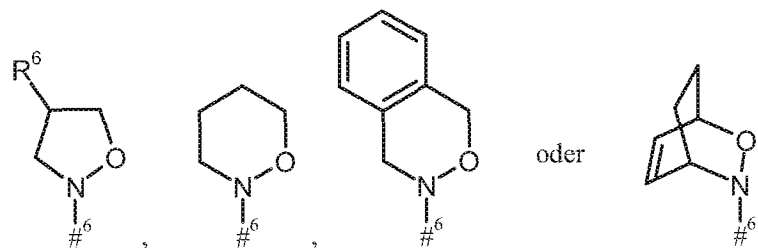


bilden, worin

10 #⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

15 der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



steht, worin

20 #⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

- 556 -

R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

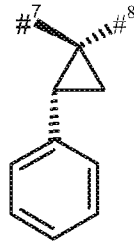
R³ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁴ für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

5

oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



10

bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

15

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

20

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

oder

- 557 -

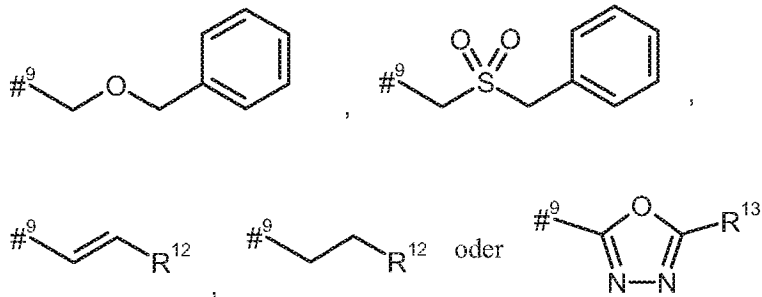
R⁸ und R⁹ bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R¹⁰ für Benzoyl steht,

R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

5

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit -CHC(R²⁶)-T² kennzeichnet,

10

R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel -S(O)₂OH substituiert sein kann,

R¹³ für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

R²⁶ für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

15

T² für Phenyl, Benzyl, 1*H*-Indol-3-yl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

R³⁵ für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

2. Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia) gemäß Anspruch 1, in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 50 steht,

20

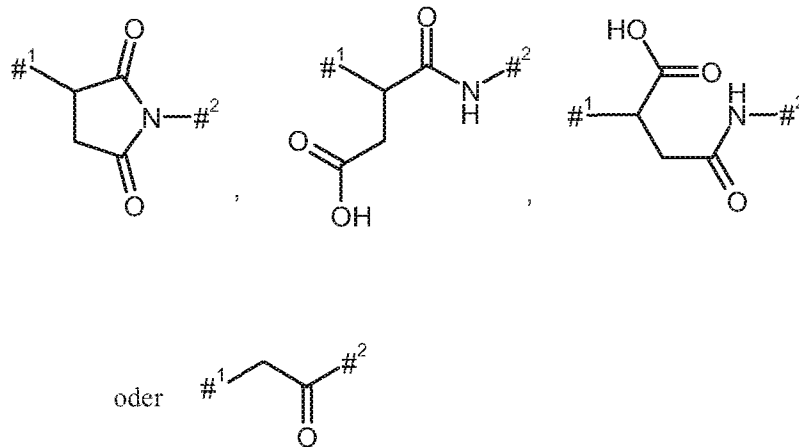
AK für AK₁ oder AK₂ steht

wobei

AK₁ für einen Binder, der über ein Schwefelatom des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

AK₂ für einen Binder, der über ein Stickstoffatom des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

5 G für den Fall, dass AK = AK₁ ist, für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

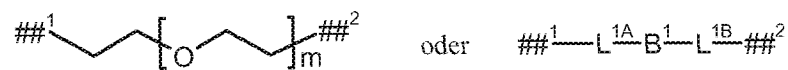
#¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Schwefelatom des Binders kennzeichnet,

#² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,

10 oder

für den Fall, dass AK = AK₂ ist, für Carbonyl steht,

L¹ für eine Bindung, lineares (C₁-C₁₀)-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel



steht, wobei

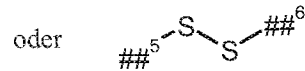
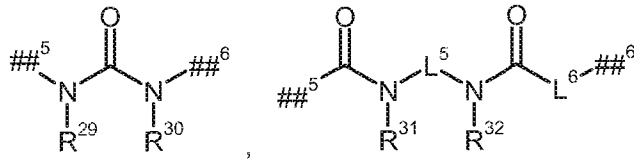
15 m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

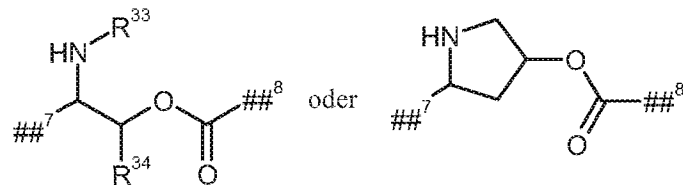
##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

L^{1A} für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl steht,

- 559 -

B¹ für eine Gruppe der Formel

steht, worin

##⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1A} kennzeichnet,5 ##⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1B} kennzeichnet,L⁵ für eine Bindung oder (C₂-C₄)-Alkandiyl steht,L⁶ für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel

steht, worin

10 ##⁷ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,##⁸ die Verknüpfungsstelle mit L^{1B} kennzeichnet,R³³ für Wasserstoff, (C₁-C₄)-Alkylcarbonyl, tert.-Butyloxy-carbonyl oder Benzyloxy-carbonyl steht,15 R³⁴ für Wasserstoff oder Methyl steht,R²⁹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,R³⁰ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

- 560 -

R²⁹ und R³⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind,
einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R³¹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R³² für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

5

oder

R³¹ und R³² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind,
einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

L^{1B} für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl steht,

und

10

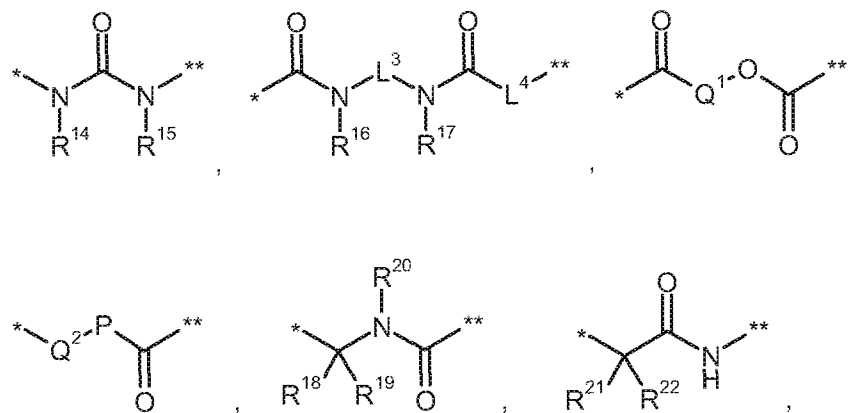
wobei (C₁-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander
ausgewählt aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substituiert sein kann,

und

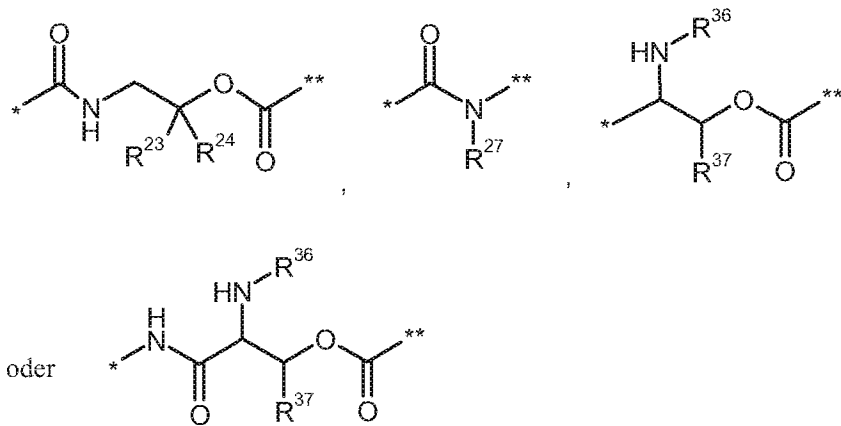
wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation
zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlen-
stoffatome zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt
sein können,

15

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



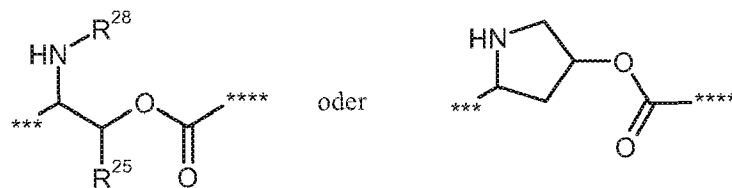
- 561 -



steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

5 P für O oder NH steht,

 L^3 für eine Bindung oder (C_2-C_4) -Alkandiyl steht, L^4 für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel

steht, worin

10 *** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

**** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet, R^{25} für Wasserstoff oder Methyl steht, R^{28} für Wasserstoff, (C_1-C_4) -Alkylcarbonyl, tert.-Butyloxycarbonyl oder Benzyloxycarbonyl steht,15 Q^1 für einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht, Q^2 für einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus oder einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht,

- 562 -

R¹⁴ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R¹⁵ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

5 R¹⁴ und R¹⁵ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5-
oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R¹⁶ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R¹⁷ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

10 R¹⁶ und R¹⁷ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5-
oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R¹⁸ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R¹⁹ für Wasserstoff oder die Seitengruppe einer natürlichen α -Aminosäure
oder ihrer Homologe oder Isomere steht,

R²⁰ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

15 oder

R¹⁹ und R²⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen
Pyrrolidinyrning bilden,

R²¹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²² für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

20 oder

R²¹ und R²² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 3- bis
7-gliedrigen Carbocyclus bilden,

R²³ für (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²⁴ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

25 R²⁷ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

- 563 -

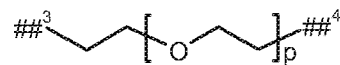
R³⁶ für Wasserstoff, (C₁-C₄)-Alkylcarbonyl, tert.-Butyloxycarbonyl oder Benzyloxy carbonyl steht,

R³⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

5 R³⁶ und R³⁷ bilden zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinring,

L² für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

10 p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

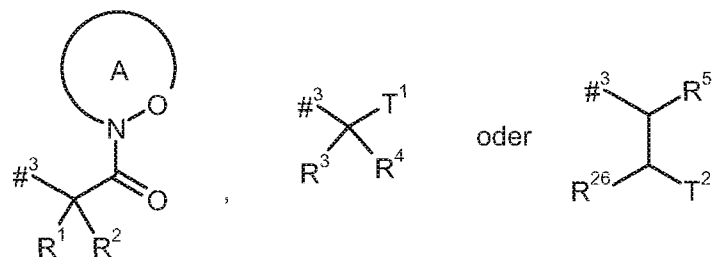
##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

wobei (C₂-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substituiert sein kann,

15 und

wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

20 D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

- 564 -

#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

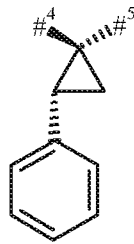
R¹ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R² für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

5

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



10

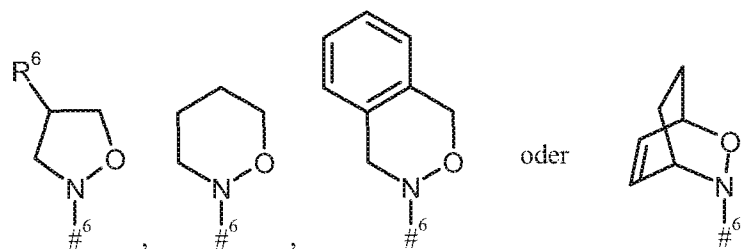
bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

15

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



20

steht, worin

- 565 -

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe
kennzeichnet,

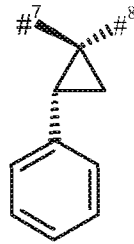
R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R³ für Wasserstoff oder Methyl steht,

5 R⁴ für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

10 R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

15 #⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden
Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-
R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

20 R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder
Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

- 566 -

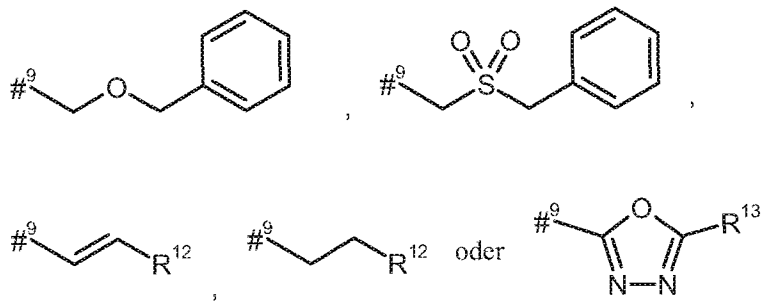
oder

R^8 und R^9 bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R^{10} für Benzoyl steht,

5 R^{11} für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R^5 für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

10 $\#^9$ die Verknüpfungsstelle mit $-\text{CHC}(\text{R}^{26})-\text{T}^2$ kennzeichnet,

R^{12} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-\text{S}(\text{O})_2\text{OH}$ substituiert sein kann,

R^{13} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

15 R^{26} für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

T^2 für Phenyl, Benzyl, *1H*-Indol-3-yl oder *1H*-Indol-3-ylmethyl steht,

R^{35} für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

3. Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia) gemäß Anspruch 1 oder 2, in
20 welcher

n für eine Zahl von 1 bis 20 steht,

- 567 -

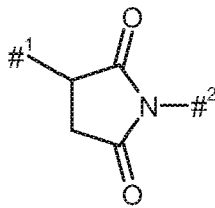
AK für AK₁ oder AK₂ steht

wobei

5 AK₁ für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

AK₂ für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für den Fall, dass AK = AK₁ ist, für eine Gruppe der Formel



10

steht, wobei

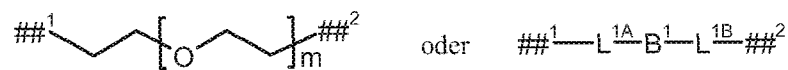
#¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

#² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,

oder

15 für den Fall, dass AK = AK₂ ist, für Carbonyl steht,

L¹ für eine Bindung, lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel



steht, wobei

m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

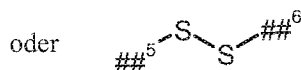
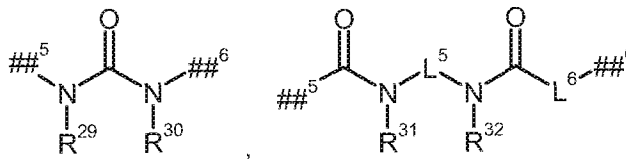
20 ##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

- 568 -

L^{1A} für lineares (C_2-C_6)-Alkandiyl steht,

B^1 für eine Gruppe der Formel



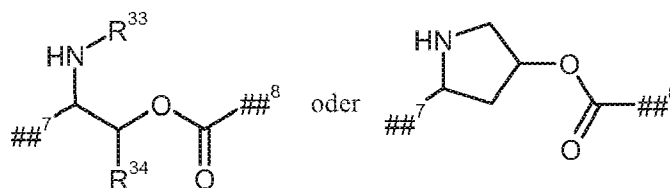
steht, worin

5 $##^5$ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1A} kennzeichnet,

$##^6$ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1B} kennzeichnet,

L^5 für eine Bindung steht,

L^6 für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



10 steht, worin

$##^7$ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

$##^8$ die Verknüpfungsstelle mit L^{1B} kennzeichnet,

15 R^{33} für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxy-carbonyl steht,

R^{34} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{29} für Wasserstoff steht,

R^{30} für Wasserstoff steht,

R³¹ für Wasserstoff oder Methyl steht,

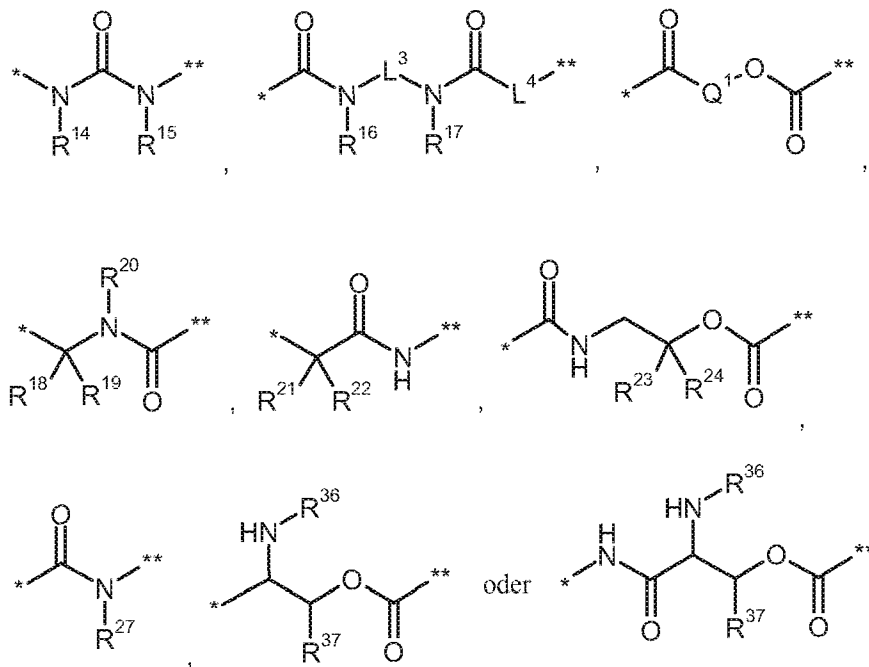
R³² für Wasserstoff oder Methyl steht,

L^{1B} für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl steht,

und

5 wobei (C₂-C₆)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



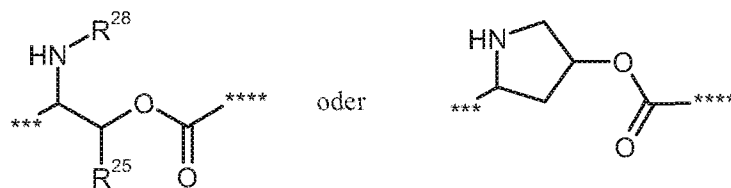
steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,

10 ** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

L³ für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht,

L⁴ für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



- 570 -

steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

**** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

R^{25} für Wasserstoff oder Methyl steht,

5 R^{28} für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

Q^1 für einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht,

R^{14} für Wasserstoff steht,

R^{15} für Wasserstoff steht,

R^{16} für Wasserstoff oder Methyl steht,

10 R^{17} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

R^{16} und R^{17} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Piperazinyling bilden,

R^{18} für Wasserstoff steht,

15 R^{19} für Wasserstoff, Methyl, Propan-2-yl, 2-Methylpropan-1-yl oder 1-Methylpropan-1-yl steht,

R^{20} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

20 R^{19} und R^{20} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinyling bilden,

R^{21} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{22} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

25 R^{21} und R^{22} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Cyclopropyling bilden,

R²³ für Methyl steht,

R²⁴ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R²⁷ für Wasserstoff steht,

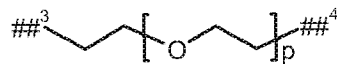
R³⁶ für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

5 R³⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

R³⁶ und R³⁷ bilden zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinring,

L² für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

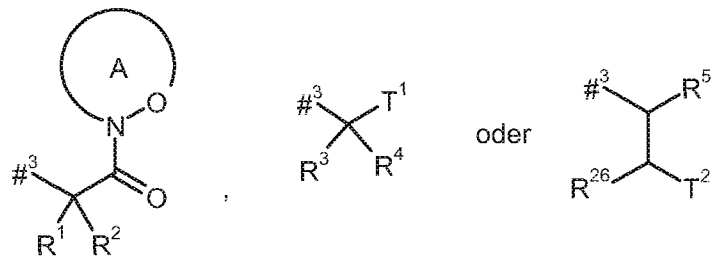
p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

15 wobei (C₂-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

20 R¹ für Wasserstoff steht,

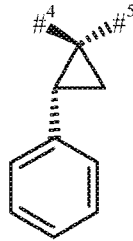
- 572 -

R² für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

5



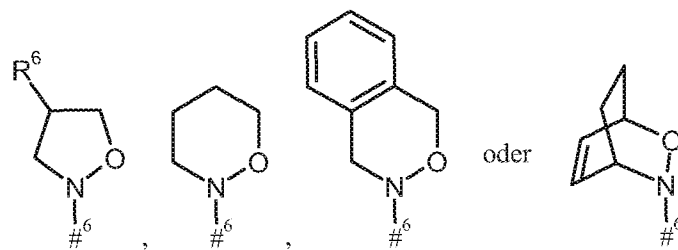
bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

10

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



15

steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

20

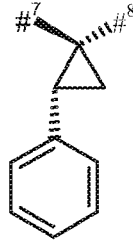
R³ für Wasserstoff steht,

- 573 -

R⁴ für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

5 R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

10 #⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

15 R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

oder

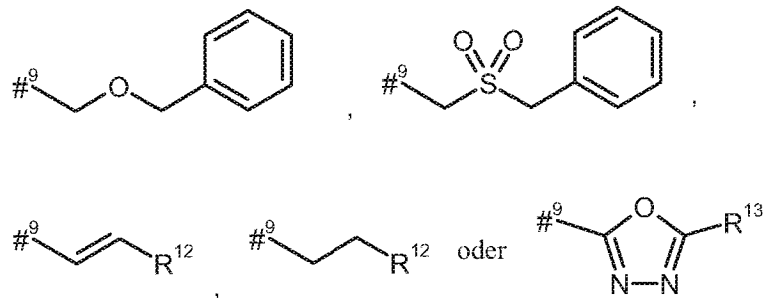
20 R⁸ und R⁹ bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R¹⁰ für Benzoyl steht,

R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

- 574 -

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit $-\text{CHC}(\text{R}^{26})-\text{T}^2$ kennzeichnet,

5 R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-\text{S}(\text{O})_2\text{OH}$ substituiert sein kann,

R¹³ für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

R²⁶ für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

10 T² für Phenyl, Benzyl, 1*H*-Indol-3-yl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

R³⁵ für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

4. Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia) gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, in welcher

15 n für eine Zahl von 1 bis 10 steht,

AK für AK₁ oder AK₂ steht

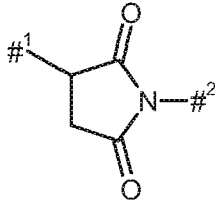
wobei

20 AK₁ für einen Antikörper, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers MF-Ta, die variable leichte und variable schwere Kette des Antikörpers MF-Ta oder die leichte und schwere Kette des Antikörpers MF-Ta umfasst, steht, der über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

- 575 -

5 AK_2 für einen Antikörper, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers MF-Ta, die variable leichte und variable schwere Kette des Antikörpers MF-Ta oder die leichte und schwere Kette des Antikörpers MF-Ta umfasst, steht, der über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für den Fall, dass $AK = AK_1$ ist, für eine Gruppe der Formel



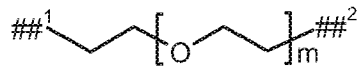
steht, wobei

10 $\#^1$ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,
 $\#^2$ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^1 kennzeichnet,

oder

für den Fall, dass $AK = AK_2$ ist, für Carbonyl steht,

L^1 für eine Bindung, lineares (C_2-C_6) -Alkandiyl, eine Gruppe der Formel



15 steht, wobei

m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

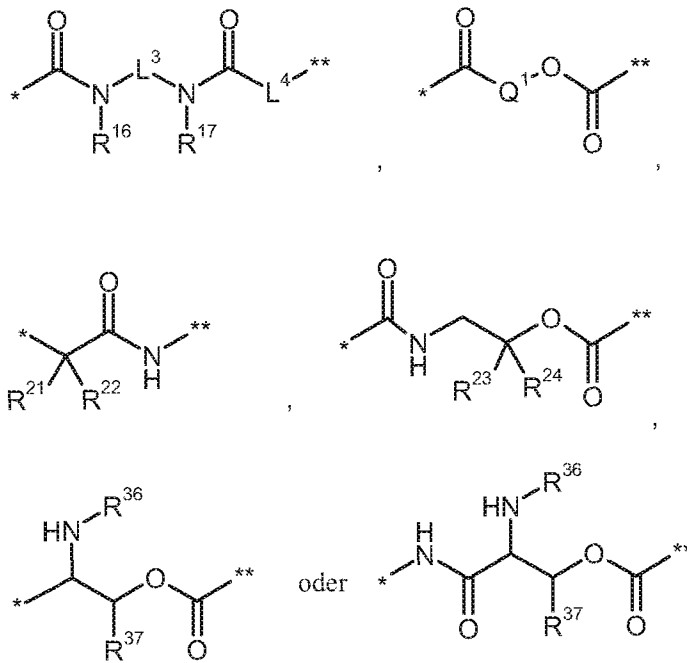
$##^1$ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

$##^2$ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

wobei (C_2-C_6) -Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

20 B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel

- 576 -



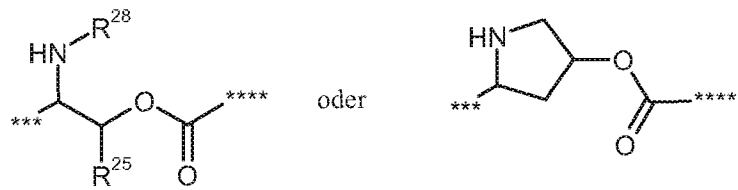
steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

5 L³ für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht,

L⁴ für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

10 **** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

R²⁵ für Methyl steht,

R²⁸ für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

Q¹ für Piperidin-1,4-diyl steht,

- 577 -

R¹⁶ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R¹⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

5 R¹⁶ und R¹⁷ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen
Piperazinyling bilden,

R²¹ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R²² für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

10 R²¹ und R²² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen
Cyclopropyling bilden,

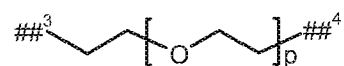
R²³ für Methyl steht,

R²⁴ für Wasserstoff steht,

R³⁶ für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

R³⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

15 L² für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



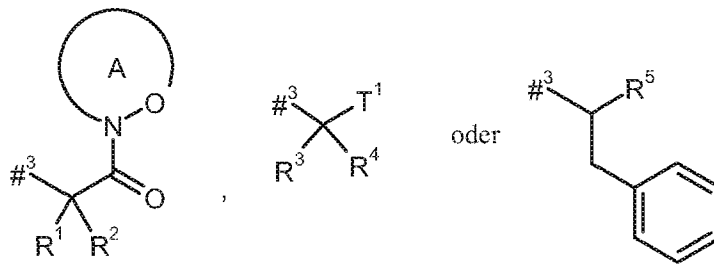
steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

20 ##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

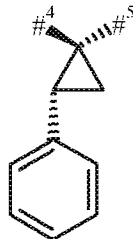
#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R¹ für Wasserstoff steht,

5 R² für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



10

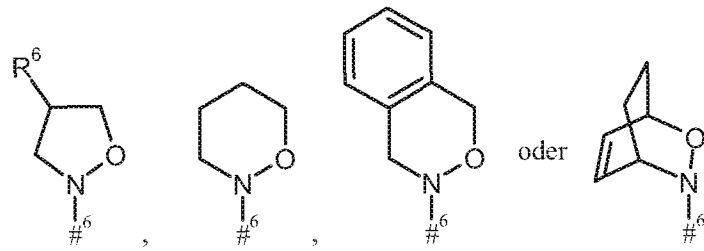
bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

15

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

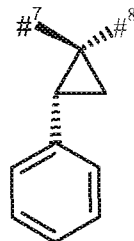
5 R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R³ für Wasserstoff steht,

R⁴ für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

10 R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

15 #⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

- 580 -

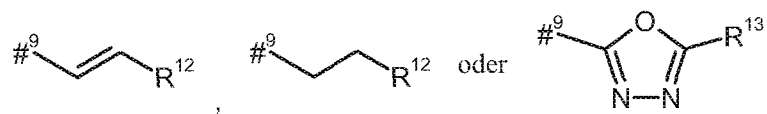
R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

5 R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

10 #⁹ die Verknüpfungsstelle mit -CHCH₂Phenyl kennzeichnet,

R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel -S(O)₂OH substituiert sein kann,

R¹³ für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

15 R³⁵ für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

5. Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia) gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4, in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 10 steht,

20 AK für AK₂ steht,

wobei

AK₂ für einen Antikörper, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers MF-Ta, die variable leichte und variable schwere Kette des Antikörpers MF-Ta oder die leichte und schwere Kette des Antikörpers MF-Ta umfasst, steht,

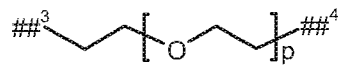
der über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für Carbonyl steht,

L¹ für eine Bindung, steht,

5 B für eine Bindung steht,

L² für lineares (C₃-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



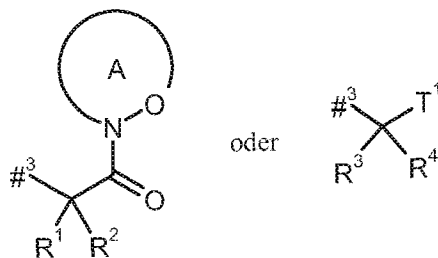
steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

10 ##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

15 #³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

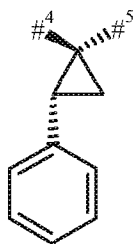
R¹ für Wasserstoff steht,

R² für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind,
 20 eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

- 582 -



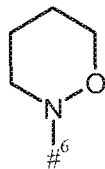
bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

5

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



10

steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R³ für Wasserstoff steht,

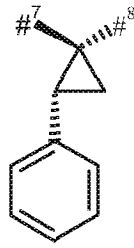
15

R⁴ für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

- 583 -



bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

5 #⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷ oder -C(=O)-NR⁸R⁹ steht,

worin

R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

10 R⁸ für Wasserstoff steht,

R⁹ für Wasserstoff oder Benzyl steht,

R³⁵ für Methyl steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

6. Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia) gemäß einem der Ansprüche 1 bis
15 4, in welcher

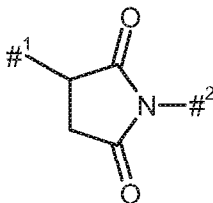
n für eine Zahl von 1 bis 10 steht,

AK für AK₁ steht,

wobei

20 AK₁ für einen Antikörper, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers MF-Ta, die variable leichte und variable schwere Kette des Antikörpers MF-Ta oder die leichte und schwere Kette des Antikörpers MF-Ta umfasst, steht, der über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für eine Gruppe der Formel

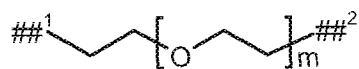


steht, wobei

#¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

5 #² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,

L¹ für eine Bindung, lineares (C₃-C₅)-Alkandiyl oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

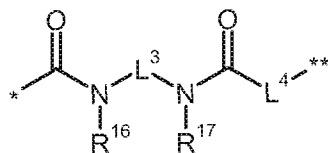
m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

10 ##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

wobei (C₃-C₅)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



15 steht, wobei

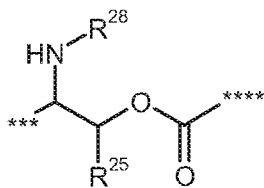
* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

L³ für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht,

- 585 -

L⁴ für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

5 **** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

R²⁵ für Methyl steht,

R²⁸ für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

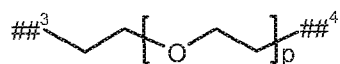
R¹⁶ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R¹⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

10 oder

R¹⁶ und R¹⁷ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Piperazinyling bilden,

L² für lineares (C₃-C₅)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



15 steht, wobei

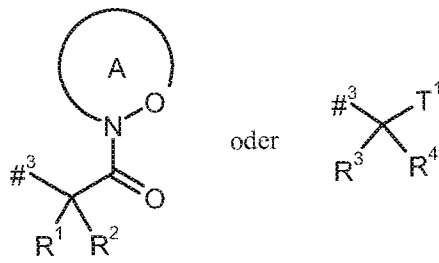
p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel

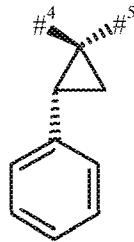
- 586 -



steht, wobei

#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,R¹ für Wasserstoff steht,5 R² für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

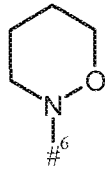
R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

10 bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

15 der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel

- 587 -



steht, worin

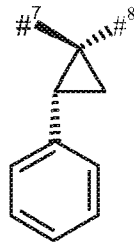
#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

5 R³ für Wasserstoff steht,

R⁴ für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



10

bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

15 T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷ oder -C(=O)-NR⁸R⁹ steht,

worin

R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

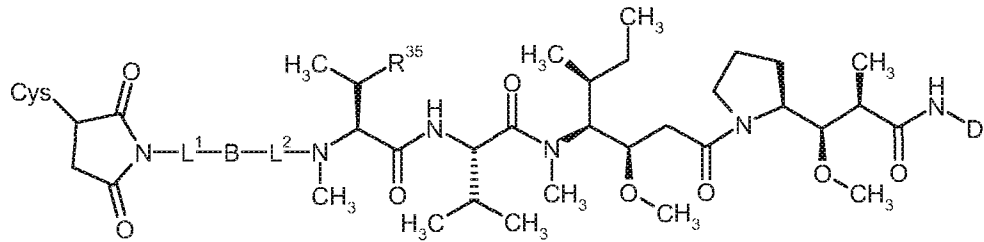
R⁸ für Wasserstoff steht,

20 R⁹ für Wasserstoff oder Benzyl steht,

R³⁵ für Methyl steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

7. Verbindungen der Formel (XXXa)



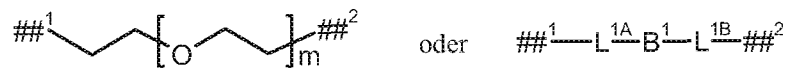
5

(XXXa),

in welcher

Cys für einen Cystein-Rest steht, der über das Schwefelatom der Seitenkette an ein Kohlenstoffatom des Succinimids gebunden ist,

L¹ für eine Bindung, lineares (C₁-C₁₀)-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel



10

steht, wobei

m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

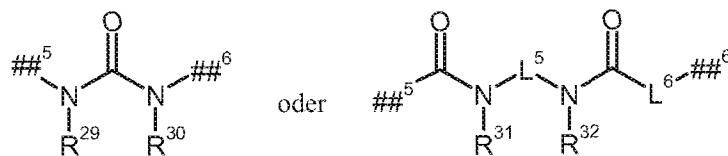
##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

15

L^{1A} für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl steht,

B¹ für eine Gruppe der Formel



steht, worin

- 589 -

- ##⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1A} kennzeichnet,
##⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1B} kennzeichnet,
L⁵ für eine Bindung oder (C₂-C₄)-Alkandiyl steht,
L⁶ für eine Bindung steht,
5 R²⁹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
R³⁰ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
oder
R²⁹ und R³⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5-
oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,
10 R³¹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
R³² für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
oder
R³¹ und R³² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5-
oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,
15 L^{1B} für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl steht,
und
wobei (C₁-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt
aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substituiert sein kann,
und
20 wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation
zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome
zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,
B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel

- 591 -

R¹⁶ und R¹⁷ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R¹⁸ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

5

R¹⁹ für Wasserstoff oder die Seitengruppe einer natürlichen α -Aminosäure oder ihrer Homologe oder Isomere steht,

R²⁰ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

R¹⁹ und R²⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinyrning bilden,

10

R²¹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²² für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

R²¹ und R²² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus bilden,

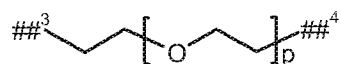
15

R²³ für (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²⁴ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²⁷ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

L² für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



20

steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

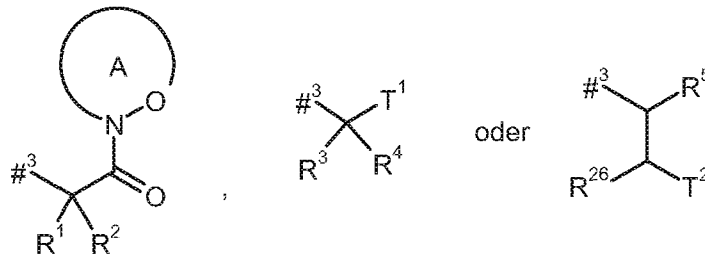
- 592 -

wobei (C₂-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substituiert sein kann,

und

5 wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

D für eine Gruppe der Formel



10 steht, wobei

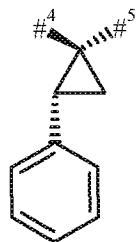
#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R¹ für Wasserstoff oder Methyl steht,

15 R² für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



20

- 593 -

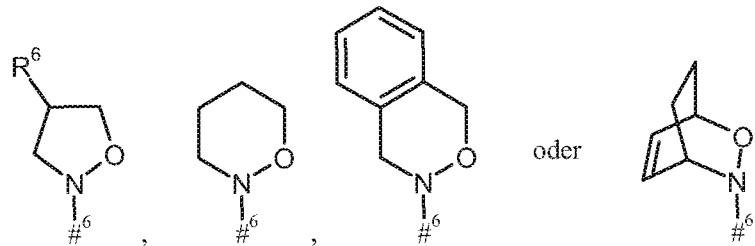
bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

5

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



10

steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

15 R³ für Wasserstoff oder Methyl steht,

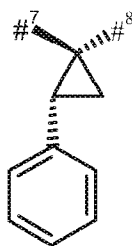
R⁴ für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

20

oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

- 594 -



bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

5 #⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

10 R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

oder

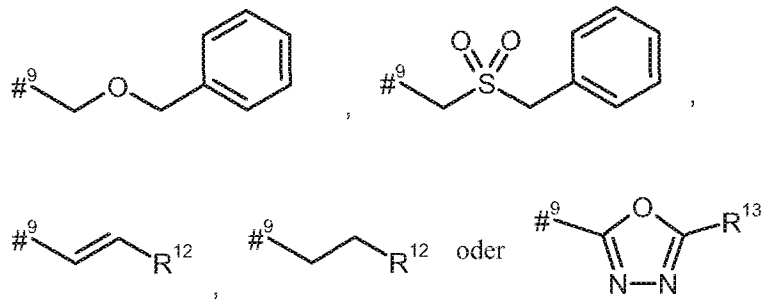
15 R⁸ und R⁹ bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R¹⁰ für Benzoyl steht,

R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel

- 595 -



steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit $-\text{CHC}(\text{R}^{26})-\text{T}^2$ kennzeichnet,

5 R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-\text{S}(\text{O})_2\text{OH}$ substituiert sein kann,

R¹³ für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

R²⁶ für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

T² für Phenyl, Benzyl, 1*H*-Indol-3-yl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

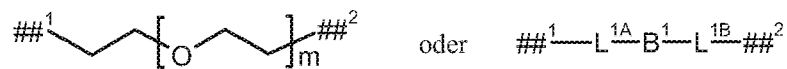
10 R³⁵ für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

8. Verbindungen der Formel (XXXa) gemäß Anspruch 7, in welcher

Cys für einen Cystein-Rest steht, der über das Schwefelatom der Seitenkette über ein Kohlenstoffatom des Succinimids gebunden ist, steht

15 L¹ für eine Bindung, lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel



steht, wobei

m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

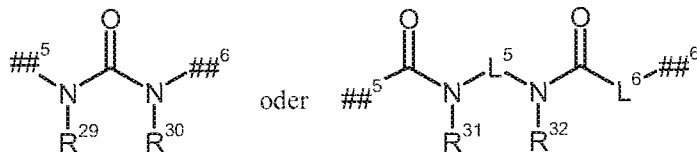
##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

20 ##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

- 596 -

L^{1A} für lineares (C_2-C_6)-Alkandiyl steht,

B^1 für eine Gruppe der Formel



steht, worin

5 $##^5$ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1A} kennzeichnet,

$##^6$ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1B} kennzeichnet,

L^5 für eine Bindung steht,

L^6 für eine Bindung steht,

R^{29} für Wasserstoff steht,

10 R^{30} für Wasserstoff steht,

R^{31} für Wasserstoff oder Methyl steht,

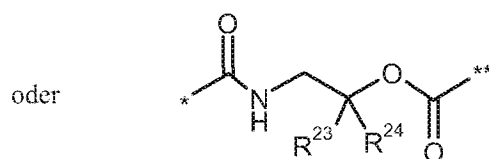
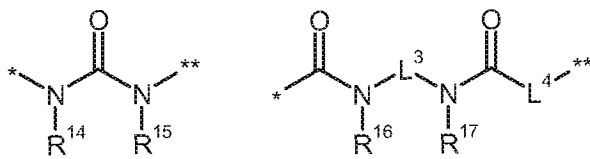
R^{32} für Wasserstoff oder Methyl steht,

L^{1B} für lineares (C_2-C_6)-Alkandiyl steht,

und

15 wobei (C_2-C_6)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel

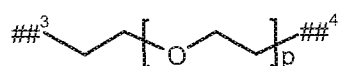


- 597 -

steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet, L^3 für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht,5 L^4 für eine Bindung steht, R^{14} für Wasserstoff steht, R^{15} für Wasserstoff steht, R^{16} für Wasserstoff oder Methyl steht, R^{17} für Wasserstoff oder Methyl steht,

10 oder

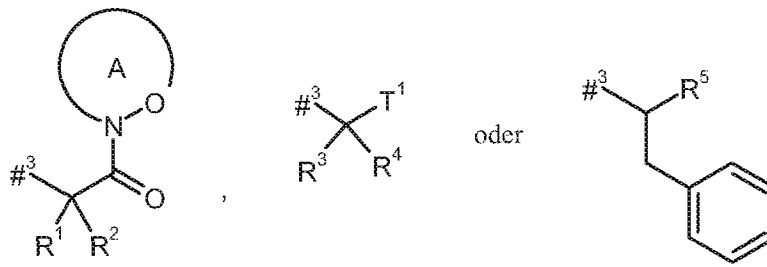
 R^{16} und R^{17} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind,
Piperazinyling bilden, R^{23} für Methyl steht, R^{24} für Wasserstoff oder Methyl steht,15 L^2 für lineares (C_2 - C_6)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel

steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,20 ##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

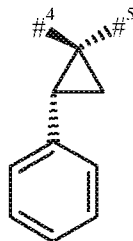
#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R¹ für Wasserstoff steht,

5 R² für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



10

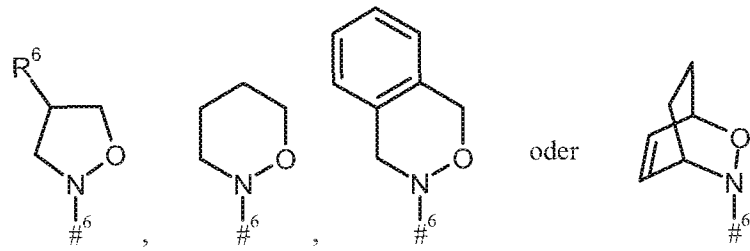
bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

15

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



steht, worin

5 #⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

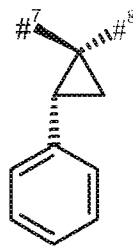
R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R³ für Wasserstoff steht,

R⁴ für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

10 oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

15 #⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

20 worin

- 600 -

R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

5

oder

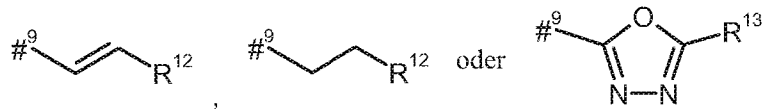
R⁸ und R⁹ bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R¹⁰ für Benzoyl steht,

R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

10

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit –CHCH₂Phenyl kennzeichnet,

15

R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel –S(O)₂OH substituiert sein kann,

R¹³ für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

R³⁵ für Methyl oder Hydroxy steht,

20

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

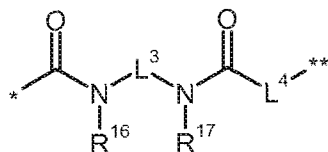
9. Verbindungen der Formel (XXXa) gemäß einem der Ansprüche 7 oder 8, in welcher

Cys für einen Cystein-Rest steht, der über das Schwefelatom der Seitenkette über ein Kohlenstoffatom des Succinimids gebunden ist, steht

- 601 -

L¹ für eine Bindung oder lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl steht,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

5 * die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

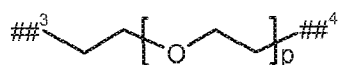
L³ für eine Bindung steht,

L⁴ für eine Bindung steht,

R¹⁶ für Wasserstoff oder Methyl steht,

10 R¹⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

L² für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



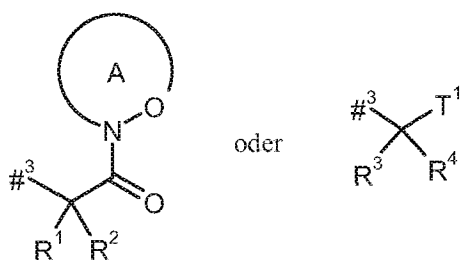
steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

15 ##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



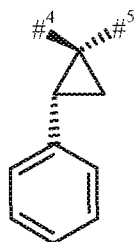
- 602 -

steht, wobei

#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,R¹ für Wasserstoff steht,R² für Benzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

5

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

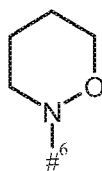
bilden, worin

10

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel

15



steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

20

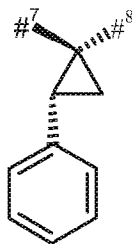
R³ für Wasserstoff steht,

- 603 -

R⁴ für Benzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



5

bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

10 T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷ oder -C(=O)-NR⁸R⁹ steht,

worin

R⁷ für Wasserstoff steht,

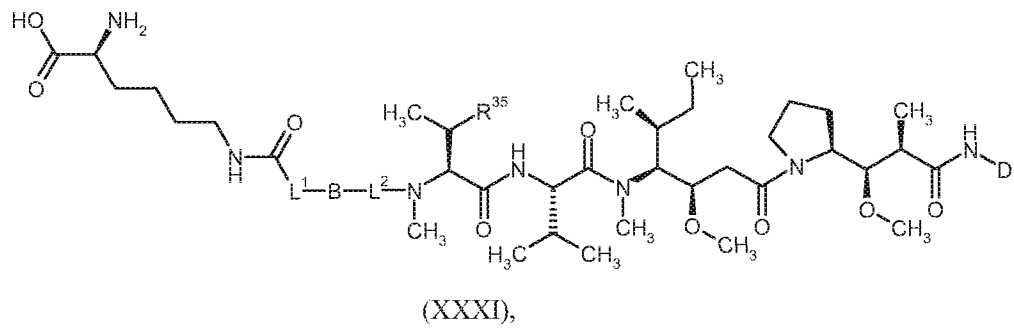
R⁸ für Wasserstoff steht,

R⁹ für Wasserstoff steht,

15 R³⁵ für Methyl steht,

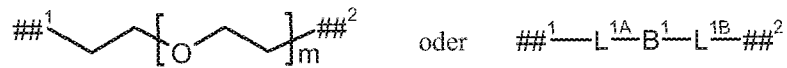
sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

10. Verbindungen der Formel (XXXI)



in welcher

L¹ für eine Bindung, lineares (C₁-C₁₀)-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel



steht, wobei

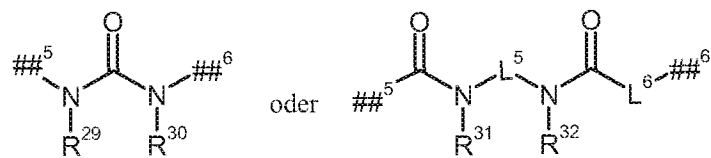
m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

10 L^{1A} für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl steht,

B¹ für eine Gruppe der Formel



steht, worin

##⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1A} kennzeichnet,

15 ##⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1B} kennzeichnet,

L⁵ für eine Bindung oder (C₂-C₄)-Alkandiyl steht,

L⁶ für eine Bindung steht,

R²⁹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

- 605 -

R³⁰ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

R²⁹ und R³⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind,
einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

5

R³¹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R³² für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

R³¹ und R³² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind,
einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

10

L^{1B} für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl steht,

und

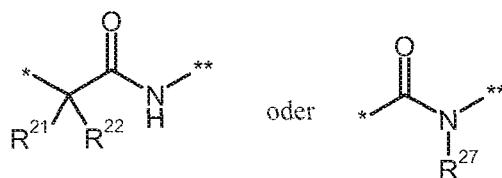
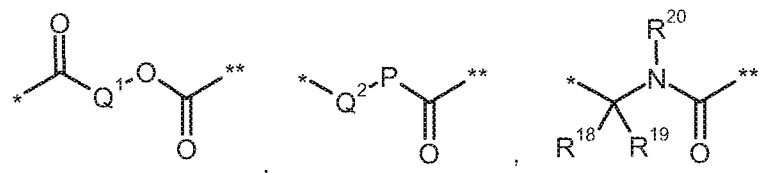
wobei (C₁-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander
ausgewählt aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substituiert sein kann,

und

15

wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation
zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlen-
stoffatome zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt
sein können,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



20

- 606 -

steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

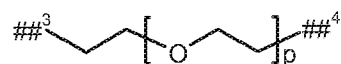
P für O oder NH steht,

5 Q^1 für einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht, Q^2 für einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus oder einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht, R^{18} für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,10 R^{19} für Wasserstoff oder die Seitengruppe einer natürlichen α -Aminosäure oder ihrer Homologe oder Isomere steht, R^{20} für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

 R^{19} und R^{20} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinylring bilden,15 R^{21} für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht, R^{22} für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

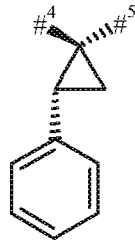
oder

 R^{21} und R^{22} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus bilden,20 R^{27} für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht, L^2 für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel

steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

- 608 -

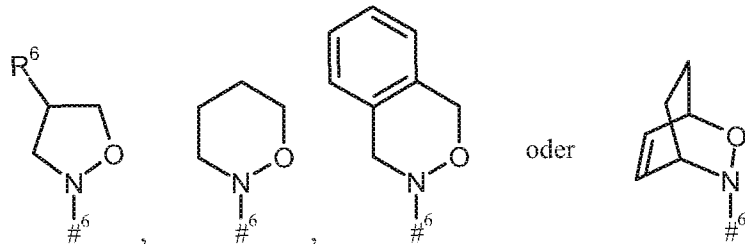


bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

5 #⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



10

steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

15 R³ für Wasserstoff oder Methyl steht,

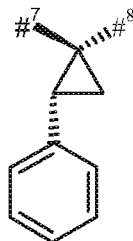
R⁴ für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

20

oder

- 609 -

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

5 #⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

10 worin

R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

15 oder

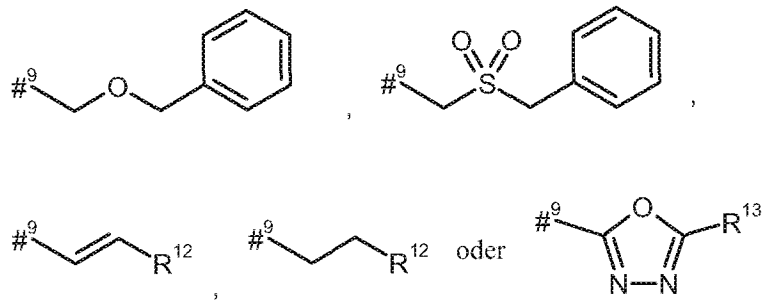
R⁸ und R⁹ bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R¹⁰ für Benzoyl steht,

20 R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel

- 610 -



steht, worin

#^9 die Verknüpfungsstelle mit $-\text{CHC}(\text{R}^{26})-\text{T}^2$ kennzeichnet,

5 R^{12} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-\text{S}(\text{O})_2\text{OH}$ substituiert sein kann,

R^{13} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

R^{26} für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

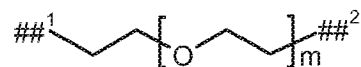
T^2 für Phenyl, Benzyl, *1H*-Indol-3-yl oder *1H*-Indol-3-ylmethyl steht,

10 R^{35} für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

11. Verbindungen der Formel (XXXI) gemäß Anspruch 10, in welcher

L^1 für eine Bindung, lineares (C_2-C_6) -Alkandiyl oder eine Gruppe der Formel



15 steht, wobei

m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

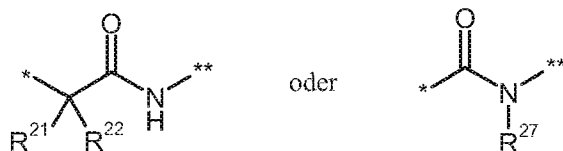
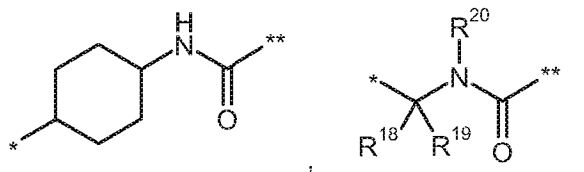
##^1 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##^2 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

wobei (C_2-C_6) -Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

- 611 -

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,5 ** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,R¹⁸ für Wasserstoff steht,R¹⁹ für Methyl, Propan-2-yl, 2-Methylpropan-1-yl oder 1-Methylpropan-1-yl steht,R²⁰ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

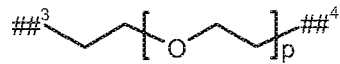
10 oder

R¹⁹ und R²⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinylring bilden,R²¹ für Wasserstoff oder Methyl steht,R²² für Wasserstoff oder Methyl steht,

15 oder

R²¹ und R²² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Cyclopropyl-Ring bilden,R²⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,L² für lineares (C₂-C₆)-Alkandyl oder für eine Gruppe der Formel

- 612 -



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

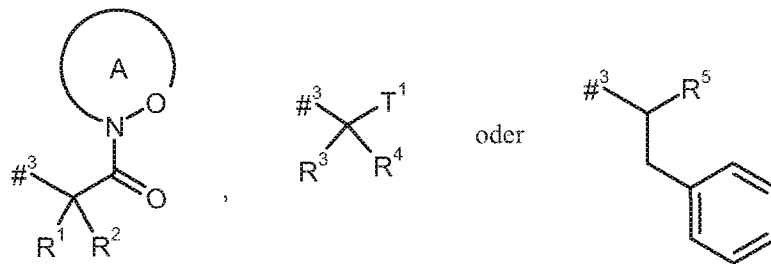
##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,5 ##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,wobei (C₂-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

und

wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

10

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

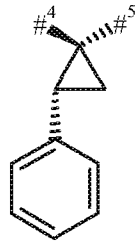
#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,15 R¹ für Wasserstoff steht,R² für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

20

- 613 -

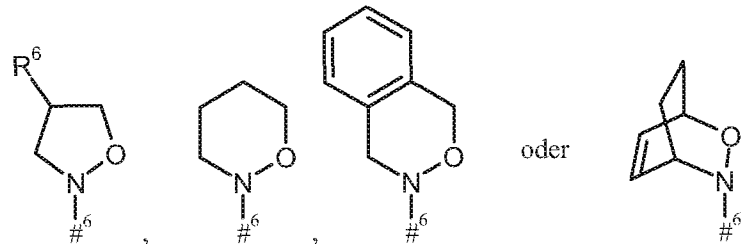


bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

5 #⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



10

steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

15 R³ für Wasserstoff steht,

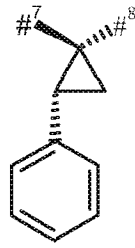
R⁴ für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

20

- 614 -



bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

5 #⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

10 R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

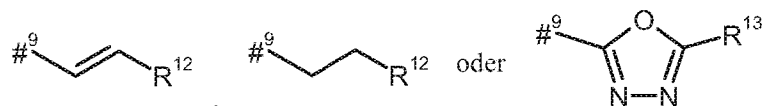
oder

15 R⁸ und R⁹ bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R¹⁰ für Benzoyl steht,

R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



20

steht, worin

- 615 -

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit –CHCH₂Phenyl kennzeichnet,

R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel –S(O)₂OH substituiert sein kann,

5 R¹³ für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

R³⁵ für Methyl oder Hydroxy steht,

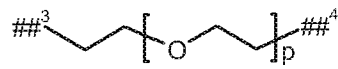
sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

12. Verbindungen der Formel (XXXI) gemäß einem der Ansprüche 10 oder 11, in welcher

L¹ für eine Bindung steht,

10 B für eine Bindung steht,

L² für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



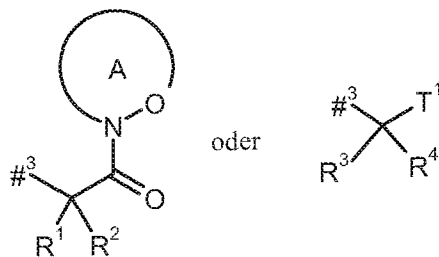
steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

15 ##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

20 #³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

- 616 -

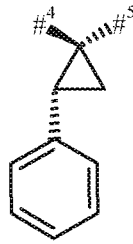
R¹ für Wasserstoff steht,

R² für Benzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

5

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



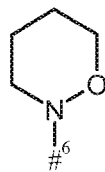
bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

10

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



15

steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

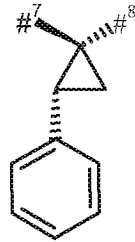
20

R³ für Wasserstoff steht,

R⁴ für Benzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



5

bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷ oder -C(=O)-NR⁸R⁹ steht,

10

worin

R⁷ für Wasserstoff steht,

R⁸ für Wasserstoff steht,

R⁹ für Wasserstoff steht,

R³⁵ für Methyl steht,

15

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

13. Verbindungen der Formeln (XXXa) und (XXXI) ausgewählt aus der Gruppe:

20

N-[6-(3-{{(2*R*)-2-Amino-2-carboxyethyl}sulfanyl}-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)hexyl]-*N*-methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{{(1*S*)-1-carboxy-2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl}amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-*L*-valinamid,

N-[6-(3-{{(2*R*)-2-Amino-2-carboxyethyl}sulfanyl}-2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)hexyl]-*N*-methyl-*L*-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{{(2*S*)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-(1,2-

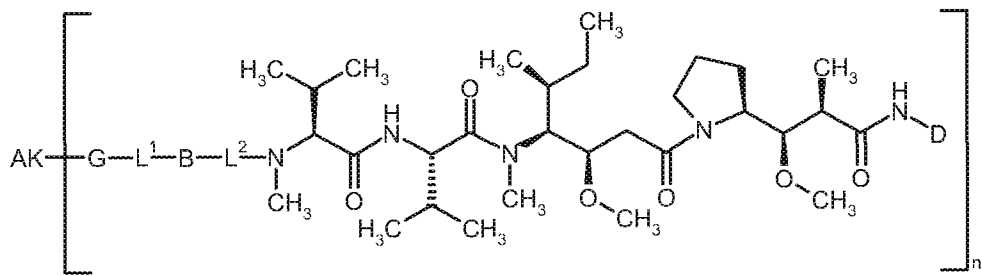
oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid,

5 N-(6-{{(5S)-5-Amino-5-carboxypentyl]amino}-6-oxohexyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{{(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat,

10 N-(6-{{(5S)-5-Amino-5-carboxypentyl]amino}-6-oxohexyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{{(1S)-1-carboxy-2-(1H-indol-3-yl)ethyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

14. Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (I)



(I),

15 in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 50 steht,

AK für einen Binder steht,

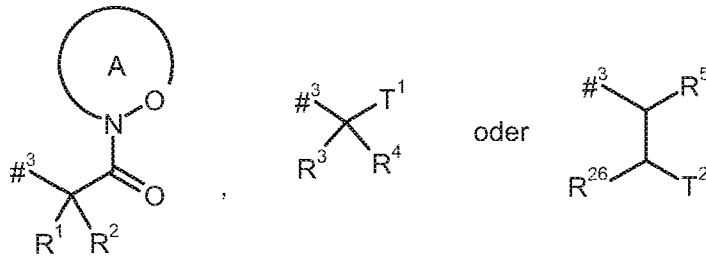
die Gruppe §-G-L¹-B-L²-§§ für einen Linker steht,

wobei

20 § die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe AK kennzeichnet und

§§ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

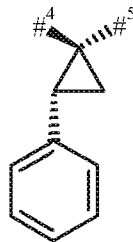
#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R¹ für Wasserstoff steht,

5 R² für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



10

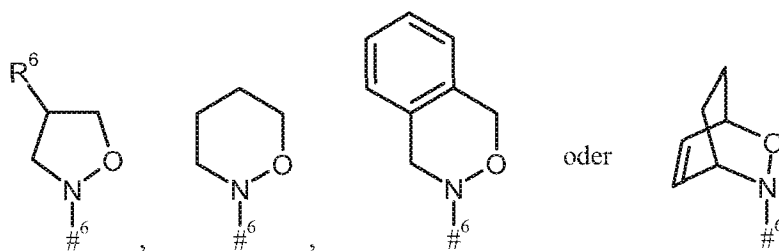
bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

15 der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel

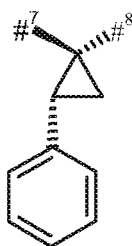
- 620 -



steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,5 R³ für Wasserstoff steht,R⁴ für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

10 R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,15 #⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹,
-C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

- 621 -

R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

5

oder

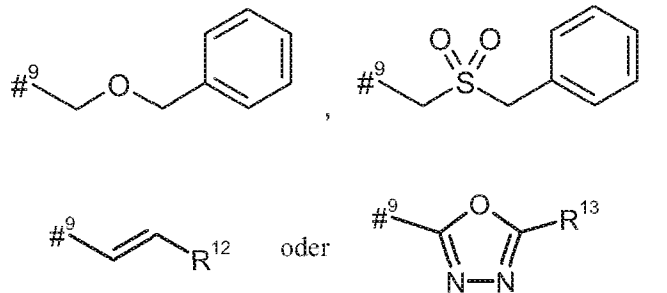
R⁸ und R⁹ bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R¹⁰ für Benzoyl steht,

R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

10

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit -CHC(R²⁶)-T² kennzeichnet,

15

R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel -S(O)₂OH substituiert sein kann,

R¹³ für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

R²⁶ für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

20

T² für Phenyl, Benzyl, 1*H*-Indol-3-yl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

15. Binder-Wirkstoff Konjugate nach Anspruch 14 mit der allgemeinen Formel (I),

in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 50 steht,

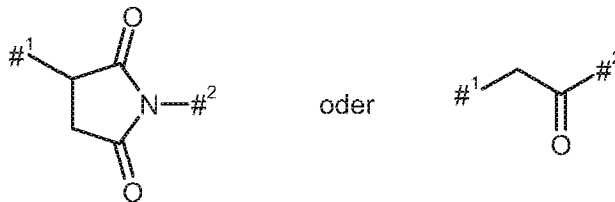
AK für AK_1 oder AK_2 steht

5 wobei

AK_1 für einen Binder, der über ein Schwefelatom des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

AK_2 für einen Binder, der über ein Stickstoffatom des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

10 G für den Fall, dass $AK = AK_1$ ist, für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

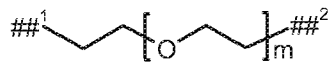
$\#^1$ die Verknüpfungsstelle mit dem Schwefelatom des Binders kennzeichnet,

$\#^2$ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^1 kennzeichnet,

15 oder

für den Fall, dass $AK = AK_2$ ist, für Carbonyl steht,

L^1 für eine Bindung, lineares (C_1 - C_{10})-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

20 m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

- 623 -

##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

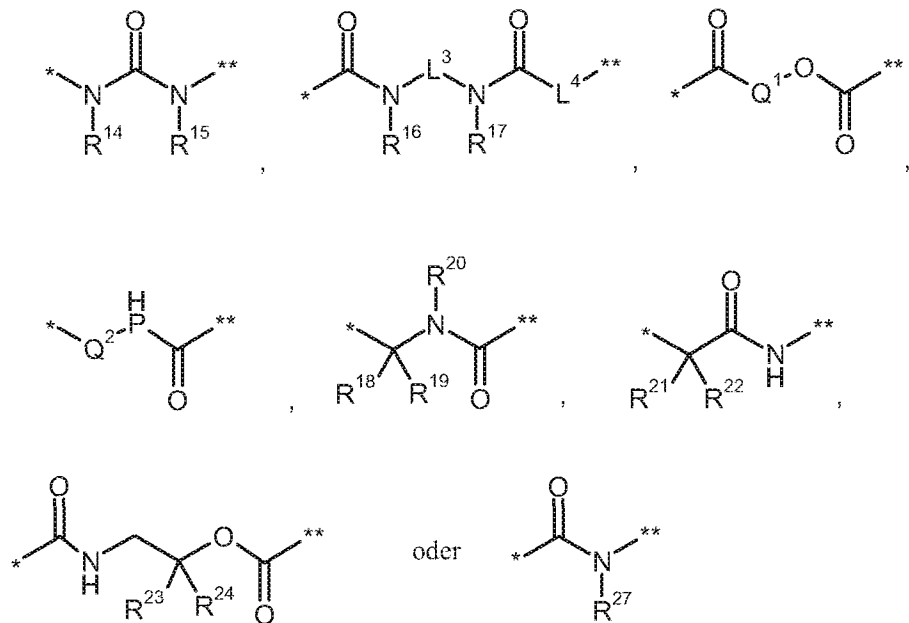
wobei (C₁-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

und

wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

5

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



10

steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,

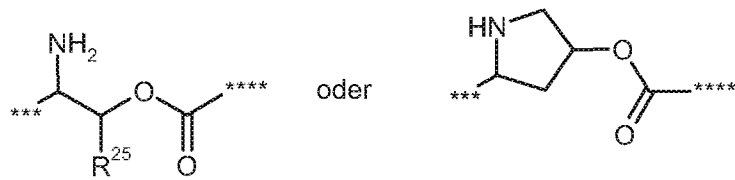
P für O oder NH steht,

L³ für eine Bindung oder (C₂-C₄)-Alkandiyl steht,

15

L⁴ für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel

- 624 -



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

**** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

5 R^{25} für Wasserstoff oder Methyl steht,

Q^1 für einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht,

Q^2 für einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus oder einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht,

R^{14} für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

10 R^{15} für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

R^{14} und R^{15} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R^{16} für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

15 R^{17} für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

R^{16} und R^{17} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R^{18} für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

20 R^{19} für Wasserstoff oder die Seitengruppe einer natürlichen α -Aminosäure oder ihrer Homologe oder Isomere steht,

R^{20} für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

oder

- 625 -

R¹⁹ und R²⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinyrning bilden,

R²¹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²² für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

5 oder

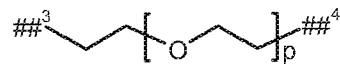
R²¹ und R²² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus bilden,

R²³ für (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R²⁴ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

10 R²⁷ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

L² für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

15 ##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

wobei (C₂-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

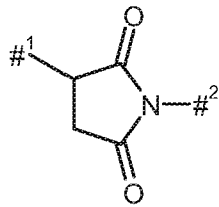
und

20 wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

D die in Anspruch 14 angegebenen Bedeutungen aufweist,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

16. Binder-Wirkstoff Konjugate nach Anspruch 14 oder 15 der allgemeinen Formel (I),
in welcher
- n für eine Zahl von 1 bis 50 steht,
AK für AK_1 oder AK_2 steht
- 5 wobei
- AK_1 für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht
und über ein Schwefelatom an die Gruppe G gebunden sind,
 AK_2 für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht
und über ein Stickstoffatom an die Gruppe G gebunden sind,
- 10 G, L^1 , B, L^2 und D die in den Ansprüchen 14 oder 15 angegebenen Bedeutungen
aufweisen,
sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.
17. Binder-Wirkstoff Konjugate nach einem der Ansprüche 14 bis 16 der allgemeinen Formel
(I), in welcher
- 15 n für eine Zahl von 1 bis 20 steht,
AK für AK_1 oder AK_2 steht
- wobei
- 20 AK_1 für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht,
der bzw. das an Mesothelin bindet und über das Schwefelatom eines
Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,
 AK_2 für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht,
der bzw. das an Mesothelin bindet und über die NH-Seitengruppe eines
Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,
G für den Fall, dass $AK = AK_1$ ist, für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

#¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

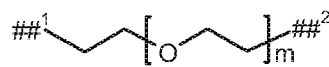
#² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,

5

oder

für den Fall, dass AK = AK₂ ist, für Carbonyl steht,

L¹ für eine Bindung, lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

10

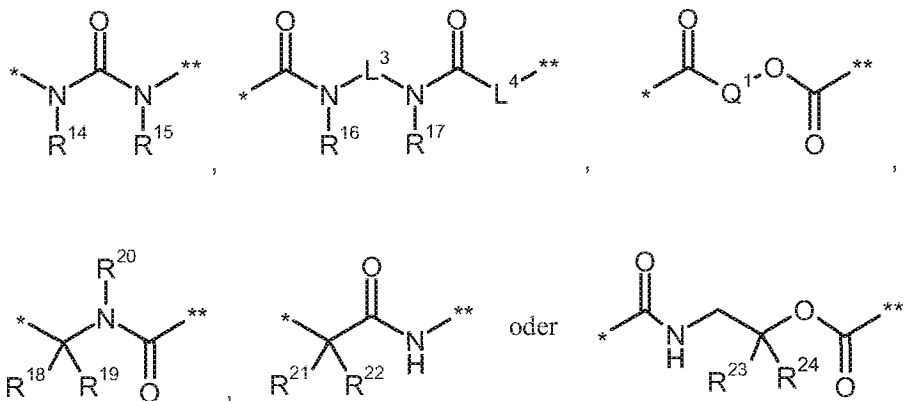
m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

wobei (C₂-C₆)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



15

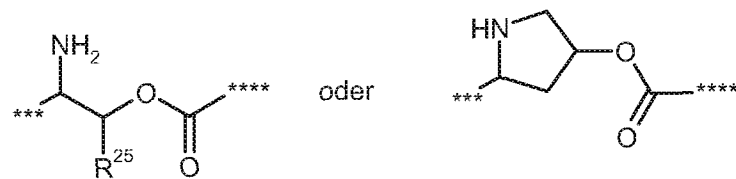
steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

L^3 für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht,

5 L^4 für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

**** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

10 R^{25} für Methyl steht,

Q^1 für einen 4- bis 6-gliedrigen Carbocyclus oder Piperidin-1,4-diyl steht,

R^{14} für Wasserstoff steht,

R^{15} für Wasserstoff steht,

R^{16} für Wasserstoff oder Methyl steht,

15 R^{17} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

R^{16} und R^{17} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Piperazinyling bilden,

R^{18} für Wasserstoff steht,

20 R^{19} für Wasserstoff, Methyl, Propan-2-yl, 2-Methylpropan-1-yl oder 1-Methylpropan-1-yl steht,

R^{20} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

R¹⁹ und R²⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinyrning bilden,

R²¹ für Wasserstoff oder Methyl steht,

5 R²² für Wasserstoff oder Methyl steht,

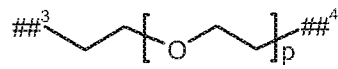
oder

R²¹ und R²² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Cyclopropylring bilden,

R²³ für Methyl steht,

10 R²⁴ für Wasserstoff oder Methyl steht,

L² für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

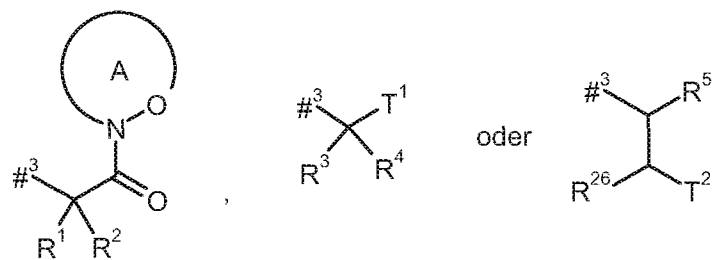
p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

15 ##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

wobei (C₂-C₆)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

D für eine Gruppe der Formel



20

steht, wobei

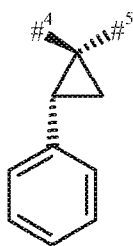
- 630 -

#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,
 R¹ für Wasserstoff steht,
 R² für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl
 steht,

5

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind,
 eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

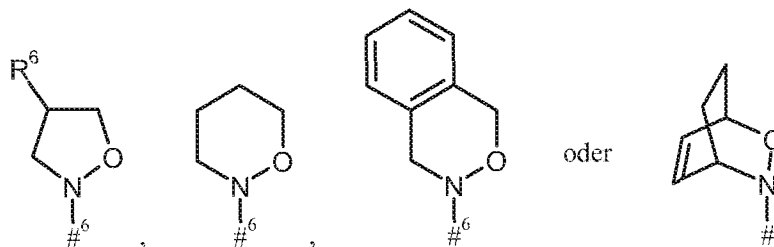
10

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden
 Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kenn-
 zeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder
 bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der
 Formel

15



steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe
 kennzeichnet,

20

- 631 -

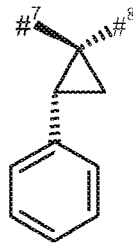
R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R³ für Wasserstoff steht,

R⁴ für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

5 oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

10 #⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

15 worin

R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

20 oder

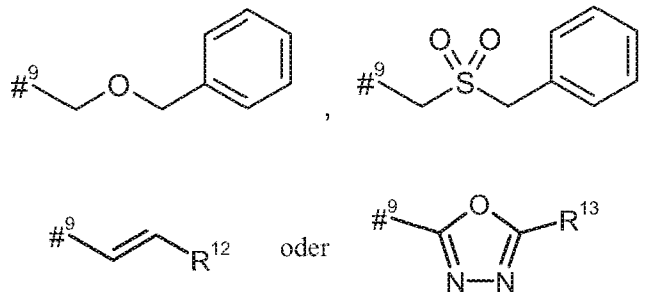
R⁸ und R⁹ bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

- 632 -

R¹⁰ für Benzoyl steht,

R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



5

steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit $-\text{CHC}(\text{R}^{26})-\text{T}^2$ kennzeichnet,

R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-\text{S}(\text{O})_2\text{OH}$ substituiert sein kann,

10

R¹³ für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

R²⁶ für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

T² für Phenyl, Benzyl, 1*H*-Indol-3-yl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

15 18. Binder-Wirkstoff Konjugate nach einem der Ansprüche 14 bis 17 der allgemeinen Formel (I), in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 10 steht,

AK für AK₁ oder AK₂ steht

wobei

20 AK₁ für einen Antikörper, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers MF-Ta, die variable leichte und variable schwere Kette des Antikörpers MF-Ta oder die leichte

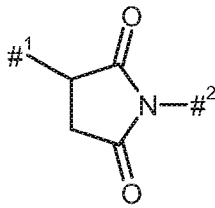
- 633 -

und schwere Kette des Antiköpers MF-Ta umfasst, steht, der über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

AK₂ für einen Antikörper, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers MF-Ta, die variable leichte und variable schwere Kette des Antikörpers MF-Ta oder die leichte und schwere Kette des Antikörpers MF-Ta umfasst, steht, der über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

5

G für den Fall, dass AK = AK₁ ist, für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

10

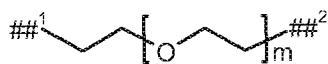
#¹ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

#² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L¹ kennzeichnet,

oder

für den Fall, dass AK = AK₂ ist, für Carbonyl steht,

L¹ für eine Bindung, lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



15

steht, wobei

m für eine Zahl 2 oder 3 steht,

##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

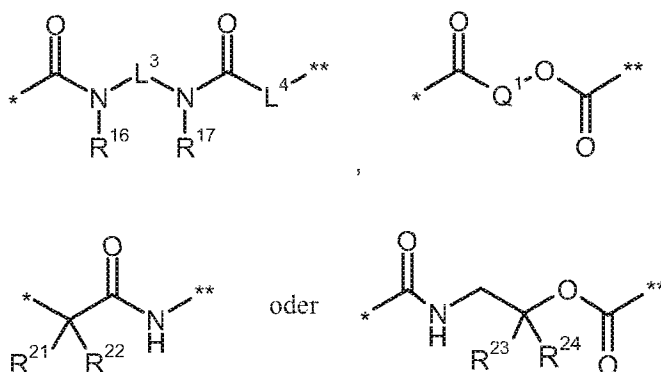
##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

20

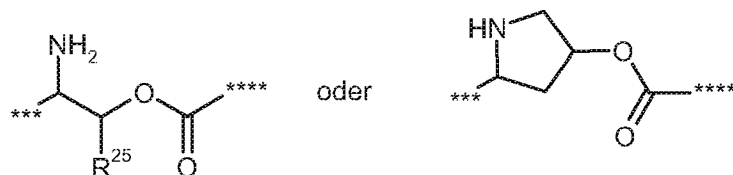
wobei (C₂-C₆)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel

- 634 -



steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,5 L^3 für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht, L^4 für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel

steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

10 **** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet, R^{25} für Methyl steht, Q^1 für Piperidin-1,4-diyl steht, R^{16} für Wasserstoff oder Methyl steht, R^{17} für Wasserstoff oder Methyl steht,

15 oder

 R^{16} und R^{17} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Piperazinyling bilden,

- 635 -

R²¹ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R²² für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

R²¹ und R²² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Cyclopropylring bilden,

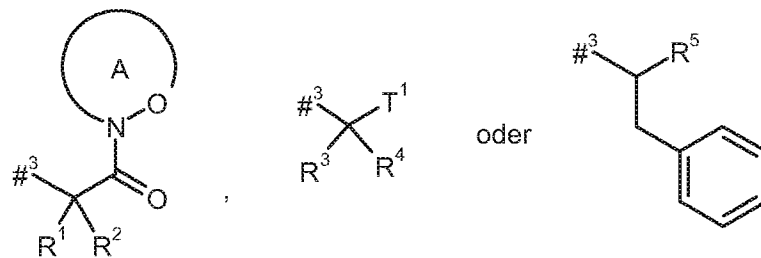
5

R²³ für Methyl steht,

R²⁴ für Wasserstoff steht,

L² für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl steht,

D für eine Gruppe der Formel



10

steht, wobei

#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R¹ für Wasserstoff steht,

R² für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl

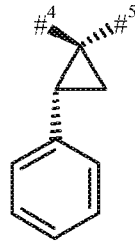
15

steht,

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

- 636 -

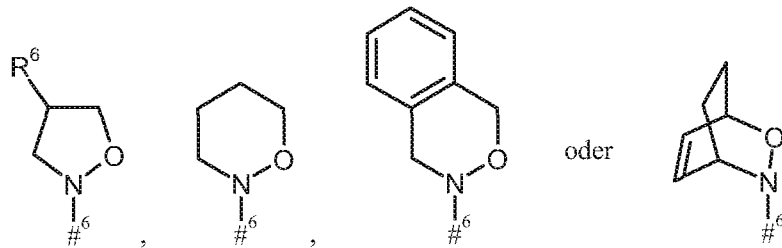


bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

5 #⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



10 steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

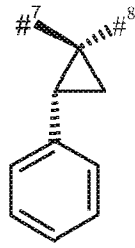
R³ für Wasserstoff steht,

R⁴ für Benzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

15 oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel

- 637 -



bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

5 #⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

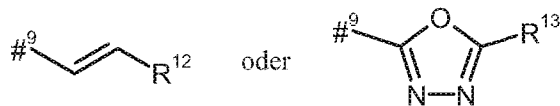
10 R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

15 R⁵ für Wasserstoff oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit -CHC(R²⁶)Phenyl kennzeichnet,

20 R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel -S(O)₂OH substituiert sein kann,

- 638 -

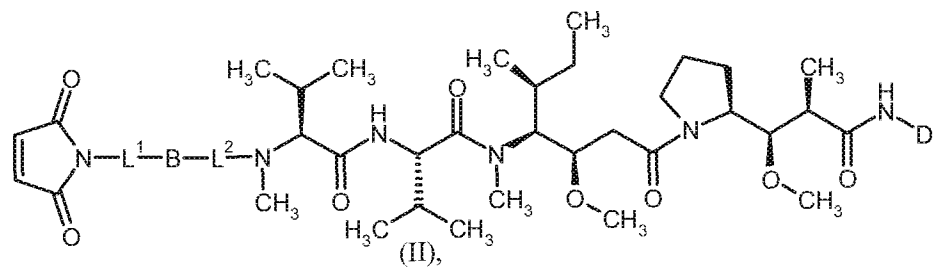
R¹³ für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

19. Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen nach einem der Ansprüche 14 bis 18, der allgemeinen Formel (I), dadurch gekennzeichnet, dass man eine Lösung des Binders in einem Puffer

[A] mit einem geeigneten Reduktionsmittel, wie beispielsweise Dithiothreitol oder Tris(2-carboxyethyl)phosphin-Hydrochlorid, versetzt, und anschließend mit einer Verbindung der Formel (II)

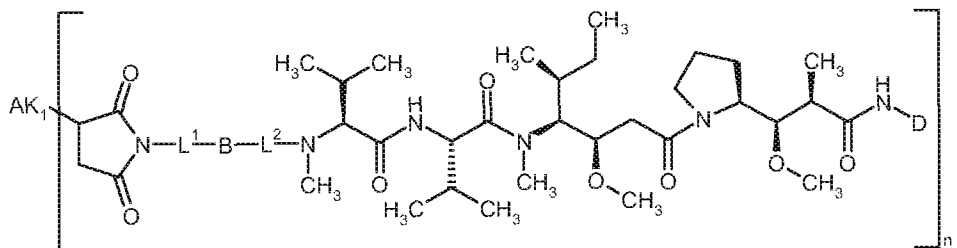
10



in welcher D, L¹, B und L² jeweils die die in den Ansprüchen 1 bis 5 angegebenen Bedeutungen haben,

zu einer Verbindung der Formel (I-A)

15

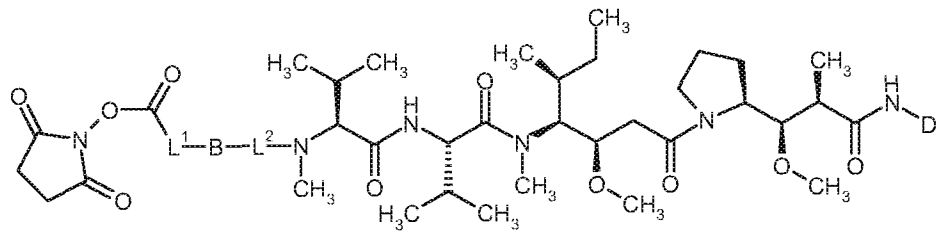


in welcher n, AK₁, D, L¹, B und L² jeweils die die in den Ansprüchen 1 bis 5 angegebenen Bedeutungen haben, umsetzt,

20 oder

[B] mit einer Verbindung der Formel (III)

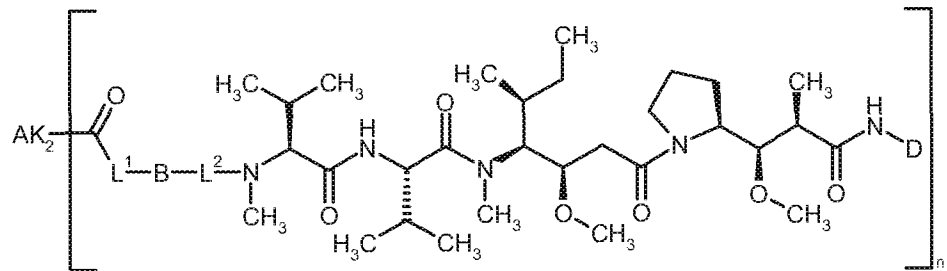
- 639 -



(III),

5 in welcher D, L¹, B und L² jeweils die die in den Ansprüchen 1 bis 5 angegebenen Bedeutungen haben,

zu einer Verbindung der Formel (I-B)



(I-B),

10 in welcher n, AK₂, D, L¹, B und L² jeweils die die in den Ansprüchen 1 bis 5 angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt.

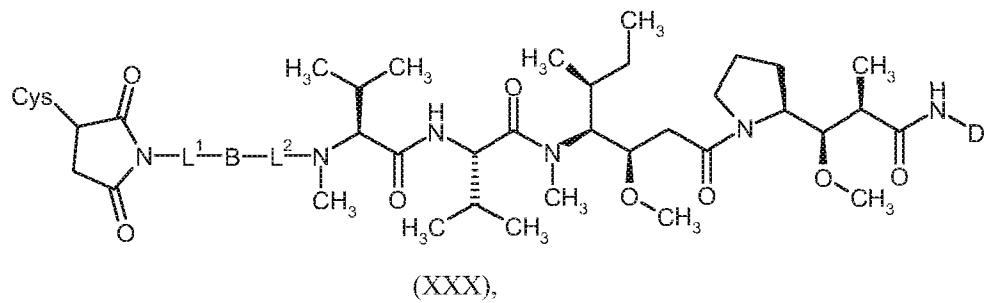
20. Verbindungen hergestellt nach dem Verfahren gemäß Anspruch 19 oder 54, wobei AK₁ und AK₂ für einen Antikörper, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers MF-Ta, die variable leichte und variable schwere Kette des MF-Ta oder die leichte und schwere Kette des Antikörpers MF-Ta umfasst, steht,

15

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

21. Verbindungen der Formel (XXX)

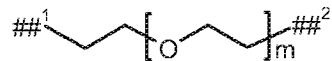
- 640 -



in welcher

5 Cys für einen Cystein-Rest steht, der über das Schwefelatom der Seitenkette an ein Kohlenstoffatom des Succinimids gebunden ist,

L¹ für eine Bindung, lineares (C₁-C₁₀)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

10 ##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

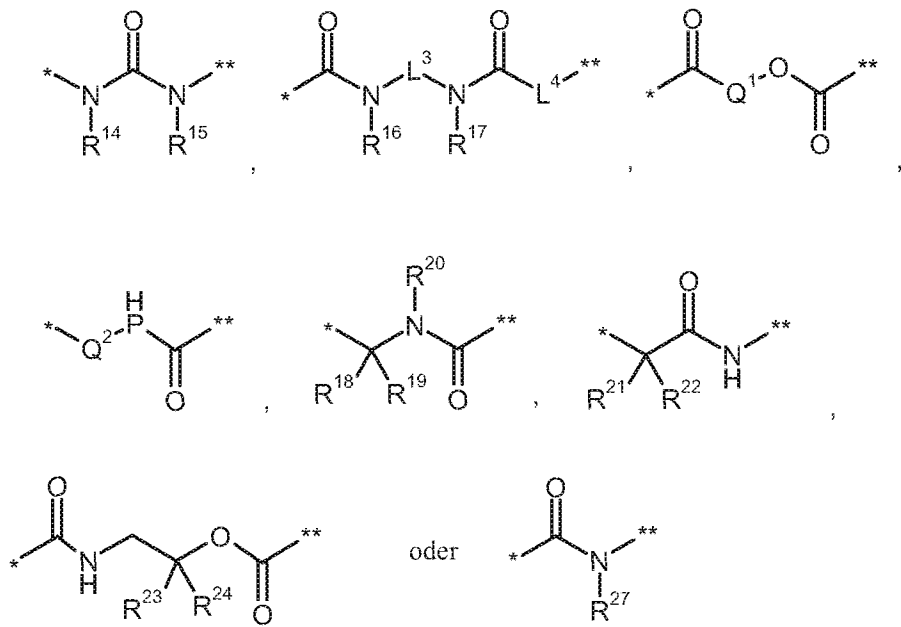
wobei (C₁-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

und

15 wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel

- 641 -



steht, wobei

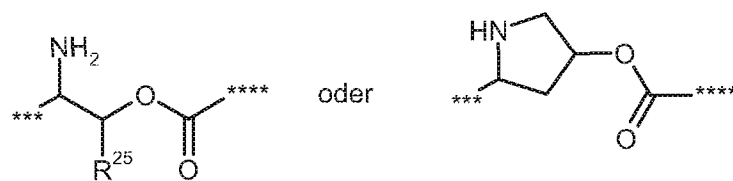
* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

5 P für O oder NH steht,

L^3 für eine Bindung, oder (C_2-C_4) -Alkandiyl steht,

L^4 für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

10 *** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

**** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

R^{25} für Wasserstoff oder Methyl steht,

Q^1 für einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclycus oder einen 4- bis 7-gliedrigen Aza- Heterocyclycus steht,

- 642 -

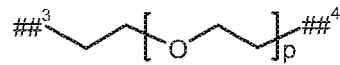
- Q² für einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus oder einen 4- bis 7-gliedrigen Aza- Heterocyclus steht,
- R¹⁴ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
- R¹⁵ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
- 5 oder
- R¹⁴ und R¹⁵ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,
- R¹⁶ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
- R¹⁷ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
- 10 oder
- R¹⁶ und R¹⁷ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,
- R¹⁸ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
- R¹⁹ für Wasserstoff oder die Seitengruppe einer natürlichen α -Aminosäure oder ihrer Homologe oder Isomere steht,
- 15 oder
- R²⁰ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
- oder
- R¹⁹ und R²⁰ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinyrning bilden,
- 20 R²¹ für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
- R²² für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,
- oder
- R²¹ und R²² zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus bilden,
- 25 R²³ für (C₁-C₄)-Alkyl steht,

- 643 -

R^{24} für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

R^{27} für Wasserstoff oder (C₁-C₄)-Alkyl steht,

L^2 für lineares (C₂-C₁₀)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



5 steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

##^3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

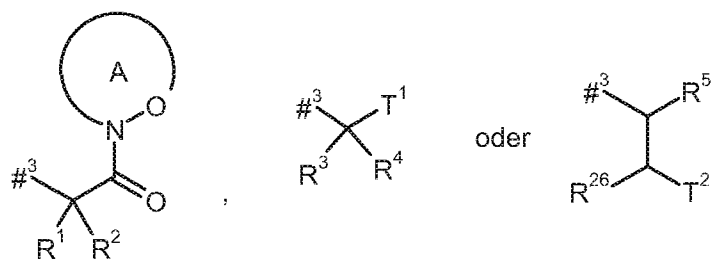
##^4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

wobei (C₂-C₁₀)-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

10 und

wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem (C₃-C₆)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

15 D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

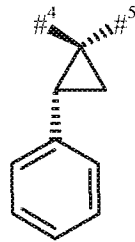
##^3 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff steht,

20 R^2 für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



5

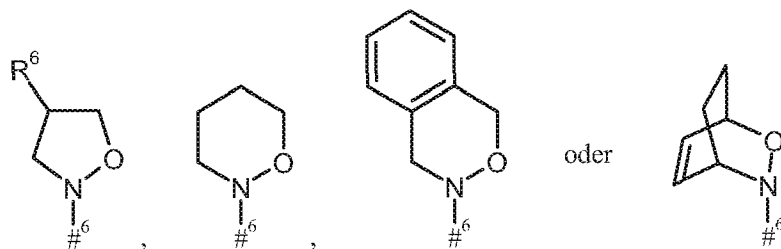
bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel

10



steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

15

R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

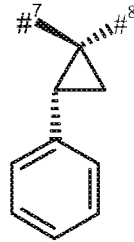
R³ für Wasserstoff steht,

R⁴ für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

- 645 -

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

5 #⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T¹ kennzeichnet,

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

10 worin

R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

15 oder

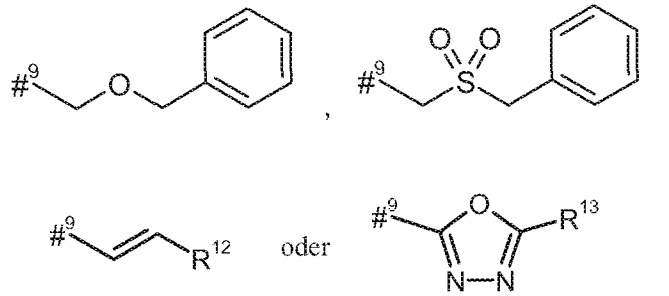
R⁸ und R⁹ bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R¹⁰ für Benzoyl steht,

20 R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R⁵ für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel

- 646 -



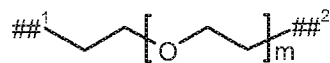
steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit -CHC(R²⁶)-T² kennzeichnet,R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel -S(O)₂OH substituiert sein kann,R¹³ für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,R²⁶ für Wasserstoff oder Hydroxy steht,T² für Phenyl, Benzyl, 1*H*-Indol-3-yl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

10 sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

22. Verbindungen der Formel (XXX) nach Anspruch 21, in welcher

Cys für einen Cystein-Rest steht, der über das Schwefelatom der Seitenkette über ein Kohlenstoffatom des Succinimids gebunden ist, steht

L¹ für eine Bindung, lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel

15

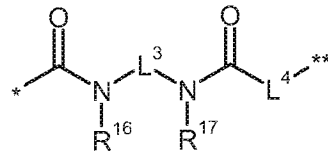
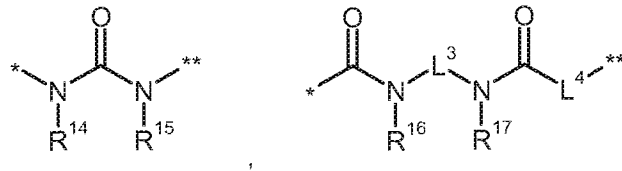
steht, wobei

m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

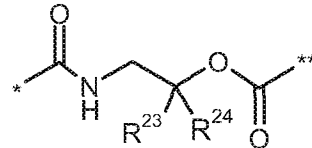
##¹ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,##² die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,20 wobei (C₂-C₆)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substituiert sein kann,

- 647 -

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



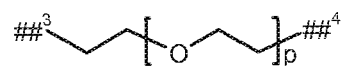
oder



steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L¹ kennzeichnet,5 ** die Verknüpfungsstelle mit L² kennzeichnet,L³ für eine Bindung oder Ethan-1,2-diyl steht,L⁴ für eine Bindung steht,R¹⁴ für Wasserstoff steht,R¹⁵ für Wasserstoff steht,10 R¹⁶ für Wasserstoff oder Methyl steht,R¹⁷ für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

R¹⁶ und R¹⁷ zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Piperazinyling bilden,15 R²³ für Methyl steht,R²⁴ für Wasserstoff oder Methyl steht,L² für lineares (C₂-C₆)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel

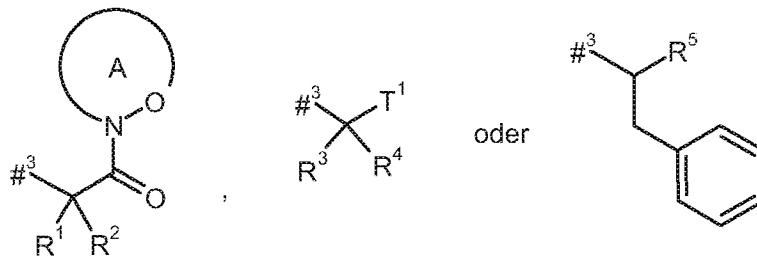
steht, wobei

p für eine Zahl 2 oder 3 steht,

##³ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

5 D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

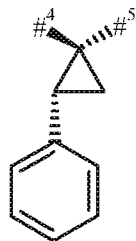
#³ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R¹ für Wasserstoff steht,

10 R² für 1-Hydroxyethyl, Benzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R¹ und R² zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



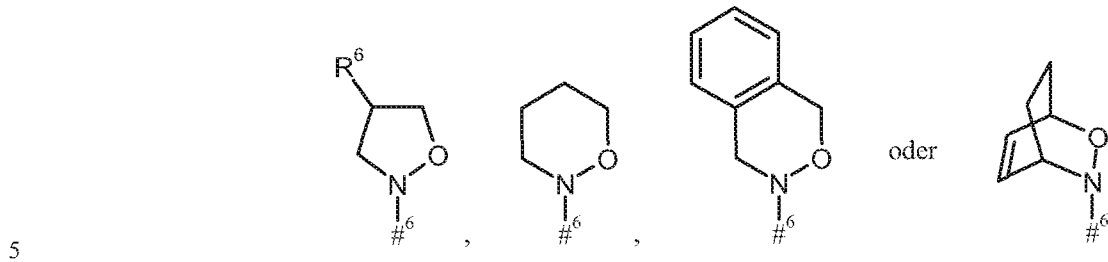
15

bilden, worin

#⁴ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

- 649 -

#⁵ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,
 der Ring A mit der darin enthaltenen N-O-Gruppierung für einen mono- oder bicyclischen, gegebenenfalls substituierten Heterocyclus der Formel



steht, worin

#⁶ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

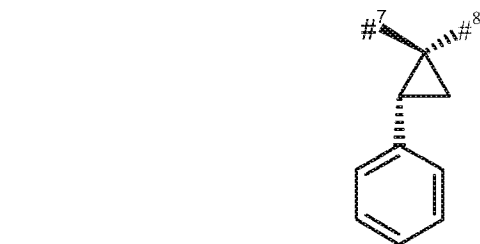
R⁶ für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

10 R³ für Wasserstoff steht,

R⁴ für Benzyl, 1-Phenylethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

R³ und R⁴ zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an das sie gebunden sind, eine (1*S*,2*R*)-2-Phenylcyclopropan-1,1-diyl-Gruppe der Formel



bilden, worin

#⁷ die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#⁸ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe T kennzeichnet,

- 650 -

T¹ für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR⁷, -C(=O)-NR⁸R⁹, -C(=O)-NH-NH-R¹⁰ oder -CH₂-O-R¹¹ steht,

worin

5 R⁷ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

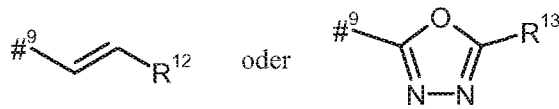
R⁸ für Wasserstoff oder Methyl steht,

R⁹ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

R¹⁰ für Benzoyl steht,

10 R¹¹ für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R⁵ für Wasserstoff oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

#⁹ die Verknüpfungsstelle mit -CHC(R²⁶)Phenyl kennzeichnet,

15 R¹² für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel -S(O)₂OH substituiert sein kann,

R¹³ für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

20 23. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 6 oder 14 bis 18, wobei der Binder an ein Krebs-Zielmolekül bindet.

24. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 6, 14 bis 18 oder 23, wobei der Binder an ein extrazelluläres Zielmolekül bindet.

25 25. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 6, 14 bis 18 oder 23-24, wobei der Binder an ein extrazelluläres Krebs-Zielmolekül bindet.

- 651 -

26. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 6, 14 bis 18 oder 23 bis 25, wobei das Zielmolekül, extrazelluläre Zielmolekül, Krebs-Zielmolekül oder extrazelluläre Krebs-Zielmolekül ein Protein ist.
27. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 6, 14 bis 18 oder 23 bis 26, wobei der Binder nach Bindung an das extrazelluläre Zielmolekül von der das Zielmolekül exprimierenden Zelle internalisiert wird.
28. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 6, 14 bis 18 oder 23 bis 27, wobei der Binder ein Bindeprotein ist.
29. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der Ansprüche 1, 2, 14, 15 oder 23 bis 28, wobei der Binder ein Antikörper oder ein antigen-bindendes Antikörperfragment davon oder ein Antikörpermimetikum ist.
30. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 6, 14 bis 18 oder 23 bis 29, 10, wobei der Antikörper ein monoklonaler Antikörper ist.
31. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 6, 14 bis 18 und 23 bis 30, wobei der Antikörper ein humaner, humanisierter oder chimärer Antikörper ist.
32. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 6, 14 bis 18 oder 23 bis 31, wobei der Antikörper ein intakter oder ein modifizierter intakter Antikörper ist.
33. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 6, 14 bis 18 oder 23 – 32, wobei der Antikörper ein Antikörper der IgG Klasse ist.
34. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 6, 14 bis 18 oder 23 – 33, wobei der Binder an ein extrazelluläres Krebs-Zielmolekül bindet, welches ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus EGF-Rezeptor (NP_005219.2), Mesothelin (Q13421-3), C4.4a (NP_055215.2) und Carboanhydrase IX (CA IX; NP_001207.2).
35. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 6, 14 bis 18 oder 23 bis 34, wobei der Binder spezifisch an ein extrazelluläres Krebs-Zielmolekül bindet, welches ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus EGF-Rezeptor (NP_005219.2), Mesothelin (Q13421-3), C4.4a (NP_055215.2) und Carboanhydrase IX (CA IX; Q16790).
36. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 6, 14 bis 18 oder 23 bis 35, wobei der Antikörper an Mesothelin bindet.

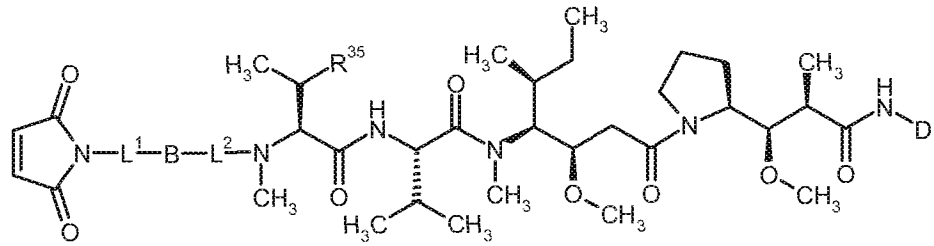
37. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 6, 14 bis 18 oder 23 bis 36, wobei der Antikörper an Mesothelin bindet und invariante Bindung zeigt.
38. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 6, 14 bis 18 oder 23 bis 37, wobei der Antikörper spezifisch an Mesothelin bindet.
- 5 39. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 6, 14 bis 18 oder 23 bis 38, wobei der Binder ein anti-Mesothelin Antikörper oder antigen-bindendes Antikörperfragment ist, der die Aminosäuresequenzen der drei CDR Regionen der leichten Kette und die Aminosäuresequenzen der drei CDR Regionen der schweren Kette eines in WO 2009068204-A1 (Tabelle 7; Seite 61 – 63) beschriebenen Antikörpers umfasst.
- 10 40. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 3, 14 bis 17 oder 23 bis 39, wobei der anti-Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragment ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus
- 15 anti-Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenzen der drei CDR Regionen der leichten Kette und die Sequenzen der drei CDR Regionen der schweren Kette des Antikörpers MF-Ta umfassen,
- anti-Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenzen der drei CDR Regionen der leichten Kette und die Sequenzen der drei CDR Regionen der schweren Kette des Antikörpers MF-J umfassen,
- 20 anti-Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenzen der drei CDR Regionen der leichten Kette und die Sequenzen der drei CDR Regionen der schweren Kette des Antikörpers MOR06640 umfassen,
- anti-Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenzen der drei CDR Regionen der leichten Kette und die Sequenzen der drei CDR Regionen der schweren Kette des Antikörpers MF-226 umfassen,
- 25 und
- anti-Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenzen der drei CDR Regionen der leichten Kette und die Sequenzen der drei CDR Regionen der schweren Kette des Antikörpers MOR06626
- 30 umfassen.

41. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 3, 14 bis 17 oder 23 bis 40, wobei der anti- Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragment ausgewählt wird aus der Gruppe bestehend aus
- 5 anti-Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenz der variablen leichten Kette und die Sequenz der variablen schweren Kette des Antikörpers MF-Ta umfassen,
- anti-Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenz der variablen leichten Kette und die Sequenz der variablen schweren Kette des Antikörpers MF-J umfassen,
- 10 anti-Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenz der variablen leichten Kette und die Sequenz der variablen schweren Kette des Antikörpers MOR06640 umfassen,
- anti-Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenz der variablen leichten Kette und die Sequenz der variablen schweren Kette des Antikörpers MF-226 umfassen, und
- 15 anti-Mesothelin Antikörper oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten davon, die die Sequenz der variablen leichten Kette und die Sequenz der variablen schweren Kette des Antikörpers MOR06626 umfassen.
42. Antikörper oder antigen-bindende Antikörperfragmente, die an Mesothelin binden, wobei 20 die Antikörpersequenz die Aminosäuresequenz der variablen schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO:404 und die Aminosäuresequenz der variablen leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO:405 umfasst.
43. Antikörper oder antigen-bindende Antikörperfragmente, die an Mesothelin binden, wobei 25 die Antikörpersequenz die Aminosäuresequenz der variablen schweren Kette, welche durch die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO:406 kodiert wird, und die Aminosäuresequenz der variablen leichten Kette, welche durch die Nukleinsäuresequenz SEQ ID NO:407 kodiert wird, umfasst.
44. Antikörper, die an Mesothelin binden, wobei die Antikörpersequenz die 30 Aminosäuresequenz der schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO:408 und die Aminosäuresequenz der leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO:409 umfasst.

45. Antikörper oder antigen-bindende Antikörperfragmente nach einem der Ansprüche 42 bis 44, die spezifisch an Mesothelin binden.
46. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 3, 14 bis 17 oder 23 bis 38, wobei der anti-Mesothelin Antikörper die Aminosäuresequenz der schweren Kette wiedergegeben durch die Sequenzen SEQ ID NO:408 und die Aminosäuresequenz der leichten Kette wiedergegeben durch die Sequenz SEQ ID NO:409 umfasst.
47. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat oder Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 18, 21 bis 41 oder 46 zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten.
48. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat oder eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 18, 21 bis 41 oder 46, zur Verwendung in einem Verfahren zur Behandlung und/oder Prophylaxe von hyperproliferativen und/oder angiogenen Erkrankungen.
49. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat oder eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 18, 21 bis 41 oder 46, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von hyperproliferativen und/oder angiogenen Erkrankungen.
50. Arzneimittel enthaltend ein Binder-Wirkstoff-Konjugat oder eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 18, 21 bis 41 oder 46 bis 48, in Kombination mit einem inerten, nicht-toxischen, pharmazeutisch geeigneten Hilfsstoff.
51. Arzneimittel enthaltend ein Binder-Wirkstoff-Konjugat oder eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 18, 21 bis 41 oder 46 – 48, in Kombination mit einer oder mehreren anti-hyperproliferativen, zytostatischen oder zytotoxischen Substanzen.
52. Arzneimittel nach Anspruch 50 oder 51 zur Behandlung und/oder Prophylaxe von hyperproliferativen und/oder angiogenen Erkrankungen.
53. Verfahren zur Behandlung und/oder Prophylaxe von hyperproliferativen und/oder angiogenen Erkrankungen bei Menschen und Tieren unter Verwendung einer wirksamen Menge mindestens eines Binder-Wirkstoff-Konjugates oder eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 18 oder 21 bis 41, oder eines Arzneimittels, wie in einem der Ansprüche 50 und 51 definiert.
54. Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 6, der allgemeinen Formel (Ia), dadurch gekennzeichnet, dass man eine Lösung des Binders in einem Puffer

- 655 -

[A] mit einem geeigneten Reduktionsmittel, wie beispielsweise Dithiothreitol oder Tris(2-carboxyethyl)phosphin-Hydrochlorid, versetzt, und anschließend mit einer Verbindung der Formel (IIa)

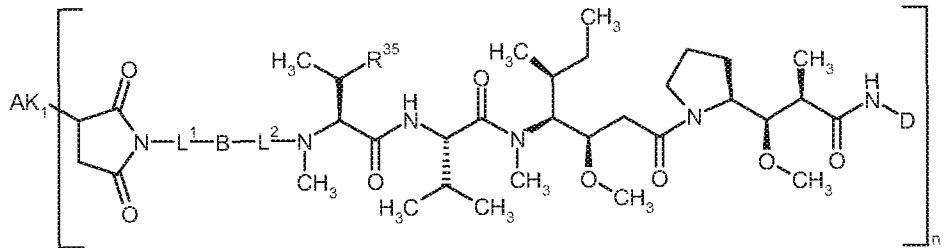


5

(IIa),

in welcher D , L^1 , B , L^2 und R^{35} jeweils die in den Ansprüchen 1 bis 6 angegebenen Bedeutungen haben,

zu einer Verbindung der Formel (Ia-A)



10

(Ia-A),

in welcher n , AK_1 , D , L^1 , B , L^2 und R^{35} jeweils die in den Ansprüchen 1 bis 6 angegebenen Bedeutungen haben,

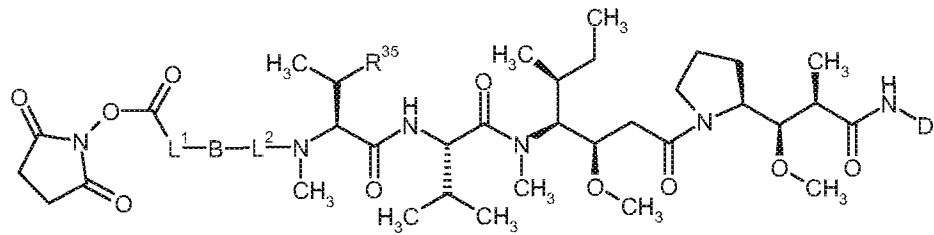
15

umsetzt,

oder

[B] mit einer Verbindung der Formel (IIIa)

- 656 -

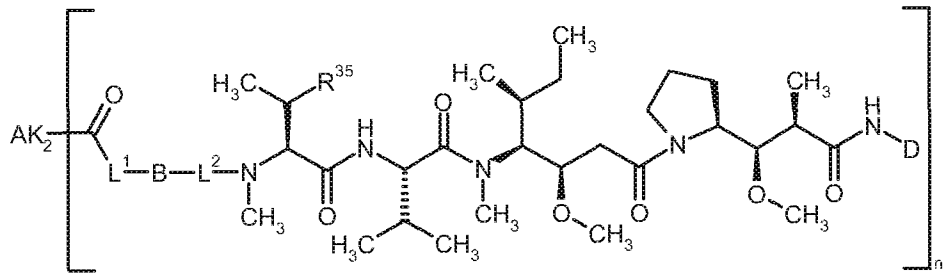


(IIIa),

in welcher D, L¹, B, L² und R³⁵ jeweils die in den Ansprüchen 1 bis 6 angegebenen Bedeutungen haben,

5

zu einer Verbindung der Formel (Ia-B)



(Ia-B),

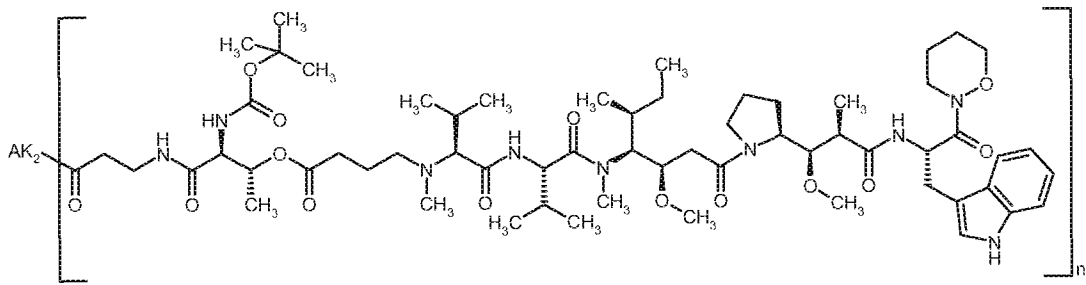
10

in welcher n, AK₂, D, L¹, B, L² und R³⁵ jeweils die in den Ansprüchen 1 bis 6 angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt.

55. Binder-Wirkstoff-Konjugate ausgewählt aus den folgenden Verbindungen:

- 658 -



wobei jeweils

n für eine Zahl von 2 bis 8, vorzugsweise 2 bis 5 steht,

5 AK₁ für einen humaner oder humanisierter Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

AK₂ für einen humaner oder humanisierter Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an Mesothelin bindet und über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist.