

(19) C2 (11) 124703 (13) UA

(98) ТОВ "Юридична фірма "Городисський та Партнери", вул. В'ячеслава Чорновола, б. 25, оф. 227,
(85) 2019-01-02
(74) Бреус Наталія Володимирівна, (UA)
(45) [2021-11-03]
(43) [2019-04-25]
(24) 2021-11-04
(22) 2017-06-01
(12) Патент України (на 20 р.)
(21) а201813019
(46) 2021-11-03

(86) 2017-06-01 PCT/US2017/035518

(30) 62/344,948 2016-06-02 US 62/371,134 2016-08-04 US

(54) ІМУНОКОН'ЮГАТ АГОНІСТА ГЛЮКОКОРТИКОЇДНОГО РЕЦЕПТОРА GLUCOCORTICOID RECEPTOR AGONIST AND IMMUN
OCONJUGATES THEREOF

(56) WO 2015153401 A1, 08.10.2015 2 WO 2014152247 A1, 25.09.2014 2 WO 2009069032 A2, 04.06.2009 2 WO 2007117685 A2, 18.10.2007 2
WO 0194585 A1, 13.12.2001 2

(71) US ЕББВИ ИНК. US ЭББВИ ИНК. US ABBVIE INC.

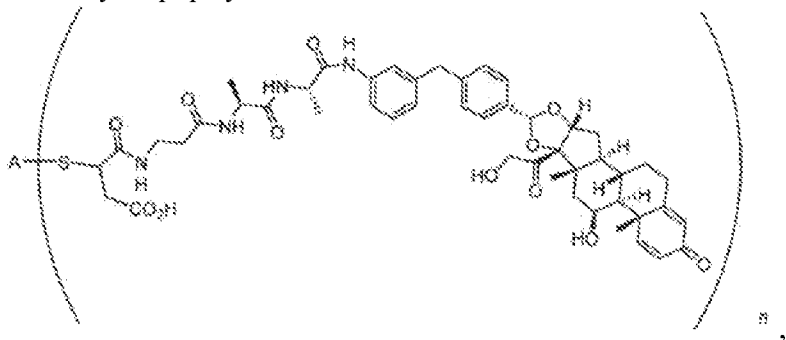
(72) US МакФерсон Майкл Дж. US МакФерсон Майкл Дж. US McPherson, Michael J. US Хобсон Адриан Д. US Хобсон Ад
риан Д. US Hobson, Adrian D. US Хейз Мартин Е. US Хейз Мартин Е. US Hayes, Martin E. US Марвин Кристофер С. US
Марвин Кристофер С. US Marvin, Christopher C. US Шмидт Діана US Шмидт Диана US Schmidt, Diana US Вейджелл Уен
ді US Вейджелл Уэнди US Waegell, Wendy US Гоесс Крістіан US Гоесс Кристиан US Goess, Christian US Ох Джейсон З
. US Ох Джейсон З. US Oh, Jason Z. US Ернандес мол. Аксель US Эрнандес мл. Аксель US Hernandez Jr., Axel US Ра
ндольф Джон Т. US Рандолф Джон Т. US Randolph, John T.

(73) US ЕББВИ ИНК. US ЭББВИ ИНК. US ABBVIE INC.

Винахід стосується сполуки, яка є імунокон'югатом, який містить агоніст глюкокортикоїдного рецептора та адаліумаб.

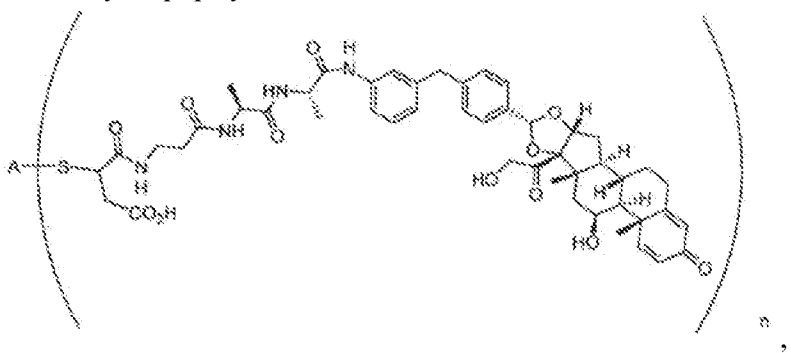
Provided herein are glucocorticoid receptor agonist immunoconjugates, glucocorticoid receptor agonists, and methods of using the same, e.g., to treat autoimmune or inflammatory diseases.

1. Сполука формули:



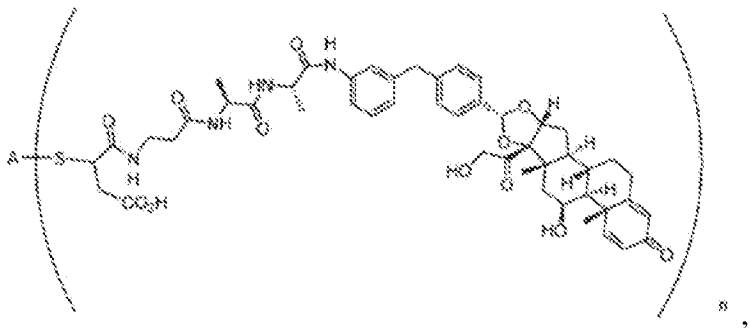
де n дорівнює 4, і A являє собою антитіло IgG1, що містить важкий ланцюг, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 66, і легкий ланцюг, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 73.

2. Сполука формули:



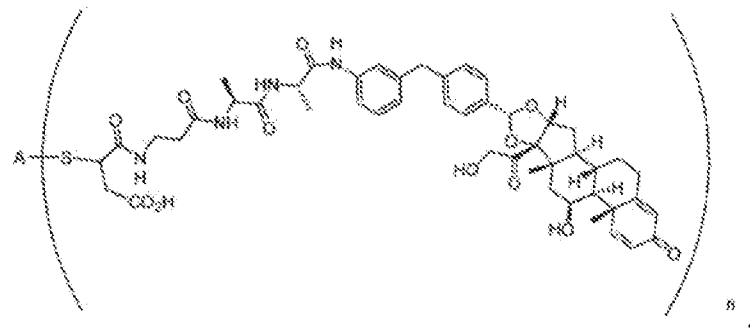
де n дорівнює 2, і A являє собою антитіло IgG1, що містить важкий ланцюг, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 66, і легкий ланцюг, який містить амінокислотну послідовність SEQ ID NO: 73.

3. Сполука формули:



де n дорівнює 4, і A являє собою адалімумаб.

4. Сполука формули:



де n дорівнює 2, і A являє собою адалімумаб.

Споріднені заявки

Дана заявка претендує на пріоритет на основі попередньої заявки на патент США № 62/344948, поданої 2 червня 2016 року, і попередньої заявки на патент США № 62/371134, поданої 4 серпня 2016 року, кожна з яких включена в даний документ за допомогою посилання в їх повному обсязі.

Галузь техніки, до якої належить винахід

Галузь техніки даного винаходу, загалом, стосується імунокон'югатів агоніста глюкокортикоїдного рецептора та способів їх одержання і застосування, наприклад, для лікування аутоімунних або запальних захворювань.

Передумови винаходу

Фактор некрозу пухлини альфа (TNF α) відіграє центральну роль у патофізіології деяких порушень у людини, і засоби, що зв'язують TNF α (наприклад, адалімумаб, етанерцепт і інфліксимаб), характеризуються клінічно затвердженою терапевтичною застосовністю в лікуванні аутоімунних і запальних порушень, таких як ревматоїдний артрит, псоріаз і запальне захворювання кишечника. Незважаючи на їхні клінічні успіхи, біологічні засоби, що зв'язують TNF α , все ще обмежені в максимальній ефективності, якої вони можуть досягти у пацієнтів, що потребує ідентифікації та розробки більш сильних і ефективних терапевтичних засобів. У пацієнтів, які одержують лікування біологічними засобами, що зв'язують TNF α , також може розвиватися імуногенна відповідь на терапевтичний засіб, за рахунок чого забезпечується обмеження їх ефективності. Таким чином, терапевтичні засоби, що зв'язують TNF α , з нижчою імуногенністю та високою ефективністю були б придатні для додаткового контролю захворювання.

Синтетичні агоністи глюкокортикоїдного рецептора (наприклад, дексаметазон, преднізолон і будесонід) являють собою сильний клас малих молекул, що застосовуються в лікуванні запальних порушень, але їх застосовність у тривалому лікуванні захворювання обмежена через серйозні побічні ефекти. Було описано декілька підходів до збереження протизапальної ефективності синтетичних глюкокортикоїдів зі зниженням при цьому небажаної токсичності [Rosen, J and Miner, JN Endocrine Reviews 26: 452-64 (2005)]. Проте ці методики не мали великого успіху. У галузі терапевтичних засобів проти аутоімунних і запальних захворювань існує потреба в розробці терапевтичних засобів з посиленою ефективністю та більш тривалою дією порівняно з антитілами до TNF і з мінімальними небажаними ефектами.

Короткий опис винаходу

В одному аспекті даний винахід передбачає імунокон'югат агоніста глюкокортикоїдного рецептора, представлений формулами I-a та I-b, нижче, і його фармацевтично прийнятні солі, сольвати або проліки. В іншому аспекті даний винахід передбачає імунокон'югат агоніста глюкокортикоїдного рецептора, представлений формулами I-a та I-b, нижче. Імунокон'югати агоніста глюкокортикоїдного рецептора, що характеризуються формулами I-a та I-b, придатні для лікування аутоімунних захворювань, таких як без обмеження ревматоїдний артрит, ювенільний ідіопатичний артрит, псоріатичний артрит, анкілозуючий спондилоартрит, хвороба Крона у дорослих, хвороба Крона у дітей, неспецифічний виразковий коліт, бляшкоподібний псоріаз, гнійний гідраденіт, увеїт, хвороба Бехчета, спондилоартропатія або псоріаз. В одному аспекті імунокон'югати агоніста глюкокортикоїдного рецептора, що характеризуються формулами I-a та I-b, придатні для лікування ревматоїдного артриту. В одному аспекті імунокон'югати агоніста глюкокортикоїдного рецептора, що характеризуються формулами I-a та I-b, придатні для лікування ювенільного ідіопатичного артриту. В одному аспекті імунокон'югати агоніста глюкокортикоїдного рецептора, що характеризуються формулами I-a та I-b, придатні для лікування псоріатичного артриту. В одному аспекті імунокон'югати агоніста глюкокортикоїдного рецептора, що характеризуються формулами I-a та I-b, придатні для лікування анкілозуючого спондилоартриту. В одному аспекті імунокон'югати агоніста глюкокортикоїдного рецептора, що характеризуються формулами I-a та I-b, придатні для лікування хвороби Крона у дорослих. В одному аспекті імунокон'югати агоніста глюкокортикоїдного рецептора, що характеризуються формулами I-a та I-b, придатні для лікування хвороби Крона у дітей. В одному аспекті імунокон'югати агоніста глюкокортикоїдного рецептора, що характеризуються формулами I-a та I-b, придатні для лікування неспецифічного виразкового коліту. В одному аспекті імунокон'югати агоніста глюкокортикоїдного рецептора, що характеризуються формулами I-a та I-b, придатні для лікування бляшкоподібного псоріазу. В одному аспекті імунокон'югати агоніста глюкокортикоїдного рецептора, що характеризуються формулами I-a та I-b, придатні для лікування гнійного гідраденіту. В одному аспекті імунокон'югати агоніста глюкокортикоїдного рецептора, що характеризуються формулами I-a та I-b, придатні для лікування увеїту. В одному аспекті імунокон'югати агоніста глюкокортикоїдного рецептора, що характеризуються формулами I-a та I-b, придатні для лікування хвороби Бехчета. В одному аспекті імунокон'югати агоніста глюкокортикоїдного рецептора, що характеризуються формулами I-a та I-b, придатні для лікування спондилоартропатії. В одному аспекті імунокон'югати агоніста глюкокортикоїдного рецептора, що характеризуються формулами I-a та I-b, придатні для лікування псоріазу.

В іншому аспекті даний винахід передбачає агоніст глюкокортикоїдного рецептора, представлений формулами VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a та IX-b або формулами VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' та IX-b'', нижче, (де R^{7b} являє собою водень) і його фармацевтично прийнятні солі, сольвати або проліки. В іншому аспекті даний винахід передбачає агоніст глюкокортикоїдного рецептора, представлений формулами VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a та IX-b або формулами VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' та IX-b'', нижче (де R^{7b} являє собою водень). Сполуки, що характеризуються формулами VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a та IX-b або формулами VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' та IX-b'', придатні для лікування аутоімунних захворювань, таких як без обмеження ревматоїдний артрит, ювенільний ідіопатичний артрит, псоріатичний артрит, анкілозуючий спондилоартрит, хвороба Крона у дорослих, хвороба Крона у дітей, неспецифічний виразковий коліт, бляшкоподібний псоріаз, гнійний гідраденіт, увеїт, хвороба Бехчета, спондилоартропатія або псоріаз. В одному аспекті сполуки, що характеризуються формулами VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a та IX-b або формулами VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' та IX-b'', придатні для лікування ревматоїдного артриту. В одному аспекті сполуки, що характеризуються формулами VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a та IX-b або формулами VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' та IX-b'', придатні для лікування ювенільного ідіопатичного артриту. В одному аспекті сполуки, що характеризуються формулами VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a та IX-b або формулами VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' та IX-b'', придатні для лікування псоріатичного артриту. В одному аспекті сполуки, що характеризуються формулами VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a та IX-b або формулами VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' та IX-b'', придатні для лікування анкілозуючого спондилоартриту. В одному аспекті сполуки, що характеризуються формулами VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a та IX-b або формулами VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' та IX-b'', придатні для лікування хвороби Крона у дорослих. В одному аспекті сполуки, що характеризуються формулами VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a та IX-b або формулами VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' та IX-b'', придатні для лікування хвороби Крона у дітей. В одному аспекті сполуки, що характеризуються формулами VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a та IX-b або формулами VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' та IX-b'', придатні для лікування неспецифічного виразкового коліту. В одному аспекті сполуки, що характеризуються формулами VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a та IX-b або формулами VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' та IX-b'', придатні для лікування бляшкоподібного псоріазу. В одному аспекті сполуки, що характеризуються формулами VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a та IX-b або формулами VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' та IX-b'', придатні для лікування гнійного гідраденіту. В одному аспекті сполуки, що характеризуються формулами VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a та IX-b або формулами VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' та IX-b'', придатні для лікування увеїту. В одному аспекті сполуки, що характеризуються формулами VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a та IX-b або формулами VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' та IX-b'', придатні для лікування хвороби Бехчета. В одному аспекті сполуки, що характеризуються формулами VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a та IX-b або формулами VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' та IX-b'', придатні для лікування спондилоартропатії. В одному аспекті сполуки, що характеризуються формулами VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a та IX-b або формулами VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' та IX-b'', придатні для лікування псоріазу.

В іншому аспекті даний винахід передбачає сполуки, представлені формулами VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a та IX-b або формулами VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' та IX-b'', як синтетичні проміжні сполуки, які можна застосовувати для одержання імунокон'югатів агоніста глюкокортикоїдного рецептора, що характеризуються формулами I-a та I-b.

В іншому аспекті даний винахід передбачає фармацевтичну композицію, яка містить імунокон'югат агоніста глюкокортикоїдного рецептора, представлений формулами I-a та I-b, або агоніст глюкокортикоїдного рецептора, представлений формулами VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a та IX-b або формулами VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' та IX-b'', і допоміжну речовину та/або фармацевтично прийнятний носій.

В іншому аспекті даний винахід передбачає імунокон'югат агоніста глюкокортикоїдного рецептора, представлений формулами I-a та I-b, або агоніст глюкокортикоїдного рецептора, представлений формулами VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a та IX-b або формулами VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' та IX-b'',

a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' та IX-b'', для застосування в лікуванні аутоімунних захворювань.

В іншому аспекті даний винахід передбачає застосування імунокон'югатів агоніста глюкокортикоїдного рецептора, представлених формулами I-a та I-b, або агоніста глюкокортикоїдного рецептора, представленого формулами VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a та IX-b або формулами VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'', IX-b'', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' та IX-b'', для виготовлення лікарського препарату для лікування аутоімунних захворювань.

В іншому аспекті даний винахід передбачає способи одержання імунокон'югатів агоніста глюкокортикоїдного рецептора, представлених формулами I-a та I-b.

Короткий опис графічних матеріалів/фігур

На фігурі 1 показана протеолітична стабільність ADC, що містить стероїд, і ADC, який містить MMAE (монометилаурістатин E). (Див. приклад 76.)

На фігурі 2 показані кінетичні показники втрати лінкера лікарського засобу стероїдного ADC у мишей. (Див. приклад 77.)

На фігурі 3 показана активність відповіді на однократну терапевтичну дозу стероїдного ADC, що зв'язує mTNF α , на мишачій моделі артриту. (Див. приклад 85.)

На фігурі 4 показана активність стероїду, що зв'язує людський TNF α , на мишачій моделі huTNF α Tg CIAA артриту. (Див. приклад 87.)

На фігурі 5 показана хроматограма HIC, що демонструє гетерогенну суміш, яка містить антитіла, що мають нуль приєднаних молекул SM-L-Q- (пік "E0"), дві приєднані молекули SM-L-Q- (пік "E2"), чотири приєднані молекули SM-L-Q- (пік "E4"), приєднані фрагменти SM-L-Q- (пік "E6") і вісім приєднаних фрагментів SM-L-Q- (пік "E8"), залежно від кількості міжланцюгових дисульфідних зв'язків, які були відновлені. (SM являє собою радикал глюкокортикостероїду; L являє собою лінкер, і Q являє собою гетеробіфункціональну групу або гетеротрифункціональну групу або Q відсутній.) (Див. приклад 74.)

На фігурі 6 показана хроматограма SEC адаліумабу, кон'югованого з глюкокортикостероїдом. (Див. приклад 74.)

На фігурі 7 показаний лінійний графік, що демонструє необроблені дані MS адаліумабу, кон'югованого з глюкокортикостероїдом. (Див. приклад 74.)

На фігурі 8 показаний лінійний графік, що демонструє деконволютовані дані MS адаліумабу, кон'югованого з глюкокортикостероїдом. Чорний квадрат і коло являють собою ADC із сукцинімідом, гідролізований і негідролізований, відповідно. Відносний вміст гідролізованого та негідролізованого ADC використовують для визначення гідролізного перетворення. (Див. приклад 74.)

На фігурі 9 показано, що стероїдний ADC, який зв'язує TNF, є значно більш ефективним у зниженні запалення вуха у мишей, ніж супутня комбінація антитіла до TNF і стероїду, або ніж антитіло до TNF окремо. (Див. приклад 84.)

На фігурі 10 показано, що однократна доза стероїдного ADC, що зв'язує TNF, є так самою ефективною в зниженні набряку лапи, як і щодобове введення дози стероїду протягом 21 доби. (Див. приклад 85.)

На фігурі 11 показана зміна ваги тварин, оброблених стероїдом, антитілом до TNF, ADC, що зв'язує TNF, або ізотиповим ADC. (Див. приклад 85.)

На фігурі 12 показано, що однократна доза стероїдного ADC, який зв'язує TNF, може знижувати набряк лапи, що розвинувся, тоді як однократна доза антитіла до TNF характеризується мінімальним ефектом. (Див. приклад 88.)

На фігурі 13 показаний ефект лікування стероїдним ADC, що зв'язує TNF, щодо втрати кісткової маси кістки передплесна, як виміряно за допомогою комп'ютерної мікротомографії (μ CT). (Окремі точки даних (наприклад, кола, квадрати або трикутники) являють собою окремих тварин.) (Див. приклад 88.)

На фігурі 14 показаний ефект лікування стероїдним ADC, що зв'язує TNF, щодо запалення. (Окремі точки даних (наприклад, кола, квадрати або трикутники) являють собою окремих тварин.) (Див. приклад 88.)

На фігурі 15 показаний ефект лікування стероїдним ADC, що зв'язує TNF, щодо утворення панусу. (Окремі точки даних (наприклад, кола, квадрати або трикутники) являють собою окремих тварин.) (Див. приклад 88.)

На фігурі 16 показаний ефект лікування стероїдним ADC, що зв'язує TNF, щодо ерозії кістки. (Окремі точки даних (наприклад, кола, квадрати або трикутники) являють собою окремих тварин.) (Див. приклад 88.)

На фігурі 17 показаний ефект лікування стероїдним ADC, що зв'язує TNF, щодо пошкодження хряща. (Окремі точки даних (наприклад, кола, квадрати або трикутники) являють собою окремих тварин.) (Див. приклад 88.)

На фігурі 18 показаний ефект лікування стероїдним ADC, що зв'язує TNF, щодо білих клітин крові у периферійній крові. (Окремі точки даних (наприклад, кола, квадрати або ромби) представляють окремих тварин.) (Див. приклад 88.)

На фігурі 19 показаний ефект лікування стероїдним ADC, що зв'язує TNF, щодо нейтрофілів у периферійній крові. (Окремі точки даних (наприклад, кола, квадрати або ромби) представляють окремих тварин.) (Див. приклад 88.)

На фігурі 20 показаний ефект лікування стероїдним ADC, що зв'язує TNF, щодо лімфоцитів у периферійній крові. (Окремі точки даних (наприклад, кола, квадрати або ромби) представляють окремих тварин.) (Див. приклад 88.)

На фігурі 21 показаний ефект лікування стероїдним ADC, що зв'язує TNF, щодо моноцитів у периферійній крові. (Окремі точки даних (наприклад, кола, квадрати або ромби) представляють окремих тварин.) (Див. приклад 88.)

На фігурі 22 показаний ефект лікування стероїдним ADC, що зв'язує TNF, щодо еозинофілів у периферійній крові. (Див. приклад 88.)

На фігурі 23 показаний ефект лікування стероїдним ADC, що зв'язує TNF, щодо базофілів у периферійній крові. (Див. приклад 88.)

На фігурі 24 показана активність стероїдного ADC, що зв'язує TNF, і стероїдного ADC, який зв'язує CD163, щодо індукованого колагеном артриту миші. (Див. приклад 89.)

Докладний опис винаходу

У даному документі представлені імунокон'югати агоніста глюкокортикоїдного рецептора, агоністи глюкокортикоїдного рецептора та способи їх одержання і застосування.

I. Визначення

Для полегшення розуміння даного винаходу нижче визначається низка термінів і фраз.

Термін "білок, що зв'язує TNF-альфа" стосується білків, які здатні (i) до зв'язування з TNF-альфа та (ii) до пригнічення зв'язування розчинного TNF-альфа з рецепторами TNF клітинної поверхні (p55 та/або p75) та/або до лізування клітин, що експресують поверхневий TNF-альфа або рецептор TNF-альфа *in vitro* в присутності комплементу. Білки, що зв'язують TNF-альфа, включають, наприклад, антитіла до TNF або їх антигензв'язувальні фрагменти (наприклад, адаліумаб або інфліксимаб), а також розчинні рецептори TNF (наприклад, етанерцепт).

Використовувані в даному документі терміни "антитіло" та "антитіла" є термінами з рівня техніки, і можуть бути використані в даному документі взаємозамінно, і стосуються молекули з антигензв'язувальним сайтом, який специфічно зв'язує антиген.

Термін "антитіло" означає молекулу імуноглобуліну, яка розпізнає та специфічно зв'язується з мішенню, такою як білок, поліпептид, пептид, вуглевод, полінуклеотид, ліпід або комбінації вищезгаданих, через щонайменше один сайт розпізнавання антигена у варіабельній області молекули імуноглобуліну. Використовуваний у даному документі термін "антитіло" охоплює інтактні поліклональні антитіла, інтактні моноклональні антитіла, химерні антитіла, гуманізовані антитіла, людські антитіла, злиті білки, що містять антитіло та будь-яку іншу модифіковану молекулу імуноглобуліну, за умови, що антитіла проявляють потрібну біологічну активність. Антитіло може являти собою будь-яке із п'яти основних класів імуноглобулінів: IgA, IgD, IgE, IgG та IgM, або їх підкласів (ізотипів) (наприклад, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 та IgA2) на основі ідентичності їхніх константних доменів важкого ланцюга, що називаються альфа, дельта, епсилон, гамма та мію, відповідно. Різні класи імуноглобулінів мають різні і добре відомі субодичні структури та тривимірні конфігурації. Антитіла можуть бути голими або кон'югованими з іншими молекулами, такими як токсини, радіоізотопи тощо. Використовуваний у даному документі термін "антитіло" охоплює біспецифічні та мультиспецифічні антитіла.

Термін "фрагмент антитіла" стосується частини інтактного антитіла. "Антигензв'язувальний фрагмент" стосується частини інтактного антитіла, яка зв'язується з антигеном. Антигензв'язувальний фрагмент може містити антиген-визначальні варіабельні області інтактного антитіла. Приклади фрагментів антитіла включають без обмеження фрагменти Fab, Fab', F(ab')₂ і Fv, лінійні антитіла та одноланцюгові антитіла. "Антигензв'язувальний фрагмент" може являти собою біспецифічний або мультиспецифічний антигензв'язувальний фрагмент.

"Блокувальне" антитіло або "антагоністичне" антитіло являє собою антитіло, що пригнічує або знижує біологічну активність антигена, який воно зв'язує, такого як TNF-альфа. У деяких варіантах здійснення блокувальні антитіла або антагоністичні антитіла значно або повністю пригнічують біологічну активність антигена. Біологічна активність може бути знижена на 10%, 20%, 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95% або навіть 100%.

Термін "антитіло до TNF-альфа" або "антитіло, яке зв'язується з TNF-альфа" стосується антитіла, що здатне зв'язувати TNF-альфа з достатньою афінністю так, що антитіло є придатним як діагностичний та/або терапевтичний засіб у націлюванні на TNF-альфа. Ступінь зв'язування антитіла до TNF-альфа з неспорідненим відмінним від TNF-альфа білком може становити менше приблизно 10% зв'язування антитіла з TNF-альфа, як вимірюється, наприклад, за допомогою радіоімунного

аналізу (RIA). У певних варіантах здійснення антитіло, яке зв'язується з TNF-альфа, характеризується константою дисоціації (K_d) ≤ 1 мкМ, ≤ 100 нМ, ≤ 10 нМ, ≤ 1 нМ або $\leq 0,1$ нМ.

"Моноклональне" антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент стосується гомогенної популяції антитіла або антигензв'язувального фрагмента, залученої у високоспецифічне розпізнавання та зв'язування окремої антигенної детермінанти або епітопу. Цим вони відрізняються від поліклональних антитіл, які зазвичай включають різні антитіла, спрямовані проти різних антигенних детермінант. Термін "моноклональне" антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент охоплює як інтактні, так і повнорозмірні моноклональні антитіла, а також фрагменти антитіл (такі як Fab, Fab', F(ab')₂, Fv), одноланцюгові (scFv) мутанти, злиті білки, що містять частину антитіла, та будь-яку іншу модифіковану молекулу імуноглобуліну, яка містить сайт розпізнавання антигена. Крім того, "моноклональне" антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент стосується таких антитіл та їх антигензв'язувальних фрагментів, які одержані будь-якими способами, в тому числі без обмеження за допомогою гібридоми, фагового відбору, рекомбінантної експресії та трансгенних тварин.

Термін "гуманізоване" антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент стосується форм відрізняються від людських (наприклад, мишачі) антитіл або антигензв'язувальних фрагментів, які являють собою специфічні ланцюги імуноглобуліну, химерні імуноглобуліни або їх фрагменти, що містять мінімальні відрізки від людських (наприклад, мишачі) послідовностей. Зазвичай, гуманізовані антитіла або їх антигензв'язувальні фрагменти являють собою людські імуноглобуліни, в яких залишки з області, що визначає комплементарність (CDR), замінюються на залишки з CDR виду, відрізняються від людини (наприклад, миші, щура, кролика, хом'яка), які характеризуються потрібною специфічністю, афінністю та здатністю ("CDR-прищеплені") (Jones et al., *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332:323-327 (1988); Verhoeven et al., *Science* 239:1534-1536 (1988)). У деяких випадках залишки каркасної Fv-області (FR) людського імуноглобуліну замінюються на відповідні залишки в антитілі або фрагменті від виду, відрізняються від людини, які характеризуються потрібною специфічністю, афінністю та здатністю. Гуманізоване антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент можуть бути додатково модифіковані шляхом заміни додаткових залишків або в каркасній Fv-області, та/або в заміщених відрізках від людських залишків для поліпшення та оптимізації специфічності, афінності та/або здатності антитіла або його антигензв'язувального фрагмента. Загалом, гуманізоване антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент будуть містити майже всі зі щонайменше одного і зазвичай двох або трьох варіабельних доменів, які містять усі або практично всі з CDR-областей, які відповідають імуноглобуліну, відрізняються від людського, тоді як усі або практично всі з FR-областей походять з консенсусної послідовності імуноглобуліну людини. Гуманізоване антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент також можуть містити щонайменше частину константної області або домену (Fc) імуноглобуліну, зазвичай із людського імуноглобуліну. Приклади способів, використовуваних для створення гуманізованих антитіл, описані в патенті США № 5225539; Roguska et al., *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 91(3):969-973 (1994), і Roguska et al., *Protein Eng.* 9(10):895-904 (1996). У деяких варіантах здійснення "гуманізоване антитіло" являє собою антитіло зі зміненою поверхнею.

"Варіабельна область" антитіла стосується варіабельної області легкого ланцюга антитіла або варіабельної області важкого ланцюга антитіла, або окремо, або в комбінації. Кожна з варіабельних областей важкого та легкого ланцюгів складається з чотирьох каркасних областей (FR), з'єднаних трьома областями, що визначають комплементарність (CDR), також відомими як гіперваріабельні області. CDR у кожному ланцюгу утримуються разом у близькому сусідстві за допомогою FR і, разом з CDR з іншого ланцюга, беруть участь в утворенні антигензв'язувального сайту антитілу. Існує щонайменше дві методики визначення CDR: (1) підхід на основі міжвидової варіабельності послідовності (тобто Kabat et al. *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, (5th ed., 1991, National Institutes of Health, Bethesda MD)); і (2) підхід на основі кристалографічних досліджень комплексів антиген-антитіло (Al-lazikani et al (1997) *J. Molec. Biol.* 273:927-948)). Крім того, комбінації цих двох підходів іноді використовують в області техніки для визначення CDR.

Систему нумерації згідно Kabat зазвичай використовують при зазначенні залишку у варіабельному домені (приблизно залишки 1-107 легкого ланцюга та залишки 1-113 важкого ланцюга) (наприклад, Kabat et al., *Sequences of Immunological Interest*. 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). Якщо явно не вказано інше, то системою нумерації, використовуваною у даному документі, є система нумерації згідно Кабат.

Нумерація амінокислотного положення згідно Кабат стосується системи нумерації, що використовується для варіабельних доменів важкого ланцюга або варіабельних доменів легкого ланцюга складання антитіл у Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991). З використанням цієї системи нумерації фактична лінійна амінокислотна послідовність може містити меншу кількість амінокислот або додаткові амінокислоти, що відповідає укорочуванню або вставці у FR або CDR варіабельного домену. Наприклад, варіабельний домен важкого ланцюга може включати в себе вставку однієї амінокислоти (залишок 52a згідно Кабат) після залишку 52 у H2 і вставлені залишки (наприклад,

залишки 82a, 82b, 82c тощо згідно Кабат) після залишку 82 FR важкого ланцюга. Нумерація залишків згідно Кабат може бути визначена для даного антитіла шляхом вирівнювання за областями гомології послідовності антитіла зі "стандартною" послідовністю, пронумерованою згідно Кабат. На відміну від цього Чотія посилається на розташування структурних петель (Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). Кінець петлі CDR-H1 за Чотія під час нумерації з використанням системи нумерації згідно Кабат варіює від H32 до H34, залежно від довжини петлі (це пов'язано з тим, що схема нумерації згідно Кабат розміщує вставки на H35A та H35B; якщо не присутній ні 35A, ні 35B, то петля закінчується на 32; якщо присутній тільки 35A, то петля закінчується на 33; якщо присутні і 35A, і 35B, то петля закінчується на 34). Гіперваріабельні області AbM являють собою компроміс між CDR згідно Кабат і структурними петлями за Чотія та використовуються програмним забезпеченням для моделювання антитіл Oxford Molecular's AbM.

Петля	По Кабату	AbM	По Чотіа
L1	L24-L34	L24-L34	L24-L34
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L56
L3	L89-L97	L89-L97	L89-L97
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32_34
		(нумерація по Кабату)	
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32
		(нумерація по Чотіа)	
H2	H50-H65	H50-H58	H52-H56
H3	H95-H102	H95-H102	H95-H102

У деяких аспектах CDR антитіла або його антигензв'язувального фрагмента можуть бути визначені згідно зі схемою нумерації за Чотія, яка стосується розташування структурних петель імунoglobуліну (див., наприклад, Chothia C & Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196: 901-917; Al-Lazikani B et al., (1997) J Mol Biol 273: 927-948; Chothia C et al., (1992) J Mol Biol 227: 799-817; Tramontano A et al., (1990) J Mol Biol 215(1): 175-82 і патент США № 7709226). Зазвичай під час використання системи нумерації згідно Кабат петля CDR-H1 за Чотія знаходиться в амінокислотах важкого ланцюга 26-32, 33 або 34, петля CDR-H2 за Чотія знаходиться в амінокислотах важкого ланцюга 52-56, і петля CDR-H3 за Чотія знаходиться в амінокислотах важкого ланцюга 95-102, тоді як петля CDR-L1 за Чотія знаходиться в амінокислотах легкого ланцюга 24-34, петля CDR-L2 за Чотія знаходиться в амінокислотах легкого ланцюга 50-56, і петля CDR-L3 за Чотія знаходиться в амінокислотах легкого ланцюга 89-97. Кінець петлі CDR-H1 за Чотія під час нумерації з використанням системи нумерації згідно Кабат варіює від H32 до H34, залежно від довжини петлі (це пов'язано з тим, що схема нумерації згідно Кабат розміщує вставки на H35A та H35B; якщо не присутній ні 35A, ні 35B, то петля закінчується на 32; якщо присутній тільки 35A, то петля закінчується на 33; якщо присутні і 35A, і 35B, то петля закінчується на 34).

У деяких аспектах CDR антитіла або його антигензв'язувального фрагмента можуть бути визначені згідно зі схемою нумерації IMGT, описаної в Lefranc M-P, (1999) The Immunologist 7: 132-136 і Lefranc M-P et al., (1999) Nucleic Acids Res 27: 209-212. Згідно зі схемою нумерації IMGT VH-CDR1 знаходиться в положеннях 26-35, VH-CDR2 знаходиться в положеннях 51-57, VH-CDR3 знаходиться в положеннях 93-102, VL-CDR1 знаходиться в положеннях 27-32, VL-CDR2 знаходиться в положеннях 50-52, і VL-CDR3 знаходиться в положеннях 89-97.

У деяких аспектах, CDR антитіла або його антигензв'язувального фрагмента можуть бути визначені згідно з MacCallum RM et al., (1996) J Mol Biol 262: 732-745. Також див., наприклад, Martin A. "Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains," в Antibody Engineering, Kontermann and Dübel, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin (2001).

У деяких аспектах CDR антитіла або його антигензв'язувального фрагмента можуть бути визначені згідно зі схемою нумерації AbM, яка стосується гіперваріабельних областей AbM, що являють собою компроміс між CDR згідно Кабат і структурними петлями за Чотія, і використовуються програмним забезпеченням для модулювання антитіл Oxford Molecular's AbM (Oxford Molecular Group, Inc.).

Термін "людське" антитіло означає антитіло, що продукується людиною, або антитіло, яке має амінокислотну послідовність, що відповідає антитілу, яке продукується людиною, одержане з використанням будь-якої методики, відомої з рівня техніки. Дане визначення людського антитіла включає інтактні або повнорозмірні антитіла, їх фрагменти та/або антитіла, які містять щонайменше один поліпептид людського важкого та/або легкого ланцюга, такі як, наприклад, антитіло, що містить поліпептиди мишачого легкого ланцюга та важкого ланцюга людини.

Термін "химерні" антитіла стосується антитіл, у яких амінокислотна послідовність молекули імунoglobуліну походить з двох або більше видів. Зазвичай, варіабельна область як легкого, так і важкого ланцюгів відповідає варіабельній області антитілу, одержаній від одного виду ссавців (наприклад, миші, щура, кролика тощо), з потрібною специфічністю, афінністю та здатністю, при цьому

константні області є гомологічними послідовностям в антитілах, одержаних від інших (зазвичай від людини), щоб уникнути індукування імунної відповіді у даного виду.

Термін "епітоп" або "антигенна детермінанта" використовуються у даному документі взаємозамінно і стосуються тієї частини антигена, яку може розпізнати та специфічно зв'язати певне антитіло. Якщо антиген являє собою поліпептид, то епітопи можуть бути утворені як із суміжних амінокислот, так і з несуміжних амінокислот, розміщених поряд під час згортання білка в третинну структуру. Епітопи, утворені із суміжних амінокислот, зазвичай зберігаються під час денатурації білка, тоді як епітопи, утворені під час згортання в третинну структуру, зазвичай зникають під час денатурації білка. Епітоп зазвичай містить щонайменше 3 і частіше щонайменше 5 або 8-10 амінокислот в унікальній просторовій конформації.

"Афінність зв'язування" зазвичай стосується сили загальної суми нековалентних взаємодій між одним сайтом зв'язування молекули (наприклад, антитіла) та його партнером зі зв'язування (наприклад, антигеном). Якщо не вказано інше, то як використовується у даному документі, "афінність зв'язування" стосується істинної афінності зв'язування, яка відображає 1:1 взаємодію між членами пари зв'язування (наприклад, антитіла та антигена). Афінність молекули X щодо її партнера Y зазвичай може бути представлена константою дисоціації (K_d). Афінність може бути виміряна загальноприйнятими способами, відомими з рівня техніки, в тому числі описаними у даному документі. Низькоафінні антитіла зазвичай зв'язують антиген повільно та схильні до швидкої дисоціації, тоді як високоафінні антитіла зазвичай швидше зв'язують антиген і схильні довше зберігати зв'язування. З рівня техніки відома низка способів вимірювання афінності зв'язування, будь-який з яких може бути використаний для цілей даного винаходу. Далі описуються конкретні ілюстративні варіанти здійснення.

"Або краще" у випадку використання в даному документі для позначення афінності зв'язування стосується більш сильного зв'язування між молекулою та її партнером зі зв'язування. "Або краще" у випадку використання в даному документі стосується більш сильного зв'язування, представленого меншим числовим значенням K_d . Наприклад, для антитіла, яке має афінність щодо антигена 0,6 нМ або краще, афінність антитіла щодо антигена становить <0,6 нМ, тобто 0,59 нМ, 0,58 нМ, 0,57 нМ тощо, або будь-яке значення менше за 0,6 нМ.

"Специфічно зв'язує" зазвичай означає, що антитіло зв'язується з епітопом за допомогою свого антигензв'язувального домену, і що зв'язування передбачає деяку комплементарність між антигензв'язувальним доменом і епітопом. Згідно з даним визначенням вважається, що антитіло "специфічно зв'язується" з епітопом, якщо воно зв'язується з цим епітопом за допомогою свого антигензв'язувального домену швидше, ніж воно зв'язалося би з випадковим неспорідненим епітопом. Термін "специфічність" використовують у даному документі для оцінки відносної афінності, з якою певне антитіло зв'язується з певним епітопом. Наприклад, можна припустити, що антитіло "А" має вищу специфічність щодо даного епітопу, ніж антитіло "В", або можна вважати, що антитіло "А" зв'язується з епітопом "С" з вищою специфічністю, ніж воно має щодо відповідного епітопу "D".

"Переважно зв'язується" означає, що антитіло специфічно зв'язується з епітопом швидше, ніж воно зв'язувалося би зі спорідненим, подібним, гомологічним або аналогічним епітопом. Таким чином, антитіло, яке "переважно зв'язується" з даним епітопом, більш вірогідно буде зв'язуватися з цим епітопом, ніж зі спорідненим епітопом, навіть якщо таке антитіло може перехресно реагувати зі спорідненим епітопом.

Вважається, що антитіло "конкурентно інгібує" зв'язування еталонного антитіла з даним епітопом, якщо антитіло переважно зв'язується з цим епітопом або епітопом, що перекривається, до такого ступеня, за якого воно блокує, до деякого ступеня, зв'язування еталонного антитіла з епітопом. Конкурентне інгібування може бути визначене будь-яким способом, відомим з рівня техніки, наприклад за допомогою конкурентних аналізів ELISA. Можна вважати, що антитіло конкурентно інгібує зв'язування еталонного антитіла з даним епітопом щонайменше на 90%, щонайменше на 80%, щонайменше на 70%, щонайменше на 60% або щонайменше на 50%.

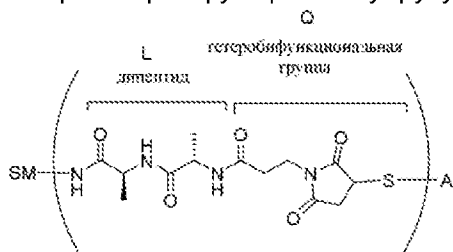
Фраза "по суті подібний" або "по суті однаковий", як використовується у даному документі, означає достатньо високий ступінь подібності між двома числовими значеннями (зазвичай одне асоціюється з антитілом за даним винаходом, а інше асоціюється з еталонним/порівняльним антитілом), так що фахівець у даній галузі техніки вважатиме відмінність між цими двома значеннями невеликою або біологічно та/або статистично незначною в контексті біологічної характеристики, що вимірюється вказаними значеннями (наприклад, значеннями K_d). Відмінність між вказаними двома значеннями може становити менше ніж приблизно 50%, менше ніж приблизно 40%, менше ніж приблизно 30%, менше ніж приблизно 20% або менше ніж приблизно 10% у функціональній залежності від значення для еталонного/порівняльного антитіла.

Поліпептид, антитіло, полінуклеотид, вектор, клітина або композиція, які є "виділеними", являють собою поліпептид, антитіло, полінуклеотид, вектор, клітину або композицію, що мають форму, яка не виявляється в природі. Виділені поліпептиди, антитіла, полінуклеотиди, вектори, клітини або композиції включають такі, які були очищені до такого ступеня, що вони більше не знаходяться в

формі, в якій вони виявлені в природі. У деяких варіантах здійснення антитіло, полінуклеотид, вектор, клітина або композиція, які є виділеними, є по суті чистими.

Як використовується у даному документі, "по суті чистий" стосується матеріалу, який є щонайменше на 50% чистим (тобто не містить домішок), щонайменше на 90% чистим, щонайменше на 95% чистим, щонайменше на 98% чистим або щонайменше на 99% чистим.

Терміни "імунокон'югат", "кон'югат", "кон'югат антитіла та лікарського засобу" або "ADC", які використовуються у даному документі, стосуються сполуки або її похідної, які з'єднуються з білком, таким як засіб, що зв'язується з клітиною (наприклад, антитіло до TNF-альфа або його фрагмент), і визначаються загальною формулою: $(SM-L-Q)_n-A$, де SM = радикал, одержаний від низькомолекулярного агоніста глюкокортикоїдного рецептора, наприклад глюкокортикостероїду, L = лінкер, Q = гетеробіфункціональна група, гетеротрифункціональна група або відсутній, і A = білок (наприклад, антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент, білок, що зв'язує TNF, антитіло до TNF-альфа або його фрагмент, розчинний рецептор або розчинний рецептор TNF), і $n = 1-10$. Імунокон'югати також можуть бути визначені загальною формулою в зворотному порядку: $A-(Q-L-SM)_n$. Як ілюстрація, наступна загальна формула показує імунокон'югат, що має дипептидний (Ala-Ala) лінкер і гетеробіфункціональну групу на основі сукцинімідтіоетеру:



У даному винаході термін "лінкер" стосується будь-якого хімічного фрагмента, здатного з'єднувати білок, наприклад, антитіло, фрагмент антитіла (наприклад, антигензв'язувальний фрагмент) або функціональний еквівалент з глюкокортикостероїдом. Лінкери можуть бути чутливими до розщеплення ("розщеплюваний лінкер"), що забезпечує полегшення вивільнення глюкокортикостероїду. Наприклад, такі розщеплювані лінкери можуть бути чутливі до індукованого кислотою розщеплення, фотоіндукованого розщеплення, індукованого пептидазою розщеплення, індукованого естеразою розщеплення та розщеплення дисульфідного зв'язку в умовах, в яких глюкокортикостероїд та/або антитіло залишаються активними. Як альтернатива, лінкери можуть бути по суті стійкими до розщеплення ("нерозщеплюваний лінкер").

У даному винаході нерозщеплювані лінкери являють собою будь-який хімічний фрагмент, здатний з'єднувати глюкокортикостероїд з антитілом стабільним, ковалентним способом, і такий, що не підпадає під перерахунок вище категорії для розщеплюваних лінкерів. Таким чином, нерозщеплювані лінкери є по суті стійкими до індукованого кислотою розщеплення, фотоіндукованого розщеплення, індукованого пептидазою розщеплення, індукованого естеразою розщеплення та розщеплення дисульфідного зв'язку. Крім того, нерозщеплюваність стосується здатності хімічного зв'язку в лінкері або прилеглого до лінкера протистояти розщепленню, індукованому кислотою, фотолабільно-розщеплювальним засобом, пептидазою, естеразою або хімічною або фізіологічною сполукою, яка розщеплює дисульфідний зв'язок, в умовах, у яких глюкокортикостероїд та/або антитіло не втрачають свою активність.

Деякі розщеплювані лінкери розщеплюються пептидазами ("розщеплювані пептидазою лінкери"). Тільки певні пептиди легко розщеплюються всередині або зовні клітин, див., наприклад, Trout et al., 79 Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 626-629 (1982), та Umemoto et al. 43 Int. J. Cancer, 677-684 (1989). Крім того, пептиди складаються з α -амінокислотних ланок і пептидних зв'язків, які в хімічному відношенні є амідними зв'язками між карбоксилатом однієї амінокислоти та аміногрупою другої амінокислоти. Інші амідні зв'язки, такі як зв'язок між карбоксилатом та α -амінокислотою групою лізину, не вважаються пептидними зв'язками і вважаються нерозщеплюваними.

Деякі лінкери розщеплюються естеразою ("розщеплювані естеразою лінкери"). Тільки певні естери можуть розщеплюватися естеразами, що присутні всередині або зовні клітин. Естери утворюються шляхом конденсації карбонової кислоти та спирту. Прості естери являють собою естери, одержані з простими спиртами, такими як аліфатичні спирти, і невеликими циклічними та невеликими ароматичними спиртами.

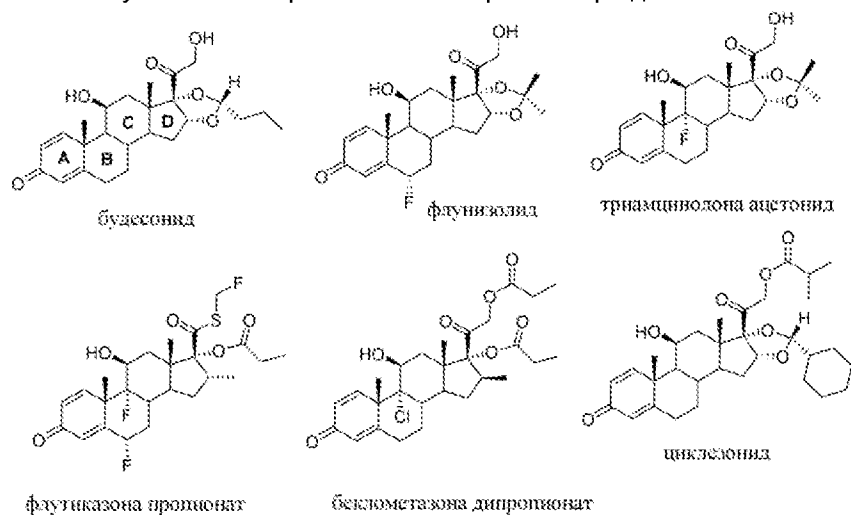
У деяких варіантах здійснення розщеплюваний лінкерний компонент може містити пептид, що містить від одного до десяти амінокислотних залишків. У таких варіантах здійснення пептид забезпечує розщеплення лінкера протеазою, за рахунок чого забезпечується полегшення вивільнення глюкокортикостероїду під час впливу внутрішньоклітинних протеаз, таких як лізосомальні ферменти (Doronina et al. (2003) Nat. Biotechnol. 21:778-784). Ілюстративні пептиди включають без обмеження дипептиди, трипептиди, тетрапептиди та пентапептиди. Ілюстративні дипептиди включають без

обмеження аланін-аланін (ala-ala), валін-цитрулін (vc або val-cit), аланін-фенілаланін (af або ala-phe); фенілаланін-лізин (fk або phe-lys); фенілаланін-гомолізін (phe-homolys) і N-метил-валін-цитрулін (Me-val-cit). Ілюстративні трипептиди включають без обмеження гліцин-валін-цитрулін (gly-val-cit) і гліцин-гліцин-гліцин (gly-gly-gly).

Пептид може містити амінокислотні залишки, що зустрічаються в природі, та/або неприродні амінокислотні залишки. Термін "амінокислота, що зустрічається в природі" стосується Ala, Asp, Cys, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp і Tyr. "Неприродні амінокислоти" (тобто амінокислоти, які не зустрічаються в природі) включають як необмежувальний приклад гомосерин, гомоаргінін, цитрулін, фенілгліцин, таурин, йодтирозин, селено-цистеїн, норлейцин ("Nle"), норвалін ("Nva"), бета-аланін, L- або D-нафталанін, орнітин ("Orn") тощо. Пептиди можуть бути сконструйовані та оптимізовані для ферментативного розщеплення конкретним ферментом, наприклад, асоційована з пухлиною протеаза, катепсин B, C і D або плазмінова протеаза.

Амінокислоти також включають D-форми природних і неприродних амінокислот. "D-" позначає амінокислоту, що має "D" (декстроротаційну) конфігурацію на відміну від конфігурації ("L-") амінокислот, що зустрічаються в природі. Природні та неприродні амінокислоти можуть бути придбані комерційним шляхом (Sigma Chemical Co., Advanced Chemtech) або синтезовані з використанням способів, відомих із рівня техніки.

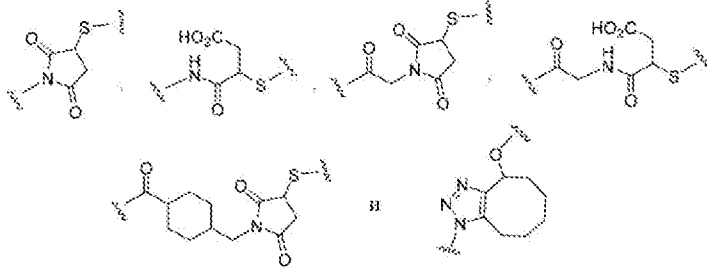
У даному винаході термін "глюкокортикостероїд" стосується стероїдних гормонів, що зустрічаються в природі, або синтетичних стероїдних гормонів, які взаємодіють з глюкокортикоїдними рецепторами. Необмежувальні ілюстративні глюкокортикостероїди включають



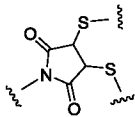
як приклад, A-, B-, C- і D-кільця стероїдного скелета, позначені для бudesоніду. Глюкокортикостероїди описуються у WO 2009/069032.

"Радикал глюкокортикостероїду" одержаний у результаті видалення одного або декількох атомів водню з вихідного глюкокортикостероїду. Видалення атома(-ів) водню полегшує приєднання вихідного глюкокортикостероїду до лінкера. В одному варіанті здійснення атом водню видаляють з будь-якої придатної групи $-NH_2$ вихідного глюкокортикостероїду. В іншому варіанті здійснення атом водню видаляють з будь-якої придатної групи $-OH$ вихідного глюкокортикостероїду. В іншому варіанті здійснення атом водню видаляють з будь-якої придатної групи $-SH$ вихідного глюкокортикостероїду. В іншому варіанті здійснення атом водню видаляють з будь-якої придатної групи $-N(H)-$ вихідного глюкокортикостероїду. В іншому варіанті здійснення атом водню видаляють з будь-якої придатної групи $-CH_3$, $-CH_2-$ або $-CH=$ вихідного глюкокортикостероїду. В одному варіанті здійснення "радикал глюкокортикостероїду" являє собою одновалентний радикал, одержаний видаленням одного атома водню з вихідного глюкокортикостероїду.

У даному винаході термін "гетеробіфункціональна група" або термін "гетеротрифункціональна група" стосується хімічного фрагмента, який з'єднує лінкер і білок, наприклад антитіло. Гетеробі- та трифункціональні групи характеризуються як такі, що мають відмінні реактивні групи на кожному кінці хімічного фрагмента. Необмежувальні ілюстративні гетеробіфункціональні групи включають:



Необмежувальна ілюстративна гетеротрифункціональна група являє собою:



Термін "співвідношення лікарського засобу та антитіла" або "DAR" стосується кількості SM (тобто радикала, одержаного з низькомолекулярного агоніста глюкокортикоїдного рецептора, наприклад глюкокортикостероїду), зв'язаних з А (тобто білком, наприклад антитілом або його антигензв'язувальним фрагментом, білком, що зв'язує TNF, антитілом до TNF-альфа або його фрагментом, розчинним рецептором або розчинним рецептором TNF). Таким чином, в імунокон'югаті, що характеризується загальною формулою $(SM-L-Q)_n-A$, DAR визначається перемінною "n".

Коли мова йде про сполуку, яка характеризується формулою $(SM-L-Q)_n-A$, що представляє окремий імунокон'югат, DAR стосується кількості SM, зв'язаних з окремим А (наприклад, n являє собою ціле число від 1 до 10).

Коли мова йде про сполуку, яка характеризується формулою $(SM-L-Q)_n-A$, що представляє багато імунокон'югатів, DAR стосується середньої кількості SM, зв'язаних з А (наприклад, n являє собою ціле число або дробове число від 1 до 10). Таким чином, як приклад, сполука, яка характеризується формулою $(SM-L-Q)_n-A$, що містить перший імунокон'югат з 3 SM на А та другий імунокон'югат з 4 SM на А, повинна мати DAR (тобто "n") 3,5.

Термін "суб'єкт" стосується будь-якої тварини (наприклад, ссавця), в тому числі без обмеження людей, відмінних від людини приматів, гризунів тощо, яка є реципієнтом конкретного лікування. Зазвичай терміни "суб'єкт" і "пацієнт" використовують у даному документі взаємозамінно щодо суб'єкта-людини.

Термін "фармацевтичний склад" стосується препарату, який має таку форму, що забезпечує ефективну біологічну активність активного інгредієнта, та який не містить додаткові компоненти, що є неприйнятно токсичними для суб'єкта, якому будуть вводити склад. Склад може бути стерильним.

"Ефективна кількість" імунокон'югату або агоніста глюкокортикоїдного рецептора, що розкривається у даному документі, являє собою кількість, достатню для здійснення конкретної встановленої мети. "Ефективна кількість" може бути визначена щодо встановленої мети.

Термін "терапевтично ефективна кількість" стосується кількості імунокон'югату або агоніста глюкокортикоїдного рецептора, ефективної для "лікування" захворювання або порушення у суб'єкта або ссавця. "Профілактично ефективна кількість" стосується кількості, ефективної для досягнення потрібного профілактичного результату.

Терміни, такі як "здійснення лікування", або "лікування", або "лікувати", або "полегшення", або "полегшувати", стосуються терапевтичних заходів, які виліковують, уповільнюють, полегшують симптоми та/або зупиняють прогресування діагностованого патологічного стану або порушення. Таким чином, ті, хто потребує лікування, включають тих, у кого вже діагностували порушення або припускають наявність порушення. Профілактичні або превентивні заходи стосуються заходів, які попереджують та/або сповільнюють розвиток цільового патологічного стану або порушення. Таким чином, ті, хто потребує профілактичних або превентивних заходів, включають схильних до наявності порушення та тих, у кого порушення підлягає попередженню.

"Полінуклеотид" або "нуклеїнова кислота", використовувані у даному документі взаємозамінно, стосуються полімерів з нуклеотидів будь-якої довжини та включають ДНК і РНК. Нуклеотиди можуть являти собою дезоксирибонуклеотиди, рибонуклеотиди, модифіковані нуклеотиди або основи та/або їхні аналоги, або будь-який субстрат, який може бути включений у полімер ДНК- або РНК-полімеразаю. Полінуклеотид може містити модифіковані нуклеотиди, такі як метильовані нуклеотиди та їхні аналоги. Якщо присутня, модифікація нуклеотидної структури може бути забезпечена до або після збірки полімеру. Послідовність нуклеотидів може бути перервана компонентами, відмінними від нуклеотиду. Полінуклеотид може бути додатково модифікований після полімеризації, наприклад, кон'югацією з компонентом для мічення. Інші типи модифікацій включають, наприклад, "кепи", заміну одного або декількох з нуклеотидів, що зустрічаються в природі, на аналог, міжнуклеотидні модифікації, такі як, наприклад, модифікації з незарядженими зв'язками (наприклад,

метилфосфонати, фосфотриестери, фосфоамідати, карбамати тощо) та із зарядженими зв'язками (наприклад, фосфоротіоати, фосфородитіоати тощо), модифікації, які містять фрагменти бічного ланцюга, такі як, наприклад, білки (наприклад, нуклеази, токсини, антитіла, сигнальні пептиди, pU-L-лізин тощо), модифікації з інтеркаляторами (наприклад, акридин, псорален тощо), модифікації, що містять хелатори (наприклад, метали, радіоактивні метали, бор, окислювальні метали тощо), модифікації, які містять алкілувальні засоби, модифікації, що містять модифіковані зв'язки (наприклад, альфа-аномерні нуклеїнові кислоти тощо), а також немодифіковані форми полінуклеотиду(-ів). Крім того, будь-які гідроксильні групи, які зазвичай присутні в цукрах, можна замінити, наприклад, фосфонатними групами, фосфатними групами, захищеними стандартними захисними групами або активованими для одержання додаткових зв'язків з додатковими нуклеотидами, або можна кон'югувати з твердою підкладкою. 5'- і 3'-кінцевий ОН можна фосфорилувати або замінити амінами або фрагментами органічних блокувальних груп з 1-20 атомів вуглецю. Інші гідроксильні також можна дериватизувати в стандартні захисні групи. Полінуклеотиди також можуть містити аналогічні форми рибозних або дезоксирибозних цукрів, які зазвичай відомі з рівня техніки, включаючи, наприклад, 2'-О-метил-, 2'-О-аліл-, 2'-фтор- або 2'-азидорибозу, аналоги карбоциклічних цукрів, альфа-аномерні цукри, епімерні цукри, такі як арабіноза, ксилози або ліксози, піранозні цукри, фуранозні цукри, седогептулози, ациклічні аналоги та основні нуклеозидні аналоги, такі як метилрибозид. Один або декілька фосфодіестерних зв'язків можна замінити на альтернативні зв'язувальні групи. Ці альтернативні зв'язувальні групи включають без обмеження варіанти здійснення, де фосфат заміщений P(O)S ("тіоат"), P(S)S ("дитіоат"), (O)NR_2 ("амідат"), P(O)R , $\text{P(O)OR}'$, CO або CH_2 ("формацеталь"), у яких кожний R або R' незалежно являють собою H або заміщений або незаміщений алкіл (C1-20), який необов'язково містить етерний (-O-) зв'язок, арил, алкеніл, циклоалкіл, циклоалкеніл або аралділ. Не всі зв'язки в полінуклеотиді повинні бути ідентичними. Попередній опис застосовний до всіх полінуклеотидів, згаданих у даному документі, включаючи РНК і ДНК.

Термін "вектор" означає конструкцію, здатну доставляти та необов'язково експресувати один або декілька генів або послідовностей, що становлять інтерес, у клітині-хазяїні. Приклади векторів включають без обмеження вірусні вектори, експресувальні вектори з голої ДНК або РНК, плазмідні, космідні або фагові вектори, вектори, що експресують ДНК або РНК, пов'язані з катіонними конденсувальними засобами, вектори, які експресують ДНК або РНК, інкапсульовані в ліпосоми, та певні еукаріотичні клітини, такі як клітини-продуценти.

Терміни "поліпептид", "пептид" і "білок" використовують у даному документі взаємозамінно для позначення полімерів з амінокислот будь-якої довжини. Полімер може бути лінійним або розгалуженим, він може містити модифіковані амінокислоти, і його можна переривати не амінокислотами. Терміни охоплюють також амінокислотний полімер, модифікований природним чином або за допомогою впливу; наприклад, за допомогою утворення дисульфідного зв'язку, глікозилування, ліпідизації, ацетилювання, фосфорилування або будь-якої іншої маніпуляції або модифікації, такої як кон'югація з компонентом для мічення. У визначення входять також, наприклад, поліпептиди, які містять один або декілька аналогів амінокислот (включаючи, наприклад, неприродні амінокислоти тощо), а також інші модифікації, відомі з рівня техніки. Потрібно враховувати, що оскільки поліпептиди за даним винаходом основані на антитілах, у певних варіантах здійснення поліпептиди можуть бути присутніми в формі окремих ланцюгів або зв'язаних ланцюгів.

Терміни "ідентичний" або відсоток "ідентичності" в контексті двох або більше нуклеїнових кислот або поліпептидів стосуються двох або більше послідовностей або субпослідовностей, які є однаковими або мають певний відсоток нуклеотидів або амінокислотних залишків, що є однаковими, під час порівняння та вирівнювання (з введенням гепів, за необхідності) для максимальної відповідності, без врахування будь-яких консервативних амінокислотних замінів як частини ідентичності послідовності. Відсоток ідентичності може бути виміряний з використанням програмного забезпечення або алгоритму порівняння послідовностей або шляхом візуальної перевірки. З рівня техніки відомі різні алгоритми та програмне забезпечення, які можуть бути використані для одержання вирівнювань амінокислотних або нуклеотидних послідовностей. Одним таким необмежувальним прикладом алгоритму вирівнювання послідовностей є алгоритм, описаний у Karlin et al, Proc. Natl. Acad. Sci., 87:2264-2268 (1990), як модифікований у Karlin et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 90:5873-5877 (1993) і включений у програми NBLAST і XBLAST (Altschul et al., Nucleic Acids Res., 25:3389-3402 (1991)). У певних варіантах здійснення можна використовувати програму Gapped BLAST, описану в Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997). BLAST-2, WU-BLAST-2 (Altschul et al., Methods in Enzymology, 266:460-480 (1996)), ALIGN, ALIGN-2 (Genentech, Південний Сан-Франциско, Каліфорнія) або Megalign (DNASTAR) є додатковими загальнодоступними програмами програмного забезпечення, які можуть бути використані для вирівнювання послідовностей. У певних варіантах здійснення відсоток ідентичності між двома нуклеотидними послідовностями визначають з використанням програми GAP у програмному забезпеченні GCG (наприклад, з використанням матриці NWSgapdna.CMP, та штрафу за відкриття гепу, що становить 40, 50, 60, 70 або 90, та штрафу за подовження, який становить 1, 2, 3, 4,

5 або 6). У певних альтернативних варіантах здійснення програма GAP у пакеті програмного забезпечення GCG, який включає алгоритм Needleman і Wunsch (J. Mol. Biol. (48):444-453 (1970)), може бути використана для визначення відсотка ідентичності між двома амінокислотними послідовностями (наприклад, з використанням або матриці Blossum 62, або матриці PAM250, і штрафу за відкриття гепу, що становить 16, 14, 12, 10, 8, 6 або 4, та штрафу за подовження, який становить 1, 2, 3, 4, 5). Як альтернатива, у певних варіантах здійснення відсоток ідентичності між нуклеотидними або амінокислотними послідовностями визначають з використанням алгоритму Myers і Miller (CABIOS, 4:11-17 (1989)). Наприклад, відсоток ідентичності може бути визначений з використанням програми ALIGN (версія 2.0) та з використанням PAM120 з таблицею залишків, штрафу за подовження гепу 12 і штрафу за внесення гепу 4. Відповідні параметри для максимального вирівнювання за допомогою конкретного програмного забезпечення для вирівнювання можуть бути визначені фахівцем в даній галузі техніки. У певних варіантах здійснення використовують параметри за замовчуванням програмного забезпечення для вирівнювання. У певних варіантах здійснення відсоток ідентичності "X" першої амінокислотної послідовності щодо другої амінокислотної послідовності розраховують як $100 \times (Y/Z)$, де Y являє собою число амінокислотних залишків, що оцінюються як ідентичні збіги у вирівнюванні першої та другої послідовностей (під час вирівнювання за допомогою візуальної перевірки або конкретної програми для вирівнювання послідовностей), і Z являє собою загальне число залишків у другій послідовності. Якщо довжина першої послідовності перевищує довжину другої послідовності, то відсоток ідентичності першої послідовності щодо другої послідовності буде більшим, ніж відсоток ідентичності другої послідовності щодо першої послідовності.

Як необмежувальний приклад, наявність у будь-якого конкретного полінуклеотиду певного відсотка ідентичності послідовностей (наприклад, ідентичності щонайменше на 80%, ідентичності щонайменше на 85%, ідентичності щонайменше на 90%, а в деяких варіантах здійснення ідентичності щонайменше на 95%, 96%, 97%, 98% або 99%) щодо еталонної послідовності у певних варіантах здійснення можна визначити з використанням програми Bestfit (Wisconsin Sequence Analysis Package, версія 8 для Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Медисон, Вісконсин, 53711). У Bestfit використовується алгоритм локальної гомології Smith і Waterman (Advances in Applied Mathematics 2: 482-489 (1981)) для визначення найкращого сегмента гомології між двома послідовностями. Якщо використовується програма Bestfit або будь-яка інша програма для вирівнювання послідовностей для визначення того, чи є конкретна послідовність, наприклад, на 95% ідентичною еталонній послідовності згідно з даним винаходом, то параметри встановлюють так, щоб відсоток ідентичності вираховувався по всій довжині еталонної нуклеотидної послідовності, і щоб гепи в гомології до 5% від загального числа нуклеотидів у еталонній послідовності були дозволені.

У деяких варіантах здійснення дві нуклеїнові кислоти або два поліпептиди за даним винаходом є по суті ідентичними, що означає те, що вони характеризуються щонайменше 70%, щонайменше 75%, щонайменше 80%, щонайменше 85%, щонайменше 90%, а в деяких варіантах здійснення щонайменше 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ідентичністю нуклеотидних або амінокислотних залишків у випадку порівняння та вирівнювання для максимальної відповідності, що вимірюється з використанням алгоритму порівняння послідовностей або за допомогою візуальної перевірки. Ідентичність може існувати в області послідовностей, яка становить щонайменше приблизно 10, приблизно 20, приблизно 40-60 залишків у довжину або будь-яке ціле значення між ними, і може бути довше, ніж 60-80 залишків, наприклад, щонайменше приблизно 90-100 залишків, а в деяких варіантах здійснення послідовності є по суті ідентичними по всій довжині порівнюваних послідовностей, таких як, наприклад, кодувальна область нуклеотидної послідовності.

"Консервативна амінокислотна заміна" являє собою заміну, за якої амінокислотний залишок замінений на інший амінокислотний залишок, що має подібний бічний ланцюг. Родини амінокислотних залишків, що мають схожі бічні ланцюги, були визначені в рівні техніки, в тому числі основні бічні ланцюги (наприклад, лізин, аргінін, гістидин), кислотні бічні ланцюги (наприклад, аспарагінова кислота, глутамінова кислота), незаряджені полярні бічні ланцюги (наприклад, гліцин, аспарагін, глутамін, серин, треонін, тирозин, цистеїн), неполярні бічні ланцюги (наприклад, аланін, валін, лейцин, ізолейцин, пролін, фенілаланін, метіонін, триптофан), бета-розгалужені бічні ланцюги (наприклад, треонін, валін, ізолейцин) і ароматичні бічні ланцюги (наприклад, тирозин, фенілаланін, триптофан, гістидин). Наприклад, заміна фенілаланіну на тирозин є консервативною заміною. У деяких варіантах здійснення консервативні заміни в послідовностях поліпептидів та антитіл за даним винаходом не скасовують зв'язування антитіла, що містить амінокислотну послідовність, з антигеном(-ами), наприклад TNF-альфа, з яким зв'язується антитіло. Способи ідентифікації нуклеотидних і амінокислотних консервативних заміні, які не елімінують зв'язування антигена, добре відомі з рівня техніки (див., наприклад, Brummell et al., Biochem. 32: 1180-1187 (1993); Kobayashi et al., Protein Eng. 12(10):879-884 (1999); і Burks et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:412-417 (1997)).

У даному винаході термін "галоген", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується -Cl, -F, -Br або -I. В одному варіанті здійснення галоген являє собою -Cl або -F.

У даному винаході термін "гідрокси", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується -ОН.

У даному винаході термін "тіол" або термін "сульфгідрил", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується -SH.

У даному винаході термін "алкіл", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується незаміщених аліфатичних вуглеводнів з прямим або розгалуженим ланцюгом, який містить від одного до дванадцяти атомів вуглецю, тобто C₁₋₁₂алкіл, або вказане число атомів вуглецю, наприклад C₁алкіл, такий як метил, C₂алкіл, такий як етил, C₃алкіл, такий як пропіл або ізопропіл, C₁₋₃алкіл, такий як метил, етил, пропіл або ізопропіл тощо. В одному варіанті здійснення алкіл являє собою C₁₋₁₀алкіл. В іншому варіанті здійснення алкіл являє собою C₁₋₆алкіл. В іншому варіанті здійснення алкіл являє собою C₁₋₄алкіл. В іншому варіанті здійснення алкіл являє собою C₁₋₁₀алкіл з прямим ланцюгом. В іншому варіанті здійснення алкіл являє собою C₃₋₁₀алкіл з розгалуженим ланцюгом. В іншому варіанті здійснення алкіл являє собою C₁₋₆алкіл з прямим ланцюгом. В іншому варіанті здійснення алкіл являє собою C₃₋₆алкіл з розгалуженим ланцюгом. В іншому варіанті здійснення алкіл являє собою C₁₋₄алкіл з прямим ланцюгом. В іншому варіанті здійснення алкіл являє собою C₃₋₄алкіл з розгалуженим ланцюгом. В іншому варіанті здійснення алкіл являє собою C₃₋₄алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом. Необмежувальні ілюстративні C₁₋₁₀алкільні групи включають метил, етил, пропіл, ізопропіл, бутил, втор-бутил, трет-бутил, ізобутил, 3-пентил, гексил, гептил, октил, ноніл і децил. Необмежувальні ілюстративні C₁₋₄алкільні групи включають метил, етил, пропіл, ізопропіл, бутил, втор-бутил, трет-бутил і ізобутил.

У даному винаході термін "необов'язково заміщений алкіл", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується алкілу, який є або незаміщеним, або заміщеним одним, двома або трьома замісниками, незалежно вибраними з групи, що складається з нітро, гідрокси, ціано, галогеналкокси, арилокси, алкілтію, сульфонамідо, алкілкарбонілу, арилкарбонілу, алкілсульфонілу, арилсульфонілу, карбокси, карбоксамідо, алкоксикарбонілу, тіолу, -N(H)C(=O)NH₂ і -N(H)C(=NH)NH₂, необов'язково заміщеного арилу та необов'язково заміщеного гетероарилу. В одному варіанті здійснення необов'язково заміщений алкіл заміщений двома замісниками. В іншому варіанті здійснення необов'язково заміщений алкіл заміщений одним замісником. В іншому варіанті здійснення необов'язково заміщений алкіл є незаміщеним. Необмежувальні ілюстративні заміщені алкільні групи включають -CH₂OH, -CH₂SH, -CH₂Ph, -CH₂(4-OH)Ph, -CH₂(імідазоліл), -CH₂CH₂CO₂H, -CH₂CH₂SO₂CH₃, -CH₂CH₂COPh і -CH₂-C(=O)CH₃.

У даному винаході термін "циклоалкіл", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується незаміщених насичених або частково ненасичених, наприклад, циклічних аліфатичних вуглеводнів, які містять один або два подвійні зв'язки, що містять одне - три кільця, які мають від трьох до дванадцяти атомів вуглецю, тобто C₃₋₁₂циклоалкіл, або вказане число атомів вуглецю. В одному варіанті здійснення циклоалкіл має два кільця. В іншому варіанті здійснення циклоалкіл має одне кільце. В іншому варіанті здійснення циклоалкіл є насиченим. В іншому варіанті здійснення циклоалкіл є ненасиченим. В іншому варіанті здійснення циклоалкіл являє собою C₃₋₈циклоалкіл. В іншому варіанті здійснення циклоалкіл являє собою C₃₋₆циклоалкіл. Термін "циклоалкіл" передбачає включення груп, де кільце -CH₂- заміщене -C(=O)-. Необмежувальні ілюстративні циклоалкільні групи включають циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, циклооктил, норболніл, декалін, адамантил, циклогексеніл, циклопентеніл і циклопентанон.

У даному винаході термін "необов'язково заміщений циклоалкіл", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується циклоалкілу, який є або незаміщеним, або заміщеним одним, двома або трьома замісниками, незалежно вибраними з групи, що складається з галогену, нітро, ціано, гідрокси, алкілкарбонілокси, циклоалкілкарбонілокси, аміно, галогеналкілу, гідроксиалкілу, алкокси, галогеналкокси, арилокси, аралкілокси, алкілтію, карбоксамідо, сульфонамідо, алкілкарбонілу, арилкарбонілу, алкілсульфонілу, арилсульфонілу, карбокси, карбоксиалкілу, необов'язково заміщеного алкілу, необов'язково заміщеного циклоалкілу, алкенілу, алкінілу, необов'язково заміщеного арилу, необов'язково заміщеного гетероарилу, необов'язково заміщеного гетероцикло, алкоксиалкілу, (аміно)алкілу, (карбоксамідо)алкілу, (гетероцикло)алкілу та -OC(=O)-аміно. Термін "необов'язково заміщений циклоалкіл" включає циклоалкільні групи, які містять злитий необов'язково заміщений арил, наприклад феніл, або злитий необов'язково заміщений гетероарил, наприклад піридил. Необов'язково заміщений циклоалкіл, який містить зливу необов'язково заміщену арильну або зливу необов'язково заміщену гетероарильну групу, може бути приєднаний до решти частини молекули за будь-яким доступним атомом вуглецю на циклоалкільному кільці. В одному варіанті здійснення необов'язково заміщений циклоалкіл заміщений двома замісниками. В іншому варіанті здійснення необов'язково заміщений циклоалкіл заміщений одним замісником. В іншому варіанті здійснення необов'язково заміщений циклоалкіл є незаміщеним.

У даному винаході термін "арил", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується незаміщених моноциклічних або біциклічних ароматичних кільцевих систем, що містять від шести до чотирнадцяти атомів вуглецю, тобто C₆₋₁₄арил. Необмежувальні ілюстративні арильні групи

включають фенільну (скорочено "Ph"), нафтильну, фенантрильну, антрацильну, інденільну, азуленільну, біфенільну, біфеніленільну та фторенільну групи. В одному варіанті здійснення арильна група являє собою феніл або нафтил.

У даному винаході термін "необов'язково заміщений арил", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується арилу, який є або незаміщеним, або заміщеним одним - п'ятьма замісниками, незалежно вибраними з групи, що складається з галогену, нітро, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкіламіно, діалкіламіно, необов'язково заміщеного алкілу, галогеналкілу, гідроксиалкілу, алкокси, галогеналкокси, арилокси, аралкілокси, алкілтію, карбоксамідо, сульфонамідо, алкілкарбонілу, арилкарбонілу, алкілсульфонілу, галогеналкілсульфонілу, циклоалкілсульфонілу, (циклоалкіл)алкілсульфонілу, арилсульфонілу, гетероарилсульфонілу, гетероциклосульфону, карбокси, карбоксиалкілу, необов'язково заміщеного циклоалкілу, алкенілу, алкінілу, необов'язково заміщеного арилу, необов'язково заміщеного гетероарилу, необов'язково заміщеного гетероцикло, алкоксикарбонілу, алкоксиалкілу, (аміно)алкілу, (карбоксамідо)алкілу та (гетероцикло)алкілу.

В одному варіанті здійснення необов'язково заміщений арил являє собою необов'язково заміщений феніл. В іншому варіанті здійснення необов'язково заміщеним феніл має чотири замісники. В іншому варіанті здійснення необов'язково заміщеним феніл має три замісники. В іншому варіанті здійснення необов'язково заміщеним феніл має два замісники. В іншому варіанті здійснення необов'язково заміщеним феніл має один замісник. В іншому варіанті здійснення необов'язково заміщений феніл є незаміщеним. Необмежувальні ілюстративні заміщенні арильні групи включають 2-метилфеніл, 2-метоксифеніл, 2-фторфеніл, 2-хлорфеніл, 2-бромфеніл, 3-метилфеніл, 3-метоксифеніл, 3-фторфеніл, 3-хлорфеніл, 4-метилфеніл, 4-етилфеніл, 4-метоксифеніл, 4-фторфеніл, 4-хлорфеніл, 2,6-дифторфеніл, 2,6-дихлорфеніл, 2-метил, 3-метоксифеніл, 2-етил, 3-метоксифеніл, 3,4-диметоксифеніл, 3,5-дифторфеніл, 3,5-диметилфеніл, 3,5-диметокси, 4-метилфеніл, 2-фтор-3-хлорфеніл, 3-хлор-4-фторфеніл, 4-(піридин-4-ілсульфоніл)феніл. Термін "необов'язково заміщений арил" включає фенільні групи, які містять зливу необов'язково заміщену циклоалкільну або зливу необов'язково заміщену гетероциклогрупу. Необов'язково заміщений феніл, який має зливу необов'язково заміщену циклоалкільну або зливу необов'язково заміщену гетероциклогрупу, може бути приєднаний до решти частини молекули за будь-яким доступним атомом вуглецю на фенільному кільці.

У даному винаході термін "алкеніл", використовуваний сам по собі або як частина іншою групи, стосується алкілу, який містить один, два або три вуглець-вуглець подвійні зв'язки. В одному варіанті здійснення алкеніл містить один вуглець-вуглець подвійний зв'язок. В іншому варіанті здійснення алкеніл являє собою C₂₋₆алкеніл. В іншому варіанті здійснення алкеніл являє собою C₂₋₄алкеніл. Необмежувальні ілюстративні алкенільні групи включають етеніл, пропеніл, ізопропеніл, бутеніл, втор-бутеніл, пентеніл і гексеніл.

У даному винаході термін "необов'язково заміщений алкеніл", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується алкенілу, який є або незаміщеним, або заміщеним одним, двома або трьома замісниками, незалежно вибраними з групи, що складається з галогену, нітро, ціано, гідрокси, аміно, алкіламіно, діалкіламіно, галогеналкілу, гідроксиалкілу, алкокси, галогеналкокси, арилокси, аралкілокси, алкілтію, карбоксамідо, сульфонамідо, алкілкарбонілу, арилкарбонілу, алкілсульфонілу, арилсульфонілу, карбокси, карбоксиалкілу, необов'язково заміщеного алкілу, необов'язково заміщеного циклоалкілу, алкенілу, алкінілу, необов'язково заміщеного арилу, гетероарилу та необов'язково заміщеного гетероцикло.

У даному винаході термін "алкініл", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується алкілу, який містить один - три вуглець-вуглецевих потрійних зв'язки. В одному варіанті здійснення алкініл має один вуглець-вуглецевий потрійний зв'язок. В іншому варіанті здійснення алкініл являє собою C₂₋₆алкініл. В іншому варіанті здійснення алкініл являє собою C₂₋₄алкініл. Необмежувальні ілюстративні алкінільні групи включають етинільну, пропінільну, бутинільну, 2-бутинільну, пентинільну та гексинільну групи.

У даному винаході термін "необов'язково заміщений алкініл", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується алкінілу, який є або незаміщеним, або заміщеним одним, двома або трьома замісниками, незалежно вибраними з групи, що складається з галогену, нітро, ціано, гідрокси, аміно, алкіламіно, діалкіламіно, галогеналкілу, гідроксиалкілу, алкокси, галогеналкокси, арилокси, аралкілокси, алкілтію, карбоксамідо, сульфонамідо, алкілкарбонілу, арилкарбонілу, алкілсульфонілу, арилсульфонілу, карбокси, карбоксиалкілу, необов'язково заміщеного алкілу, циклоалкілу, алкенілу, алкінілу, необов'язково заміщеного арилу, необов'язково заміщеного гетероарилу та гетероцикло.

У даному винаході термін "галогеналкіл", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується алкілу, заміщеного одним або кількома атомами фтору, хлору, бромом та/або йоду. В одному варіанті здійснення алкільна група заміщена одним, двома або трьома атомами фтору та/або хлору. В іншому варіанті здійснення галогеналкільна група являє собою C₁₋₄галогеналкільну групу. Необмежувальні ілюстративні галогеналкільні групи включають фторметильну, 2-фторетильну,

дифторметильну, трифторметильну, пентафторетильну, 1,1-дифторетильну, 2,2-дифторетильну, 2,2,2-трифторетильну, 3,3,3-трифторпропильну, 4,4,4-трифторбутильну і трихлорметильну групи.

У даному винаході термін "алкокси", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується необов'язково заміщеного алкілу, необов'язково заміщеного циклоалкілу, необов'язково заміщеного алкенілу або необов'язково заміщеного алкінілу, приєднаного до кінцевого атома кисню. В одному варіанті здійснення алкокси являє собою необов'язково заміщений алкіл, приєднаний до кінцевого атома кисню. В одному варіанті здійснення алкоксигрупа являє собою C_{1-6} алкіл, приєднаний до кінцевого атома кисню. В іншому варіанті здійснення алкоксигрупа являє собою C_{1-4} алкіл, приєднаний до кінцевого атома кисню. Необмежувальні ілюстративні алкоксигрупи включають метокси, етокси та трет-бутокси.

У даному винаході термін "алкілтіо", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується необов'язково заміщеного алкілу, приєднаного до кінцевого атома сірки. В одному варіанті здійснення алкілтіогрупа являє собою C_{1-4} алкілтіогрупу. Необмежувальні ілюстративні алкілтіогрупи включають $-SCH_3$ і $-SCH_2CH_3$.

У даному винаході термін "галогеналкокси", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується галогеналкілу, приєднаного до кінцевого атома кисню. Необмежувальні ілюстративні галогеналкоксигрупи включають фторметокси, дифторметокси, трифторметокси та 2,2,2-трифторетокси.

У даному винаході термін "гетероарил" стосується незаміщених моноциклічних і біциклічних ароматичних кільцевих систем, які мають 5-14 атомів кільця, тобто 5-14-членний гетероарил, де щонайменше один атом вуглецю одного з кілець заміщений гетероатомом, незалежно вибраним з групи, що складається з кисню, азоту та сірки. В одному варіанті здійснення гетероарил містить 1, 2, 3 або 4 гетероатоми, незалежно вибрані з групи, що складається з кисню, азоту та сірки. В одному варіанті здійснення гетероарил містить три гетероатоми. В іншому варіанті здійснення гетероарил містить два гетероатоми. В іншому варіанті здійснення гетероарил являє собою 5-10-членний гетероарил. В іншому варіанті здійснення гетероарил являє собою 5- або 6-членний гетероарил. В іншому варіанті здійснення гетероарил має 5 атомів кільця, наприклад, тієніл, 5-членний гетероарил, який містить чотири атоми вуглецю та один атом сірки. В іншому варіанті здійснення гетероарил має 6 атомів кільця, наприклад, піридил, 6-членний гетероарил, що містить п'ять атомів вуглецю та один атом азоту. Необмежувальні ілюстративні гетероарильні групи включають тієніл, бензо[b]тієніл, нафто[2,3-b]тієніл, тіантреніл, фурил, бензофурил, піраніл, ізобензофураніл, бензооксазоніл, хроменіл, ксантеніл, 2H-піроліл, піроліл, імідазоліл, піразоліл, піридил, піразиніл, піримідиніл, піридазиніл, ізоіндоліл, 3H-індоліл, індоліл, індазоліл, пуриніл, ізохіноліл, хіноліл, фталазиніл, нафтиридиніл, цинноліл, хіназолініл, птеридиніл, 4aH-карбазоліл, карбазоліл, β -карболініл, фенантридиніл, акридиніл, піримідиніл, фенантроленіл, феназиніл, тіазоліл, ізотіазоліл, фенотіазоліл, ізоксазоліл, фуразаніл і феноксазиніл. В одному варіанті здійснення гетероарил вибраний із групи, що складається з тієнілу (наприклад, тієн-2-іл і тієн-3-іл), фурилу (наприклад, 2-фурил і 3-фурил), піролілу (наприклад, 1H-пірол-2-іл і 1H-пірол-3-іл), імідазолілу (наприклад, 2H-імідазол-2-іл і 2H-імідазол-4-іл), піразолілу (наприклад, 1H-піразол-3-іл, 1H-піразол-4-іл і 1H-піразол-5-іл), піридилу (наприклад, піридин-2-іл, піридин-3-іл і піридин-4-іл), піримідинілу (наприклад, піримідин-2-іл, піримідин-4-іл і піримідин-5-іл), тіазолілу (наприклад, тіазол-2-іл, тіазол-4-іл і тіазол-5-іл), ізотіазолілу (наприклад, ізотіазол-3-іл, ізотіазол-4-іл і ізотіазол-5-іл), оксазолілу (наприклад, оксазол-2-іл, оксазол-4-іл і оксазол-5-іл), ізоксазолілу (наприклад, ізоксазол-3-іл, ізоксазол-4-іл і ізоксазол-5-іл) та індазолілу (наприклад, 1H-індазол-3-іл). Термін "гетероарил" також означає включення можливих N-оксидів. Необмежувальний ілюстративний N-оксид являє собою піридил-N-оксид.

В одному варіанті здійснення гетероарил являє собою 5- або 6-членний гетероарил. В одному варіанті здійснення гетероарил являє собою 5-членний гетероарил, тобто гетероарил являє собою моноциклічну ароматичну кільцеву систему, що має 5 атомів кільця, де щонайменше один атом вуглецю в кільці заміщений гетероатомом, незалежно вибраним з азоту, кисню та сірки. Необмежувальні ілюстративні 5-членні гетероарильні групи включають тієніл, фурил, піроліл, оксазоліл, піразоліл, імідазоліл, тіазоліл, ізотіазоліл та ізоксазоліл. В іншому варіанті здійснення гетероарил являє собою 6-членний гетероарил, наприклад, гетероарил являє собою моноциклічну ароматичну кільцеву систему, що має 6 атомів кільця, де щонайменше один атом вуглецю в кільці заміщений атомом азоту. Необмежувальні ілюстративні 6-членні гетероарильні групи включають піридил, піразиніл, піримідиніл та піридазиніл.

У даному винаході термін "необов'язково заміщений гетероарил", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується гетероарилу, який є або незаміщеним, або заміщеним одним, двома, трьома або чотирма замісниками, незалежно вибраними з групи, що складається з галогену, нітро, ціано, гідрокси, аміно, алкіламіно, діалкіламіно, галогеналкілу, гідроксиалкілу, алкокси, галогеналкокси, арилокси, аралкілокси, алкілтіо, карбоксамідо, сульфонамідо, алкілкарбонілу, арилкарбонілу, алкілсульфонілу, галогеналкілсульфонілу, циклоалкілсульфонілу,

(циклоалкіл)алкілсульфонілу, арилсульфонілу, гетероарилсульфонілу, карбокси, карбоксиалкілу, необов'язково заміщеного алкілу, необов'язково заміщеного циклоалкілу, алкенілу, алкінілу, необов'язково заміщеного арилу, необов'язково заміщеного гетероарилу, необов'язково заміщеного гетероцикло, алкоксиалкілу, (аміно)алкілу, (карбоксамідо)алкілу та (гетероцикло)алкілу. В одному варіанті здійснення необов'язково заміщений гетероарил має один замісник. В іншому варіанті здійснення необов'язково заміщений гетероарил є незаміщеним. Будь-який доступний атом вуглецю або азоту може бути заміщений. Термін необов'язково заміщений гетероарил включає гетероарильні групи, які мають зливу необов'язково заміщену циклоалкільну або зливу необов'язково заміщену гетероциклогрупу. Необов'язково заміщений гетероарил, що має зливу необов'язково заміщену циклоалкільну або зливу необов'язково заміщену гетероциклогрупу, може бути приєднаний до решти частини молекули за будь-яким доступним атомом вуглецю на гетероарильному кільці.

У даному винаході термін "гетероцикло", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується незаміщених насичених або частково ненасичених, наприклад циклічних груп, які містять один або два подвійні зв'язки, що містять одне, два або три кільця, які мають від трьох до чотирнадцяти членів кільця, тобто 3-14-членний гетероцикло, де щонайменше один атом вуглецю одного з кілець заміщений гетероатомом. Кожний гетероатом незалежно вибраний із групи, що складається з атомів кисню, сірки, в тому числі сульфоксид і сульфон, та/або азоту, які можуть бути окислені або кватернізовані. Термін "гетероцикло" включає групи, де $-CH_2$ -кільце заміщене $-C(=O)-$, наприклад, циклічні уреїдогрупи, такі як 2-імідазолідинон, і циклічні амідні групи, такі як β -лактам, γ -лактам, δ -лактам, ϵ -лактам і піперазин-2-он. Термін "гетероцикло" також включає групи, що мають злиті необов'язково заміщені арильні групи, наприклад індолініл або хроман-4-іл. В одному варіанті здійснення гетероциклогрупа являє собою C_{4-6} гетероцикло, тобто 4-, 5- або 6-члену циклічну групу, що містить одне кільце та один або два атоми кисню та/або азоту. В одному варіанті здійснення гетероциклогрупа являє собою C_{4-6} гетероцикло, що містить одне кільце та один атом азоту. Гетероцикло може бути необов'язково зв'язаний із рештою молекули через будь-який доступний атом вуглецю або азоту. Необмежувальні ілюстративні гетероциклогрупи включають азетидиніл, діоксаніл, тетрагідропіраніл, 2-окспіролідін-3-іл, піперазин-2-он, піперазин-2,6-діон, 2-імідазолідинон, піперидиніл, морфолініл, піперазиніл, піролідиніл та індолініл.

У даному винаході термін "необов'язково заміщений гетероцикло", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується гетероцикло, який є або незаміщеним, або заміщеним одним, двома, трьома або чотирма замісниками, незалежно вибраними з групи, що складається з галогену, нітро, ціано, гідрокси, аміно, алкіламіно, діалкіламіно, галогеналкілу, гідроксиалкілу, алкокси, галогеналкокси, арилокси, аралкілокси, алкілтіо, карбоксамідо, сульфонамідо, алкілкарбонілу, циклоалкілкарбонілу, алкоксикарбонілу, $CF_3C(=O)-$, арилкарбонілу, алкілсульфонілу, арилсульфонілу, карбокси, карбоксиалкілу, алкілу, необов'язково заміщеного циклоалкілу, алкенілу, алкінілу, необов'язково заміщеного арилу, необов'язково заміщеного гетероарилу, необов'язково заміщеного гетероцикло, алкоксиалкілу, (аміно)алкілу, (карбоксамідо)алкілу або (гетероцикло)алкілу. Заміна може відбуватися за будь-яким доступним атомом вуглецю або азоту, або як за одним, так і за іншим.

У даному винаході термін "аміно", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується радикалу формули $-NR^{22a}R^{22b}$, де кожний R^{22a} та R^{22b} незалежно вибраний із групи, що складається з водню, необов'язково заміщеного алкілу та аралкілу, або R^{22a} та R^{22b} взяті разом з утворенням 3-8-членного необов'язково заміщеного гетероцикло. Необмежувальні ілюстративні аміногрупи включають $-NH_2$ і $-N(H)(CH_3)$.

У даному винаході термін "карбоксамідо", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується радикалу формули $-C(=O)NR^{23a}R^{23b}$, де кожний R^{23a} та R^{23b} незалежно вибраний із групи, що складається з водню, необов'язково заміщеного алкілу, гідроксиалкілу та необов'язково заміщеного арилу, необов'язково заміщеного гетероцикло та необов'язково заміщеного гетероарилу, або R^{23a} та R^{23b} , взяті разом з атомом азоту, до якого вони приєднані, утворюють 3-8-членну необов'язково заміщену гетероциклогрупу. В одному варіанті здійснення кожний R^{23a} та R^{23b} незалежно являє собою водень або необов'язково заміщений алкіл. В одному варіанті здійснення R^{23a} та R^{23b} взяті разом з атомом азоту, до якого вони приєднані, з утворенням 3-8-членної необов'язково заміщеної гетероциклогрупи. Необмежувальні ілюстративні карбоксамідогрупи включають $-CONH_2$, $-CON(H)CH_3$ і $-CON(CH_3)_2$.

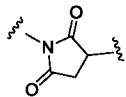
У даному винаході термін "алкоксикарбоніл", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується карбонільної групи, тобто $-C(=O)-$, заміщеної алкокси. В одному варіанті здійснення алкокси являє собою C_{1-4} алкокси. Необмежувальні ілюстративні алкоксикарбонільні групи включають $-C(=O)OMe$, $-C(=O)OEt$ і $-C(=O)OtBu$.

У даному винаході термін "карбокси", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується радикалу формули $-CO_2H$.

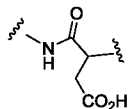
У даному винаході термін "малеїмід", використовуваний сам по собі або як частина іншої групи, стосується



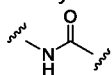
У даному винаході термін "сукцинімід", використовуваний як частина розщеплюваного лінкера, стосується



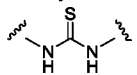
У даному винаході термін "гідролізований сукцинімід", використовуваний як частина розщеплюваного лінкера, стосується



У даному винаході термін "амід", використовуваний як частина розщеплюваного лінкера, стосується



У даному винаході термін "тіосечовина", використовуваний як частина розщеплюваного лінкера, стосується



У даному винаході термін "тіоетер", використовуваний як частина розщеплюваного лінкера, стосується



У даному винаході термін "оксим", використовуваний як частина розщеплюваного лінкера, стосується



У даному винаході термін "самовідщеплювана група", використовувана як частина розщеплюваного лінкера, стосується біфункціонального хімічного фрагмента, який здатний ковалентно зв'язувати два розташовані на відстані хімічні фрагменти в нормально стабільну молекулу, що складається з трьох частин, може вивільняти один із розташованих на відстані хімічних фрагментів із молекули, що складається з трьох частин, за допомогою ферментативного розщеплення, і після ферментативного розщеплення може спонтанно відщеплюватися від решти частини молекули з вивільненням інших розташованих на відстані хімічних фрагментів, наприклад глюкокортикостероїду. У деяких варіантах здійснення самовідщеплювана група містить п-амінобензилову ланку. У деяких таких варіантах здійснення п-амінобензиловий спирт приєднаний до амінокислотної ланки за допомогою амідного зв'язку, і карбамат, метилкарбамат або карбонат вставлений між бензиловим спиртом і лікарським засобом (Hamann et al. (2005) Expert Opin. Ther. Patents (2005) 15:1087-1103). У деяких варіантах здійснення самовідщеплюваною групою є п-амінобензилоксикарбоніл (PAB).

У даному винаході термін "захисна група" або "PG" стосується групи, яка блокує, тобто захищає, амінну функціональну групу під час здійснення реакцій на інших функціональних групах або частинах молекули. Фахівцям у даній галузі техніки будуть відомі вибір, приєднання та розщеплення амінів захисних груп і те, що з рівня техніки відомо багато інших захисних груп, при цьому застосовність однієї захисної групи або іншої залежить від конкретної запланованої схеми синтезу. З цього питання доступні такі монографії, як Wuts, P. G. M.; Greene, T. W., "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis", 4th Ed., J. Wiley & Sons, NY, 2007. Придатні захисні групи включають карбобензилокси (Cbz), трет-бутилоксикарбонільну (BOC), 9-фторенілметилоксикарбонільну (Fmoc) і бензилову (Bn) групу. В одному варіанті здійснення захисна група являє собою групу BOC.

Сполуки, що розкриті у даному документі, містять центри асиметрії і, таким чином, утворюють енантіомери, діастереомери та інші стереоізомерні форми. Даний винахід охоплює застосування всіх таких можливих форм, а також їхні рацемічні і розділені форми та їх суміші. Окремі енантіомери можуть бути розділені згідно зі способами, відомими з рівня техніки, що відноситься до даного винаходу. Якщо сполуки, що описуються у даному документі, містять олефінові подвійні зв'язки або інші центри геометричної асиметрії, та якщо не вказане інше, то передбачається, що вони включають

як E, так і Z геометричні ізомери. Також передбачається, що даним винаходом охоплюються всі таутомери.

Даний винахід охоплює одержання та застосування сольватів сполук, що розкриті у даному документі. Сольвати зазвичай істотно не змінюють фізіологічну активність або токсичність сполук і в силу цього можуть функціонувати як фармакологічні еквіваленти. Термін "сольват", використовуваний у даному документі, означає комбінацію, фізичну асоціацію та/або сольватацію сполуки за даним винаходом з молекулою розчинника, такий як, наприклад, дисольват, моносольват або гемісольват, де співвідношення молекули розчинника та сполуки за даним винаходом становить приблизно 2:1, приблизно 1:1 або приблизно 1:2, відповідно. Така фізична асоціація включає варіюючі ступені йонного та ковалентного зв'язку, в тому числі водневого зв'язку. У деяких випадках сольват можна виділити, наприклад, коли одна або декілька молекул розчинника включені в кристалічну решітку кристалічної твердої речовини. Таким чином, "сольват" охоплює як сольвати розчинної фази, так і сольвати, що виділяються. Розкриті в даному документі сполуки можуть бути представлені як сольватовані форми з фармацевтично прийнятним розчинником, таким як вода, метанол, етанол тощо, і передбачається, що даний винахід включає як сольватовані, так і несольватовані форми сполук, що розкриті у даному документі. Одним типом сольвату є гідрат. "Гідрат" відноситься до певної підгрупи сольватів, де молекулою розчинника є вода. Сольвати зазвичай можуть функціонувати як фармакологічні еквіваленти. Одержання сольватів відоме з рівня техніки. Див., наприклад, M. Caira et al, J. Pharmaceut. Sci., 93(3):601-611 (2004), де описано одержання сольватів флуконазолу з етилацетатом і водою. Подібне одержання сольватів, гемісольватів, гідратів тощо описано у E.C. van Tonder et al., AAPS Pharm. Sci. Tech., 5(1):Article 12 (2004), та A.L. Bingham et al., Chem. Commun. 603-604 (2001). Типовий необмежувальний спосіб одержання сольвату буде передбачати розчинення сполуки, розкритої у даному документі, в необхідному розчиннику (органічному, воді або їх суміші) при значеннях температури від вище 20 °C до приблизно 25 °C, потім охолодження розчину за швидкості, достатньої для утворення кристалів, і виділення кристалів відомими способами, наприклад фільтрацією. Для підтвердження присутності розчинника в кристалі сольвату можуть бути використані аналітичні методики, такі як інфрачервона спектроскопія.

Даний винахід охоплює одержання та застосування солей сполук, що розкриті у даному документі, в том числі нетоксичних фармацевтично прийнятних солей. Приклади фармацевтично прийнятних солей приєднання включають неорганічні та органічні солі приєднання кислот і основні солі. Фармацевтично прийнятні солі включають без обмеження солі металів, такі як сіль натрію, сіль калію, сіль цезію тощо; солі лужноземельних металів, такі як сіль кальцію, сіль магнію тощо; органічні солі аміну, такі як триетиламінова сіль, піридинова сіль, піколінова сіль, етаноламінова сіль, триетаноламінова сіль, дициклогексиламінова сіль, N,N'-добензилетилендіамінова сіль тощо; солі неорганічних кислот, такі як гідрохлорид, гідробромід, фосфат, сульфат тощо; солі органічних кислот, такі як цитрат, лактат, тартрат, малеат, фумарат, манделат, ацетат, дихлорацетат, трифторацетат, оксалат, формиат тощо; сульфонат, такий як метансульфонат, бензолсульфонат, п-толуолсульфонат тощо; та солі амінокислот, такі як аргінат, аспарагінат, глутамат тощо.

Солі приєднання кислоти можуть бути утворені шляхом змішування розчину конкретної розкритої сполуки з розчином фармацевтично прийнятної нетоксичної кислоти, такої як хлористоводнева кислота, фумарова кислота, малеїнова кислота, янтарна кислота, оцтова кислота, лимонна кислота, винна кислота, карбонова кислота, фосфорна кислота, оксалінова кислота, дихлороцтова кислота або подібні. Основні солі можуть бути утворені шляхом змішування розчину сполуки за даним винаходом з розчином фармацевтично прийнятної нетоксичної основи, такої як гідроксид натрію, гідроксид калію, гідроксид холіну, карбонат натрію тощо.

Використовувані в даному розкритті та формулі винаходу форми однини передбачають використання множини, якщо контекст чітко не вказує на інше.

Слід враховувати, що тоді як по всьому даному документі одні варіанти здійснення описані фразою "що містить", представлені інші аналогічні варіанти здійснення, описані термінами "що складається з" та/або "який складається, по суті, з".

Термін "та/або", використовуваний у такій фразі, як "A та/або B", у даному документі включає як "A та B", "A або B", "A", так і "B." Подібним чином, термін "та/або", використовуваний у такій фразі, як "A, B та/або C" охоплює кожний з наступних варіантів здійснення: A, B і C; A, B або C; A або C; A або B; B або C; A та C; A та B; B і C; A (окремо); B (окремо) та C (окремо).

II. Білки для зв'язку з агоністами глюкокортикоїдного рецептора

Даний винахід передбачає засоби-імунокон'югати, які містять агоністи глюкокортикоїдного рецептора, зв'язані з білками, наприклад, антитілами або їх антигензв'язувальними фрагментами та білками, які являють собою розчинний рецептор. У деяких варіантах здійснення антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент є людським, гуманізованим, химерним або мишачим. У деяких варіантах здійснення білок, наприклад, антитіло, його антигензв'язувальний фрагмент або білок, який являє собою розчинний рецептор, може зв'язуватися з мішенню на поверхні клітини та ставати інтерналізованим.

Даний винахід також передбачає імунокон'югати, які містять агоністи глюкокортикоїдного рецептора, зв'язані з білками, що зв'язують TNF-альфа. У певних варіантах здійснення білки, що зв'язують TNF-альфа, являють собою антитіла або їх антигензв'язувальні фрагменти. У певних варіантах здійснення білки, що зв'язують TNF-альфа, є антитілами або їх антигензв'язувальними фрагментами, які зв'язуються з TNF-альфа (наприклад, розчинним TNF-альфа та/або зв'язаним з мембраною TNF-альфа). У певних варіантах здійснення білки, що зв'язують TNF-альфа, є білками, які являють собою розчинний рецептор TNF, наприклад білками, що являють собою розчинний рецептор TNF, злитими з константним доменом важкого ланцюга або його фрагментом, таким як Fc. У деяких варіантах здійснення білок, що зв'язує TNF-альфа, наприклад, антитіло до TNF, його антигензв'язувальний фрагмент або розчинний рецептор TNF, зв'язується з TNF-альфа на поверхні клітини і стає інтерналізованим. Наприклад, у US 2014/0294813, який включений у даний документ за допомогою посилання в усій своїй повноті, розкриті білки, що зв'язують TNF-альфа, які демонструють клітинну інтерналізацію під зв'язування з людським TNF на клітинній поверхні.

У певних варіантах здійснення антитіла або їх антигензв'язувальні фрагменти зв'язуються з людським та/або мишачим TNF-альфа. Антитіла та антигензв'язувальні фрагменти, які зв'язуються з TNF-альфа, відомі з рівня техніки.

Повнорозмірна амінокислотна послідовність для зв'язаного з мембраною людського TNF-альфа являє собою:

MTESMIRDVELAEEALPKKTGGPQGSRRCLFLSLFSFLVAGATTLCLLHFGVIGPQREEFPRDLSLISP
LAQAVRSSSRTPSDKPVAVHVVANPQAEGQLQWLNRRANALLANGVELRDNQLVVPSEGLYLIYSQVLFKGG
GCPSTHVLLTHTISRIAVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEPIYLGGVFQLEKGDRLSAEINRPDY
LDFAESGQVYFGIHAL (SEQ ID NO:1). Розчинний людський TNF-альфа містить амінокислоти 77-233 під SEQ ID NO:1. Повнорозмірна амінокислотна послідовність для зв'язаного з мембраною мишачого TNF-альфа являє собою:

MTESMIRDVELAEEALPQKMGGFQNSRRCLCLSLFSFLLVAGATTLCLLNFGVIGPQRDEKFPNGLPL
ISSMAQTLTLRSSSQNSSDKPVAHVANHQVEEQLEWLSQRANALLANGMDLKDNQLVVPADGLYLVSQV
LFKGGGCPDYVLLTHTVSRFAISYQEKVNLLSAVKSPCKDTPEGAELKPWYEPIYLGGVFQLEKGDQLSAE
VNLPKYLDFAESGQVYFGVIAL (SEQ ID NO:2). Розчинний мишачий TNF-альфа містить амінокислоти 80-235 під SEQ ID NO:2.

У деяких варіантах здійснення антитіло до TNF-альфа або його антигензв'язувальний фрагмент зв'язується з людським TNF-альфа. У деяких варіантах здійснення антитіло до TNF-альфа або його антигензв'язувальний фрагмент є людським, гуманізованим або химерним.

У деяких варіантах здійснення антитіло до TNF-альфа або його антигензв'язувальний фрагмент зв'язується з мишачим TNF-альфа. У деяких варіантах здійснення антитіло до TNF-альфа або його антигензв'язувальний фрагмент є мишачим.

У певних варіантах здійснення антитіло до TNF-альфа або антигензв'язувальний фрагмент характеризуються одним або кількома з наступних ефектів: нейтралізують цитотоксичність людського TNF-альфа в *in vitro* аналізі L929 із IC₅₀ 1×10⁻⁷ М або менше; блокують взаємодію TNF-альфа з рецепторами клітинної поверхні p55 і p75 та/або лізують клітини, що експресують на поверхні TNF, *in vitro* в присутності комплементу.

У певних варіантах здійснення антитіло до TNF-альфа або антигензв'язувальний фрагмент не зв'язуються з TNF-бета.

Антитіла до TNF та їх антигензв'язувальні фрагменти включають, наприклад, адаліумаб, інфліксимаб, цертоліумаб пегол, афелімомаб, нерелімомаб, озораліумаб, плакулумаб і голіумаб. Додаткові антитіла до TNF-альфа та антигензв'язувальні фрагменти представлені, наприклад, у WO 2013/087912, WO 2014/152247 і WO 2015/073884, кожний з яких включений у даний документ за допомогою посилання в їх повному обсязі.

Адаліумаб описано в патенті США № 6258562, який включений у даний документ за допомогою посилання в його повному обсязі. Інфліксимаб описано в патенті США № 5656272, який включений у даний документ за допомогою посилання в його повному обсязі. Цертоліумаб обговорюється у WO 01/94585, який включений у даний документ за допомогою посилання в його повному обсязі. Афелімомаб (також відомий як MAK195) обговорюється в Vincent, Int. J. Clin. Pract. 54: 190-193 (2000), який включений у даний документ за допомогою посилання в його повному обсязі. Озораліумаб (також відомий як ATN-103) являє собою нанотіло. Він містить три варіабельні області важкого ланцюга, злиті за допомогою GlySer лінкерів. Варіабельні області 1 і 3 є ідентичними, й озораліумаб не містить важкий ланцюг. Озораліумаб обговорюється у WO 2012/131053, який включений у даний документ за допомогою посилання в його повному обсязі. Плакулумаб (також відомий як CEP-37247) являє собою доменне антитіло, що складається з димеру VL-pCH1-CH2-CH3 або [V-каппа]2-Fc, і обговорюється в Gay et al., Mabs 2: 625-638 (2010), який включений у даний документ за допомогою посилання в його повному обсязі. Голіумаб (також відомий як CNTO 148) обговорюється у

WO2013/087912, а послідовності представлені в GenBank DI 496971.1 і GenBank DI 496970.1, кожний з яких включений у даний документ за допомогою посилання в їх повному обсязі.

Антитіла до TNF-альфа та їх антигензв'язувальні фрагменти також включають антитіла та їх антигензв'язувальні фрагменти, які конкурентно пригнічують зв'язування адаліумабу, інфліксимабу, цертоліумабу пеголу, афелімомабу, нерелімомабу, озораліумабу, плакулумабу або голіумабу з TNF-альфа. Антитіла до TNF-альфа та їх антигензв'язувальні фрагменти також включають антитіла та антигензв'язувальні фрагменти, які зв'язуються з тим самим епітопом TNF-альфа, що й адаліумаб, інфліксимаб, цертоліумаб пегол, афелімомаб, нерелімомаб, озораліумаб, плакулумаб або голіумаб.

У певних варіантах здійснення антитіло до TNF-альфа або його антигензв'язувальний фрагмент конкурентно пригнічують зв'язування адаліумабу з TNF-альфа. У певних варіантах здійснення антитіло до TNF-альфа або його антигензв'язувальний фрагмент зв'язуються з тим самим епітопом TNF-альфа, що й адаліумаб. У певних варіантах здійснення антитілом до TNF-альфа або його антигензв'язувальним фрагментом є адаліумаб або його антигензв'язувальний фрагмент. У певних варіантах здійснення антитілом до TNF-альфа або його антигензв'язувальним фрагментом є адаліумаб.

У певних варіантах здійснення антитіло до TNF-альфа або його антигензв'язувальний фрагмент містять послідовності адаліумабу, інфліксимабу, цертоліумабу пеголу, афелімомабу, нерелімомабу, озораліумабу, плакулумабу або голіумабу, наприклад області, що визначають комплементарність (CDR), варіабельний домен важкого ланцюга (VH) та/або варіабельний домен легкого ланцюга (VL). Послідовності ілюстративних антитіл до TNF-альфа або їх антигензв'язувальних фрагментів представлені в таблицях 1-6.

Таблиця 1

Амінокислотні послідовності CDR варіабельної області важкого ланцюга

Антитіло	VH-CDR1	VH-CDR2	VH-CDR3
Адаліумаб	DYAMH (SEQ ID NO:3) або GFTFDDYAMH (SEQ ID NO:6)	AITWNSGHIDYADSVEG (SEQ ID NO:4)	VSYLSTASS (SEQ ID NO:5) VSYLSTASSLDY (SEQ ID NO:94)
Інфліксимаб	GFIFSNHWMN (SEQ ID NO:7)	EIRSKSINSATHYAESVKG (SEQ ID NO:8)	NYYGSTYDY (SEQ ID NO:9)
Цертоліумаб	DYGMN (SEQ ID NO:10) або GYVFTDYGMN (SEQ ID NO:13)	WINTYIGEPIYADSVKG (SEQ ID NO:11)	GYRSYAMDY (SEQ ID NO:12)
Афелімомаб	DYGVN (SEQ ID NO:14)	MIWGDGSTDYDSTLKS (SEQ ID NO:15)	EWHHGPVAY (SEQ ID NO:16)
Нерелімомаб	DYNVD (SEQ ID NO:17)	NINPNNGGTIYNQKFKG (SEQ ID NO:18)	SAFYNNYEYFDV (SEQ ID NO:19)
Озораліумаб	V1: DYWMY (SEQ ID NO:20) V2: SFGMS (SEQ ID NO:23) V3: DYWMY (SEQ ID NO:26)	V1: EINTNGLITKYPDSVKG (SEQ ID NO:21) V2: SISGSGSDTLYADSVKG (SEQ ID NO:24) V3: EINTNGLITKYPDSVKG (SEQ ID NO:27)	V1: SPSGFNR (SEQ ID NO:22) V2: GGSLSRSS (SEQ ID NO:25) V3: SPSGFNR (SEQ ID NO:28)
Голіумаб	GFIFSSYAMH (SEQ ID NO:29)	FMSYDGSNKKYADSVKG (SEQ ID NO:30)	DRGIAAGGNYYYYGMDV (SEQ ID NO:31)
Плакулумаб	RASQAIDSYLH (SEQ ID NO:88)	SASNLET (SEQ ID NO:89)	QQVWVRPFT (SEQ ID NO:90)

Таблиця 2

Амінокислотні послідовності CDR варіабельної області легкого ланцюга

Антитіло	VL-CDR1	VL-CDR2	VL-CDR3
Адаліумаб	RASQGIRNYLA (SEQ ID NO:32)	AASTLQS (SEQ ID NO:33)	QRYNRAPYT (SEQ ID NO:34)
Інфліксимаб	RASQFVGSSIH (SEQ ID NO:35)	YASESMS (SEQ ID NO:36)	QQSHSWPFT (SEQ ID NO:37)

	NO:35)	NO:36)	NO:37)
Цертолізумаб	KASQNVGTNVA (SEQ ID NO:38)	SASFLYS (SEQ ID NO:39)	QQYNIYPLT (SEQ ID NO:40)
Афелімомаб	KASQAVSSAVA (SEQ ID NO:41)	WASTRHT (SEQ ID NO:42)	QQHYSTPFT (SEQ ID NO:43)
Нерелімомаб	KSSQSLLYSNNQKNYLA (SEQ ID NO:44)	WASTRES (SEQ ID NO:45)	QQYYDYPWT (SEQ ID NO:46)
Озоралізумаб	N/A	N/A	N/A
Голімумаб	RASQSVYSYLA (SEQ ID NO:47)	DASNRAT (SEQ ID NO:48)	QQRSNWPPFT (SEQ ID NO:49)

Таблиця 3

Амінокислотні послідовності варіабельної області важкого ланцюга

Антитіло	Амінокислота послідовність VH (SEQ ID NO)
Адалімумаб	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV EGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:50)
Інфліксимаб	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWVRQSPEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAES VKGRFTISRDDSKSAVYLQMTDLRTEDTGYYCSRNYGSGTYDYWGQGTTTLTVSS (SEQ ID NO:91) EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFIFSNHWMNWVRQSPEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAES VKGRFTISRDDSKSAVYLQMNSLRTEDTGYYCSRNYGSGTYDYWGQGTTTLTVS (SEQ ID NO:51)
Цертолізумаб	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYVFTDYGMNWVRQAPGKGLEWMGWINTYIGEPYADSV KGRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYRSYAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:52)
Афелімомаб	QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLTDYGVNWVRQPPGKGLEWLGMWGDGSTDYDSTLKS RLSISKDNSKSQIFLKNNSLQTDDTARYYCAREWHHGPVAYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:53)
Нерелімомаб	QVQLVQSGAEVVKPGSSVKVSCKASGYTFTDYNVDWVKQAPGQGLQWIGNINPNNGGTIYNQKFK GKGTLTVDKSTSTAYMELSSLTSED TAVYYCARSAFYNNYEFYFDVWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO:54)
Озоралізумаб	V1: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMYWVRQAPGKGLEWVSEINTNGLITKYPDSVK GRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCARSPSGFNRGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:55) V2: EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSV KGRFTISRDNANKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS (SEQ ID NO:56) V3: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMYWVRQAPGKGLEWVSEINTNGLITKYPDSVK GRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCARSPSGFNRGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:57)
Голімумаб	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGNGLWVAFMSYDGSNKKYADSV KGRFTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO:58)

Таблиця 4

Амінокислотні послідовності варіабельної області легкого ланцюга

Антитіло	Амінокислота послідовність VL (SEQ ID NO)
Адалімумаб	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSLQPEDVATYYCQRYNRPYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:59)
Інфліксимаб	DILLTQSPAILSVSPGERVSFSCRASQFVGSSIHWHYQRTNGSPRLLIKYASESMGIPSRFSGSGSGTDFTLSINTVESEDIADYYCQQSHSWPFTFGSGTNLEVK (SEQ ID NO:60)
Цертолізумаб	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVGTNVAWYQQKPGKAPKALIYSASFLYSGVPYRFSGSGSGTDFTLTITSLQPEDFATYYCQQYNIYPLTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:61)
Афелімомаб	DIVMTQSHKFMSTTVGDRVSITCKASQAVSSAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSVTDFTLTIHNLQAEDLALYYCQQHYSTPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO:62)
Нерелі	DIMMTQSPSTLSASVGDRVTITCKSSQSLLYSNNQKNYLAWYQQKPGQAPKLLISWASTRESGVP

момаб	SRFIGSGSGTEFTLTISLQPDVATYYCQQYYDYPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:92) DIMMTQSPSTLSASVGDRVTITCKSSQSLLYSNQKNYLAWEYQQKPGQAPKLLISWASTRESGVP SRFIGSGSGTEFTLTISLQPDVATYYCQQYYDYPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:63)
Плакул умаб	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQAIDSYLHWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSG SGTDFTLTISLLPEDFATYYCQQVWRPFTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:64)
Голіму маб	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWEYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSG SGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQRSNWPFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:65)

Таблиця 5

Амінокислотні послідовності повнорозмірного важкого ланцюга

Ант итіл о	Амінокислотна послідовність повнорозмірного важкого ланцюга (SEQ ID NO)
Ад алі му ма б	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV EGRFTISRDNALNSLYLQMNSLRRAEDTAVYYCAKVSYSSTASSLDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK (D2 TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDS E7) SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:66)
Інф лік си ма б	EVKLEESGGGLVQPGGSMKLSCLVASGFIFSNHWMNVWRQSPEKGLEWVAEIRSKSINSATHYAESVK GRFTISRDDSKSAVYLQMTDLRTEDTGVYYCSRNYGSTYDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDS SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:67)
Це рто ліз ум аб	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYVFTDYGMNVWRQAPGKGLEWMGWINTYIGEPYADSVK GRFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRRAEDTAVYYCARGYRSYAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCAA (SEQ ID NO:68)
Аф елі мо ма б	QVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLTDYGVNWVRQPPGKGLEWLGMIWGDGSTDYDSTLKSRL SISKDNSKSQIFLKNNSLQTDITARYYCAREWHHGPVAYWGQGLTVTVSAATTTAPSVYPLVPGCSDT SGSVTLGCLVKGYFPEPVTWKWNYGALSSGVRTVSSVLQSGFYSLSSVTVPSSTWPSQTVICNV PASKTELKRIEPRIPKPSTPPGSSCPPGNILGGPSVFIFPPKPKDALMISLTPKVTCVVDVSEDDPDV VSWFVDNKEVHTAWTQPREAQYNSTFRVVSALPIQHQDWMRGKEFKCKVNNKALPAPIERTISKPKG RAQTPQVYTIPTPPREQMSKKKVSLSLTVTNFFSEAISVEWERNGELEQDYKNTTPILDSDGT TVDTDSWLQGEIFTCSVHEALHNHHTQKNLSRSPGK (SEQ ID NO:69)
Оз ора ліз ум аб	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYWMYVWRQAPGKGLEWVSEINTNGLITKYPDSVK GRFTISRDNALNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCARSPSGFNRGQGLTVTVSSggggsggggEVQLVESGGGL VQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNALNT LYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGLTVTVSSggggsggggEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSDYWMYVWRQAPGKGLEWVSEINTNGLITKYPDSVKGRFTISRDNALNTLYLQMNSLRPEDT AVYYCARSPSGFNRGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:70)
Пл акул ума б	VEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSSFFLYSKLTVDKSRW QGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:93) RVEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSSFFLYSKLTVDKSRW QGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:71)
Гол іму ма б	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVK GRFTISRDNALNTLYLQMNSLRRAEDTAVYYCARDRIAAGGNYYYYGMDVWGQGTTLTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP

Амінокислотні послідовності повнорозмірного легкого ланцюга

Анти тіло	Амінокислотна послідовність повнорозмірного легкого ланцюга (SEQ ID NO)
Ада лім ума б (D2 E7)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLPEDVATYYCQRYNRPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:73)
Інф лікс има б	DILLTQSPAILSVPGERVFSFSCRASQFVGSSIHWWYQQRTNGSPRLLIKYASEMSGIPSRFSGSGSGTDFTLTINTVESEDIADYYCQQSHSWPFTFGSGTNLEVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:74)
Цер толі зум аб	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVGTNVAWYQQKPGKAPKALIYSASFLYSGVVPYRFSGSGSGTDFTLTISSLPEDFATYYCQQYNIYPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:75)
Аф елі мо маб	DIVMTQSHKFMSTTVGDRVSITCKASQAVSSAVAWYQQKPGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSVTDFTLTIHNLQAEDLALYYCQQHYSTPFTFGSGTKLEIKRADAAPTIVSIFPPSDEQLTSGGASVVCFLN NFYPKIDINVKWKIDGSEKQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTCKDEYERHNSYTCEATHKSTSPI VKSFNRNEC (SEQ ID NO:76)
Пла кул ума б	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQAIDSYLHWYQQKPGKAPKLLIYSASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLLPEDFATYYCQQVWVRPFTFGGGTKVEIKR (SEQ ID NO:77)
Гол іму маб	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:78)

Також представлені антитіла або антигензв'язувальні фрагменти, які містять VH і VL, що характеризуються щонайменше 80% ідентичністю послідовностей під SEQ ID NO: 50 і 59, 51 і 60, 52 і 61, 53 і 62, 54 і 63 або 58 і 65, відповідно, або також представлені антитіла або антигензв'язувальні фрагменти, які містять VH і VL, що характеризуються щонайменше 85% ідентичністю послідовностей під SEQ ID NO: 50 і 59, 51 і 60, 52 і 61, 53 і 62, 54 і 63 або 58 і 65, відповідно. Також представлені антитіла або антигензв'язувальні фрагменти, які містять VH і VL, що характеризуються щонайменше 85% ідентичністю послідовностей під SEQ ID NO: 91 і 60 або 54 і 92, відповідно. Також представлені антитіла або антигензв'язувальні фрагменти, які містять VH і VL, що характеризуються щонайменше 90% ідентичністю послідовностей під SEQ ID NO: 50 і 59, 51 і 60, 52 і 61, 53 і 62, 54 і 63 або 58 і 65, відповідно. Також представлені антитіла або антигензв'язувальні фрагменти, які містять VH і VL, що характеризуються щонайменше 90% ідентичністю послідовностей під SEQ ID NO: 91 і 60 або 54 і 92, відповідно. Також представлені антитіла або антигензв'язувальні фрагменти, які містять VH і VL, що характеризуються щонайменше 95% ідентичністю послідовностей під SEQ ID NO: 50 і 59, 51 і 60, 52 і 61, 53 і 62, 54 і 63 або 58 і 65, відповідно. Також представлені антитіла або антигензв'язувальні фрагменти, які містять VH і VL, що характеризуються щонайменше 95% ідентичністю послідовностей під SEQ ID NO: 91 і 60 або 54 і 92, відповідно. Також представлені антитіла або антигензв'язувальні фрагменти, які містять VH і VL, що характеризуються щонайменше 95% ідентичністю послідовностей під SEQ ID NO: 50 і 59, 51 і 60, 52 і 61, 53 і 62, 54 і 63 або 58 і 65, відповідно. Також представлені антитіла або антигензв'язувальні фрагменти, які містять VH і VL, що характеризуються щонайменше 96% ідентичністю послідовностей під SEQ ID NO: 50 і 59, 51 і 60, 52 і 61, 53 і 62, 54 і 63 або 58 і 65, відповідно. Також представлені антитіла або антигензв'язувальні фрагменти, які містять VH і VL, що характеризуються щонайменше 96% ідентичністю послідовностей під SEQ ID NO: 91 і 60 або 54 і 92, відповідно. Також представлені антитіла або антигензв'язувальні фрагменти, які містять VH і VL, що характеризуються щонайменше 97% ідентичністю послідовностей під SEQ ID NO: 50 і 59, 51 і 60, 52 і 61, 53 і 62, 54 і 63 або 58 і 65, відповідно. Також представлені антитіла або антигензв'язувальні фрагменти, які містять VH і VL, що характеризуються щонайменше 97% ідентичністю послідовностей під SEQ ID NO: 91 і 60 або 54 і 92, відповідно. Також представлені антитіла або антигензв'язувальні фрагменти, які містять VH і VL, що

ідентичністю послідовностей під SEQ ID NO: 50 і 59, 91 і 60 або 54 і 92, відповідно, і містять CDR під SEQ ID NO: 3 або 6, 4, 94 і 32-34; 7-9 і 35-37 або 17-19 і 44-46, відповідно.

У певних варіантах здійснення антитіло до TNF-альфа або його антигензв'язувальний фрагмент містять CDR під SEQ ID NO: 3-5 і 32-34 або під SEQ ID NO: 6, 4, 5 і 32-34. У певних варіантах здійснення антитіло до TNF-альфа або його антигензв'язувальний фрагмент містять CDR під SEQ ID NO: 3, 4, 94 і 32-34 або під SEQ ID NO: 6, 4, 94 і 32-34. У певних варіантах здійснення антитіло до TNF-альфа або його антигензв'язувальний фрагмент містять VH під SEQ ID NO:50 та/або VL під SEQ ID NO:59. У певних варіантах здійснення антитіло до TNF-альфа містить важкий ланцюг під SEQ ID NO: 66 та/або легкий ланцюг під SEQ ID NO:75.

Антитіло до F-альфа містить важкий ланцюг під SEQ ID NO:74 та/або легкий ланцюг під SEQ ID NO:82.

У деяких аспектах у даному документі представлені антитіла або їх антигензв'язувальні фрагменти, які специфічно зв'язуються з TNF-альфа та містять CDR VL за Чотіа з VL адаліумабу, інфліксимабу, цертоліумабу пеголу, афеліумабу, нереліумабу, озораліумабу, плакулумабу або голіумабу. У деяких аспектах у даному документі представлені антитіла або їх антигензв'язувальні фрагменти, які специфічно зв'язуються з TNF-альфа та містять CDR VH за Чотіа з VH адаліумабу, інфліксимабу, цертоліумабу пеголу, афеліумабу, нереліумабу, озораліумабу, плакулумабу або голіумабу. У деяких аспектах у даному документі представлені антитіла або їх антигензв'язувальні фрагменти, які специфічно зв'язуються з TNF-альфа та містять CDR VL за Чотіа з VL адаліумабу, інфліксимабу, цертоліумабу пеголу, афеліумабу, нереліумабу, озораліумабу, плакулумабу або голіумабу, та містять CDR VH за Чотіа з VH адаліумабу, інфліксимабу, цертоліумабу пеголу, афеліумабу, нереліумабу, озораліумабу, плакулумабу або голіумабу. У певних варіантах здійснення антитіла або їх антигензв'язувальні фрагменти, які специфічно зв'язуються з TNF-альфа, містять одну або декілька CDR, у яких CDR за Чотіа та згідно Кабат мають одну і ту ж амінокислотну послідовність. У певних варіантах здійснення у даному документі представлені антитіла та їх антигензв'язувальні фрагменти, які специфічно зв'язуються з TNF-альфа та містять комбінації CDR згідно Кабат і CDR за Чотіа.

У конкретному варіанті здійснення у даному документі представлені антитіла або їх антигензв'язувальні фрагменти, які специфічно зв'язуються з TNF-альфа та містять CDR із адаліумабу, інфліксимабу, цертоліумабу пеголу, афеліумабу, нереліумабу, озораліумабу, плакулумабу або голіумабу, як визначається системою нумерації IMGT, наприклад, описаною в Lefranc M-P (1999), вище, та Lefranc M-P et al., (1999), вище).

У конкретному варіанті здійснення у даному документі представлені антитіла, які специфічно зв'язуються з TNF-альфа та містять CDR із адаліумабу, інфліксимабу, цертоліумабу пеголу, афеліумабу, нереліумабу, озораліумабу, плакулумабу або голіумабу, як визначається способом у MacCallum RM et al.

У конкретному варіанті здійснення у даному документі представлені антитіла або їх антигензв'язувальні фрагменти, які специфічно зв'язуються з TNF-альфа та містять CDR із адаліумабу, інфліксимабу, цертоліумабу пеголу, афеліумабу, нереліумабу, озораліумабу, плакулумабу або голіумабу, як визначається системою нумерації згідно AbM.

У конкретному варіанті здійснення у даному документі представлені антитіла або їх антигензв'язувальні фрагменти, які специфічно зв'язуються з CD163.

Моноклональні антитіла можуть бути одержані з використанням гібридомних способів, таких як описані у Kohler і Milstein (1975) Nature 256:495. З використанням гібридомного способу імунізують мишу, хом'яка або іншу придатну тварину-хазяїна для індукування продукування лімфоцитами антитіл, які будуть специфічно зв'язуватися з імунізуючим антигеном. Лімфоцити також можуть бути імунізовані *in vitro*. Після імунізації лімфоцити виділяють і зливають з придатною мієломною клітинною лінією з використанням, наприклад, поліетиленгліколю, з утворенням гібридомних клітин, які потім можуть бути відібрані з незлитих лімфоцитів і мієломних клітин. Гібридами, які продукують моноклональні антитіла, що специфічно направлені щодо вибраного антигена, як визначається за допомогою імунопреципітації, імуноблотингу або аналізу зв'язування *in vitro* (наприклад, за допомогою радіоімуного аналізу (RIA); ферментного імуносорбентного аналізу (ELISA)), потім можуть бути розмножені або за допомогою культивування *in vitro* з використанням стандартних способів (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press, 1986), або *in vivo* у вигляді асцитних пухлин у тварини. Потім моноклональні антитіла можуть бути очищені від культурального середовища або асцитної рідини, як описано для поліклональних антитіл.

Як альтернатива, моноклональні антитіла також можуть бути одержані із застосуванням способів з рекомбінантною ДНК, описаних у патенті США № 4816567. Полінуклеотиди, які кодують моноклональне антитіло, виділяють зі зрілих В-клітин або гібридомних клітин, наприклад, шляхом RT-PCR з використанням олігонуклеотидних праймерів, які специфічно ампліфікують гени, що кодують важкий і легкий ланцюги антитіла, а їхню послідовність визначають із використанням традиційних процедур. Виділені полінуклеотиди, що кодують важкий і легкий ланцюги, потім клонують у придатні

вектори експресії, які при трансфікуванні в клітини-хазяїни, такі як клітини *E. coli*, клітини мавпи COS, клітини яєчника китайського хом'яка (CHO) або мієломні клітини, що іншим чином не продукують білок імуноглобуліну, моноклональні антитіла, одержують за допомогою клітин-хазяїнів. Також рекомбінантні моноклональні антитіла або їх фрагменти потрібного виду можуть бути виділені з бібліотек фагового дисплея, що експресують CDR потрібного виду, як описано (McCafferty et al., 1990, *Nature*, 348:552-554; Clackson et al., 1991, *Nature*, 352:624-628 і Marks et al., 1991, *J. Mol. Biol.*, 222:581-597).

Полінуклеотид(-и), що кодує(-ють) моноклональне антитіло, може бути додатково модифікований низкою різних способів з використанням технології рекомбінантної ДНК для створення альтернативних антитіл. У деяких варіантах здійснення константні домени легкого та важкого ланцюгів, наприклад мишачого моноклонального антитіла, можуть бути замінені 1) цими областями, наприклад у людському антитілі, з утворенням химерного антитіла, або 2) відмінним від імуноглобуліну поліпептидом з утворенням злитого антитіла. У деяких варіантах здійснення константні області усувають або видаляють для створення потрібного фрагмента антитіла моноклонального антитіла. Сайт-направлений мутагенез або мутагенез з високою щільністю варіабельної області може бути використаний для оптимізації специфічності, афінності тощо моноклонального антитіла.

У деяких варіантах здійснення моноклональним антитілом до TNF-альфа є гуманізоване антитіло. У певних варіантах здійснення такі антитіла використовують терапевтично для зниження антигенності та відповідей НАМА (людського антитіла до антитіла миші) у разі введення суб'єкту-людині.

Способи конструювання, гуманізації або повторної зміни поверхні відмінних від людських або людських антитіл також можуть бути застосовані та добре відомі з рівня техніки. Гуманізоване, з повторною зміною поверхні або подібним чином сконструйоване антитіло може мати один або декілька амінокислотних залишків із джерела, що відрізняється від людського, наприклад, без обмеження миша, щур, кролик, відмінний від людини примат або інший ссавець. Такі відмінні від людських амінокислотні залишки замінюються на залишки, які часто називають "імпортними" залишками, які зазвичай взяті з "імпортного" варіабельного, константного або іншого домену відомої людської послідовності.

Такі імпортовані послідовності можна застосовувати для зниження імуногенності або зниження, підсилення або модифікування зв'язування, афінності, швидкості асоціації, швидкості дисоціації, авідності, специфічності, часу напівжиття або будь-яких інших відповідних характеристик, відомих із рівня техніки. Зазвичай, CDR-залишки безпосередньо і найбільш істотно залучені у вплив на зв'язування TNF-альфа. Відповідно, частина або всі з відмінних від людських або людських послідовностей CDR зберігаються, тоді як відмінні від людських послідовностей варіабельних і константних областей можуть бути замінені на людські або інші амінокислоти.

Антитілами також необов'язково можуть бути гуманізовані, з повторною зміною поверхні, сконструйовані або людські антитіла, сконструйовані зі збереженням високої афінності щодо антигена, наприклад TNF-альфа, та інших сприятливих біологічних властивостей. Для досягнення даної мети гуманізовані (або людські) або сконструйовані антитіла та антитіла з повторною зміною поверхні необов'язково можуть бути одержані в процесі аналізу вихідних послідовностей і різних концептуальних гуманізованих і сконструйованих продуктів з використанням тривимірних моделей вихідних, сконструйованих і гуманізованих послідовностей. Загальнодоступними є тривимірні моделі імуноглобулінів, і вони добре відомі фахівцям у даній галузі техніки. Доступні комп'ютерні програми, які ілюструють і відображають можливі структури тривимірної конформації вибраних послідовностей кандидатних імуноглобулінів. Перегляд цих відображень забезпечує аналіз можливої ролі залишків у функціонуванні послідовності кандидатного імуноглобуліну, тобто аналіз залишків, які впливають на здатність кандидатного імуноглобуліну зв'язувати його антиген, такий як TNF-альфа. Таким чином, каркасні (FR) залишки можна відбирати з консенсусної та імпортованої послідовностей і комбінувати з тим, щоб досягти потрібної характеристики антитіла, такої як підвищена афінність щодо антигена(-ів) мішені(-ей).

Гуманізування, повторна зміна поверхні або конструювання антитіл за даним винаходом можуть бути здійснені з використанням будь-якого відомого способу, такого як без обмеження описані у Winter (Jones et al., *Nature* 321:522 (1986); Riechmann et al., *Nature* 332:323 (1988); Verhoeven et al., *Science* 239:1534 (1988)), Sims et al., *J. Immunol.* 151: 2296 (1993); Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901 (1987), Carter et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89:4285 (1992); Presta et al., *J. Immunol.* 151:2623 (1993), патент США №№ 5639641, 5723323; 5976862; 5824514; 5817483; 5814476; 5763192; 5723323; 5766886; 5714352; 6204023; 6180370; 5693762; 5530101; 5585089; 5225539; 4816567; PCT/: US98/16280; US96/18978; US91/09630; US91/05939; US94/01234; GB89/01334; GB91/01134; GB92/01755; WO90/14443; WO90/14424; WO90/14430; EP 229246; 7557189; 7538195 і 7342110, кожний з яких повністю включений в даний документ за допомогою посилання, в тому числі цитовані в них посилання.

У певних альтернативних варіантах здійснення антитіло (наприклад, антитіло до TNF-альфа) являє собою людське антитіло. Людські антитіла можна безпосередньо одержувати із застосуванням

різних методик, відомих із рівня техніки. Можуть бути створені іморталізовані людські В-лімфоцити, імунізовані *in vitro* або виділені з імунізованого індивідуума, який продукує антитіло, спрямоване проти цільового антигена (див., наприклад, Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boemer et al., 1991, *J. Immunol.*, 147 (1):86-95 і патент США № 5750373). Також людське антитіло може бути вибране з фагової бібліотеки, якщо ця фагова бібліотека експресує людські антитіла, як описано, наприклад, у Vaughan et al., 1996, *Nat. Biotech.*, 14:309-314, Sheets et al., 1998, *Proc. Nat'l. Acad. Sci.*, 95:6157-6162, Hoogenboom and Winter, 1991, *J. Mol. Biol.*, 227:381 і Marks et al., 1991, *J. Mol. Biol.*, 222:581). Методики для створення та застосування фагових бібліотек антитіл також описані у патентах США №№ 5969108, 6172197, 5885793, 6521404; 6544731; 6555313; 6582915; 6593081; 6300064; 6653068; 6706484 і 7264963; а також Rothe et al., 2007, *J. Mol. Bio.*, doi:10.1016/j.jmb.2007.12.018 (кожний з яких включений за допомогою посилання в їх повному обсязі). Стратегії створення афінності та стратегії перестановки ланцюгів (Marks et al., 1992, *Bio/Technology* 10:779-783, включена за допомогою посилання в її повному обсязі) відомі з рівня техніки і можуть бути використані для створення високоафінних людських антитіл.

Гуманізовані антитіла також можуть бути одержані у трансгенних мишей, що містять локуси людського імуноглобуліну, які здатні під час імунізації продукувати повний репертуар людських антитіл за відсутності продукування ендogenous імуноглобуліну. Даний підхід описано в патентах США №№ 5545807; 5545806; 5569825; 5625126; 5633425 і 5661016.

У певних варіантах здійснення представлений фрагмент антитіла, наприклад, для посилення проникнення в пухлину. Відомі різні методики для продукування фрагментів антитіл. Традиційно ці фрагменти одержують шляхом протеолітичного розщеплення інтактних антитіл (наприклад, Morimoto et al., 1993, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 24:107-117; Brennan et al., 1985, *Science*, 229:81). У певних варіантах здійснення фрагменти антитіл одержують рекомбінантно. Усі Fab-, Fv- і scFv-фрагменти антитіл можуть бути експресовані та секретовані *E. coli* або іншими клітинами-хазіянами, за рахунок чого забезпечується продукування великих кількостей цих фрагментів. Такі фрагменти антитіл також можуть бути виділені з фагових бібліотек антитіл. Фрагменти антитіла також можуть являти собою лінійні антитіла, описані у патенті США № 5641870. Фахівцю в даній галузі будуть відомі інші методики одержання фрагментів антитіл.

Для цілей даного винаходу слід враховувати, що модифіковані антитіла можуть містити будь-який тип варіабельної області, яка забезпечує асоціацію антитіла з антигеном (наприклад, TNF-альфа). У даному відношенні варіабельна область може містити або може бути одержана з будь-якого виду ссавця, у якого може бути індукована гуморальна відповідь і утворені імуноглобуліни проти потрібного асоційованого з пухлиною антигену. У зв'язку з цим варіабельна область модифікованих антитіл може походити, наприклад, від людини, мишиних, відмінного від людини примата (наприклад, яванських макак, звичайних макак тощо) або вовка. У деяких варіантах здійснення як варіабельні, так і константні області модифікованих імуноглобулінів є людськими. В інших варіантах здійснення варіабельні області сумісних антитіл (зазвичай одержаних із джерела, відмінного від людини) можуть бути сконструйовані або спеціально створені для поліпшення зв'язувальних властивостей або зниження імуногенності молекули. У даному відношенні варіабельні області, придатні в даному винаході, можуть бути гуманізовані або іншим чином змінені за допомогою включення імпортованих амінокислотних послідовностей.

У певних варіантах здійснення варіабельні домени як важких, так і легких ланцюгів змінюють шляхом щонайменше часткової заміни однієї або декількох CDR і, за необхідності, шляхом часткової заміни каркасної області та зміни послідовності. Хоча CDR можуть бути одержані з антитіла того самого класу або навіть підкласу, що й антитіло, з якого одержані каркасні області, припускають, що CDR буде походити з антитіла іншого класу, а у певних варіантах здійснення з антитіла від іншого виду. Можливо, немає необхідності замінювати всі CDR на повні CDR із донорської варіабельної області, щоб перенести антигензв'язувальну здатність одного варіабельного домену в інший. Скоріше, може знадобитися тільки перенесення тих залишків, які необхідні для підтримання активності антигензв'язувального сайту. Враховуючи пояснення, викладені в патентах США №№ 5585089, 5693761 і 5693762, це буде зрозуміло фахівцям у даній галузі техніки, або під час виконання рутинного експерименту, або під час випробування і тестування помилок для одержання функціонального антитіла зі зниженою імуногенністю.

Білки, що зв'язують TNF-альфа, включають білки, що являють собою розчинний рецептор TNF. Білок, що зв'язує TNF-альфа, може являти собою розчинний рецептор p75 TNF. Білок, що зв'язує TNF-альфа, може являти собою розчинний рецептор p55 TNF.

Розчинний рецептор TNF може зв'язуватися як з TNF-альфа, так і з TNF-бета. Розчинний рецептор TNF може зв'язуватися з TNF-альфа, але не зв'язуватися з TNF-бета.

Розчинний рецептор TNF може пригнічувати зв'язування TNF-альфа (і необов'язково TNF-бета) з рецепторами TNF клітинної поверхні.

Розчинний рецептор TNF може являти собою етанерцепт.

Білок, що зв'язує TNF-альфа, наприклад розчинний рецептор TNF, може бути злитий з константним доменом важкого ланцюга або його фрагментом, або з Fc-областю або її фрагментом. Фрагмент константного домену важкого ланцюга або Fc-фрагмент може бути частиною константного домену або Fc, яка здатна зв'язуватися з Fc-рецептором. Фрагмент константного домену важкого ланцюга або Fc-фрагмент може бути частиною константного домену або Fc, яка здатна індукувати клітинний лізис *in vitro* в присутності комплементу. Фрагмент константного домену важкого ланцюга або Fc-фрагмент може бути частиною константного домену або Fc, яка здатна індукувати ADCC.

Константний домен важкого ланцюга або його фрагмент, або Fc-область або її фрагмент можуть являти собою людський константний домен важкого ланцюга або його фрагмент, або людську Fc-область або її фрагмент. Константний домен важкого ланцюга або його фрагмент, або Fc-область або її фрагмент можуть являти собою константний домен важкого ланцюга IgG1 або його фрагмент, або Fc-область IgG1 або її фрагмент. Константний домен важкого ланцюга або його фрагмент, або Fc-область або її фрагмент можуть являти собою константний домен важкого ланцюга людського IgG1 або його фрагмент, або Fc-область людського IgG1 або її фрагмент.

Фахівцям у даній галузі буде зрозуміло, що антитіла та їх антигензв'язувальні фрагменти за даним винаходом, і білки, що зв'язують TNF-альфа, за даним винаходом включають антитіла, їх антигензв'язувальні фрагменти та білки, що зв'язують TNF-альфа (наприклад, повнорозмірні антитіла, антигензв'язувальні фрагменти антитіл або білки, які являють собою розчинний рецептор TNF), що містять один або декілька з доменів константної області, в тому числі доменів, які були змінені із забезпеченням потрібних біохімічних характеристик, таких як знижений час напівжиття в сироватці крові, порівняно з антитілом, його антигензв'язувальним фрагментом або білком, що зв'язує TNF, які містять нативну або незмінену константну область, з приблизно тією самою імуногенністю. У деяких варіантах здійснення константна область антитіла, його антигензв'язувального фрагмента або білка, що зв'язує TNF (наприклад, повнорозмірних антитіл, антигензв'язувальних фрагментів антитіл або білків, які являють собою розчинний рецептор TNF) буде включати людську константну область. Модифікації константної області, сумісні з даним винаходом, передбачають додавання, делеції або заміни однієї або декількох амінокислот в одному або декількох доменах. Тобто антитіло, його антигензв'язувальний фрагмент або білки, що зв'язують TNF-альфа (наприклад, повнорозмірні антитіла, антигензв'язувальні фрагменти антитіл або білки, які являють собою розчинний рецептор TNF), розкриті у даному документі, можуть містити зміни або модифікації в одному або декількох із трьох константних доменів важкого ланцюга (CH1, CH2 або CH3) та/або в константному домені легкого ланцюга (CL). У деяких варіантах здійснення передбачені модифіковані константні області, де один або декілька доменів частково або повністю видалені. У деяких варіантах здійснення антитіла, їх антигензв'язувальні фрагменти або білки, що зв'язують TNF-альфа (наприклад, повнорозмірні антитіла, антигензв'язувальні фрагменти антитіл або білки, які являють собою розчинний рецептор TNF) будуть містити конструкції з видаленими доменами або варіанти, де весь домен CH2 був видалений (конструкції Δ CH2). У деяких варіантах здійснення видалений домен константної області буде замінений на короткий амінокислотний спейсер (наприклад, 10 залишків), який забезпечує деякий ступінь молекулярної гнучкості, що зазвичай забезпечується відсутністю константної області.

Слід зазначити, що у певних варіантах здійснення антитіла, їх антигензв'язувальні фрагменти або білки, що зв'язують TNF-альфа (наприклад, повнорозмірні антитіла, антигензв'язувальні фрагменти антитіл або білки, які являють собою розчинний рецептор TNF), можуть бути сконструйовані так, щоб зливати домен CH3 безпосередньо з шарнірною областю відповідних антитіл, їх антигензв'язувальних фрагментів або білків, що зв'язують TNF-альфа (наприклад, повнорозмірних антитіл, антигензв'язувальних фрагментів антитіл або білків, які являють собою розчинний рецептор TNF). В інших конструкціях може бути бажаним забезпечення пептидного спейсера між шарнірною областю та модифікованими доменами CH2 та/або CH3. Наприклад, можуть бути експресовані сумісні конструкції, де домен CH2 був видалений, і домен CH3, що залишився (модифікований або немодифікований), приєднаний до шарнірної області з 5-20-амінокислотним спейсером. Такий спейсер може бути доданий, наприклад, для забезпечення того, щоб регуляторні елементи константного домену залишалися вільними та доступними, або що шарнірна область залишалася гнучкою. Проте слід зазначити, що амінокислотні спейсери в деяких випадках можуть виявлятися імуногенними та спричиняти небажану імунну відповідь щодо конструкції. Відповідно, у певних варіантах здійснення будь-який спейсер, доданий до конструкції буде відносно неімуногенним або навіть повністю виключеним для того, щоб підтримувати потрібні біохімічні якості антитіл, їх антигензв'язувальних фрагментів або білків, що зв'язують TNF-альфа (наприклад, повнорозмірних антитіл, антигензв'язувальних фрагментів антитіл або білків, які являють собою розчинний рецептор TNF).

Буде зрозуміло, що антитіла, їх антигензв'язувальні фрагменти та білки, що зв'язують TNF-альфа (наприклад, повнорозмірні антитіла, антигензв'язувальні фрагменти антитіл або білки, які являють собою розчинний рецептор TNF), за даним винаходом можуть бути забезпечені шляхом часткової делеції або заміни декількох або навіть однієї амінокислоти. Наприклад, мутація однієї амінокислоти на вибраних ділянках домену CH2 може бути достатньою для істотного зниження зв'язування Fc і за

рахунок цього забезпечення посилення локалізації пухлини. Подібним чином, може бути бажаним просте видалення тієї частини одного або декількох доменів константної області, яка контролює ефекторну функцію (наприклад, зв'язування комплементу C1Q), що підлягає модуляції. Такі часткові делеції константних областей можуть поліпшувати вибрані характеристики антитіла (час напівжиття в сироватці крові) зі збереженням при цьому інших бажаних функцій, що асоціюються з інтактним доменом константної області, що розглядається. Більш того, як зазначається вище, константні області розкритих антитіл, їх антигензв'язувальних фрагментів та білків, що зв'язують TNF-альфа (наприклад, повнорозмірних антитіл, антигензв'язувальних фрагментів антитіл або білків, які являють собою розчинний рецептор TNF), можуть бути модифіковані за допомогою мутації або заміни однієї або декількох амінокислот, що поліпшують профіль одержаної в результаті конструкції. У даному відношенні може бути можливим порушення активності, що забезпечується консервативним сайтом зв'язування (наприклад, зв'язування Fc) зі збереженням, по суті, конфігурації та імунного профілю антитіл, їх антигензв'язувальних фрагментів та білків, що зв'язують TNF-альфа (наприклад, повнорозмірних антитіл, антигензв'язувальних фрагментів антитіл або білків, які являють собою розчинний рецептор TNF). Певні варіанти здійснення можуть передбачати додавання однієї або декількох амінокислот у константну область для посилення бажаних характеристик, таких як зниження або підвищення ефекторної функції або забезпечення більшого приєднання агоніста глюкокортикоїдного рецептора. У таких варіантах здійснення може бути бажаною вставка або реплікація специфічних послідовностей, одержаних з вибраних доменів константної області.

Буде зрозуміло, що антитіла, їх антигензв'язувальні фрагменти та білки, що зв'язують TNF-альфа (наприклад, повнорозмірні антитіла, антигензв'язувальні фрагменти антитіл або білки, які являють собою розчинний рецептор TNF), за даним винаходом можуть бути модифіковані для зниження імуногенності, тобто для зниження імунної відповіді щодо лікарського засобу (ADA). Способи здійснення цього розкриті, наприклад, у WO 2015/073884, який включений у даний документ за допомогою посилання в його повному обсязі.

Даний винахід додатково охоплює варіанти та еквіваленти, які є по суті гомологічними антитілами, їх антигензв'язувальним фрагментам і білкам, що зв'язують TNF-альфа (наприклад, повнорозмірним антитілами, антигензв'язувальним фрагментам антитіл або білкам, що являють собою розчинний рецептор TNF), викладеним у даному документі. Вони можуть містити, наприклад, мутації типу консервативної заміни, тобто заміни однієї або декількох амінокислот на подібні амінокислоти. Наприклад, консервативна заміна стосується заміни однієї амінокислоти іншою з того самого загального класу, наприклад, однієї кислотної амінокислоти іншою кислотною амінокислотою, однієї основної амінокислоти іншою основною амінокислотою або однієї нейтральної амінокислоти іншою нейтральною амінокислотою. Те, ще передбачається під консервативною амінокислотною заміною, добре відоме з рівня техніки.

Поліпептиди за даним винаходом можуть являти собою рекомбінантні поліпептиди, природні поліпептиди або синтетичні поліпептиди антитіла, його антигензв'язувального фрагмента або білка, що зв'язує TNF. З рівня техніки буде зрозуміло, що деякі амінокислотні послідовності за даним винаходом можна варіювати без істотного впливу на структуру або функцію білка. Таким чином, даний винахід додатково передбачає варіації поліпептидів, які демонструють істотну активність або які включають області антитіла, його антигензв'язувального фрагмента або білка, що зв'язує TNF-альфа. Такі мутанти включають делеції, вставки, інверсії, повтори і типи заміни.

Поліпептиди та аналоги можуть бути додатково модифіковані зі вмістом хімічних фрагментів, які зазвичай не є частиною білка. Такі дериватизовані фрагменти можуть поліпшувати розчинність, біологічний час напівжиття або абсорбцію білка. Фрагменти також можуть знижувати або усувати будь-які потрібні побічні ефекти білків тощо. Огляд таких фрагментів можна знайти в REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 20th ed., Mack Publishing Co., Easton, PA (2000).

Виділені поліпептиди, які описуються у даному документі, можуть бути одержані будь-яким придатним способом, відомим з рівня техніки. Такі способи варіюють від способів прямого синтезу білків до конструювання послідовності ДНК, що кодує виділені поліпептидні послідовності, та експресії цих послідовностей у придатному трансформованому хазяїні. У деяких варіантах здійснення послідовність ДНК конструюють з використанням рекомбінантної технології шляхом виділення або синтезу послідовності ДНК, що кодує білок дикого типу, який становить інтерес. Необов'язково, послідовність може бути піддана мутації шляхом сайт-специфічного мутагенезу із забезпеченням її функціональних аналогів. Див., наприклад, Zoeller et al., Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 81:5662-5066 (1984) і патент США № 4588585.

У деяких варіантах здійснення послідовність ДНК, що кодує поліпептид, який становить інтерес, може бути сконструйована шляхом хімічного синтезу з використанням олігонуклеотидного синтезатора. Такі олігонуклеотиди можуть бути розроблені на основі амінокислотної послідовності потрібного поліпептида та відбору тих кодонів, які є сприятливими в клітині-хазяїні, в якій буде продукуватися рекомбінантний поліпептид, що становить інтерес. Для синтезу виділеної поліпептидної послідовності, що кодує виділений поліпептид, який становить інтерес, можуть бути

застосовані стандартні способи. Наприклад, повна амінокислотна послідовність може бути використана для конструкції зворотно-трансльованого гена. Крім того, може бути синтезований олігомер ДНК, який містить нуклеотидну послідовність, що кодує конкретний виділений поліпептид. Наприклад, може бути синтезовано декілька невеликих олігонуклеотидів, які кодують частини потрібного поліпептида, а потім лігвані. Окремі олігонуклеотиди зазвичай містять 5' або 3' "липкі" кінці для комплементарної збірки.

Після збірки (шляхом синтезу, сайт-направленого мутагенезу або іншого способу), полінуклеотидні послідовності, що кодують конкретний виділений поліпептид, який становить інтерес, будуть вставлені у вектор експресії і функціонально пов'язані з послідовністю контролю експресії, придатною для експресії білка в потрібному хазяїні. Належна збірка може бути підтверджена нуклеотидним секвенуванням, картуванням рестрикції та експресією біологічно активного поліпептида в придатному хазяїні. Як добре відомо з рівня техніки, для одержання високих рівнів експресії трансфікованого гена в хазяїні ген повинен бути функціонально пов'язаний із транскрипційними і трансляційними послідовностями контролю експресії, які є функціональними у вибраному хазяїні експресії.

У певних варіантах здійснення рекомбінантні вектори експресії використовують для ампліфікації та експресії ДНК, що кодує антитіла, їх антигензв'язувальні фрагменти або білки, що зв'язують TNF-альфа (наприклад, повнорозмірні антитіла, антигензв'язувальні фрагменти антитіл або білки, які являють собою розчинний рецептор TNF). Рекомбінантні вектори експресії являють собою репліковані конструкції ДНК, які мають синтетичні або одержані із cDNA фрагменти ДНК, що кодують поліпептидний ланцюг антитіла, його антигензв'язувального фрагмента або білка, що зв'язує TNF (наприклад, повнорозмірних антитіл, антигензв'язувальних фрагментів антитіл або білків, які являють собою розчинний рецептор TNF), функціонально пов'язані із придатними транскрипційними або трансляційними регуляторними елементами, одержаними з генів ссавців, мікробів, вірусів або комах. Одиниця транскрипції зазвичай містить збірку (1) генетичного елемента або елементів, які відіграють регуляторну роль в експресії гена, наприклад, транскрипційні промотори або енхансери, (2) структурну або кодувальну послідовність, яка транскрибується в mRNA і транлюється в білок, і (3) придатні послідовності ініціації та термінації транскрипції і трансляції. Такі регуляторні елементи можуть включати операторну послідовність для контролю транскрипції. Можуть бути додатково включені можливість реплікації в хазяїні, що зазвичай забезпечується джерелом реплікації, та селекційний ген для полегшення розпізнавання трансформантів. Області ДНК є функціонально пов'язаними, якщо вони функціонально споріднені одна одній. Наприклад, ДНК для сигнального пептиду (секреторний лідер) функціонально пов'язана з ДНК для поліпептида, якщо вона експресується як попередник, який бере участь у секретії поліпептида; промотор функціонально пов'язаний з кодувальною послідовністю, якщо він контролює транскрипцію послідовності; або сайт зв'язування з рибосомою функціонально пов'язаний з кодувальною послідовністю, якщо він розташовується так, що допускає трансляцію. Структурні елементи, призначені для застосування в дріжджових системах експресії, включають у себе лідерну послідовність, що забезпечує позаклітинну секретію трансльованого білка клітиною-хазяїном. Як альтернатива, якщо рекомбінантний білок експресується без лідерної або транспортної послідовності, то він може включати N-кінцевий метіоніновий залишок. Цей залишок необов'язково може бути потім відщеплений від експресованого рекомбінантного білка із забезпеченням кінцевого продукту.

Вибір послідовності контролю експресії та вектора експресії буде залежати від вибору хазяїна. Можна використовувати широку низку комбінацій хазяїна/вектора експресії. Придатні вектори експресії для еукаріотичних хазяїнів включають, наприклад, вектори, що містять послідовності контролю експресії з SV40, вірусу папіломи крупної рогатої худоби, аденовірусу та цитомегаловірусу. Придатні вектори експресії для бактеріальних хазяїнів включають відомі бактеріальні плазмідні, такі як плазмідні з *Escherichia coli*, в тому числі pCR 1, pBR322, pMB9 та їх похідні, плазмідні з більш широким колом хазяїнів, такі як M13 і філаментні фаги з однострочною ДНК.

Придатні клітини-хазяїни для експресії антитіл, їх антигензв'язувальних фрагментів і білків, що зв'язують TNF-альфа (наприклад, повнорозмірних антитіл, антигензв'язувальних фрагментів антитіл або білків, які являють собою розчинний рецептор TNF), включають прокаріотів, клітини дріжджів, комах або вищих еукаріотів під контролем відповідних промоторів. Прокаріоти включають грамнегативні або грампозитивні організми, наприклад *E. coli* або бацили. Клітини вищих еукаріотів включають стійкі клітинні лінії, що походять від ссавців. Також можуть бути використані безклітинні системи трансляції. Відповідні вектори клонування та експресії для застосування з бактеріальними, грибовими, дріжджовими клітинними хазяїнами та клітинними хазяїнами ссавців описані в Pouwels et al. (Cloning Vectors: A Laboratory Manual, Elsevier, N.Y., 1985), відповідне розкриття якої включене в даний документ за допомогою посилання. Додаткова інформація про способи одержання білків, у тому числі одержання антитіл, може бути знайдена, наприклад, у публікації на патент США № 2008/0187954, у патентах США №№ 6413746 і 6660501 та в міжнародній заявці на патент WO 04009823, кожний з яких тим самим включений у даний документ за допомогою посилання в їх повному обсязі.

Різні системи культур клітин ссавців або комах також успішно використовуються для експресії рекомбінантного білка. Експресія рекомбінантних білків може бути здійснена в клітинах ссавців, оскільки такі білки зазвичай коректно згорнуті, відповідним чином модифіковані та повністю функціональні. Приклади придатних ліній клітин-хазяїнів ссавців включають HEK-293 і HEK-293T, лінії COS-7 клітин нирки мавпи, що описуються у Gluzman (Cell 23:175, 1981), та інші клітинні лінії, в тому числі, наприклад, клітини L, C127, 3T3, клітинні лінії яєчника китайського хом'яка (CHO), HeLa та BHK. Вектори експресії ссавців можуть містити нетранскрибовані елементи, такі як точка початку реплікації, придатний промотор і енхансер, зв'язаний з геном, що підлягає експресії, та інші 5'- або 3'-фланкувальні нетранскрибовані послідовності та 5'- або 3'-нетрансльовані послідовності, такі як необхідні сайти зв'язування з рибосомою, сайт поліаденілювання, сайти донора та акцептора сплайсингу та послідовності термінації транскрипції. Бакуловірусні системи для одержання гетерологічних білків в клітинах комах розглядаються в Luckow and Summers, Bio/Technology 6:47 (1988).

Білки, одержані за допомогою трансформованого хазяїна, можуть бути очищені згідно з будь-яким придатним способом. Такі стандартні способи включають хроматографію (наприклад, іонообмінну, афінну та колонкову хроматографію з розподілом за розмірами), центрифугування, диференціальну розчинність або будь-яку іншу стандартну методику для очищення білка. Афінні мітки, такі як гексагістидин, домен зв'язування мальтози, послідовність оболонки вірусу грипу та глутатіон-S-трансфераза, можуть бути приєднані до білка для забезпечення легкого очищення шляхом пропускання через відповідну колонку для афінної хроматографії. Виділені білки також можуть бути фізично охарактеризовані з використанням таких методик як протеоліз, ядерний магнітний резонанс і рентгенівська кристалографія.

Наприклад, надосадові рідини із систем, які секретують рекомбінантний білок у культуральне середовище, можуть бути спочатку концентровані з використанням комерційно доступного фільтра для концентрації білка, наприклад, ультрафільтраційна установка Amicon або Millipore Pellicon. Після стадії концентрації концентрат може бути нанесений на придатну матрицю для очищення. Як альтернатива, може бути використана аніонообмінна смола, наприклад, матриця або субстрат, які мають бічні діетиламіноетильні (DEAE) групи. Матриці можуть бути акриламідними, агарозними, декстрановими, целюлозними або інших типів, традиційно використовуваних для очищення білків. Як альтернатива, може бути використана стадія катіонного обміну. Придатні катіонні обмінники включають різні нерозчинні матриці, які містять сульфопропілну або карбоксиметильну групи. І зрештою, може бути застосована одна або декілька стадій обернено-фазової вискоефективної рідинної хроматографії (RP-HPLC) із використанням гідрофобних середовищ для RP-HPLC, наприклад силкагель, що має бічні метильні або інші аліфатичні групи, для додаткового очищення білків, які зв'язують TNF-альфа (наприклад, повнорозмірних антитіл, антигензв'язувальних фрагментів антитіл або білків, що являють собою розчинний рецептор TNF). Деякі або всі з вищевикладених стадій очищення, в різних комбінаціях, також можуть бути використані для забезпечення гомогенного рекомбінантного білка.

Рекомбінантний білок, одержаний у бактеріальній культурі, може бути виділений, наприклад, шляхом початкової екстракції з клітинних осадів з наступними однією або кількома стадіями концентрування, висалювання, водної іонообмінної або ексклюзійної хроматографії. Для стадій кінцевого очищення може бути використана вискоефективна рідинна хроматографія (HPLC). Мікробні клітини, використовувані в експресії рекомбінантного білка, можуть бути зруйновані будь-яким зручним способом, у тому числі шляхом здійснення циклу заморожування та відтавання, обробки ультразвуком, механічного руйнування або застосування засобів для лізису клітин.

Способи, відомі з рівня техніки для очищення антитіл, їх антигензв'язувальних фрагментів і білків, що зв'язують TNF-альфа, також включають, наприклад, способи, описані у публікаціях на патент США №№ 2008/0312425, 2008/0177048 і 2009/0187005, кожна з яких тим самим включена в даний документ за допомогою посилання в їх повному обсязі.

III. Імунокон'югати, які містять агоністи глюкокортикоїдних рецепторів

В даному документі представлені імунокон'югати, які містять агоністи глюкокортикоїдних рецепторів. У деяких варіантах здійснення імунокон'югат, представлений у даному документі, зв'язується з Fc-гамма-рецептором. У деяких варіантах здійснення імунокон'югат, представлений у даному документі, є активним в аналізі щодо трансмембранного TNF-альфа із застосуванням репортера GRE (в даному контексті "аналіз щодо трансмембранного TNF-альфа із застосуванням репортера GRE" означає аналіз, який застосовують у прикладі 79 нижче). У деяких варіантах здійснення імунокон'югат, представлений у даному документі, є активним в аналізі із застосуванням клітин L929 (у даному контексті "аналіз із застосуванням клітин L929" означає аналіз, який застосовують у прикладі 82 нижче). У деяких варіантах здійснення імунокон'югат, представлений у даному документі, демонструє знижену імуногенність (знижену імунну відповідь, яка спричиняє нейтралізацію дії лікарського засобу (ADA)) порівняно з білком в імунокон'югаті (наприклад, з антитілом, його антигензв'язувальним фрагментом або розчинним рецептором) окремо.

В одному варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a,

$(SM-L-Q)_n-A^1$ I-a,

або її фармацевтично прийнятна сіль, де:

A¹ являє собою білок, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа;

L являє собою лінкер;

Q являє собою гетеробіфункціональну групу або гетеротрифункціональну групу або

Q відсутній;

n становить 1-10; i

SM являє собою радикал на основі глюкокортикостероїду.

В одному варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a,

$(SM-L-Q)_n-A^1$ I-a,

або її фармацевтично прийнятна сіль, де:

A¹ являє собою антитіло до фактора некрозу пухлин (TNF) альфа, моноклональне антитіло до TNF-альфа або адалімумаб;

L являє собою лінкер;

Q являє собою гетеробіфункціональну групу або гетеротрифункціональну групу або

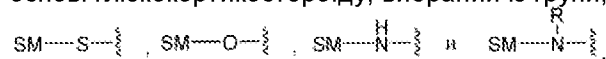
Q відсутній;

n становить 1-10; i

SM являє собою радикал на основі глюкокортикостероїду.

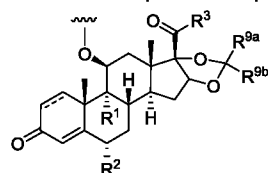
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, вибраний із групи, що складається з:



де атом сірки, кисню або азоту приєднаний безпосередньо або опосередковано до C- або D-кільця глюкокортикостероїду, і R являє собою C₁₋₄алкіл. В іншому варіанті здійснення атом сірки, кисню або азоту приєднаний безпосередньо або опосередковано до D-кільця глюкокортикостероїду.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-a,



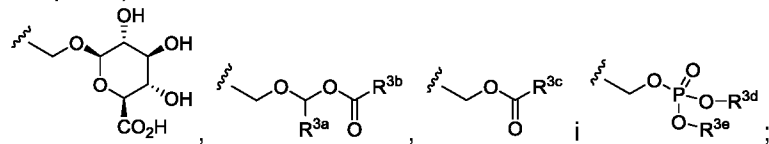
II-a,

де:

R¹ вибраний із групи, що складається з водню та галогену;

R² вибраний із групи, що складається з водню, галогену та гідрокси;

R³ вибраний із групи, що складається з -CH₂OH, -CH₂SH, -CH₂Cl, -SCH₂Cl, -SCH₂F, -SCH₂CF₃, -OH (або гідрокси), -OCH₂CN, -OCH₂Cl, -OCH₂F, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -SCH₂CN,



R^{3a} вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу;

R^{3b} вибраний із групи, що складається з C₁₋₄алкілу та C₁₋₄алкокси;

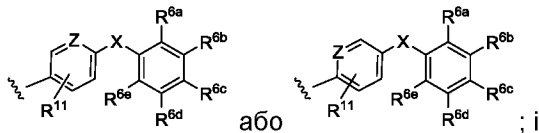
R^{3c} вибраний із групи, що складається з водню, C₁₋₄алкілу, -CH₂OH і C₁₋₄алкокси;

R^{3d} і R^{3e} незалежно вибрані з водню та C₁₋₄алкілу;

R^{9a} вибраний із групи, що складається з необов'язково заміщеного алкілу, необов'язково заміщеного циклоалкілу, необов'язково заміщеного арилу та необов'язково заміщеного гетероарилу;

R^{9b} вибраний із групи, що складається з водню та алкілу; або

R^{9a} являє собою:



R^{9b} являє собою водень або метил;

X вибраний із групи, що складається з $-(CR^{4a}R^{4b})_t-$, $-O-$, $-S-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-NR^5-$, $-CH_2S-$, $-CH_2O-$, $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$, $-CR^{4c}=CR^{4d}-$ і $-C\equiv C-$; або

X відсутній;

t дорівнює 1 або 2;

Z вибраний із групи, що складається з $=CH-$, $=C(OH)-$ і $=N-$;

кожний із R^{4a} та R^{4b} незалежно вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; або

R^{4a} та R^{4b} , взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють 3-6-членний циклоалкіл;

R^{4c} і R^{4d} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу;

R^5 вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу;

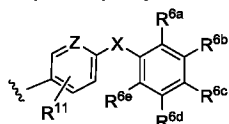
кожний із R^{6a} , R^{6b} , R^{6c} , R^{6d} і R^{6e} незалежно вибраний із групи, що складається з водню, галогену, C_{1-4} алкілу, C_{1-4} галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси;

R^{8a} та R^{8b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу;

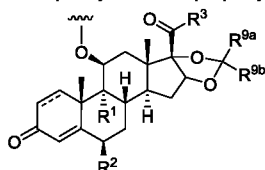
R^{11} вибраний із групи, що складається з водню, галогену, C_{1-4} алкілу, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси; і

$\equiv$ являє собою одинарний або подвійний зв'язок.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-a, де R^{9a} являє собою:



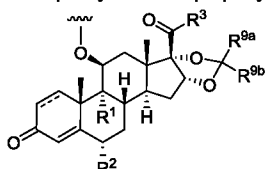
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-a',



II-a',

де R^1 , R^2 , R^3 , R^{9a} , R^{9b} і $\equiv$ визначені стосовно формули II-a.

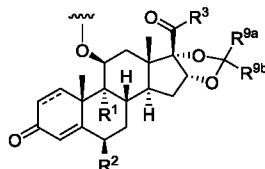
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-b,



II-b,

де R^1 , R^2 , R^3 , R^{9a} , R^{9b} і $\equiv$ визначені стосовно формули II-a.

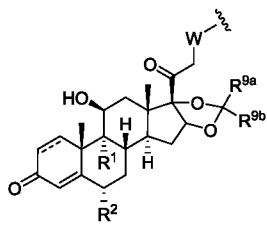
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-b',



II-b',

де R^1 , R^2 , R^3 , R^{9a} , R^{9b} і $\equiv$ визначені стосовно формули II-a.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-c,

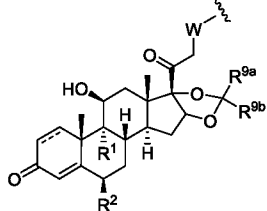


II-c,

де R^1 , R^2 , R^{9a} , R^{9b} і i === визначені стосовно формули II-a; і

W вибраний із групи, що складається з -O- та -S-. В іншому варіанті здійснення W являє собою -O-. В іншому варіанті здійснення W являє собою -S-.

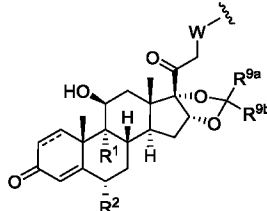
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-c',



II-c',

де R^1 , R^2 , R^{9a} , R^{9b} , W і i === визначені стосовно формули II-c.

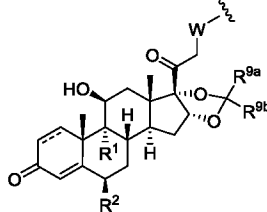
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-d,



II-d,

де R^1 , R^2 , R^{9a} , R^{9b} , W і i === визначені стосовно формули II-c.

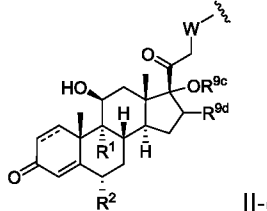
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-d',



II-d',

де R^1 , R^2 , R^{9a} , R^{9b} , W і i === визначені стосовно формули II-c.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-e,



II-e,

де:

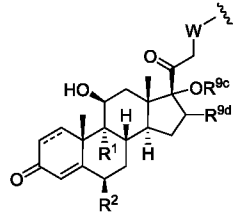
R^1 , R^2 , W і i === визначені стосовно формули II-c;

R^{9c} вибраний із групи, що складається з водню, C_{1-4} алкілу та $-C(=O)R^{9e}$;

R^{9d} вибраний із групи, що складається з водню, необов'язково заміщеного алкілу, необов'язково заміщеного циклоалкілу, необов'язково заміщеного арилу та необов'язково заміщеного гетероарилу; і

R^{9e} вибраний із групи, що складається з водню, необов'язково заміщеного алкілу, необов'язково заміщеного циклоалкілу, необов'язково заміщеного арилу та необов'язково заміщеного гетероарилу.

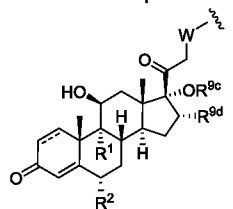
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-e',



II-e',

де R¹, R², W, R^{9c}, R^{9d} і — визначені стосовно формули II-e.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-f,

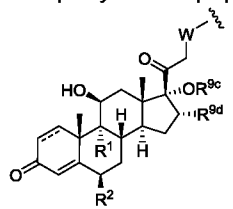


II-f,

де:

R¹, R², R^{9c}, R^{9d}, W і — визначені стосовно формули II-e.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-f':



II-f',

де R¹, R², R^{9c}, R^{9d}, W і — визначені стосовно формули II-e.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-b,

(SM-L-Q)_n-A² I-b,

або її фармацевтично прийнятна сіль, де:

A² являє собою білок;

L являє собою лінкер;

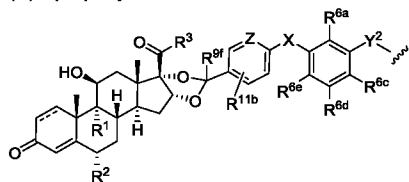
Q являє собою гетеробіфункціональну групу або гетеротрифункціональну групу або

Q відсутній;

n становить 1-10; і

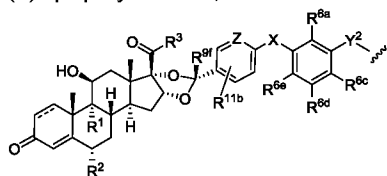
SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з:

(1) формули II-l,



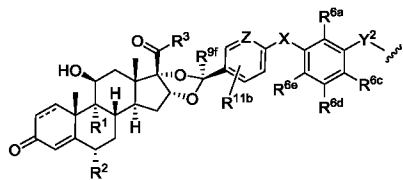
II-l;

(2) формули II-m,



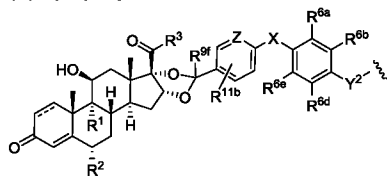
II-m;

(3) формули II-n,



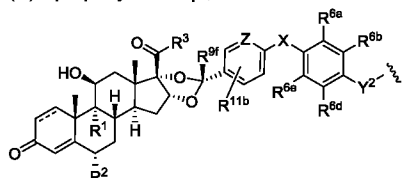
II-n;

(4) формули II-o,



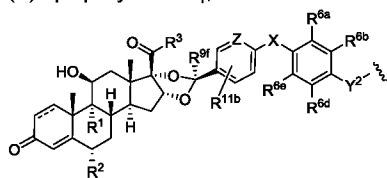
II-o;

(5) формули II-p,



II-p; або

(6) формули II-q,



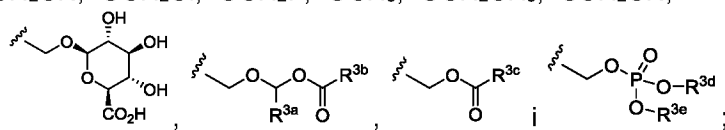
II-q,

де:

R¹ вибраний із групи, що складається з водню та галогену;

R² вибраний із групи, що складається з водню, галогену та гідрокси;

R³ вибраний із групи, що складається з -CH₂OH, -CH₂SH, -CH₂Cl, -SCH₂Cl, -SCH₂F, -SCH₂CF₃, -OH, -OCH₂CN, -OCH₂Cl, -OCH₂F, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -SCH₂CN,



R^{3a} вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу;

R^{3b} вибраний із групи, що складається з C₁₋₄алкілу та C₁₋₄алкокси;

R^{3c} вибраний із групи, що складається з водню, C₁₋₄алкілу, -CH₂OH і C₁₋₄алкокси;

R^{3d} і R^{3e} незалежно вибрані з водню та C₁₋₄алкілу;

кожний із R^{6a}, R^{6b}, R^{6c}, R^{6d} і R^{6e} незалежно вибраний із групи, що складається з водню, галогену, C₁₋₄алкілу, C₁₋₄галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси;

X вибраний із групи, що складається з -(CR^{4a}R^{4b})_t-, -O-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NR⁵-, -CH₂S-, -CH₂O-, -N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-, -CR^{4c}=CR^{4d}- (в тому числі як E-, так і Z-ізомери) та -C≡C- (де, якщо X являє собою -CH₂S-, -CH₂O- або -N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-, то гетероатом в -CH₂S-, -CH₂O- або -N(H)C(R^{8a})(R^{8b})- може бути приєднаний до одного з 6-членних кілець, тобто -CH₂S- є еквівалентним -SCH₂-, -CH₂O- є еквівалентним -OCH₂-, і -N(H)C(R^{8a})(R^{8b})- є еквівалентним -C(R^{8a})(R^{8b})N(H)-); або

X відсутній, тобто X являє собою хімічний зв'язок;

Y² вибраний із групи, що складається з -O-, -S- і -N(R^{7a})-; або

Y² відсутній, тобто Y² являє собою хімічний зв'язок;

t дорівнює 1 або 2;

Z вибраний із групи, що складається з =CR^{11a}- і =N-;

кожний із R^{4a} та R^{4b} незалежно вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; або

R^{4a} та R^{4b}, взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють 3-6-членний циклоалкіл;

R^{4c} і R^{4d} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу;

R⁵ вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу;

R^{7a} вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу;

R^{8a} та R^{8b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу;

R^{9f} вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу;

R^{11a} та R^{11b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню, галогену, C_{1-4} алкілу, C_{1-4} галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси; і

$\equiv$ являє собою одинарний або подвійний зв'язок.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-b,

$(SM-L-Q)_n-A^2$ I-b,

де:

A^2 являє собою білок;

L являє собою лінкер;

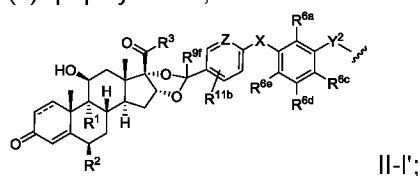
Q являє собою гетеробіфункціональну групу або гетеротрифункціональну групу або

Q відсутній;

n становить 1-10; і

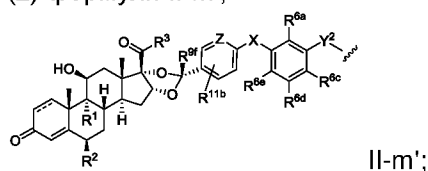
SM являє собою одновалентний радикал, що характеризується будь-якою з:

(1) формули II-l',



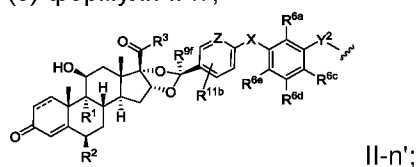
II-l';

(2) формули II-m',



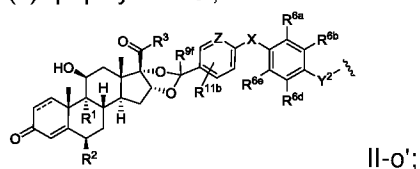
II-m';

(3) формули II-n',



II-n';

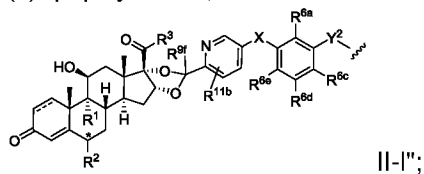
(4) формули II-o',



n становить 1-10; i

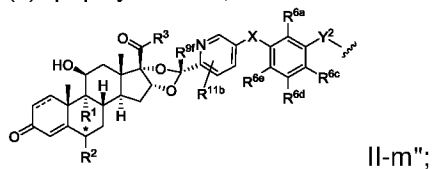
SM являє собою одновалентний радикал, що характеризується будь-якою з:

(1) формули II-l",



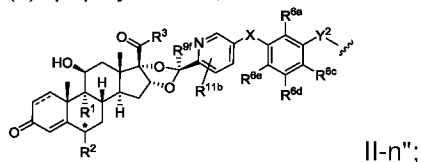
II-l";

(2) формули II-m",



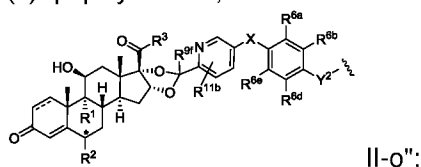
II-m";

(3) формули II-n",



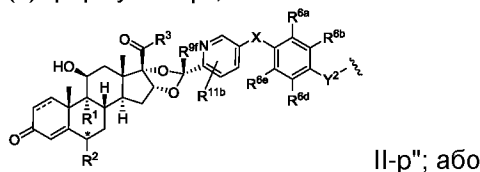
II-n";

(4) формули II-o",



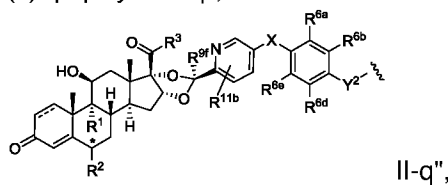
II-o";

(5) формули II-p",



II-p"; або

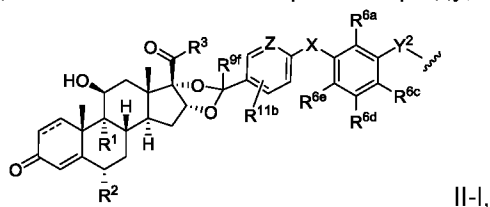
(6) формули II-q",



II-q",

де R¹, R², R³, ==, R^{6a}, R^{6c}, R^{6d}, R^{6e}, R^{9f}, R^{11b}, Y² і X визначені стосовно формули II-l, і атом вуглецю, позначений за допомогою "*", відповідає або R-ізомеру, або S-ізомеру, якщо R² являє собою галоген або гідроксил. В одному варіанті здійснення атом вуглецю, помічений за допомогою "*", відповідає R-ізомеру. В іншому варіанті здійснення атом вуглецю, помічений за допомогою "*", відповідає S-ізомеру.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-l,



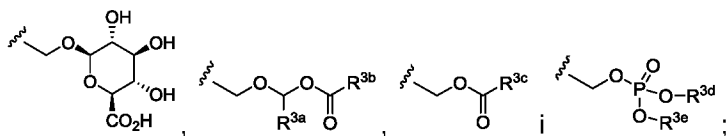
II-l,

де:

R¹ вибраний із групи, що складається з водню та галогену;

R² вибраний із групи, що складається з водню, галогену та гідрокси;

R³ вибраний із групи, що складається з -CH₂OH, -CH₂SH, -CH₂Cl, -SCH₂Cl, -SCH₂F, -SCH₂CF₃, -OH, -OCH₂CN, -OCH₂Cl, -OCH₂F, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -SCH₂CN,



R^{3a} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу;

R^{3b} вибраний із групи, що складається з C_{1-4} алкілу та C_{1-4} алкокси;

R^{3c} вибраний із групи, що складається з водню, C_{1-4} алкілу, $-CH_2OH$ і C_{1-4} алкокси;

R^{3d} і R^{3e} незалежно вибрані з водню та C_{1-4} алкілу;

X вибраний із групи, що складається з $-(CR^{4a}R^{4b})_t$, $-O-$, $-S-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-NR^5-$, $-CH_2S-$, $-CH_2O-$, $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$, $-CR^{4c}=CR^{4d}-$ і $-C\equiv C-$; або

X відсутній;

t дорівнює 1 або 2;

Z вибраний із групи, що складається з $=CR^{11a}-$ і $=N-$;

кожний із R^{4a} та R^{4b} незалежно вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; або

R^{4a} та R^{4b} , взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють 3-6-членний циклоалкіл;

R^{4c} і R^{4d} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу;

R^5 вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу;

кожний із R^{6a} , R^{6c} , R^{6d} і R^{6e} незалежно вибраний із групи, що складається з водню, галогену, C_{1-4} алкілу, C_{1-4} галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси;

Y^2 вибраний із групи, що складається з $-O-$, $-S-$ і $-N(R^{7a})-$; або

Y^2 відсутній;

R^{7a} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу;

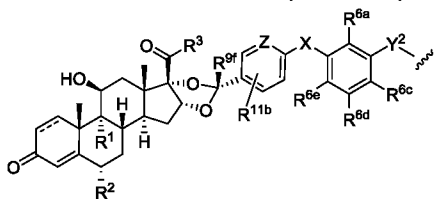
R^{8a} та R^{8b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу;

R^{9f} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу;

R^{11a} та R^{11b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню, галогену, C_{1-4} алкілу, C_{1-4} галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси; і

$\equiv$ являє собою одинарний або подвійний зв'язок.

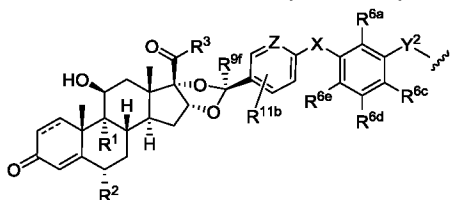
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-m,



II-m,

де R^1 , R^2 , R^3 , $\equiv$, R^{6a} , R^{6c} , R^{6d} , R^{6e} , R^{9f} , R^{11b} , Y^2 , X і Z визначені стосовно формули II-l.

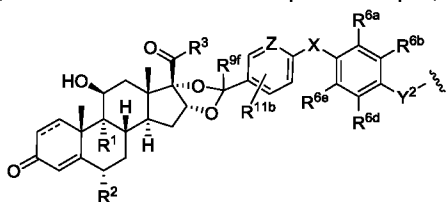
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-n,



II-n,

де R^1 , R^2 , R^3 , $\equiv$, R^{6a} , R^{6c} , R^{6d} , R^{6e} , R^{9f} , R^{11b} , Y^2 , X і Z визначені стосовно формули II-l.

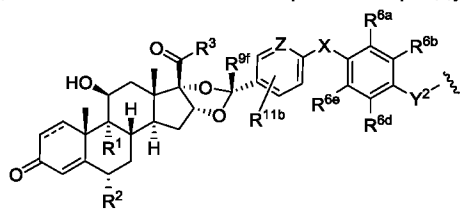
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-o,



II-o,

де R^1 , R^2 , R^3 , $\equiv$, R^{6a} , R^{6d} , R^{6e} , R^{9f} , R^{11b} , Y^2 , X і Z визначені стосовно формули II-l; і R^{6b} вибраний із групи, що складається з водню, галогену, C_{1-4} алкілу, C_{1-4} галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтію та алкокси.

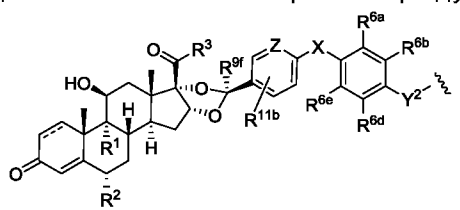
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-p,



II-p,

де R^1 , R^2 , R^3 , $\equiv$, R^{6a} , R^{6b} , R^{6d} , R^{6e} , R^{9f} , R^{11b} , Y^2 , X і Z визначені стосовно формули II-o.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-q,



II-q,

де R^1 , R^2 , R^3 , $\equiv$, R^{6a} , R^{6b} , R^{6d} , R^{6e} , R^{9f} , R^{11b} , Y^2 , X і Z визначені стосовно формули II-o.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де $\equiv$ являє собою подвійний зв'язок.

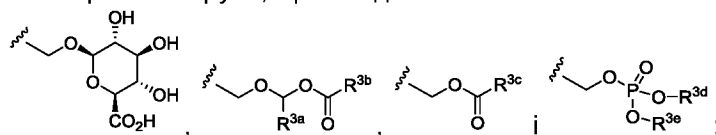
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де R^1 вибраний із групи, що складається з водню та фтору.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де R^2 вибраний із групи, що складається з водню та фтору.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де R^3 вибраний із групи, що складається з $-CH_2OH$, $-CH_2Cl$, $-SCH_2Cl$, $-SCH_2F$ і $-OH$.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де:

R^3 вибраний із групи, що складається з:



R^{3a} вибраний із групи, що складається з водню та метилу;

R^{3b} вибраний із групи, що складається з метилу, етилу, ізопропілу, ізобутилу, метокси, етоксиди, ізопропоксиди та ізобутоксиди;

R^{3c} вибраний із групи, що складається з водню, метилу, етилу, $-\text{CH}_2\text{OH}$, метокси, етокси та ізопропокси;

R^{3d} і R^{3e} незалежно вибрані з групи, що складається з водню, метилу та етилу.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де R^5 і R^{8a} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та метилу.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де Z являє собою $=\text{CH}-$.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де Z являє собою $=\text{N}-$.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де R^{6a} , R^{6d} і R^{6e} являють собою водень.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де Y^2 являє собою $-\text{N}(R^{7a})-$. В іншому варіанті здійснення R^{7a} вибраний із групи, що складається з водню та метилу. В іншому варіанті здійснення R^{7a} являє собою водень. В іншому варіанті здійснення R^{7a} являє собою метил.

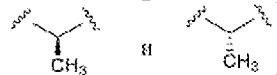
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де:

X вибраний із групи, що складається з $-(\text{CR}^{4a}\text{R}^{4b})_t-$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$ і $-\text{N}(\text{H})\text{CH}(\text{R}^{8a})-$; t дорівнює 1;

R^{4a} та R^{4b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та метилу; або

R^{4a} та R^{4b} , взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють 3-членний циклоалкіл; і

R^{8a} вибраний із групи, що складається з водню та метилу. В іншому варіанті здійснення X являє собою $-\text{CH}_2-$. В іншому варіанті здійснення X вибраний із групи, що складається з:



В іншому варіанті здійснення X являє собою $-\text{O}-$. В іншому варіанті здійснення X являє собою $-\text{S}-$. В іншому варіанті здійснення X являє собою $-\text{CH}_2\text{S}-$. В іншому варіанті здійснення X являє собою $-\text{N}(\text{H})\text{CH}_2-$. В іншому варіанті здійснення X вибраний із групи, що складається з:



В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-l, II-m або II-n або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-l', II-m', II-n', II-l'', II-m'' або II-n'', де R^{6c} вибраний із групи, що складається з водню, $-\text{Cl}$, $-\text{OMe}$ (або $-\text{OCH}_3$) і $-\text{OH}$.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-o', II-p', II-q', II-o'', II-p'' або II-q'', де R^{6b} вибраний із групи, що складається з водню, $-\text{Cl}$, $-\text{OMe}$ (або $-\text{OCH}_3$) і $-\text{OH}$.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де R^{9f} являє собою водень.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де R^{9f} являє собою метил.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де R^{11a} вибраний із групи, що складається з водню та -ОН.

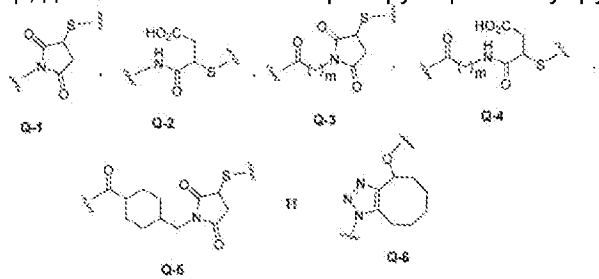
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де R^{11b} являє собою водень.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де L являє собою розщеплюваний лінкер. В іншому варіанті здійснення розщеплюваний лінкер передбачає сукцинімід, амід, тіосечовину, тіоетер, оксим або самовідщеплювану групу або їх комбінацію. В іншому варіанті здійснення розщеплюваний лінкер передбачає пептид. В іншому варіанті здійснення розщеплюваний лінкер передбачає трипептид. В іншому варіанті здійснення розщеплюваний лінкер передбачає естер фосфорної кислоти. В іншому варіанті здійснення розщеплюваний лінкер передбачає діестер фосфорної кислоти.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де Q відсутній.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де Q являє собою гетеробіфункціональну групу.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де Q являє собою гетеробіфункціональну групу, вибрану з групи, що складається з:



де m дорівнює 1, 2, 3, 4, 5 або 6. В іншому варіанті здійснення Q вибраний із групи, що складається з $Q-1$, $Q-2$, $Q-3$ і $Q-4$. В іншому варіанті здійснення Q вибраний із групи, що складається з $Q-3$ і $Q-4$. В іншому варіанті здійснення m дорівнює 2.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де Q являє собою гетеротрифункціональну групу.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де Q являє собою гетеротрифункціональну групу, а саме:



В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де -L-Q- являє собою:



m дорівнює 2 або 3; і

R^{10a} та R^{10b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та необов'язково заміщеного C₁-алкілу. В іншому варіанті здійснення m дорівнює 2. В іншому варіанті здійснення m дорівнює 1. В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:



В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:



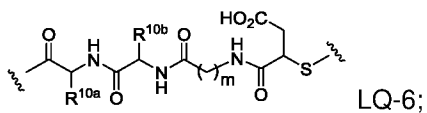
В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:



В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:

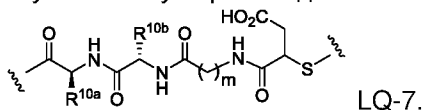


В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де -L-Q- являє собою:

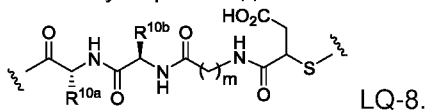


m дорівнює 2 або 3; i

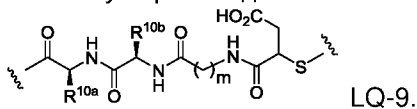
R^{10a} та R^{10b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та необов'язково заміщеного C₁-алкілу. В іншому варіанті здійснення m дорівнює 2. В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:



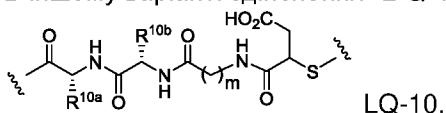
В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:



В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:

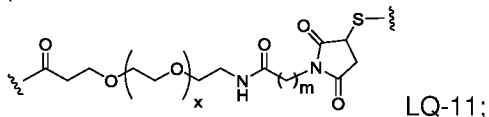


В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:



В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-g, II-h, II-i, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-g', II-h', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де L являє собою нерозщеплюваний лінкер. В іншому варіанті здійснення лінкер містить одну або декілька поліетиленгліколевих ланок.

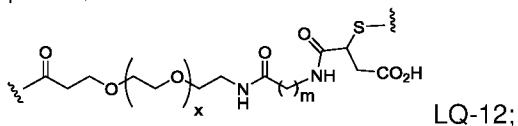
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-g, II-h, II-i, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-g', II-h', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де -L-Q- являє собою:



m дорівнює 2 або 3; i

x дорівнює 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 або 15. В іншому варіанті здійснення m дорівнює 2.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-g, II-h, II-i, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-g', II-h', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де -L-Q- являє собою:

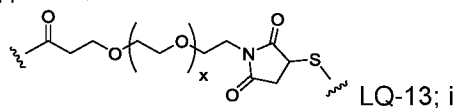


m дорівнює 2 або 3; i

x дорівнює 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 або 15. В іншому варіанті здійснення m дорівнює 2.

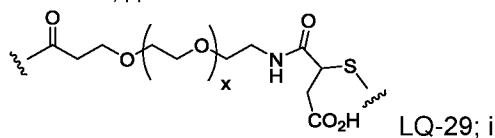
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-g, II-h, II-i, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-

якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де -L-Q- являє собою:



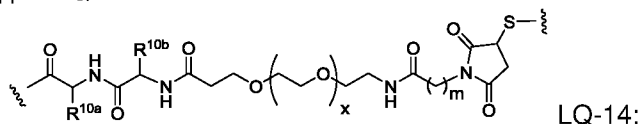
x дорівнює 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 або 15.

Сполука згідно з будь-яким із пунктів 1-47 формули винаходу або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де -L-Q- являє собою:



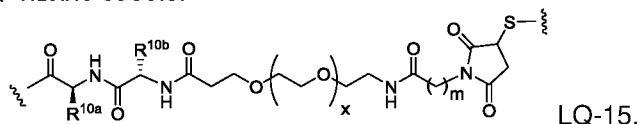
x дорівнює 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 або 15.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де -L-Q- являє собою:

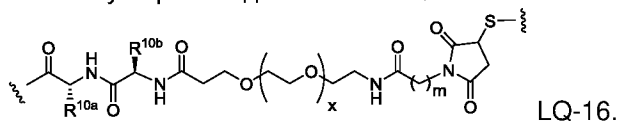


m дорівнює 1 або 2;

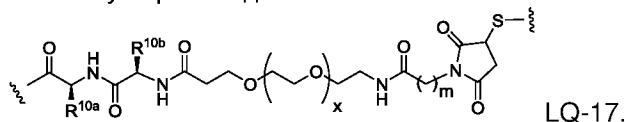
x дорівнює 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 або 15; i R^{10a} та R^{10b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та необов'язково заміщеного C₁₋₆алкілу. В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:



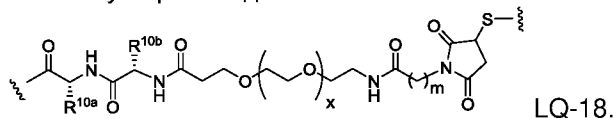
В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:



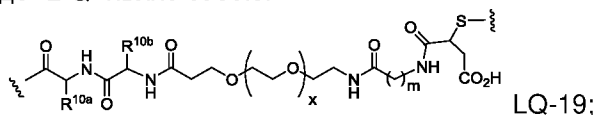
В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:



В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:



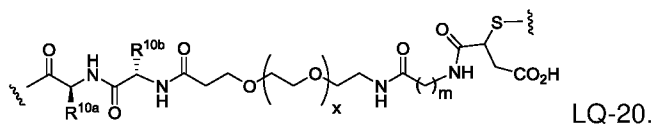
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де -L-Q- являє собою:



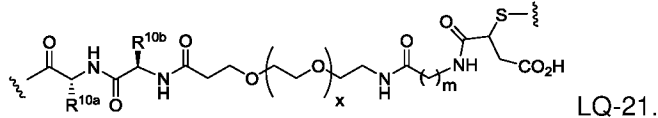
m дорівнює 1 або 2;

x дорівнює 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 або 15; i R^{10a} та R^{10b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та необов'язково заміщеного C₁₋₆алкілу.

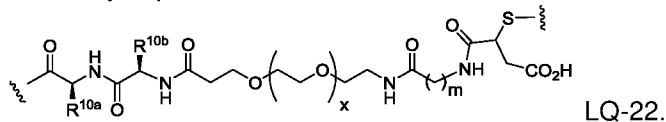
В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:



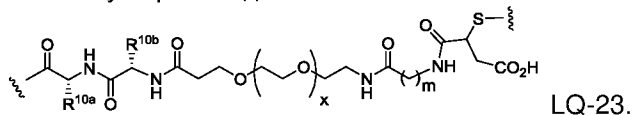
В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:



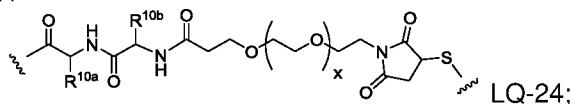
В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:



В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:

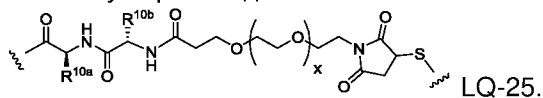


В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де -L-Q- являє собою:

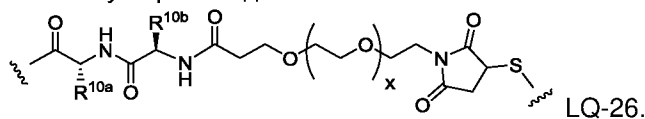


x дорівнює 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 або 15; i R^{10a} та R^{10b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та необов'язково заміщеного C₁₋₆алкілу.

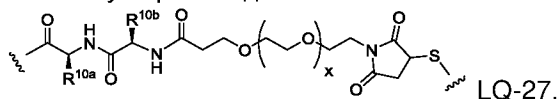
В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:



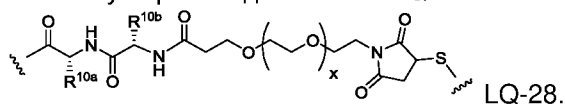
В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:



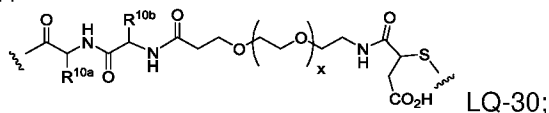
В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:



В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:

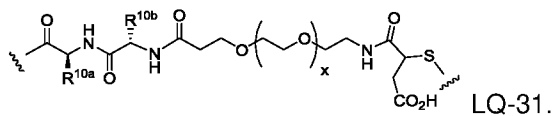


В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де -L-Q- являє собою:

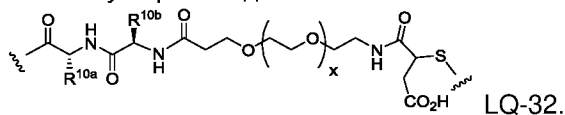


x дорівнює 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 або 15; i R^{10a} та R^{10b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та необов'язково заміщеного C₁₋₆алкілу.

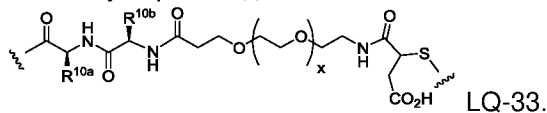
В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:



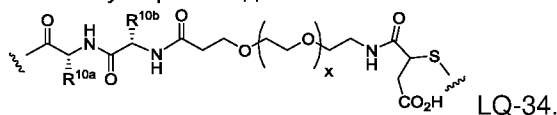
В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:



В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:

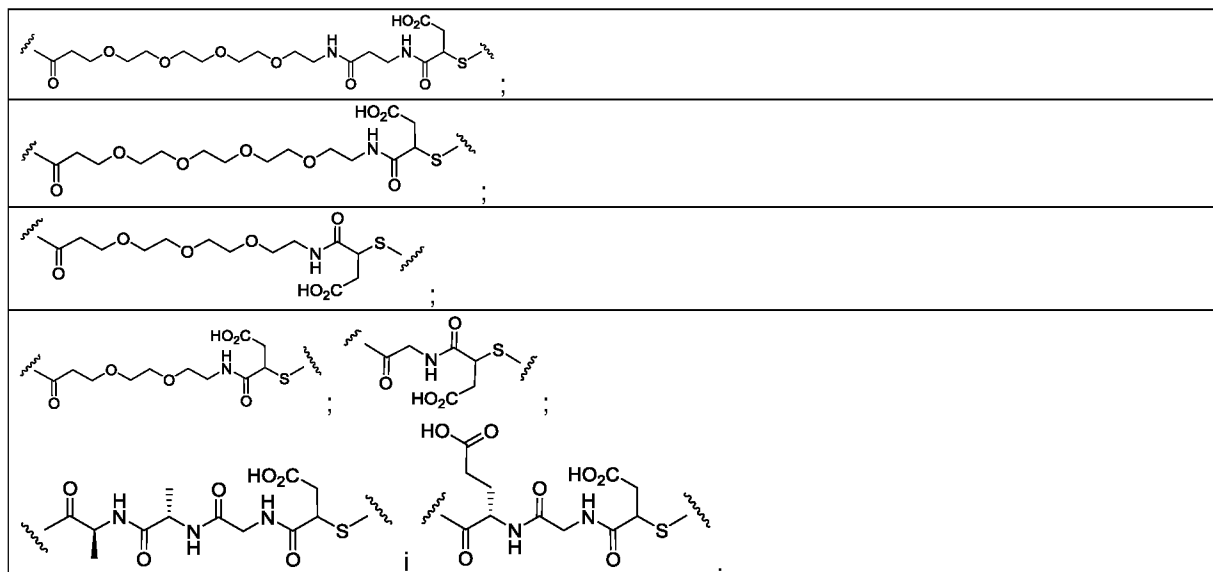


В іншому варіанті здійснення -L-Q- являє собою:



В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де -L-Q- являє собою будь-яку з хімічних структур, представлених у таблиці I.

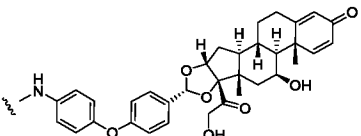
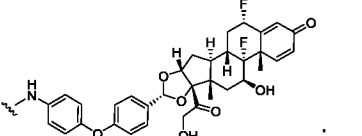
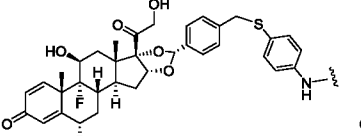
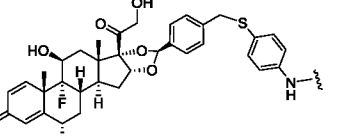
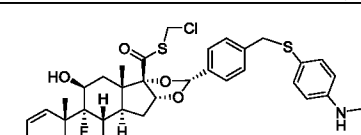
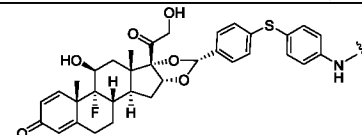
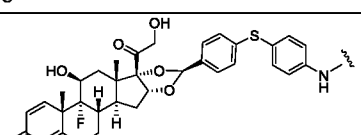
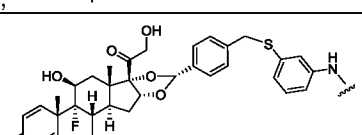
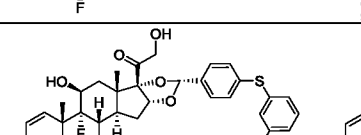
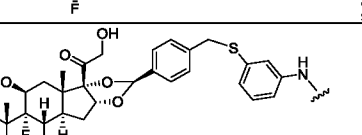
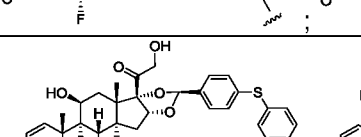
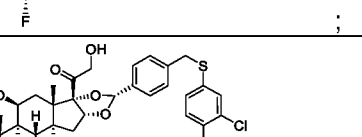
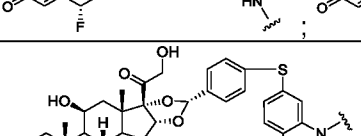
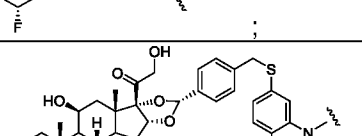
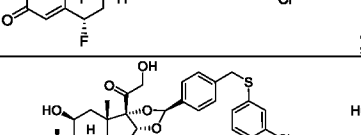
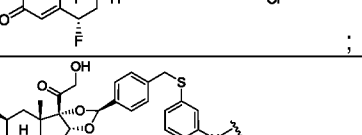
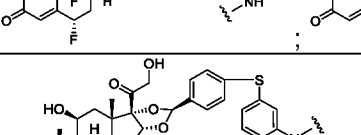
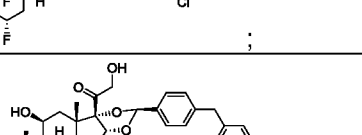
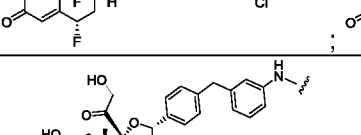
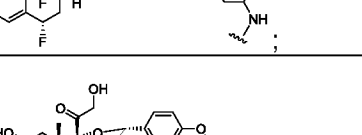
Таблиця I

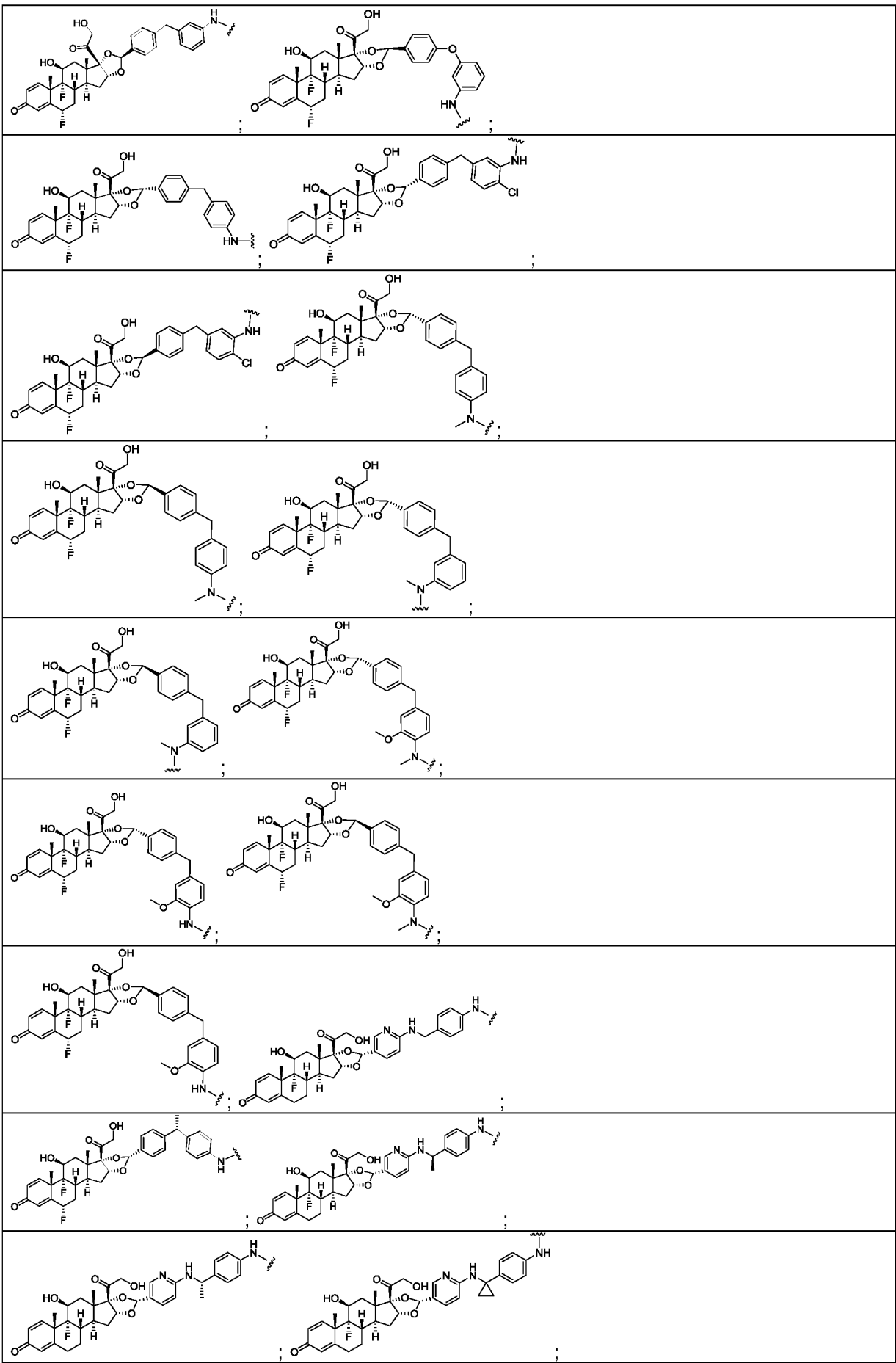


В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де n становить 2-8. В іншому варіанті здійснення n становить 1-5. В іншому варіанті здійснення n становить 2-5. В іншому варіанті здійснення n дорівнює 1. В іншому варіанті здійснення n дорівнює 2. В іншому варіанті здійснення n дорівнює 3. В іншому варіанті здійснення n дорівнює 4. В іншому варіанті здійснення n дорівнює 5. В іншому варіанті здійснення n дорівнює 6. В іншому варіанті здійснення n дорівнює 7. В іншому варіанті здійснення n дорівнює 8.

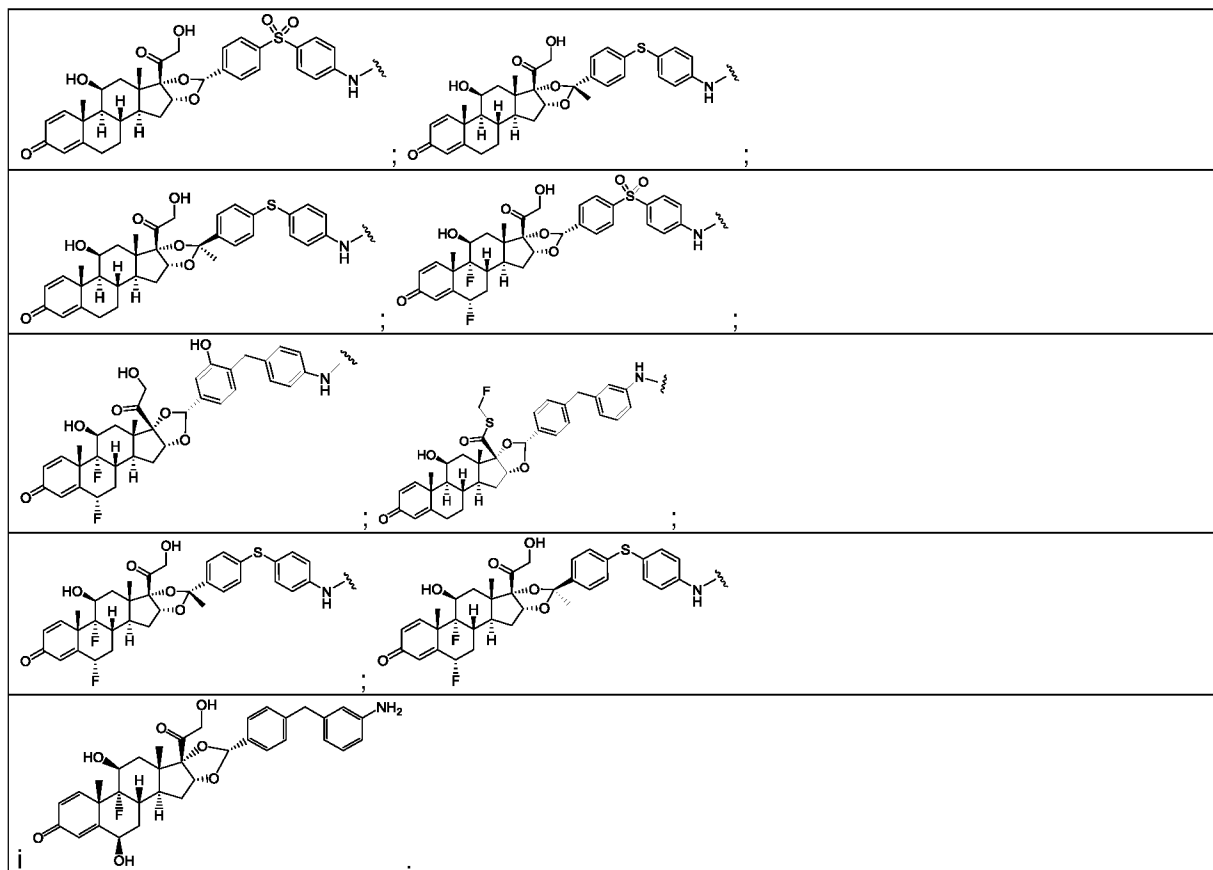
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, який являє собою будь-яку з хімічних структур, представлених у таблиці II.

Таблица II

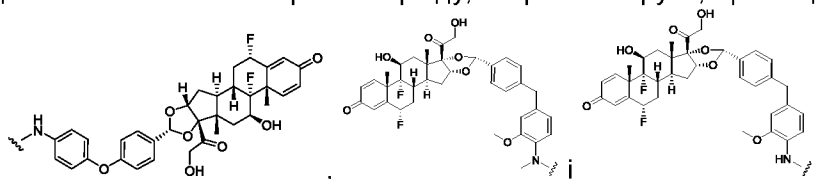
	
	
	
	
	
	
	
	
	
	







В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a або I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, вибраний із групи, що складається з:



В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', або сполука, що характеризується формулою I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де A¹ являє собою антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент, або де A² являє собою антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', або сполука, що характеризується формулою I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де A¹ являє собою білок, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа, який зв'язується з людським TNF-альфа та/або мишачим TNF-альфа, або де A² являє собою білок, який зв'язується з TNF-альфа людини та/або мишачим TNF-альфа.

q", або сполука, що характеризується формулою I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де A¹ являє собою білок, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа, що передбачає антигензв'язувальний фрагмент антитіла до рецептора TNF, або де A² являє собою білок, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа, що передбачає антигензв'язувальний фрагмент антитіла до рецептора TNF.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', або сполука, що характеризується формулою I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де антигензв'язувальний фрагмент вибраний із групи, що складається з Fab, Fab', F(ab')₂, одноланцюгового Fv або scFv, зв'язаного дисульфідним зв'язком Fv, домену V-NAR, IgNar, інтраантитіла, IgG4CH2, мініантитіла, F(ab')₃, тетрамерного антитіла, тримерного антитіла, димерного антитіла, однодоменного антитіла, DVD-Ig, Fcab, mAb2, (scFv)₂ або scFv-Fc.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', або сполука, що характеризується формулою I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент є мишачим, химерним, гуманізованим або людським.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', або сполука, що характеризується формулою I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де A¹ являє собою білок, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа, що передбачає розчинний рецептор TNF, або де A² являє собою білок, що передбачає розчинний рецептор TNF. В іншому варіанті здійснення розчинний рецептор TNF являє собою розчинний рецептор p75 TNF.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', або сполука, що характеризується формулою I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де A¹ передбачає константний домен важкого ланцюга або його фрагмент, або де A² передбачає константний домен важкого ланцюга або його фрагмент. В іншому варіанті здійснення константний домен важкого ланцюга або його фрагмент передбачає константний домен, вибраний із групи, що складається з (a) константного домену IgA; (b) константного домену IgD; (c) константного домену IgE; (d) константного домену IgG1; (e) константного домену IgG2; (f) константного домену IgG3; (g) константного домену IgG4 і (h) константного домену IgM, або являє собою фрагмент кожного з переліченого. В іншому варіанті здійснення константний домен важкого ланцюга передбачає константний домен важкого ланцюга людського IgG1 або його фрагмент. В іншому варіанті здійснення константний домен важкого ланцюга передбачає Fc-домен людського IgG1.

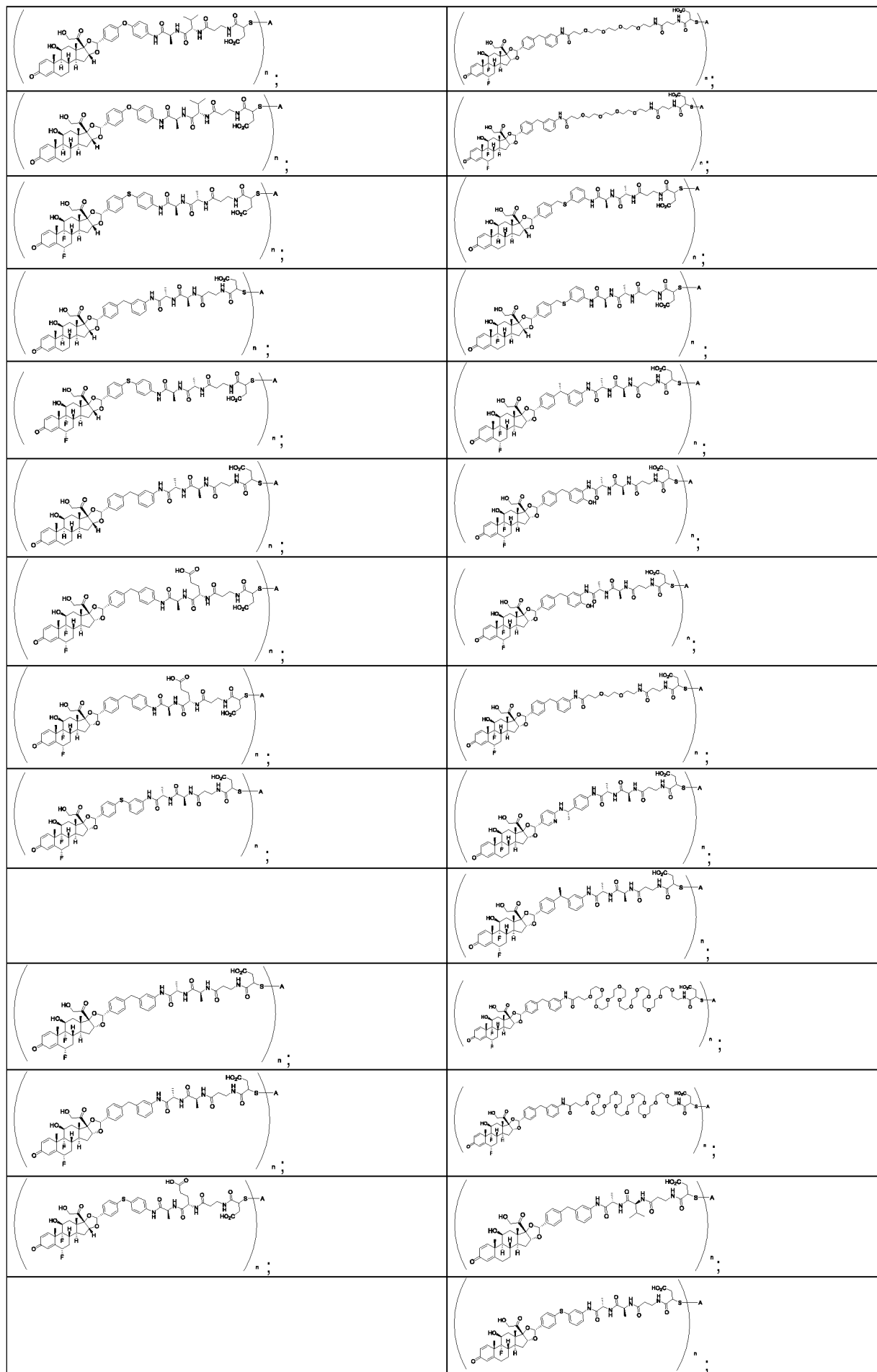
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', або сполука, що характеризується формулою I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де A¹ у присутності комплекменту спричиняє лізис in vitro клітин, що експресують поверхневий TNF, або де A² у присутності комплекменту спричиняє лізис in vitro клітин, що експресують поверхневий TNF.

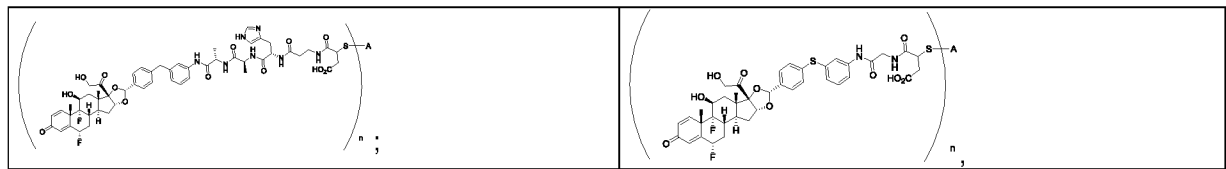
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', або сполука, що характеризується формулою I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де розчинний рецептор p75 TNF являє собою етанерцепт.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-a, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-a, II-b, II-c, II-d, II-e, II-f, II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-a', II-b', II-c', II-d', II-e', II-f', II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', або сполука, що характеризується формулою I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, наприклад сполука, що характеризується формулою I-b, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формул II-l, II-m, II-n, II-o, II-p або II-q або будь-якою з формул II-l', II-m', II-n', II-o', II-p', II-q', II-l'', II-m'', II-n'', II-o'', II-p'' або II-q'', де антитіло являє собою адалімумаб.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, або її фармацевтично прийнятна сіль, або сполука, що характеризується формулою I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, яка являє собою будь-яку з хімічних структур, представлених у таблиці III.

Таблиця III

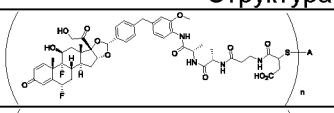
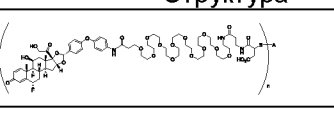
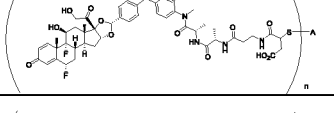
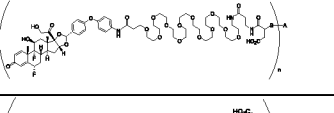
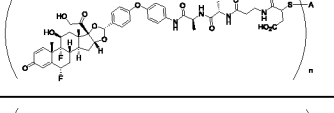
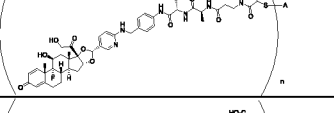
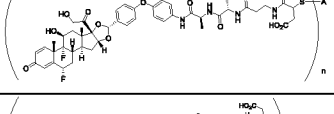
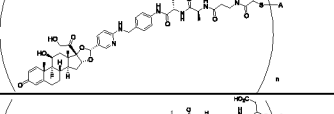
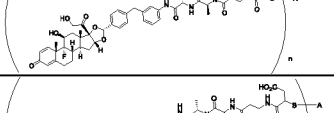
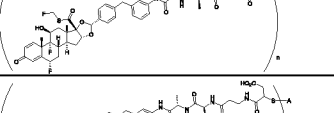
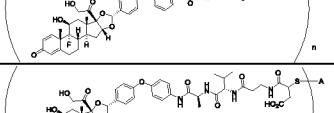
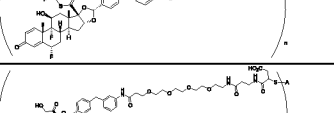
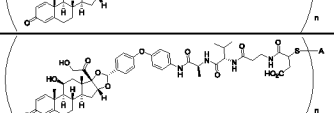
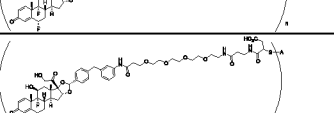
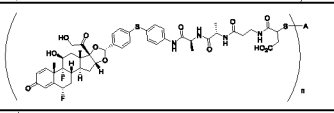
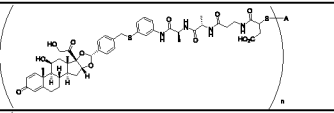
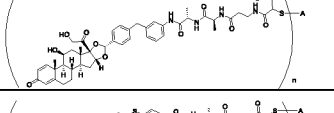
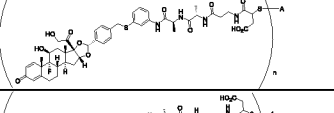
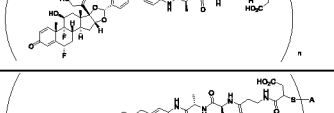
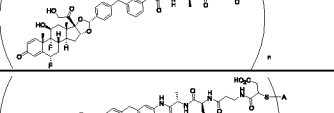
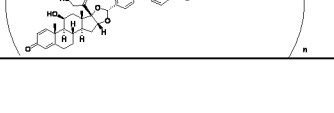
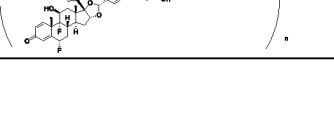


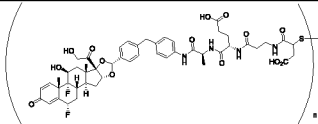
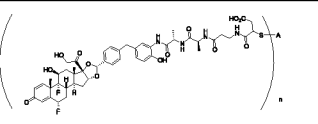
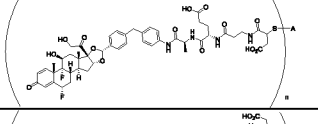
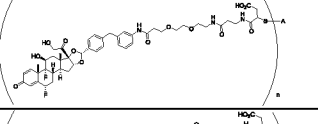
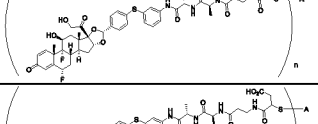
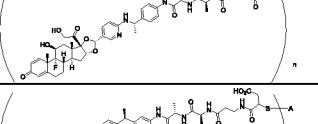
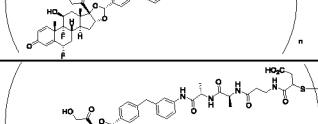
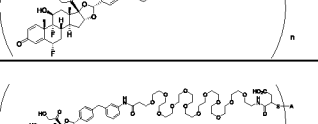
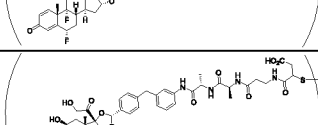
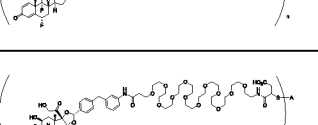
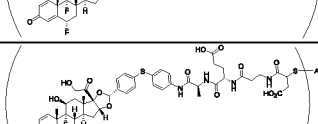
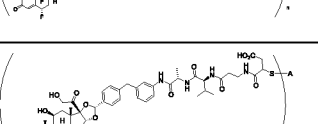
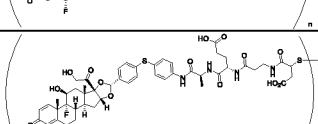
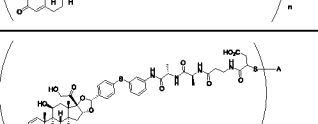
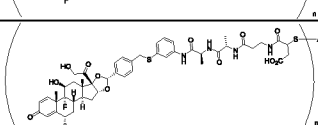
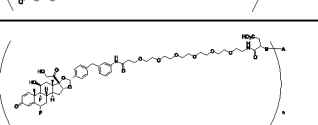
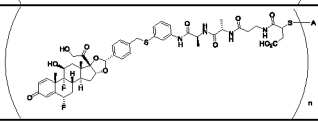
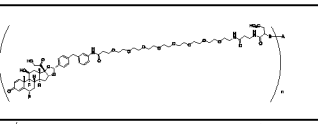
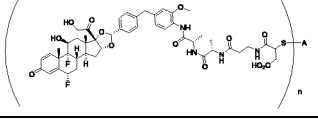
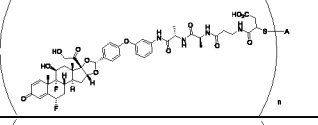
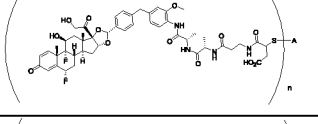
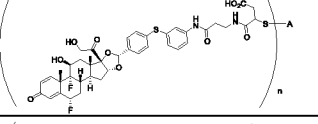
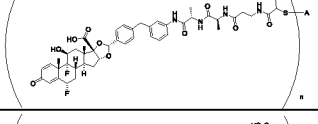
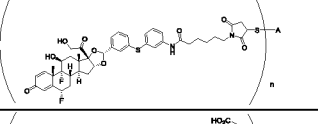
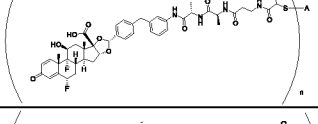
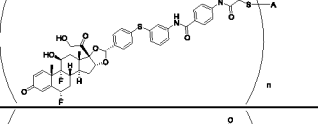
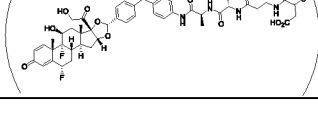
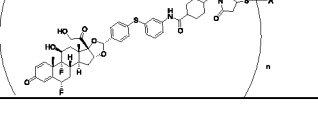


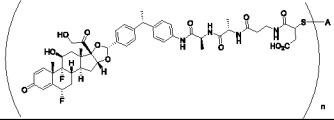
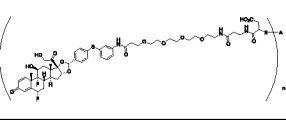
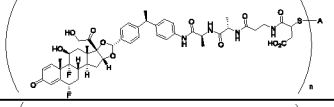
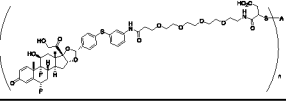
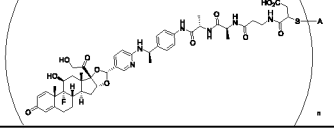
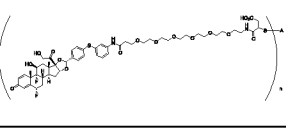
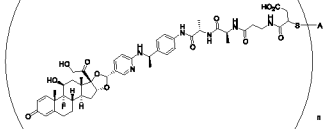
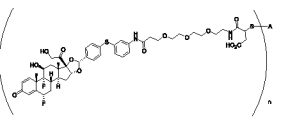
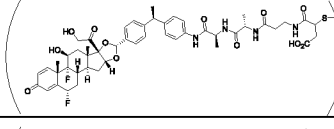
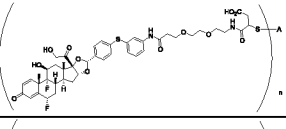
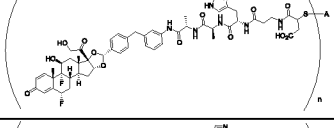
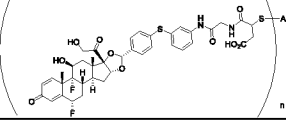
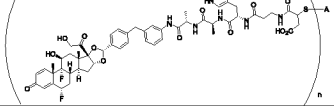
де n становить 1-5, і А являє собою А¹ або А². В іншому варіанті здійснення А являє собою адалімумаб

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, або її фармацевтично прийнятна сіль, або сполука, що характеризується формулою I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, яка являє собою будь-яку з хімічних структур, представлених у таблиці IV.

Таблиця IV

Структура	n	Структура	n
	4,5		2
	4,4		4
	2		2
	4		4
	2		4
	4		1,3
	2		2
	4		4
	2		4
	2		4
	4		4
	4		2

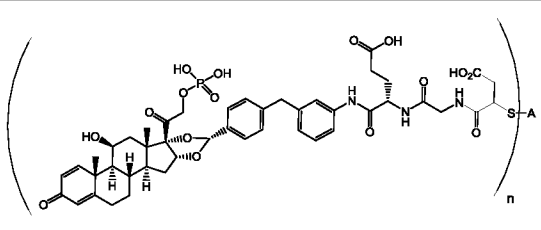
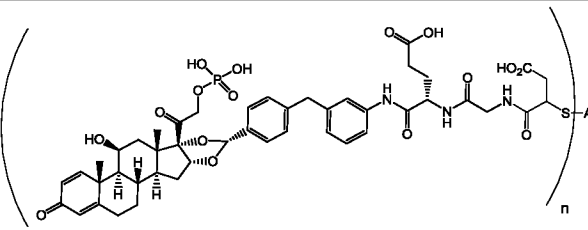
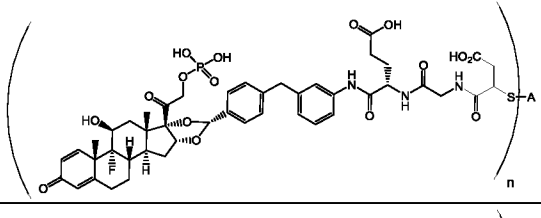
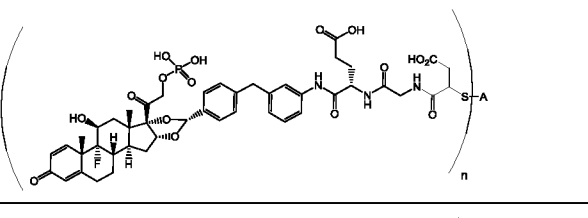
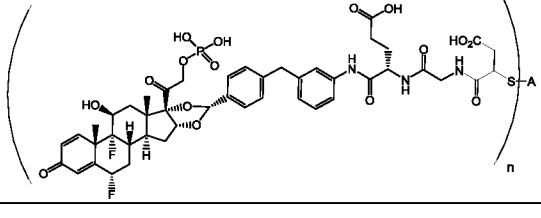
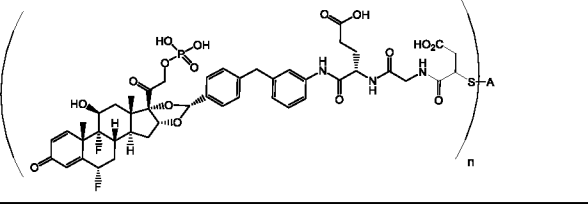
	2		4
	4		4
	2		4
	4		4
	2		2
	4		4
	2		4
	4		4
	2		4
	4		4
	2		4
	4		3,7
	2		4,1
	4		3,9
	2		3,9

	4		3,5
	4		3,5
	2		3,6
	4		3,6
	2		3,5
	2		3,8
	4		

де А являє собою А¹ або А². В іншому варіанті здійснення А являє собою адалімумаб.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, або її фармацевтично прийнятна сіль, або сполука, що характеризується формулою I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, яка являє собою будь-яку з хімічних структур, представлених у таблиці IV-A.

Таблица IV-A

	2		4
	2		4
	2		4

де А являє собою А¹ або А². В іншому варіанті здійснення А являє собою адалімумаб.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, або її фармацевтично прийнятна сіль, або сполука, що характеризується формулою I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, яка являє собою будь-яку з хімічних структур, представлених у таблиці V.

Таблица V

де n становить 1-5, і А являє собою А ¹ або А ² . В іншому варіанті здійснення А являє собою адалімумаб.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-a, або її фармацевтично прийнятна сіль, або сполука, що характеризується формулою I-b, або її фармацевтично прийнятна сіль, вибрані з групи, що складається з:

R^{4a} та R^{4b}, взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють 3-6-членний циклоалкіл;

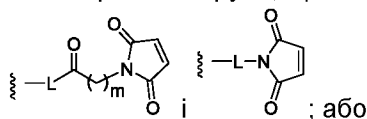
R^{4c} і R^{4d} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу;

R⁵ вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу;

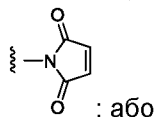
кожний із R^{6a}, R^{6b}, R^{6c} і R^{6d} незалежно вибраний із групи, що складається з водню, галогену, C₁₋₄алкілу, галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси;

R^{7a} вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу;

R^{7b} вибраний із групи, що складається з водню, -L-H, -L-PG,



R^{7a} та R^{7b}, взяті разом з атомом азоту, до якого вони приєднані, утворюють:



R^{7a} та R^{7b}, взяті разом з атомом азоту, до якого вони приєднані, утворюють нітрогрупу (-NO₂);

m дорівнює 1, 2, 3, 4, 5 або 6;

L являє собою лінкер;

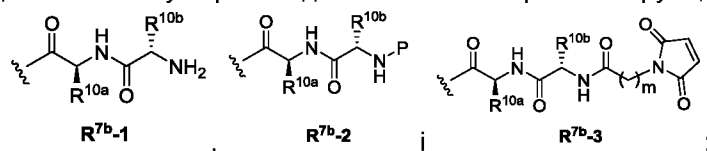
PG являє собою захисну групу, наприклад, Boc, FMOC;

R^{9f} вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу;

R^{8a} та R^{8b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу;

R^{11a} і R^{11b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню, галогену, C₁₋₄алкілу, C₁₋₄галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси; i

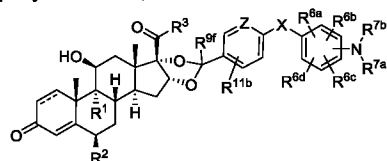
== являє собою одинарний або подвійний зв'язок. В іншому варіанті здійснення R^{7b} являє собою водень. В іншому варіанті здійснення R^{7b} вибраний із групи, що складається з:



m дорівнює 1, 2, 3, 4, 5 або 6; i

кожний із R^{10a} та R^{10b} незалежно вибраний із групи, що складається з водню та необов'язково заміщеного C₁₋₆алкілу.

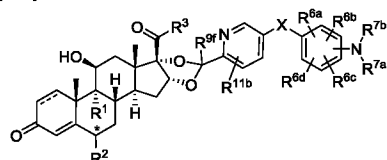
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою VII',



VII',

або її фармацевтично прийнятна сіль, де R¹, R², R³, ==, R^{6a}, R^{6b}, R^{6c}, R^{6d}, R^{7a}, R^{7b}, R^{9f}, R^{11b}, X і Z визначені стосовно формули VII.

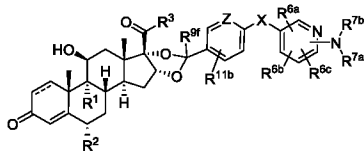
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою VII'',



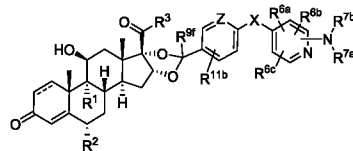
VII'',

або її фармацевтично прийнятна сіль, де R¹, R², R³, ==, R^{6a}, R^{6b}, R^{6c}, R^{6d}, R^{7a}, R^{7b}, R^{9f}, R^{11b} і X визначені стосовно формули VII, і атом вуглецю, позначений за допомогою "*", відповідає або R-ізомеру, або S-ізомеру, якщо R² являє собою галоген або гідроксил. В одному варіанті здійснення атом вуглецю, помічений за допомогою "*", відповідає R-ізомеру. В іншому варіанті здійснення атом вуглецю, помічений за допомогою "*", відповідає S-ізомеру.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою VII-A або формулою VII-B,



VII-A або



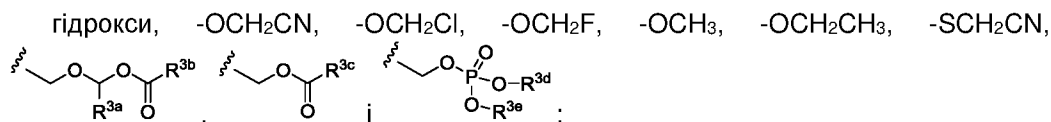
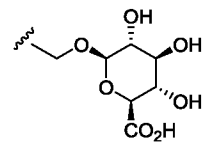
VII-B,

або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де:

R¹ вибраний із групи, що складається з водню та галогену;

R² вибраний із групи, що складається з водню, галогену та гідрокси;

R³ вибраний із групи, що складається з -CH₂OH, -CH₂SH, -CH₂Cl, -SCH₂Cl, -SCH₂F, -SCH₂CF₃, -CH₂OS(=O)₂OH,



R^{3a} вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу;

R^{3b} вибраний із групи, що складається з C₁₋₄алкілу та C₁₋₄алкокси;

R^{3c} вибраний із групи, що складається з водню, C₁₋₄алкілу, -CH₂OH, C₁₋₄алкокси, -CH₂(аміно) та -CH₂CH₂C(=O)OR^{3f};

R^{3d} і R^{3e} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу;

R^{3f} вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; X вибраний із групи, що складається з -(CR^{4a}R^{4b})_t-, -O-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NR⁵-, -CH₂S-, -CH₂O-, -N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-, -CR^{4c}=CR^{4d}-, -C≡C-, -N(R⁵)C(=O)- та -OC(=O)-; або

X відсутній;

t дорівнює 1 або 2;

Z вибраний із групи, що складається з =CR^{11a}- і =N-;

кожний із R^{4a} та R^{4b} незалежно вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; або

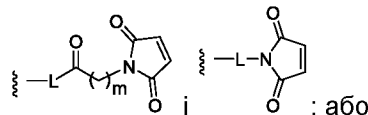
R^{4a} та R^{4b}, взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють 3-6-членний циклоалкіл;

R^{4c} і R^{4d} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу;

R⁵ вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу;

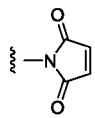
кожний із R^{6a}, R^{6b} і R^{6c} незалежно вибраний із групи, що складається з водню, галогену, C₁₋₄алкілу, галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси;

R^{7a} вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу;



R^{7b} вибраний із групи, що складається з водню, -L-H, -L-PG,

R^{7a} та R^{7b}, взяті разом з атомом азоту, до якого вони приєднані, утворюють:



; або

R^{7a} та R^{7b}, взяті разом з атомом азоту, до якого вони приєднані, утворюють нітрогрупу (-NO₂);

m дорівнює 1, 2, 3, 4, 5 або 6;

L являє собою лінкер;

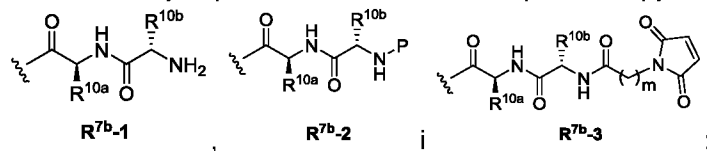
PG являє собою захисну групу;

R^{9f} вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу;

R^{8a} та R^{8b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу;

R^{11a} і R^{11b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню, галогену, C₁₋₄алкілу, C₁₋₄галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси; і

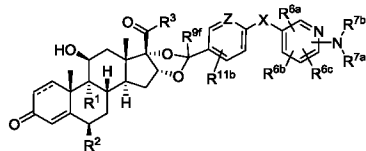
== являє собою одинарний або подвійний зв'язок. В іншому варіанті здійснення R^{7b} являє собою водень. В іншому варіанті здійснення R^{7b} вибраний із групи, що складається з:



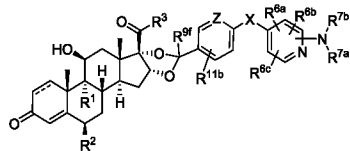
m дорівнює 1, 2, 3, 4, 5 або 6; і

кожний із R^{10a} та R^{10b} незалежно вибраний із групи, що складається з водню та необов'язково заміщеного C₁-галкілу.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою VII-A' або формулою VII-B',



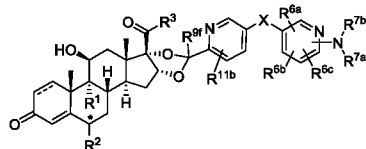
VII-A' або



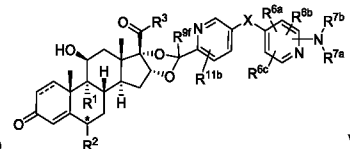
VII-B',

або фармацевтично прийнятна сіль кожної з них, де R¹, R², R³, ==, R^{6a}, R^{6b}, R^{6c}, R^{7a}, R^{7b}, R^{9f}, R^{11b}, X і Z визначені стосовно формули VII-A.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою VII-A'' або формулою VII-B'',



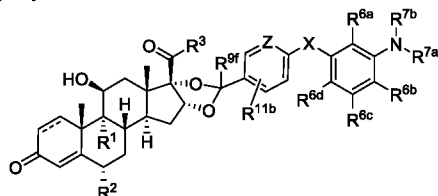
VII-A'' або



VII-B'',

або фармацевтично прийнятна сіль кожної з них, де R¹, R², R³, ==, R^{6a}, R^{6b}, R^{6c}, R^{7a}, R^{7b}, R^{9f}, R^{11b} і X визначені стосовно формули VII-A, і атом вуглецю, позначений за допомогою "*", відповідає або R-ізомеру, або S-ізомеру, якщо R² являє собою галоген або гідроксил. В одному варіанті здійснення атом вуглецю, помічений за допомогою "*", відповідає R-ізомеру. В іншому варіанті здійснення атом вуглецю, помічений за допомогою "*", відповідає S-ізомеру.

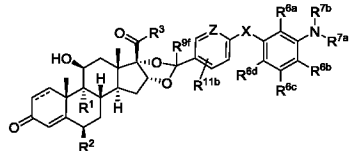
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою VIII,



VIII,

або її фармацевтично прийнятна сіль, де R¹, R², R³, ==, R^{6a}, R^{6b}, R^{6c}, R^{6d}, R^{7a}, R^{7b}, R^{9f}, R^{11b}, X і Z визначені стосовно формули VII.

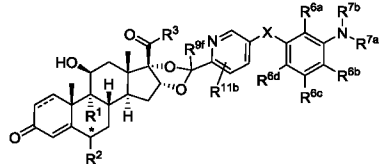
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою VIII',



VIII',

або її фармацевтично прийнятна сіль, де R¹, R², R³, ==, R^{6a}, R^{6b}, R^{6c}, R^{6d}, R^{7a}, R^{7b}, R^{9f}, R^{11b}, X і Z визначені стосовно формули VII.

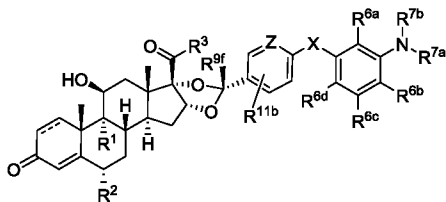
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою VIII'',



VIII'',

або її фармацевтично прийнятна сіль, де R¹, R², R³, ==, R^{6a}, R^{6b}, R^{6c}, R^{6d}, R^{7a}, R^{7b}, R^{9f}, R^{11b} і X визначені стосовно формули VII, і атом вуглецю, позначений за допомогою "*", відповідає або R-ізомеру, або S-ізомеру, якщо R² являє собою галоген або гідроксил. В одному варіанті здійснення атом вуглецю, помічений за допомогою "*", відповідає R-ізомеру. В іншому варіанті здійснення атом вуглецю, помічений за допомогою "*", відповідає S-ізомеру.

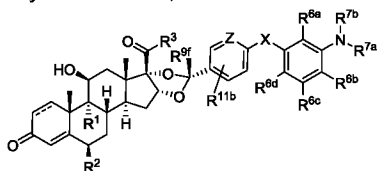
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою VIII-a,



VIII-a,

або її фармацевтично прийнятна сіль, де R^1 , R^2 , R^3 , $\equiv$, R^{6a} , R^{6b} , R^{6c} , R^{6d} , R^{7a} , R^{7b} , R^{9f} , R^{11b} , X і Z визначені стосовно формули VII.

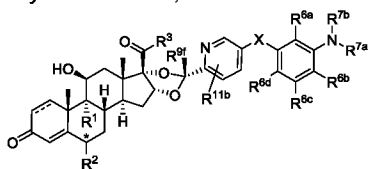
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою VIII-a',



VIII-a',

або її фармацевтично прийнятна сіль, де R^1 , R^2 , R^3 , $\equiv$, R^{6a} , R^{6b} , R^{6c} , R^{6d} , R^{7a} , R^{7b} , R^{9f} , R^{11b} , X і Z визначені стосовно формули VII.

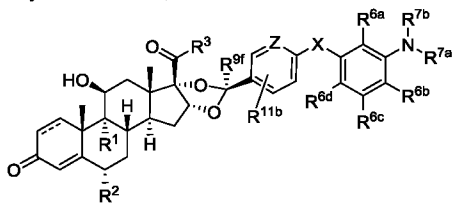
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою VIII-a'',



VIII-a'',

або її фармацевтично прийнятна сіль, де R^1 , R^2 , R^3 , $\equiv$, R^{6a} , R^{6b} , R^{6c} , R^{6d} , R^{7a} , R^{7b} , R^{9f} , R^{11b} і X визначені стосовно формули VII, і атом вуглецю, позначений за допомогою "*", відповідає або R-ізомеру, або S-ізомеру, якщо R^2 являє собою галоген або гідроксил. В одному варіанті здійснення атом вуглецю, помічений за допомогою "*", відповідає R-ізомеру. В іншому варіанті здійснення атом вуглецю, помічений за допомогою "*", відповідає S-ізомеру.

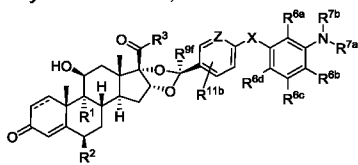
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою VIII-b,



VIII-b,

або її фармацевтично прийнятна сіль, де R^1 , R^2 , R^3 , $\equiv$, R^{6a} , R^{6b} , R^{6c} , R^{6d} , R^{7a} , R^{7b} , R^{9f} , R^{11b} , X і Z визначені стосовно формули VII.

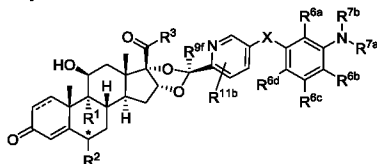
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою VIII-b',



VIII-b',

або її фармацевтично прийнятна сіль, де R^1 , R^2 , R^3 , $\equiv$, R^{6a} , R^{6b} , R^{6c} , R^{6d} , R^{7a} , R^{7b} , R^{9f} , R^{11b} , X і Z визначені стосовно формули VII.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою VIII-b'',

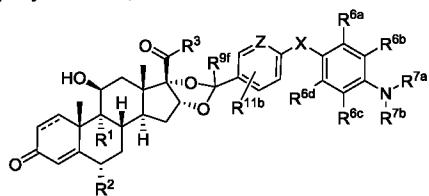


VIII-b'',

або її фармацевтично прийнятна сіль, де R^1 , R^2 , R^3 , $\equiv$, R^{6a} , R^{6b} , R^{6c} , R^{6d} , R^{7a} , R^{7b} , R^{9f} , R^{11b} і X визначені стосовно формули VII, і атом вуглецю, позначений за допомогою "*", відповідає або R-

ізомеру, або S-ізомеру, якщо R² являє собою галоген або гідроксил. В одному варіанті здійснення атом вуглецю, помічений за допомогою "***", відповідає R-ізомеру. В іншому варіанті здійснення атом вуглецю, помічений за допомогою "***", відповідає S-ізомеру.

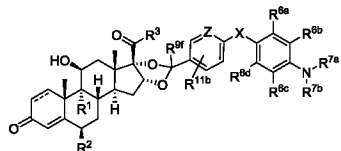
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою IX,



IX,

або її фармацевтично прийнятна сіль, де R¹, R², R³, ==, R^{6a}, R^{6b}, R^{6c}, R^{6d}, R^{7a}, R^{7b}, R^{9f}, R^{11b}, X і Z визначені стосовно формули VII.

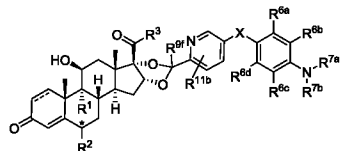
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою IX',



IX',

або її фармацевтично прийнятна сіль, де R¹, R², R³, ==, R^{6a}, R^{6b}, R^{6c}, R^{6d}, R^{7a}, R^{7b}, R^{9f}, R^{11b}, X і Z визначені стосовно формули VII.

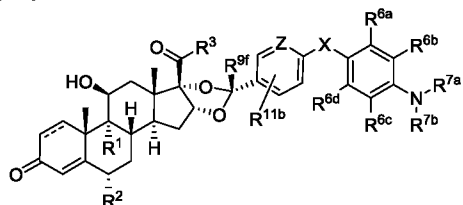
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою IX'',



IX'',

або її фармацевтично прийнятна сіль, де R¹, R², R³, ==, R^{6a}, R^{6b}, R^{6c}, R^{6d}, R^{7a}, R^{7b}, R^{9f}, R^{11b} і X визначені стосовно формули VII, і атом вуглецю, позначений за допомогою "***", відповідає або R-ізомеру, або S-ізомеру, якщо R² являє собою галоген або гідроксил. В одному варіанті здійснення атом вуглецю, помічений за допомогою "***", відповідає R-ізомеру. В іншому варіанті здійснення атом вуглецю, помічений за допомогою "***", відповідає S-ізомеру.

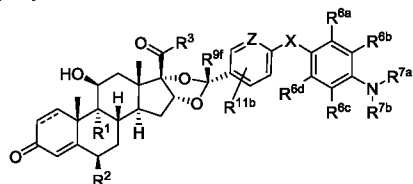
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою IX-a,



IX-a,

або її фармацевтично прийнятна сіль, де R¹, R², R³, ==, R^{6a}, R^{6b}, R^{6c}, R^{6d}, R^{7a}, R^{7b}, R^{9f}, R^{11b}, X і Z визначені стосовно формули VII.

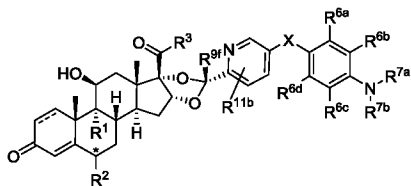
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою IX-a',



IX-a',

або її фармацевтично прийнятна сіль, де R¹, R², R³, ==, R^{6a}, R^{6b}, R^{6c}, R^{6d}, R^{7a}, R^{7b}, R^{9f}, R^{11b}, X і Z визначені стосовно формули VII.

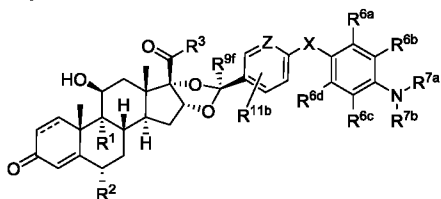
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою IX-a'',



IX-a",

або її фармацевтично прийнятна сіль, де R^1 , R^2 , R^3 , $\equiv$, R^{6a} , R^{6b} , R^{6c} , R^{6d} , R^{7a} , R^{7b} , R^{9f} , R^{11b} і X визначені стосовно формули VII, і атом вуглецю, позначений за допомогою "*", відповідає або R-ізомеру, або S-ізомеру, якщо R^2 являє собою галоген або гідроксил. В одному варіанті здійснення атом вуглецю, помічений за допомогою "*", відповідає R-ізомеру. В іншому варіанті здійснення атом вуглецю, помічений за допомогою "*", відповідає S-ізомеру.

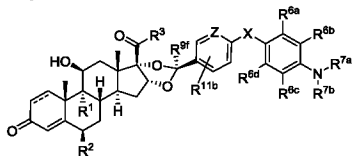
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою IX-b,



IX-b,

або її фармацевтично прийнятна сіль, де R^1 , R^2 , R^3 , $\equiv$, R^{6a} , R^{6b} , R^{6c} , R^{6d} , R^{7a} , R^{7b} , R^{9f} , R^{11b} , X і Z визначені стосовно формули VII.

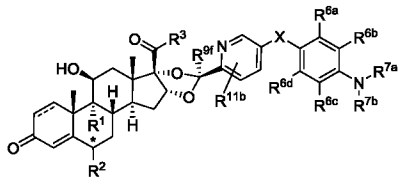
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою IX-b',



IX-b',

або її фармацевтично прийнятна сіль, де R^1 , R^2 , R^3 , $\equiv$, R^{6a} , R^{6b} , R^{6c} , R^{6d} , R^{7a} , R^{7b} , R^{9f} , R^{11b} , X і Z визначені стосовно формули VII.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою IX-b",



IX-b",

або її фармацевтично прийнятна сіль, де R^1 , R^2 , R^3 , $\equiv$, R^{6a} , R^{6b} , R^{6c} , R^{6d} , R^{7a} , R^{7b} , R^{9f} , R^{11b} і X визначені стосовно формули VII, і атом вуглецю, позначений за допомогою "*", відповідає або R-ізомеру, або S-ізомеру, якщо R^2 являє собою галоген або гідроксил. В одному варіанті здійснення атом вуглецю, помічений за допомогою "*", відповідає R-ізомеру. В іншому варіанті здійснення атом вуглецю, помічений за допомогою "*", відповідає S-ізомеру.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується будь-якою з формул VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a або IX-b або будь-якою з формул VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' або IX-b'', або її фармацевтично прийнятна сіль, де $\equiv$ являє собою одинарний або подвійний зв'язок. В іншому варіанті здійснення $\equiv$ являє собою подвійний зв'язок.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується будь-якою з формул VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a або IX-b або будь-якою з формул VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' або IX-b'', або її фармацевтично прийнятна сіль, де R^1 вибраний із групи, що складається з водню та фтору.

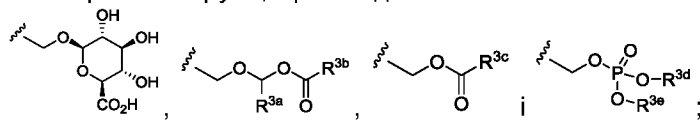
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується будь-якою з формул VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a або IX-b або будь-якою з формул VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' або IX-b'', або її фармацевтично прийнятна сіль, де R^2 вибраний із групи, що складається з водню та фтору.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується будь-якою з формул VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a або IX-b або будь-якою з формул VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' або IX-b'', або її фармацевтично прийнятна сіль, де R^2 вибраний із групи, що складається з водню та фтору.

фармацевтично прийнятна сіль, де R^3 вибраний із групи, що складається з $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{Cl}$, $-\text{SCH}_2\text{Cl}$, $-\text{SCH}_2\text{F}$ та $-\text{OH}$.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується будь-якою з формул VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a або IX-b або будь-якою з формул VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' або IX-b'', або її фармацевтично прийнятна сіль, де:

R^3 вибраний із групи, що складається з:



R^{3a} вибраний із групи, що складається з водню та метилу;

R^{3b} вибраний із групи, що складається з метилу, етилу, ізопропілу, ізобутилу, метокси, етокси, ізопропокси та ізобутокси;

R^{3c} вибраний із групи, що складається з водню, метилу, етилу, $-\text{CH}_2\text{OH}$, метокси, етокси та ізопропокси;

R^{3d} і R^{3e} незалежно вибрані з групи, що складається з водню, метилу та етилу.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується будь-якою з формул VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a або IX-b або будь-якою з формул VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' або IX-b'', або її фармацевтично прийнятна сіль, де R^5 і R^{8a} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та метилу.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується будь-якою з формул VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a або IX-b або будь-якою з формул VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a' або IX-b', або її фармацевтично прийнятна сіль, де Z являє собою $=\text{CH}-$.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується будь-якою з формул VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a або IX-b або будь-якою з формул VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', або її фармацевтично прийнятна сіль, де Z являє собою $=\text{N}-$.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується будь-якою з формул VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a або IX-b або будь-якою з формул VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' або IX-b'', або її фармацевтично прийнятна сіль, де R^{7a} вибраний із групи, що складається з водню та метилу. В іншому варіанті здійснення R^{7a} являє собою водень. В іншому варіанті здійснення R^{7a} являє собою метил.

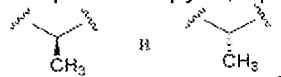
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується будь-якою з формул VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a або IX-b або будь-якою з формул VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' або IX-b'', або її фармацевтично прийнятна сіль, де:

X вибраний із групи, що складається з $-(\text{CR}^{4a}\text{R}^{4b})_t-$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$ та $-\text{N}(\text{H})\text{CH}(\text{R}^{8a})-$;

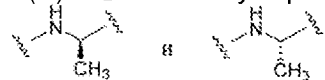
t дорівнює 1; i

R^{4a} та R^{4b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та метилу; або

R^{4a} та R^{4b} , взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють 3-членний циклоалкіл. В іншому варіанті здійснення X являє собою $-\text{CH}_2-$. В іншому варіанті здійснення X вибраний із групи, що складається з:



В іншому варіанті здійснення X являє собою $-\text{O}-$. В іншому варіанті здійснення X являє собою $-\text{S}-$. В іншому варіанті здійснення X являє собою $-\text{CH}_2\text{S}-$. В іншому варіанті здійснення X являє собою $-\text{N}(\text{H})\text{CH}_2-$. В іншому варіанті здійснення X вибраний із групи, що складається з:



В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується будь-якою з формул VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a або IX-b або будь-якою з формул VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' або IX-b'', або її фармацевтично прийнятна сіль, де R^{11b} являє собою водень.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується будь-якою з формул VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a або IX-b або будь-якою з формул VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' або IX-b'', або її фармацевтично прийнятна сіль, де R^{11b} являє собою водень.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується будь-якою з формул VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a або IX-b або будь-якою з формул VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' або IX-b'', або її фармацевтично прийнятна сіль, де R^{7a} та R^{7b} являють собою водень.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується будь-якою з формул VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a або IX-b або будь-якою з формул VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' або IX-b'', або її фармацевтично прийнятна сіль, де R^{9f} являє собою водень.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується будь-якою з формул VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a або IX-b або будь-якою з формул VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' або IX-b'', або її фармацевтично прийнятна сіль, де R^{11a} вибраний із групи, що складається з водню та -ОН.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується будь-якою з формул VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a або IX-b або будь-якою з формул VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' або IX-b'', або її фармацевтично прийнятна сіль, де R^{7b} являє собою R^{7b-1}. В іншому варіанті здійснення R^{10a} та R^{10b} незалежно являють собою необов'язково заміщений C₁₋₆алкіл. В іншому варіанті здійснення R^{10a} та R^{10b} незалежно являють собою необов'язково заміщений C₁₋₄алкіл.

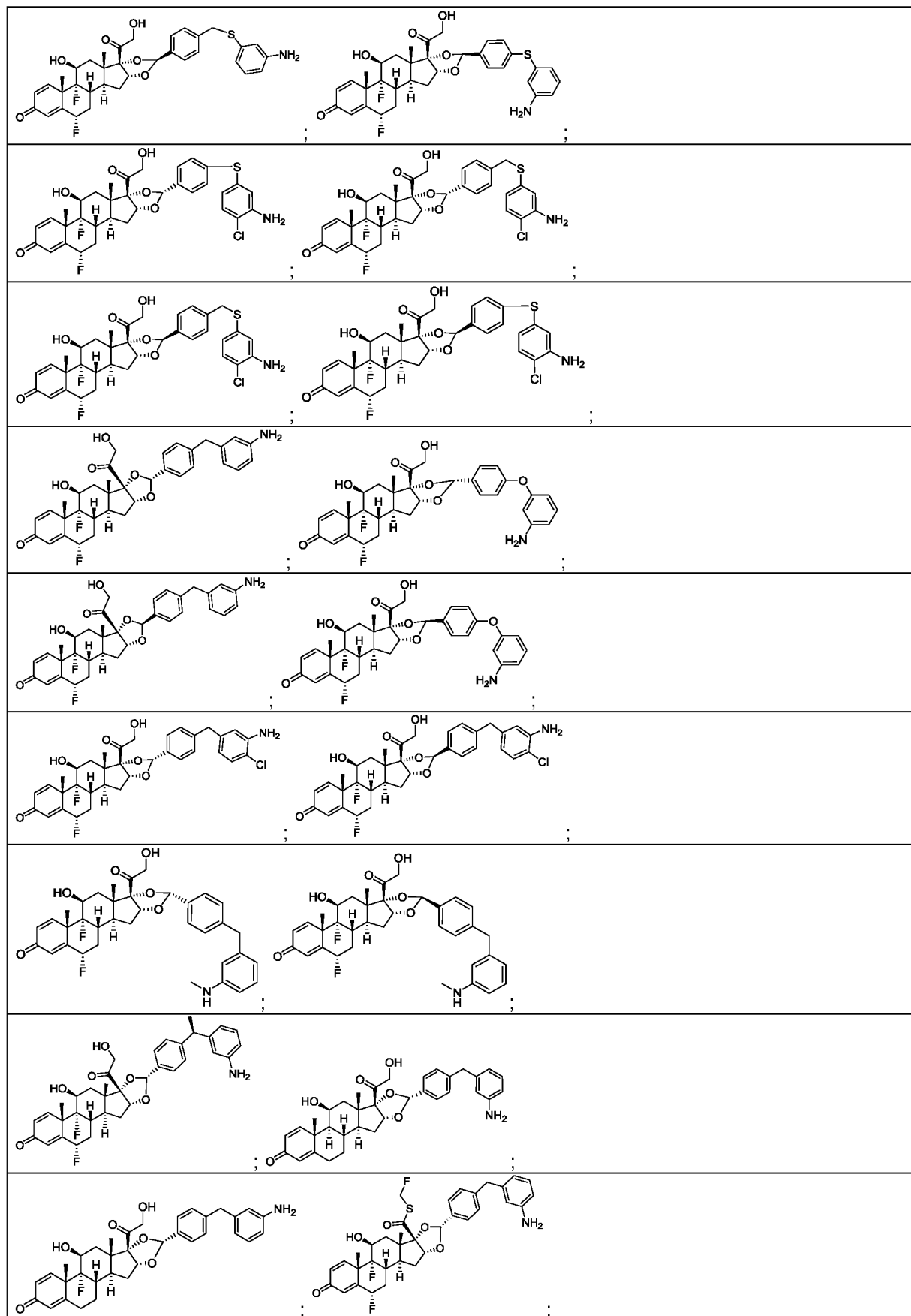
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується будь-якою з формул VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a або IX-b або будь-якою з формул VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' або IX-b'', або її фармацевтично прийнятна сіль, де R^{7b} являє собою R^{7b-3} . В іншому варіанті здійснення m дорівнює 2 або 3, і кожний із R^{10a} та R^{10b} являє собою необов'язково заміщений C_{1-6} алкіл. В іншому варіанті здійснення m дорівнює 2. В іншому варіанті здійснення R^{10a} та R^{10b} незалежно являють собою необов'язково заміщений C_{1-4} алкіл.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою VIII, або її фармацевтично прийнятна сіль, яка являє собою будь-яку зі сполук, представлених у таблиці VI.

The image displays two chemical structures, labeled 1 and 2, which are steroid derivatives. Both structures feature a complex polycyclic steroid nucleus with various functional groups and stereochemical configurations indicated by wedges and dashes.

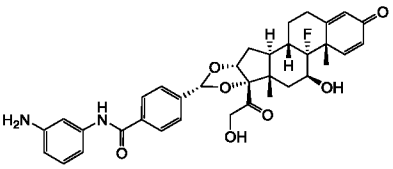
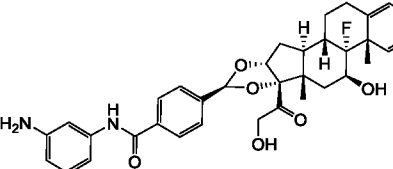
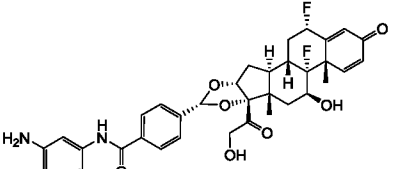
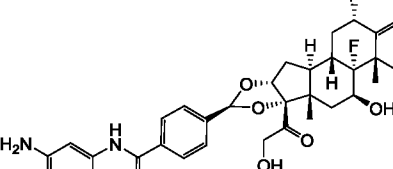
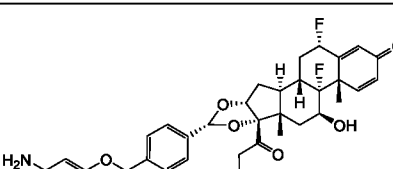
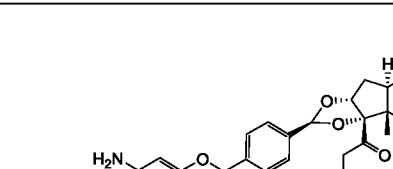
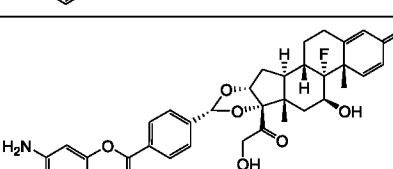
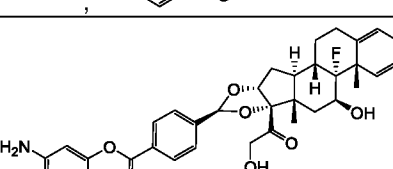
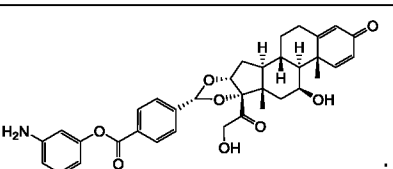
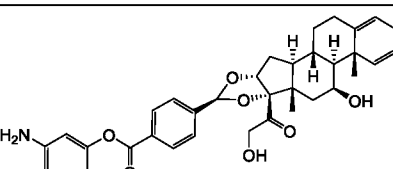
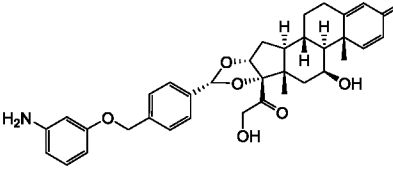
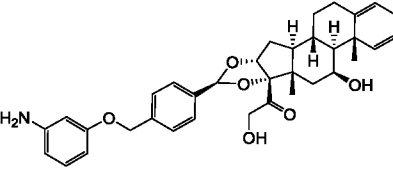
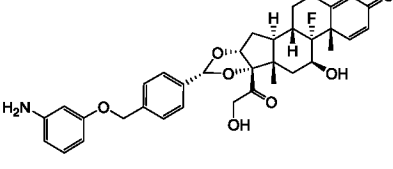
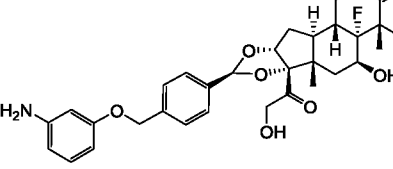
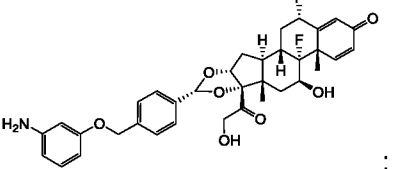
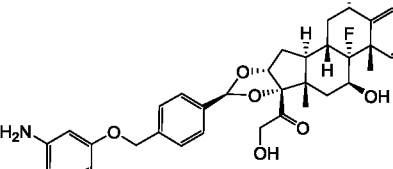
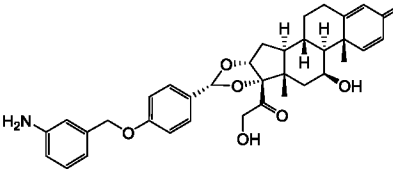
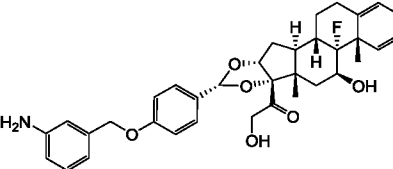
Structure 1 (left) is a steroid with a ketone group at C-3, a hydroxyl group at C-14, and a fluorine atom at C-20. It features a side chain at C-17 consisting of a propyl ester group linked to a 4-aminophenyl group via a thioether bridge. The stereochemistry is defined by wedges at C-13, C-14, and C-17, and dashes at C-8, C-9, C-10, C-19, and C-20.

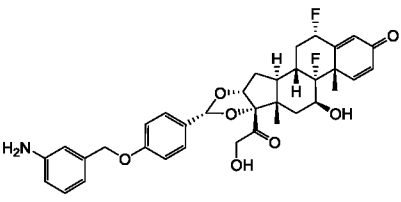
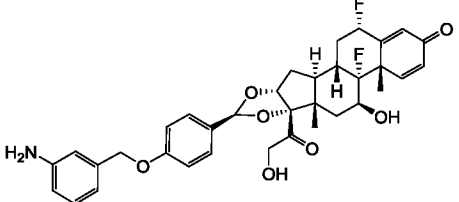
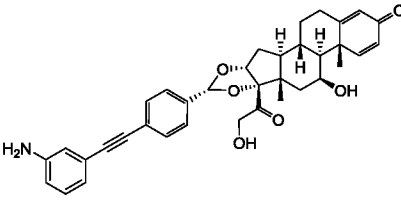
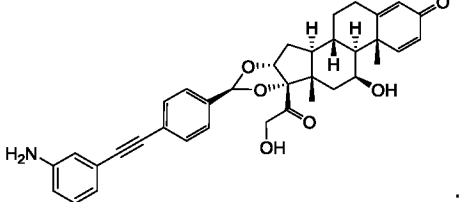
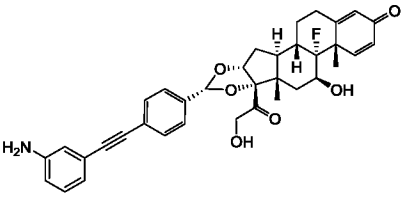
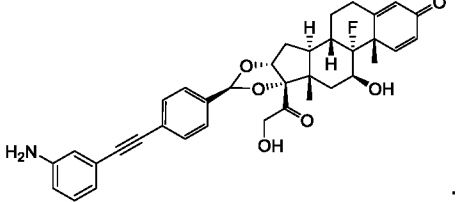
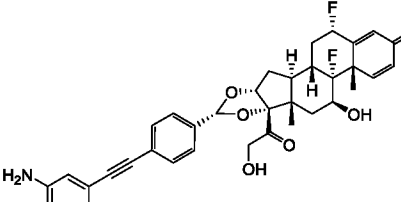
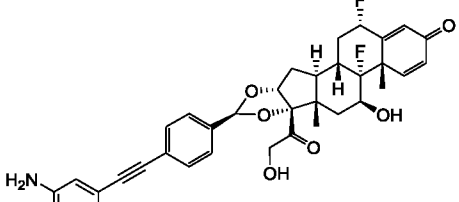
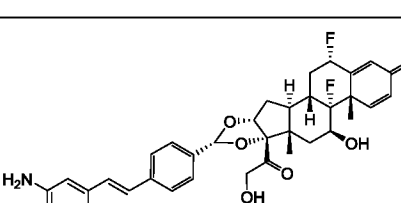
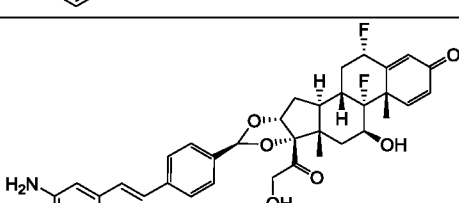
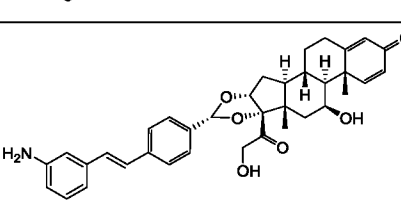
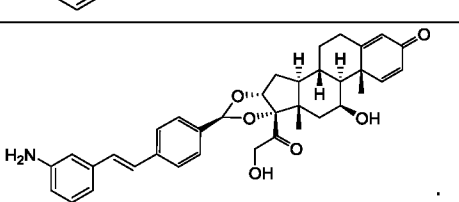
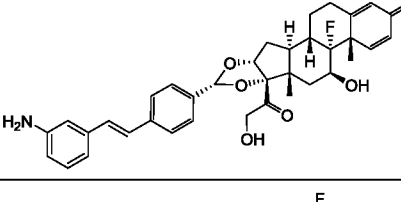
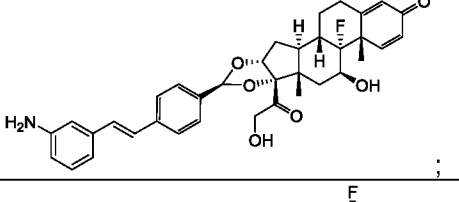
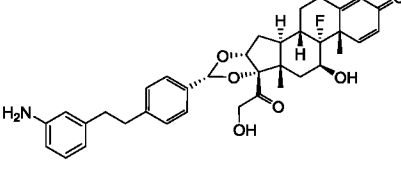
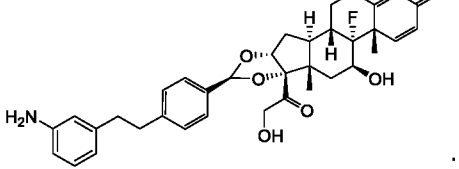
Structure 2 (right) is a steroid with a ketone group at C-3, a hydroxyl group at C-14, and a fluorine atom at C-20. It features a side chain at C-17 consisting of a propyl ester group linked to a 4-aminophenyl group via a thioether bridge. The stereochemistry is defined by wedges at C-13, C-14, and C-17, and dashes at C-8, C-9, C-10, C-19, and C-20.

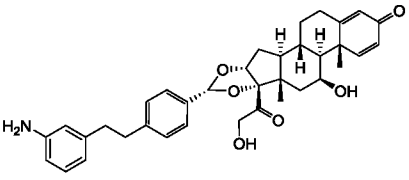
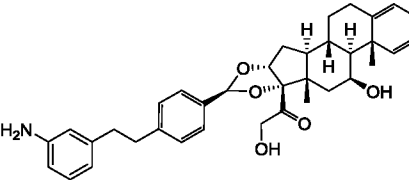
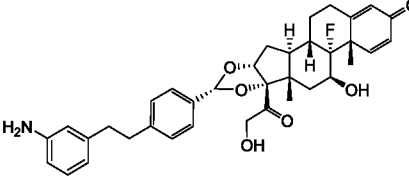
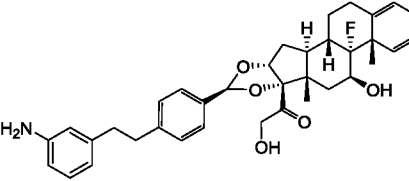
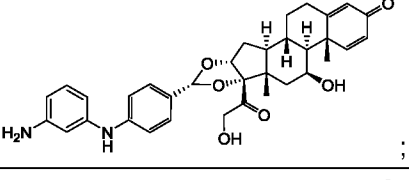
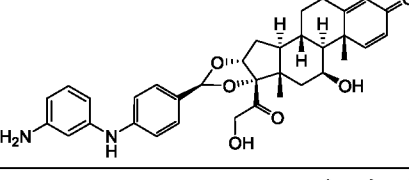
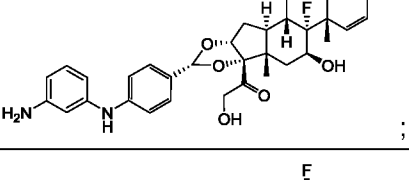
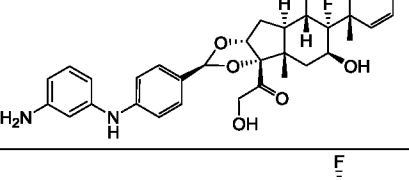
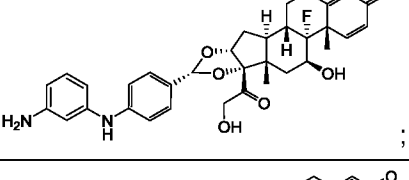
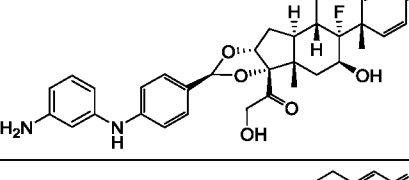
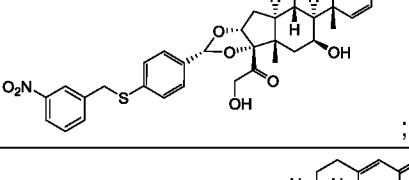
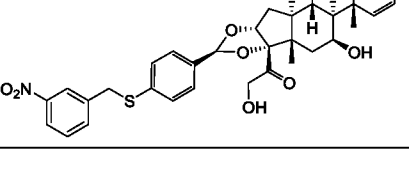
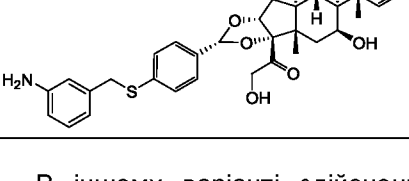


В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою VIII, або її фармацевтично прийнятна сіль, яка являє собою будь-яку зі сполук, представлених у таблиці VI-A.

Таблиця VI-A

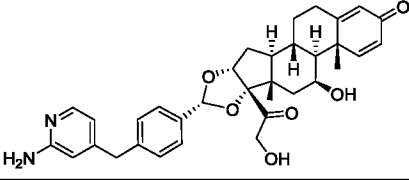
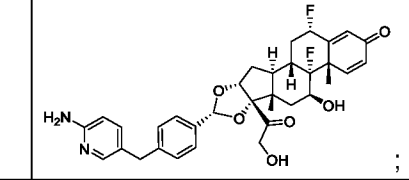
	
	
	
	
	
	
	
	
	

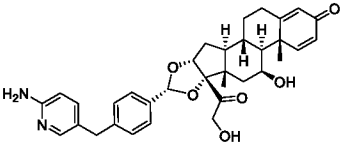
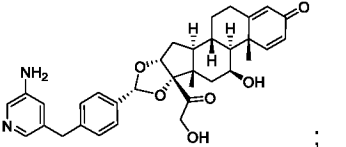
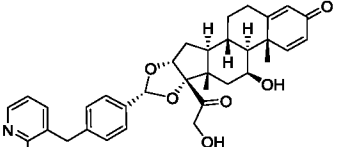
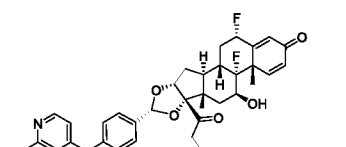
 ;	 ;
 ;	 ;
 ;	 ;
 ;	 ;
 ;	 ;
 ;	 ;
 ;	 ;
 ;	 ;

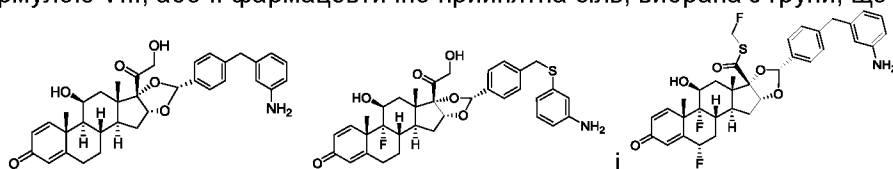
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою VII-A або формулою VII-B, або її фармацевтично прийнятна сіль, яка являє собою будь-яку зі сполук, представлених у таблиці VI-B.

Таблиця VI-B

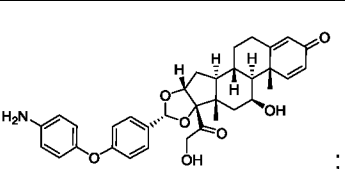
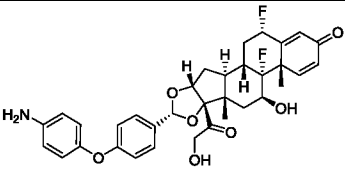
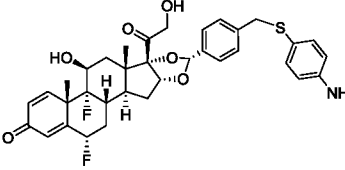
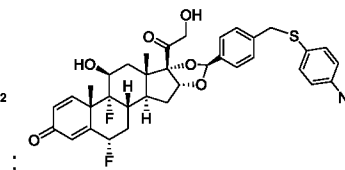
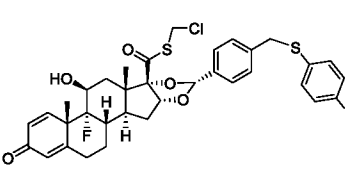
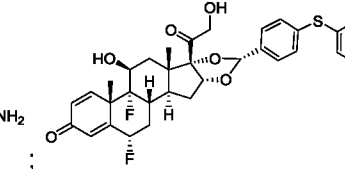
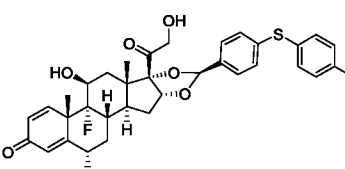
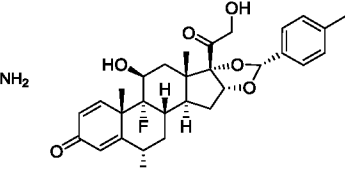
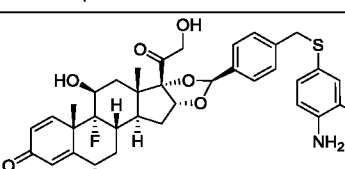
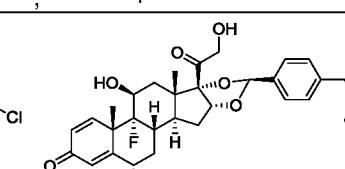
	
	

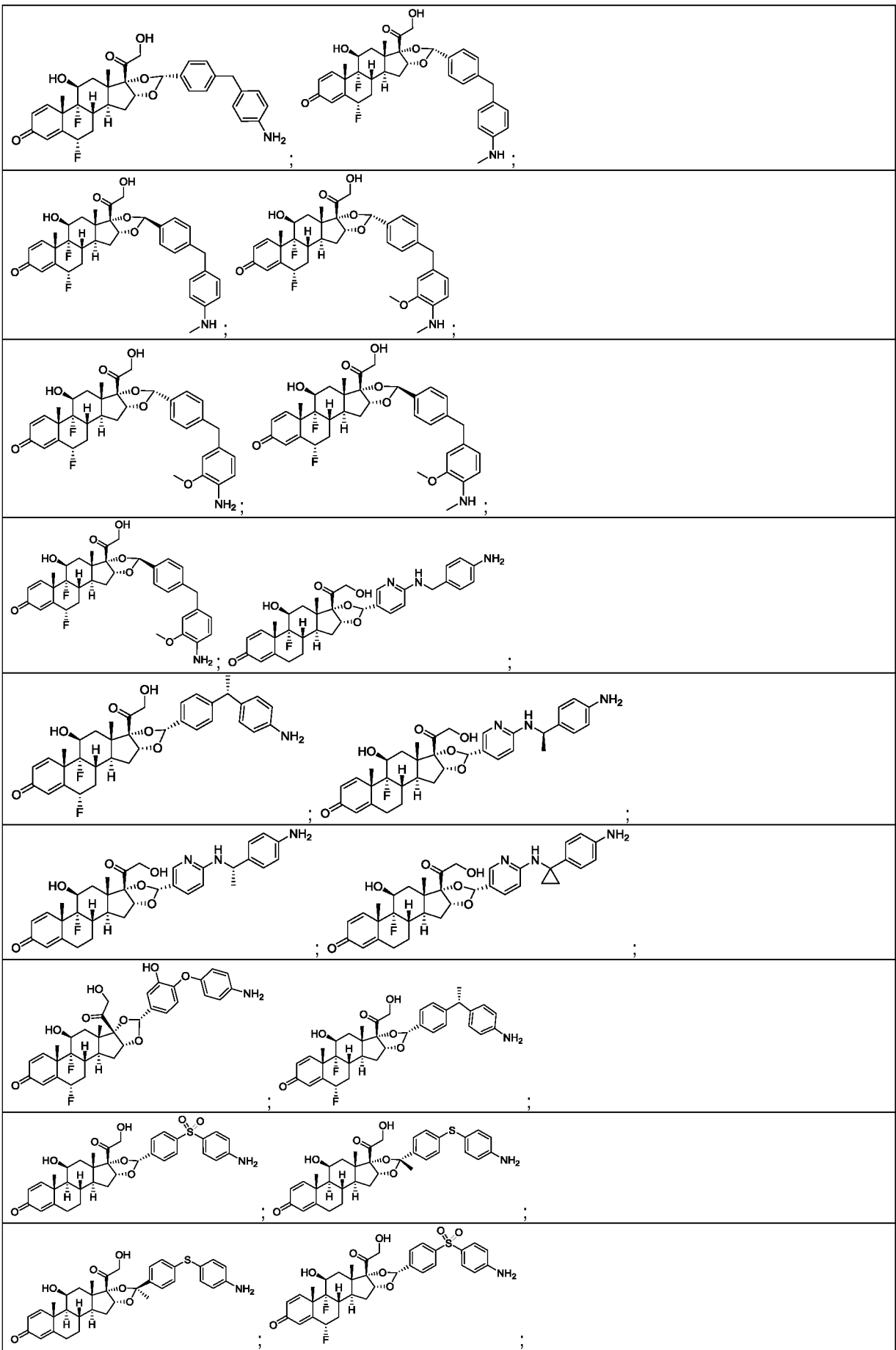
В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою VIII, або її фармацевтично прийнятна сіль, вибрана з групи, що складається з:

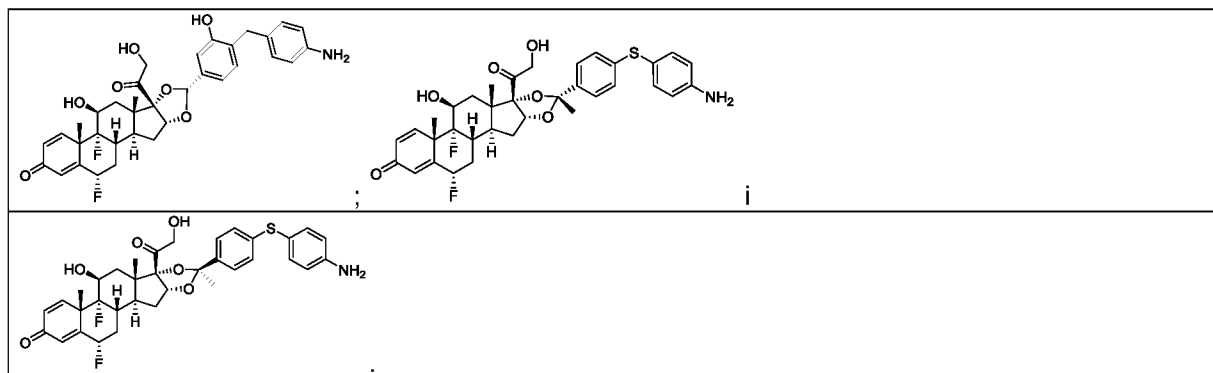


В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою IX, або її фармацевтично прийнятна сіль, яка являє собою будь-яку зі сполук, представлених у таблиці VII.

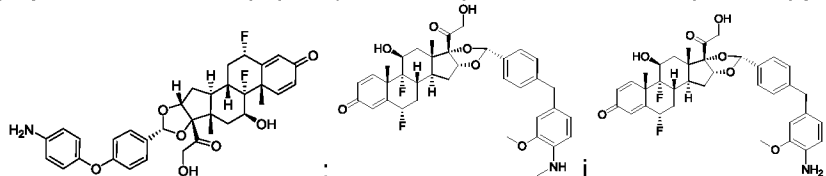
Таблиця VII

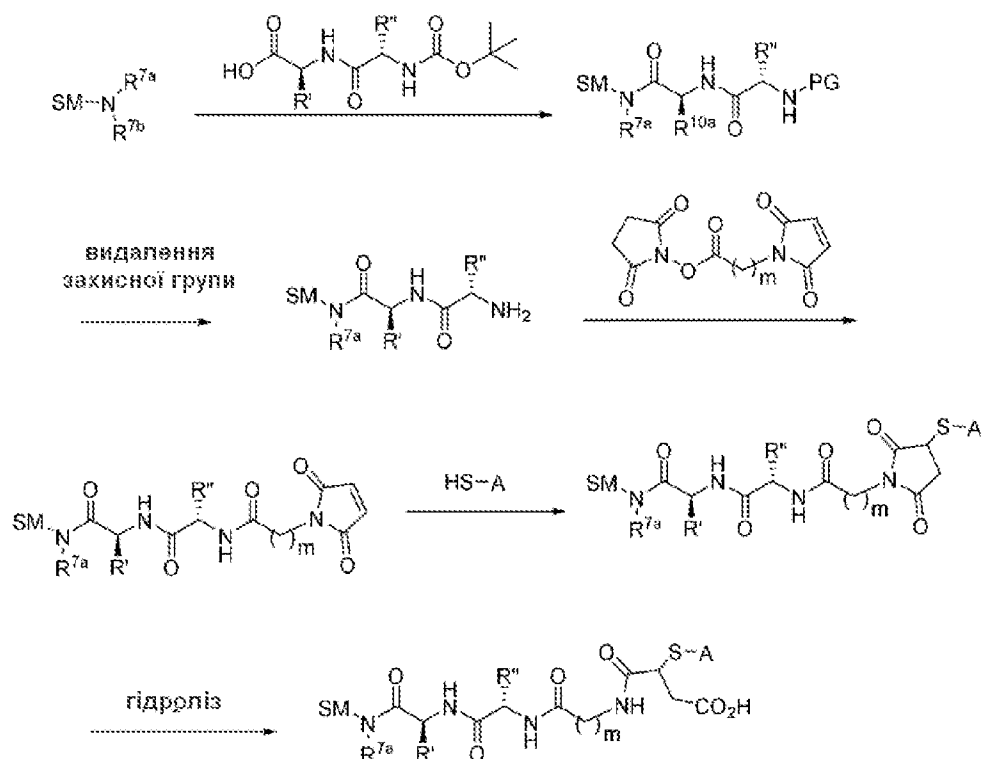




В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою IX-a, або її фармацевтично прийнятна сіль, вибрана з групи, що складається з:

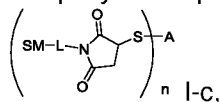


V. Способи одержання імунокон'югатів і проміжні сполуки, які застосовуються в синтезі
Загальний синтез імунокон'югатів за даним винаходом описаний на загальній схемі 1.
Загальна схема 1



На загальній схемі 1 SM-N(R^{7a})(R^{7b}) являє собою глюкокортикостероїд, що містить групу -NH(R^{7a}) (де R^{7a} являє собою водень або C₁₋₄алкіл), або сполука, що характеризується будь-якою з формул VII, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a або IX-b або будь-якою з формул VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' або IX-b'', або сполука, представлена в таблиці 9; HS-A являє собою антитіло або антигензв'язувальний фрагмент з обмеженою кількістю відновлених міжланцюгових дисульфідних зв'язків, R' і R'' незалежно являють собою будь-який бічний ланцюг, що зустрічається в природі, наприклад, метил, ізопропіл, та/або штучну амінокислоту, наприклад -CH₂CH₂CH₂N(H)C(=O)NH₂, m дорівнює 1, 2, 3, 4, 5 або 6, і PG являє собою захисну групу, наприклад BOC. З метою ілюстрації на загальній схемі 1 продемонстрована лише одна сульфгідрильна група, яка є доступною для кон'югації в антитілі або антигензв'язувальному фрагменті.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкритий спосіб одержання сполуки, що характеризується формулою I-c,



або її фармацевтично прийнятної солі, де:

A являє собою A¹ або A²;

A¹ являє собою білок, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа;

A² являє собою білок;

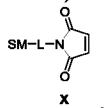
L являє собою лінкер;

n становить 1-10; і

SM являє собою радикал на основі глюкокортикостероїду, наприклад сполуку, що характеризується будь-якою з формул II-a – q;

при цьому спосіб включає:

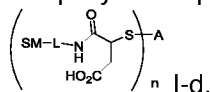
а) кон'югацію сполуки, що характеризується формулою X,



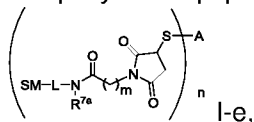
з білком, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа, або з білком і

б) виділення сполуки, що характеризується формулою I-c, або її фармацевтично прийнятної солі.

В іншому варіанті здійснення спосіб додатково передбачає здійснення гідролізу сполуки, що характеризується формулою I-c, з одержанням сполуки, що характеризується формулою I-d:



В іншому варіанті здійснення в даному документі розкритий спосіб одержання сполуки, що характеризується формулою I-e,



або її фармацевтично прийнятної солі, де:

A являє собою A¹ або A²;

A¹ являє собою білок, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа;

A² являє собою білок;

L являє собою лінкер;

R^{7a} вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу;

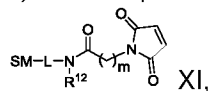
n становить 1-10;

m дорівнює 1, 2, 3, 4, 5 або 6; і

SM являє собою радикал на основі глюкокортикостероїду, наприклад сполуки, що характеризується будь-якою з формул II-a-e або I-q;

при цьому спосіб включає:

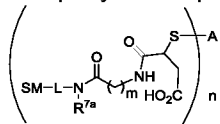
а) кон'югацію сполуки, що характеризується формулою XI,



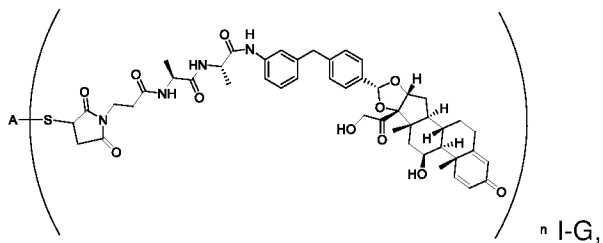
з білком, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа, або білком і

б) виділення сполуки, що характеризується формулою I-e, або її фармацевтично прийнятної солі.

В іншому варіанті здійснення спосіб додатково передбачає здійснення гідролізу сполуки, що характеризується формулою I-e, з одержанням сполуки, що характеризується формулою I-f:



В іншому варіанті здійснення в даному документі розкритий спосіб одержання сполуки, що характеризується формулою I-G,



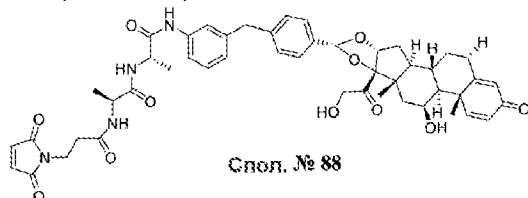
де:

A являє собою адалімумаб; і

n становить 1-10,

при цьому спосіб включає:

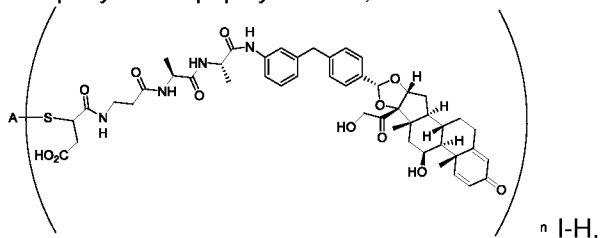
а) кон'югацію спол. № 88,



з частково відновленим адалімумабом і

б) виділення, наприклад, за допомогою хроматографії, сполуки, що характеризується формулою I-G.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкритий спосіб одержання сполуки, що характеризується формулою I-H,



де:

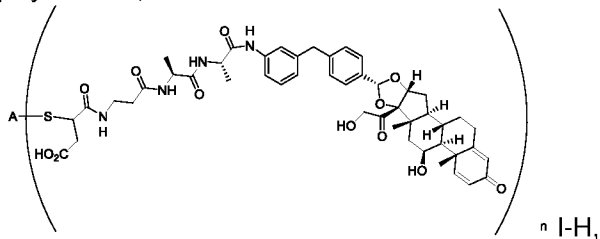
A являє собою адалімумаб; і

n становить 1-10,

при цьому спосіб передбачає здійснення гідролізу сполуки, що характеризується формулою I-G, з одержанням сполуки формули I-H.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкритий спосіб одержання сполуки, що характеризується формулою I-G або формулою I-H, де n становить 1-7. В іншому варіанті здійснення n становить 1-5. В іншому варіанті здійснення n становить 2-4. В іншому варіанті здійснення n дорівнює 1. В іншому варіанті здійснення n дорівнює 1,5. В іншому варіанті здійснення n дорівнює 2. В іншому варіанті здійснення n дорівнює 2,5. В іншому варіанті здійснення n дорівнює 3. В іншому варіанті здійснення n дорівнює 3,5. В іншому варіанті здійснення n дорівнює 4. В іншому варіанті здійснення n дорівнює 4,5. В іншому варіанті здійснення n дорівнює 5.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-H,



де:

A являє собою адалімумаб; і

n становить 1-10.

В іншому варіанті здійснення в даному документі розкрита сполука, що характеризується формулою I-H, де n становить 1-7. В іншому варіанті здійснення n становить 1-5. В іншому варіанті здійснення n становить 2-4. В іншому варіанті здійснення n дорівнює 1. В іншому варіанті здійснення n дорівнює 1,5. В іншому варіанті здійснення n дорівнює 2. В іншому варіанті здійснення n дорівнює 2,5.

В іншому варіанті здійснення п дорівнює 3. В іншому варіанті здійснення п дорівнює 3,5. В іншому варіанті здійснення п дорівнює 4. В іншому варіанті здійснення п дорівнює 4,5. В іншому варіанті здійснення п дорівнює 5. В іншому варіанті здійснення п дорівнює 5,5. В іншому варіанті здійснення п дорівнює 6. В іншому варіанті здійснення п дорівнює 6,5. В іншому варіанті здійснення п дорівнює 7. В іншому варіанті здійснення п дорівнює 7,5. В іншому варіанті здійснення п дорівнює 8.

Згідно з даним винаходом, агоністи глюкокортикоїдних рецепторів можуть бути зв'язані з антитілом, його антигензв'язувальним фрагментом або білками, що пригнічують активність TNF-альфа, за допомогою будь-якого способу і в будь-якому положенні, яке не перешкоджає зв'язуванню антитіла, його антигензв'язувального фрагмента або білка, що пригнічує активність TNF-альфа, з антигеном (наприклад, TNF-альфа) або не обмежує активність агоніста глюкокортикоїдних рецепторів. Способи отримання такого зв'язку описані, наприклад, у Panowski et al., mAbs 6: 34-45 (2014), Jain et al., Pharm. Res. 32: 3526-3540 (2015), Mack et al., Seminars in Oncology 41: 637-652 (2014), у публікації заявки на патент США № 2008/0305044 і в публікації заявки на патент США № 2011/0097322, кожна з яких включена в даний документ за допомогою посилання в їх повному обсязі.

Агоністи глюкокортикоїдних рецепторів можуть бути зв'язані з антитілами, їхніми антигензв'язувальними фрагментами або білками, що пригнічують активність TNF-альфа, за допомогою природної амінокислоти, наприклад амінокислоти, яка має бічний ланцюг з нуклеофільною групою.

Наприклад, агоніст глюкокортикоїдних рецепторів може бути зв'язаний із залишком лізину. Способи кон'югації за допомогою лізину є відомими. Такі способи включають двостадійний спосіб, в якому лінкер приєднують до антитіла, його антигензв'язувального фрагмента або білка, що пригнічує активність TNF-альфа, у першій хімічній реакції, а потім лінкер вводять в реакцію з агоністом глюкокортикоїдних рецепторів в другій хімічній реакції. В іншому способі передбачена одностадійна реакція із завчасно утвореним комплексом лінкер-агоніст глюкокортикоїдних рецепторів з утворенням кон'югату, який містить агоніст глюкокортикоїдних рецепторів, зв'язаний з антитілом, його антигензв'язувальним фрагментом або білком, що пригнічує активність TNF-альфа.

Агоніст глюкокортикоїдних рецепторів також може бути зв'язаний із залишком цистеїну. Способи кон'югації із застосуванням цистеїну є відомими. Антитіла до IgG1 містять чотири міжланцюгові дисульфідні зв'язки, і кон'югація за допомогою цистеїну може відбуватися після того, як відновлення цих зв'язків забезпечує утворення сульфгідрильних груп, доступних для кон'югації.

Агоністи глюкокортикоїдних рецепторів можуть бути зв'язані з антитілом, його антигензв'язувальним фрагментом або білками, що пригнічують активність TNF-альфа, за допомогою сайт-специфічної кон'югації.

Один спосіб сайт-специфічної кон'югації являє собою сайт-специфічну кон'югацію з використанням цистеїну. Приклад даного способу описаний в літературі Junutula et al., Nat. Biotechnol 26: 925-935 (2008); див. також Junutula et al., J. Immunol. Methods 332: 41-52 (2008), кожний із яких включений в даний документ за допомогою посилання в його повному обсязі. У випадку застосування даного способу антитіла, їхні антигензв'язувальні фрагменти або білки, що пригнічують активність TNF-альфа, можуть бути сконструйовані з додатковими аналогами цистеїну, які забезпечують кон'югацію реакційноздатних тиольних груп з агоністом глюкокортикоїдних рецепторів. В таких публікаціях також надаються рекомендації щодо вибору реакційноздатних аналогів цистеїну, які не перешкоджають зв'язуванню антигена.

Інший спосіб сайт-специфічної кон'югації передбачає застосування селеноцистеїну. Селеноцистеїн подібний до цистеїну, але містить атом селену, що має більшу реакційну здатність, замість атома сірки в цистеїні. Можна застосовувати умови, за яких селеноцистеїни селективно активуються. Дана методика проілюстрована у джерелі Hofer et al., Biochemistry 48: 12047-12057 (2009), яке включене в даний документ за допомогою посилання в його повному обсязі.

Інший спосіб сайт-специфічної кон'югації передбачає застосування амінокислот, що не зустрічаються в природі, наприклад, ацетилфенілаланіну (pAcPhe) або пара-азидофенілаланіну (pAF). Дана методика проілюстрована в джерелах Wang et al. Proc. Natl. Acad. Sci. 100: 56-61 (2003), Axup et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 109:16101-16106 (2012) і Kern et al., JACS 138: 1430-1445 (2016), кожне з яких включене в даний документ за допомогою посилання в його повному обсязі.

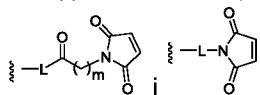
Інший спосіб сайт-специфічної кон'югації передбачає застосування ферментативних підходів, наприклад, із застосуванням глікотрансфераз або трансглютаміназ. Мутантні глікотрансферази можна застосовувати для приєднання хімічно активного фрагмента цукру до сайту глікозилування на антитілі, його антигензв'язувальному фрагменті або білку, що пригнічує активність TNF-альфа. Антитіла до людського IgG містять сайт N-глікозилування по залишку Asn-297 Fc-фрагмента. Глікани, приєднані по даному залишку, можуть бути дегалктозилувані таким чином, що мутантна глікотрансфераза здатна до переносу до них. Дана методика проілюстрована у джерелі Boeggeman et al., Bioconjug. Chem. 20: 1228-1236 (2009), яке включене в даний документ за допомогою посилання в його повному обсязі. Трансглютамінази, наприклад одержані зі *Streptovorticillium mobaranse*, розпізнають глутамінову мітку, наприклад LLQG, яка може бути вбудована в білок, що пригнічує

активність TNF-альфа. Дана методика проілюстрована у джерелі Jeger et al., Angew Chem. Int. Ed. Engl. 49: 9995-9997 (2010), яке включене в даний документ за допомогою посилання в його повному обсязі.

Також можна застосовувати С-кінцеве приєднання за допомогою лігування експресованого білка. Наприклад, можна застосовувати інтеїн-опосередковане утворення С-кінцевого тіоестеру для хемоселективного лігування з білком, що пригнічує активність TNF-альфа, який містить пептид із N-кінцевим цистеїном. Дана методика проілюстрована у джерелі Chiang et al., J. Am. Chem. Soc. 136: 3370-3373 (2014), яке включене в даний документ за допомогою посилання в його повному обсязі.

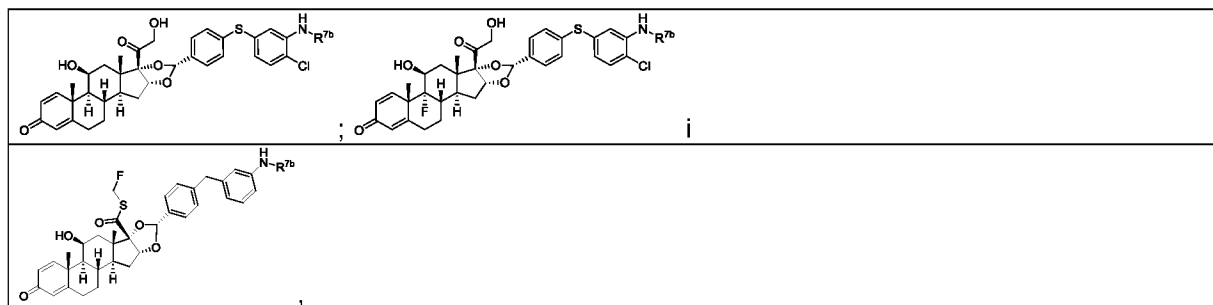
Також у даному документі представлені проміжні сполуки, які застосовуються в синтезі, наприклад сполуки, що характеризуються формулами X і XI, придатні для одержання імунокон'югатів.

В одному варіанті здійснення розкрита в даному документі проміжна сполука, яка застосовується в синтезі, являє собою сполуку, що характеризується будь-якою з формул VII, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a або IX-b або будь-якою з формул VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' або IX-b'', або її фармацевтично прийнятну сіль, де R^{7b} вибраний із групи, що складається з -L-H, -L-PG,

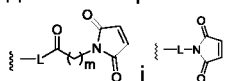


В іншому варіанті здійснення розкрита в даному документі проміжна сполука, яка застосовується в синтезі, являє собою сполуку, що характеризується формулою VIII, або її фармацевтично прийнятну сіль, яка являє собою будь-яку одну або декілька зі сполук, представлених у таблиці VIII.

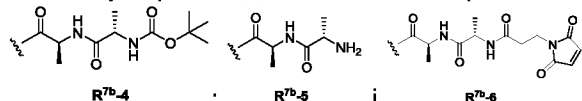
Таблиця VIII



де R^{7b} вибраний із групи, що складається з -L-H, -L-PG,

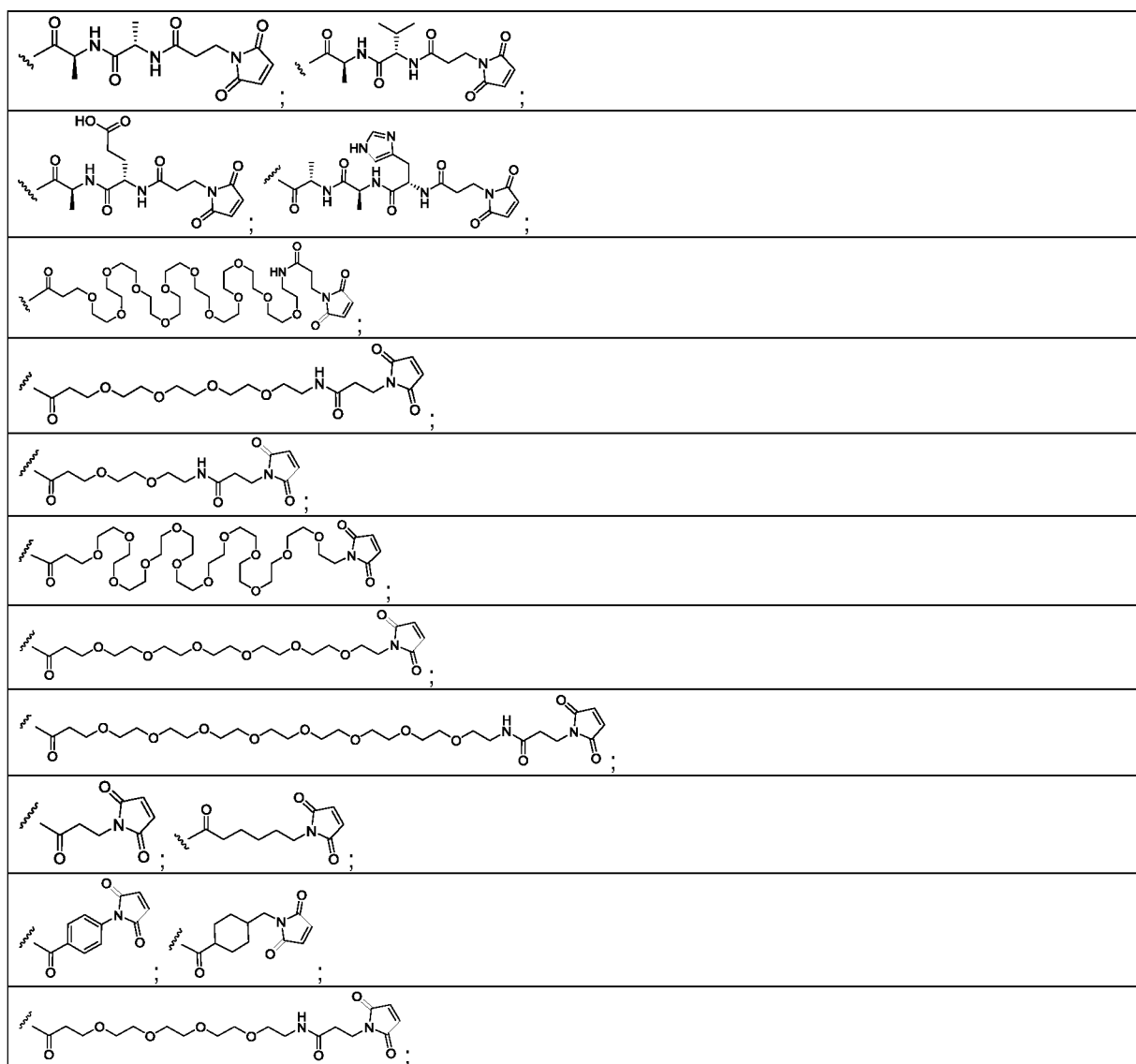


В іншому варіанті здійснення R^{7b} вибраний із групи, що складається з:



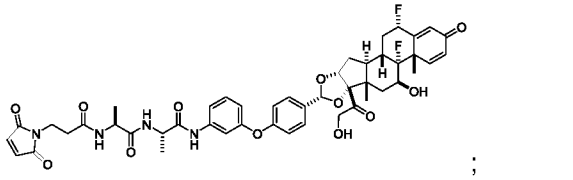
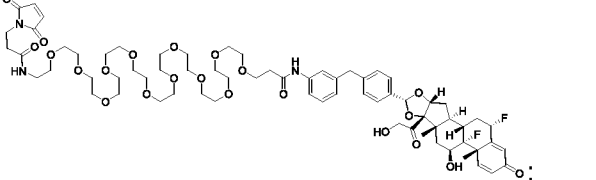
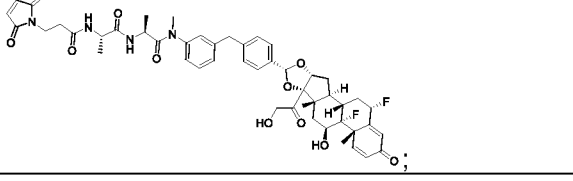
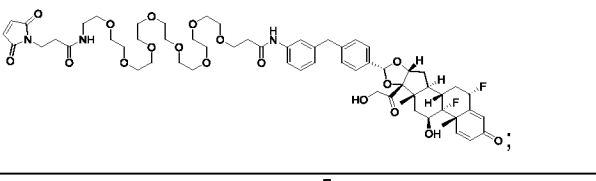
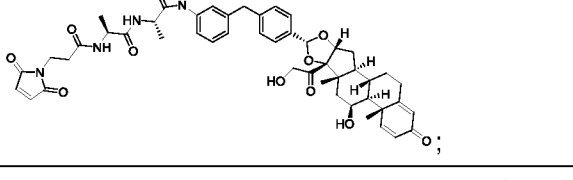
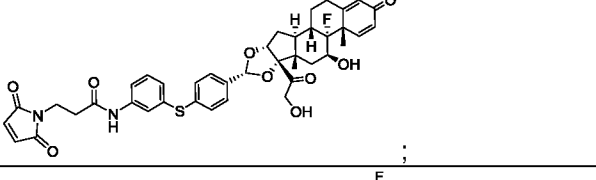
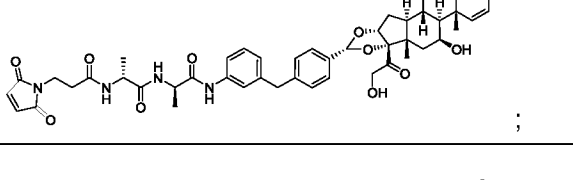
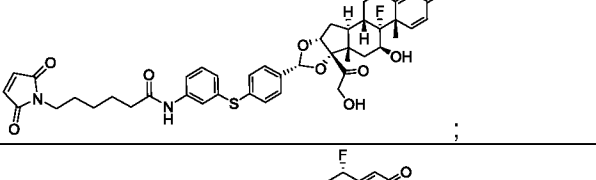
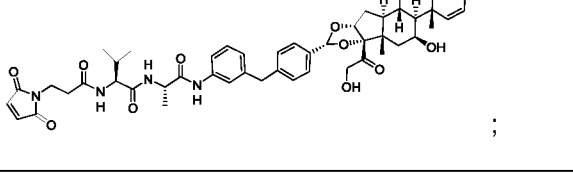
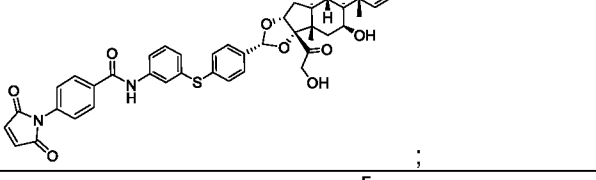
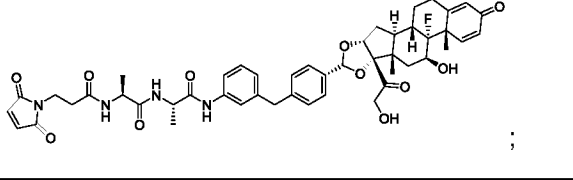
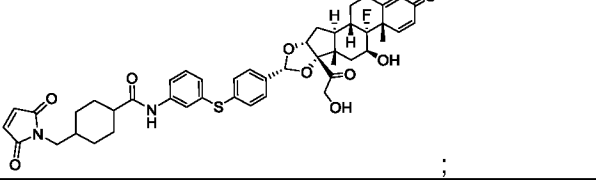
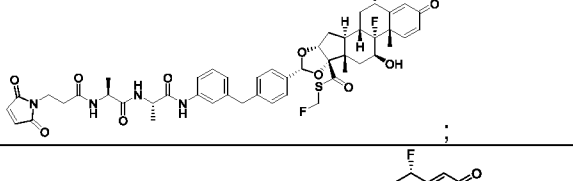
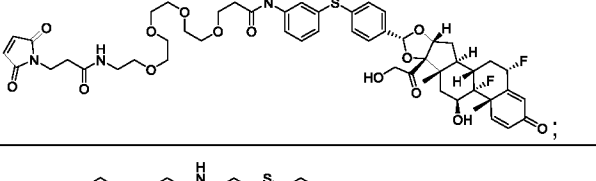
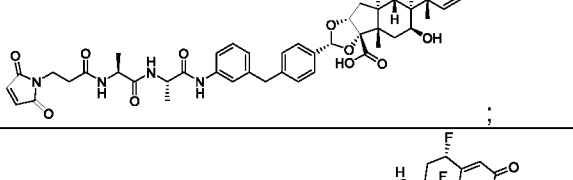
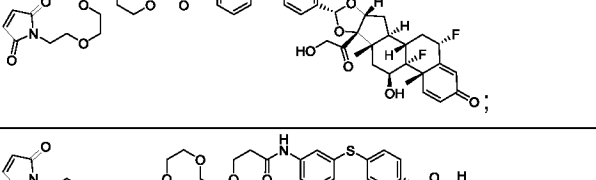
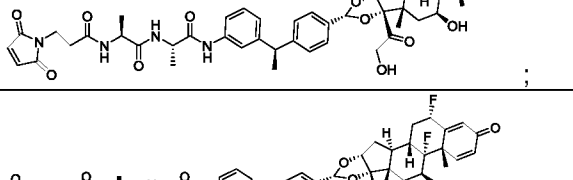
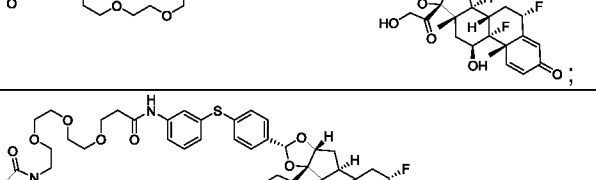
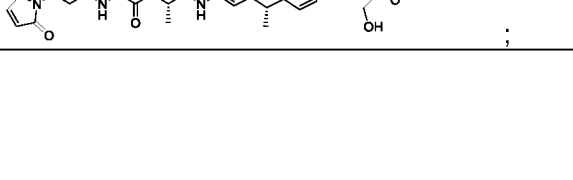
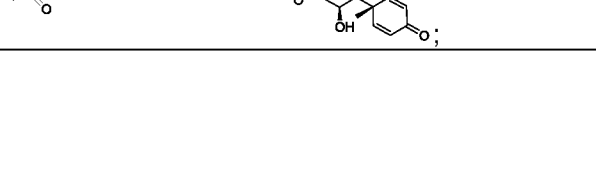
В іншому варіанті здійснення R^{7b} являє собою R^{7b-4} . В іншому варіанті здійснення R^{7b} являє собою R^{7b-5} . В іншому варіанті здійснення R^{7b} являє собою R^{7b-6} . В іншому варіанті здійснення R^{7b} являє собою будь-яку зі структур, представлених у таблиці IX.

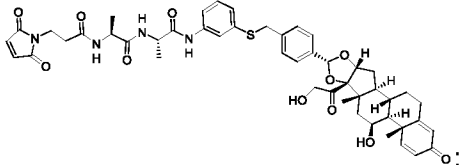
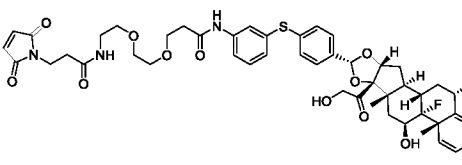
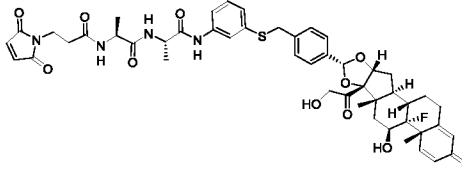
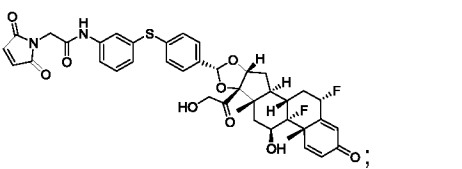
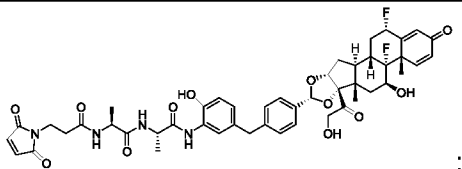
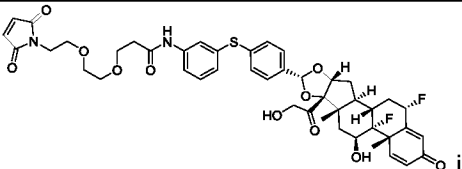
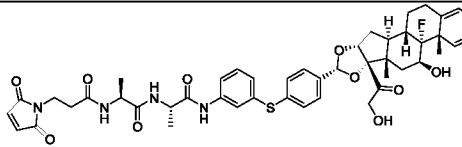
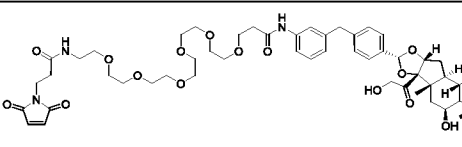
Таблиця IX



В іншому варіанті здійснення розкрито в даному документі проміжна сполука, яка застосовується в синтезі, являє собою сполуку, що характеризується формулою VIII, або її фармацевтично прийнятну сіль, яка являє собою будь-яку зі сполук, представлених у таблиці X.

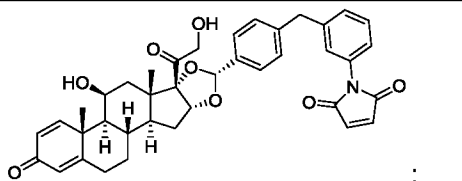
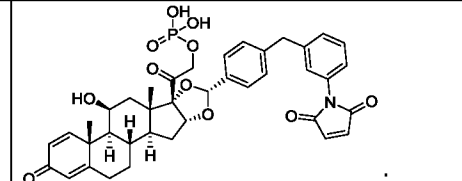
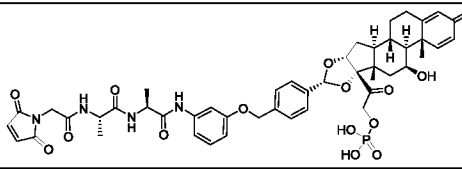
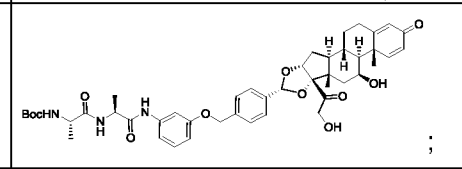
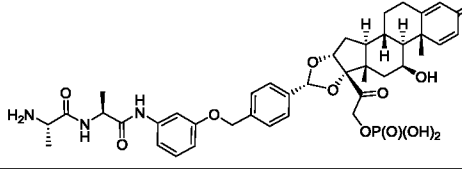
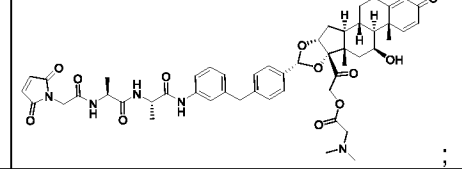
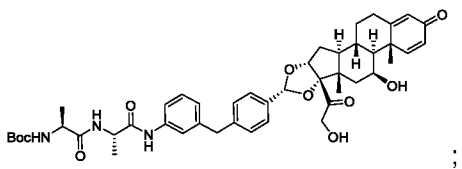
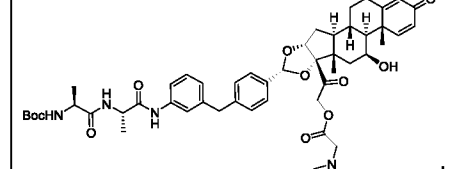
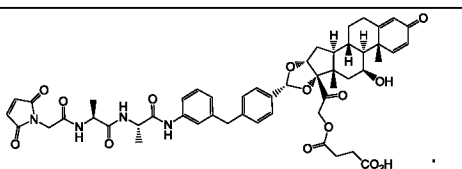
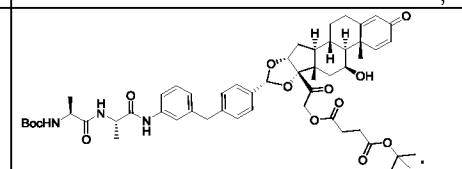
Таблиця X

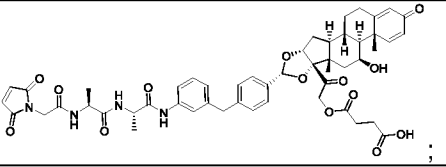
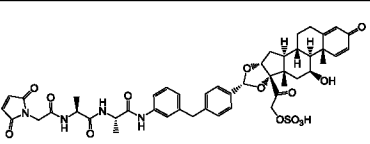
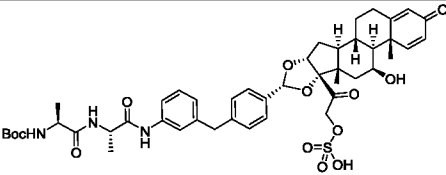
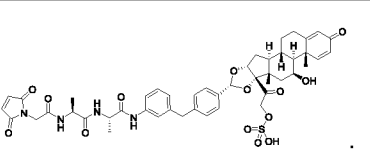
	
	
	
	
	
	
	
	
	
	

В іншому варіанті здійснення розкрито в даному документі проміжна сполука, яка застосовується в синтезі, являє собою сполуку, що характеризується формулою VIII, або її фармацевтично прийнятну сіль, яка являє собою будь-яку зі сполук, представлених у таблиці X-A.

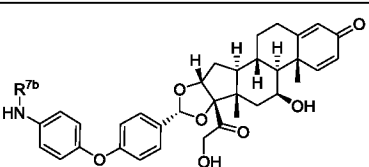
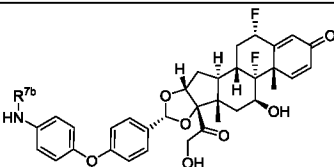
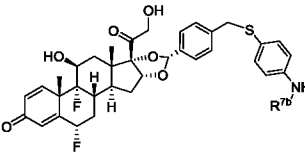
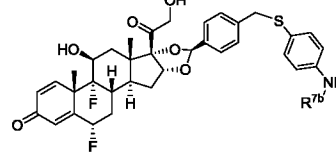
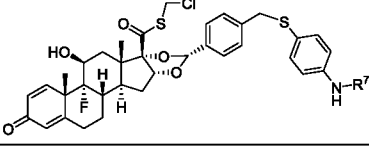
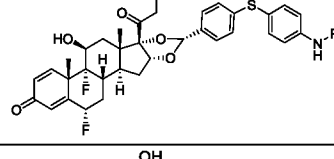
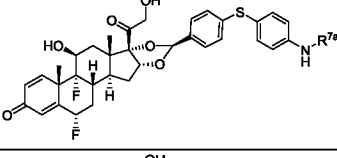
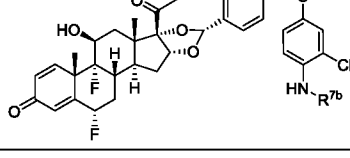
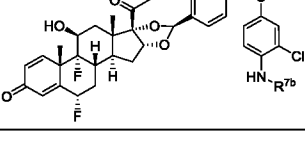
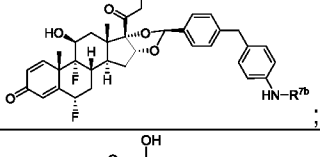
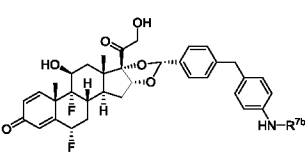
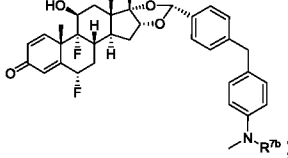
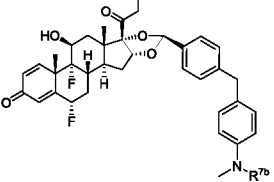
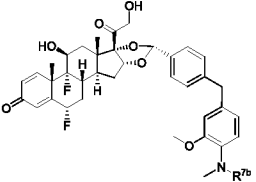
Таблиця X-A

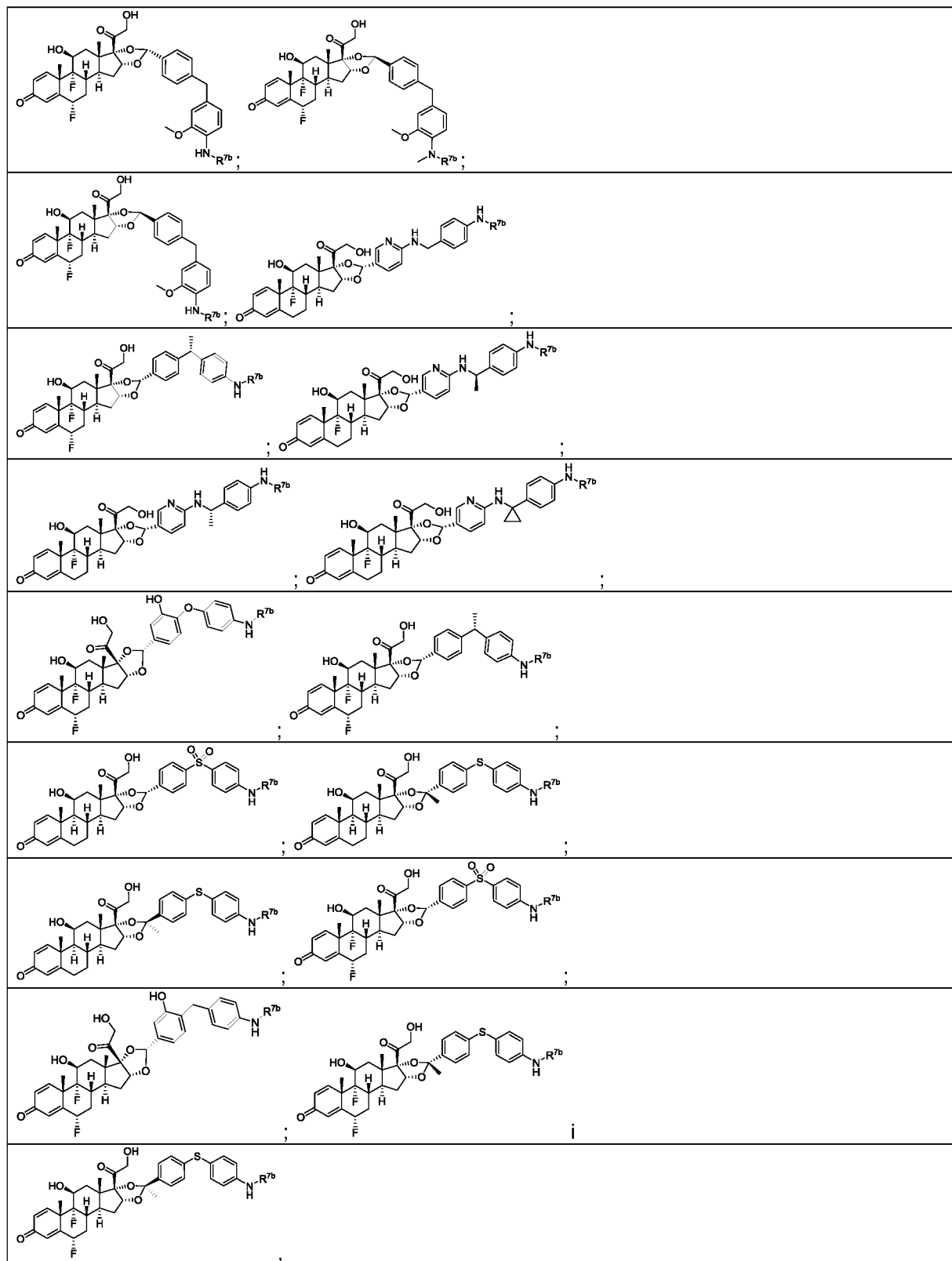
	
	
	
	
	

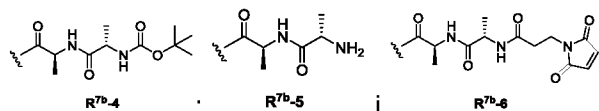
	
	

В іншому варіанті здійснення розкрито в даному документі проміжна сполука, яка застосовується в синтезі, являє собою сполуку, що характеризується формулою IX, або її фармацевтично прийнятну сіль, яка являє собою будь-яку з хімічних структур, представлених у таблиці XI.

Таблиця XI

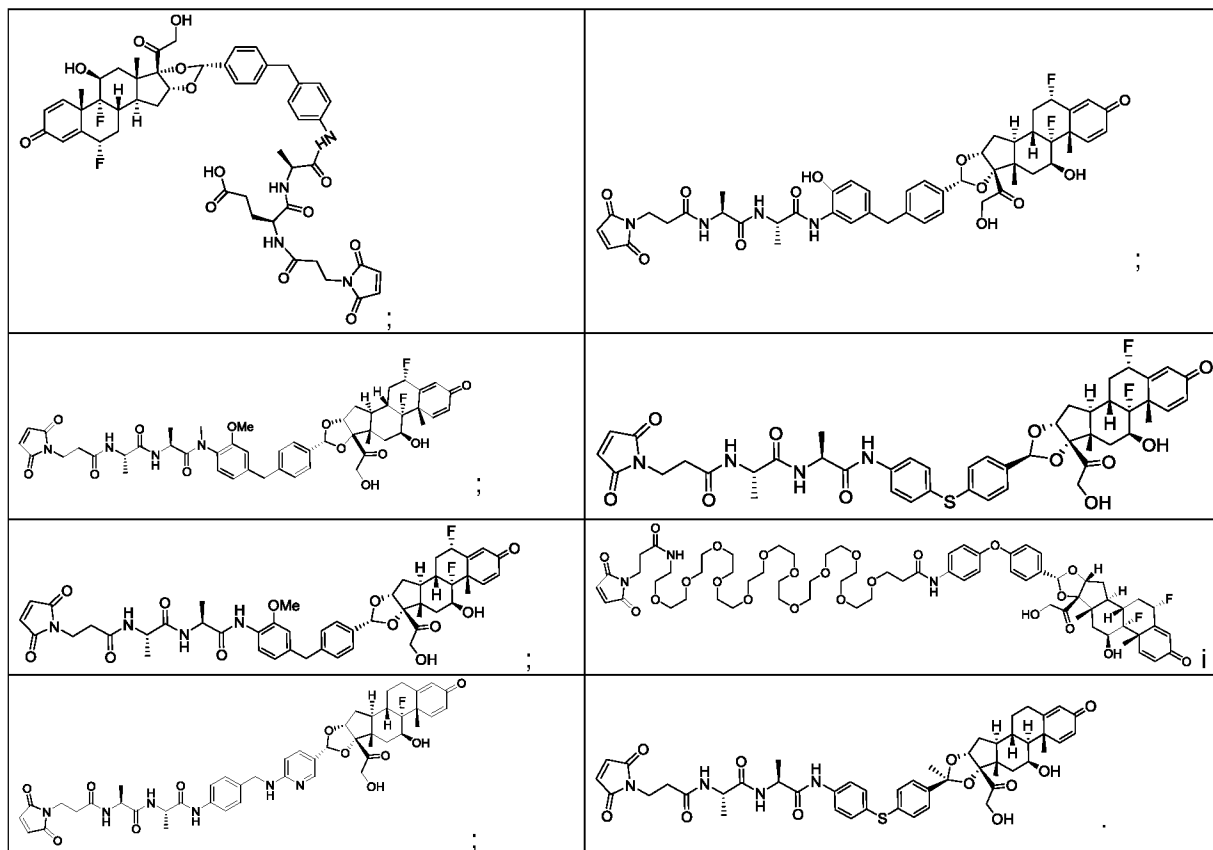




В іншому варіанті здійснення R^{7b} являє собою R^{7b-4} . В іншому варіанті здійснення R^{7b} являє собою R^{7b-5} . В іншому варіанті здійснення R^{7b} являє собою R^{7b-6} . В іншому варіанті здійснення R^{7b} являє собою будь-яку з хімічних структур, представлених у таблиці IX.

В іншому варіанті здійснення розкрито в даному документі проміжна сполука, яка застосовується в синтезі, являє собою сполуку, що характеризується формулою IX, або її фармацевтично прийнятну сіль, яка являє собою будь-яку зі сполук, представлених у таблиці XII.

Таблиця XII



VI. Способи застосування та фармацевтичні композиції

В даному документі представлені кон'югати, що характеризуються формулами I-a і I-b, та агоністи глюкокортикоїдних рецепторів, що характеризуються формулами VII, VII-A, VII-B, VIII, VIII-a, VIII-b, IX, IX-a або IX-b або будь-якою з формул VII', VII-A', VII-B', VIII', VIII-a', VIII-b', IX', IX-a', IX-b', VII'', VII-A'', VII-B'', VIII'', VIII-a'', VIII-b'', IX'', IX-a'' або IX-b'' (де R^{7b} являє собою водень), які можна застосовувати *in vitro* або *in vivo*. Відповідно, також в даному документі представлені композиції, наприклад, фармацевтичні композиції для конкретних варіантів застосування *in vivo*, які містять кон'югат або агоніст глюкокортикоїдних рецепторів, описані в даному документі, що характеризуються потрібним ступенем чистоти, у фізіологічно прийнятному носії, допоміжній речовині або стабілізаторі (Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA). Прийнятні носії, допоміжні речовини або стабілізатори є нетоксичними для реципієнтів у застосовуваних дозах і концентраціях.

Композиції (наприклад, фармацевтичні композиції), які підлягають застосуванню за допомогою введення *in vivo*, можуть бути стерильними. Цього можна легко досягти за допомогою фільтрації, наприклад, через стерильні фільтрувальні мембрани. Композиції (наприклад, фармацевтичні композиції), які підлягають застосуванню шляхом введення *in vivo*, можуть містити консервант.

Фармацевтична композиція, яка містить агоніст глюкокортикоїдних рецепторів, представлений у даному документі, може бути складена, наприклад, у формі назального спрею, аерозолі для інгаляцій (наприклад, для пероральної інгаляції) або у формі капсули, таблетки або пілюлі (наприклад, для перорального введення).

Агоністи глюкокортикоїдних рецепторів, представлені в даному документі (наприклад, ADC, що пригнічує активність TNF), являють собою сполуки, де середня кількість глюкокортикостероїдів на антитіло (DAR) в композиції становить від приблизно 1 до приблизно 10. У деяких варіантах здійснення середня кількість глюкокортикостероїдів на антитіло (DAR) в композиції становить від приблизно 2 до приблизно 6. У деяких варіантах здійснення середня кількість глюкокортикостероїдів на антитіло (DAR) в композиції становить від приблизно 3 до приблизно 4. У деяких варіантах здійснення середня кількість глюкокортикостероїдів на антитіло (DAR) в композиції становить приблизно 3,1. У деяких варіантах здійснення середня кількість глюкокортикостероїдів на антитіло (DAR) в композиції становить приблизно 3,2. У деяких варіантах здійснення середня кількість глюкокортикостероїдів на антитіло (DAR) в композиції становить приблизно 3,3. У деяких варіантах здійснення середня кількість глюкокортикостероїдів на антитіло (DAR) в композиції становить приблизно 3,4. У деяких варіантах здійснення середня кількість глюкокортикостероїдів на антитіло (DAR) в композиції становить приблизно 3,5. У деяких варіантах здійснення середня кількість глюкокортикостероїдів на антитіло (DAR) в композиції становить приблизно 3,6. У деяких варіантах

здійснення середня кількість глюкокортикостероїдів на антитіло (DAR) в композиції становить приблизно 3,7. У деяких варіантах здійснення середня кількість глюкокортикостероїдів на антитіло (DAR) в композиції становить приблизно 3,8. У деяких варіантах здійснення середня кількість глюкокортикостероїдів на антитіло (DAR) в композиції становить приблизно 3,9.

Агоністи глюкокортикоїдних рецепторів і фармацевтичні композиції, які містять агоніст глюкокортикоїдних рецепторів, описаний в даному документі, можуть бути придатними в інгібуванні вивільнення цитокінів (in vitro або in vivo) та/або для лікування аутоімунних або запальних захворювань. Агоністи глюкокортикоїдних рецепторів і фармацевтичні композиції, які містять агоніст глюкокортикоїдних рецепторів, описаний в даному документі, можна застосовувати для лікування астми (наприклад, бронхіальної астми), хвороби Крона (наприклад, хвороби Крона від легкої до помірно активної, що поширюється на клубову кишку та/або висхідну ободову кишку, та/або для підтримки клінічної ремісії хвороби Крона від легкої до помірно активної, що поширюється на клубову кишку та/або висхідну ободову кишку, протягом не більше 3 місяців), неспецифічного виразкового коліту (наприклад, для індукування ремісії у пацієнтів з активним неспецифічним виразковим колітом від легкого до помірного), алергічного риніту (наприклад, назальних симптомів, пов'язаних із сезонним алергічним ринітом та/або хронічним алергічним ринітом).

Призначена для введення пацієнтам-людям загальна добова доза агоністів глюкокортикоїдних рецепторів, представлених у даному документі, зазвичай знаходиться в діапазоні від 0,001 мг до 5000 мг або в діапазоні від 0,01 мг до 1000 мг, залежно від способу введення. Наприклад, для перорального введення або внутрішньовенного, внутрішньом'язового, внутрішньосуглобового або білясуглобового введення може бути потрібна загальна добова доза, яка становить від 0,01 мг до 1000 мг або від 0,1 мг до 100 мг. Загальну добову дозу можна вводити як одноразову дозу або розділені дози.

Фармацевтична композиція, яка містить кон'югат, представлений у даному документі, може бути складена, наприклад, для внутрішньовенного введення або інфузії.

Кон'югати та фармацевтичні композиції, які містять кон'югати, описані в даному документі, можуть бути придатними у здійсненні лізису клітини, яка експресує поверхневий TNF-альфа (in vitro або in vivo), для лікування захворювань або станів, що характеризуються підвищеним рівнем TNF-альфа (наприклад, підвищеним рівнем TNF-альфа у синовіальній рідині), та/або для лікування аутоімунного або запального захворювання.

Фармацевтичну композицію, яка містить агоніст глюкокортикоїдних рецепторів або кон'югат, описані в даному документі, застосовують для лікування ревматоїдного артриту (RA), ювенільного ідіопатичного артриту (JIA), псоріатичного артриту (PsA), спондилоартропатії, такої як анкілозуючий спондилоартрит (AS) або аксіальний спондилоартрит (axSpA), хвороба Крона у дорослих (CD), хвороба Крона у дітей, неспецифічний виразковий коліт (UC), бляшкоподібний псоріаз (Ps), гнійний гідраденіт (HS), увеїт, хвороба Бехчета або псоріаз, в тому числі бляшкоподібний псоріаз.

Призначена для введення пацієнтам-людям загальна добова доза кон'югату, представленого в даному документі, зазвичай знаходиться в діапазоні, який становить від 0,01 мкг до 100 мг на кг ваги тіла, і її можна давати один або декілька разів на добу, тиждень, місяць або рік.

В даному винаході також передбачені варіанти здійснення (вар. здійсн.) 1-209, як конкретні варіанти здійснення. Формули і таблиці, які згадуються в даних конкретних варіантах здійснення, та які не показані у варіанті здійснення, викладені в описі вище.

Варіант здійснення (вар. здійсн.) 1. Сполука, що характеризується формулою I-a,

(SM-L-Q)_n-A¹ I-a,

або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де:

A¹ являє собою білок, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа; L являє собою лінкер; Q являє собою гетеробіфункціональну групу або гетеротрифункціональну групу або Q відсутній; n становить 1-10; і SM являє собою радикал на основі глюкокортикостероїду.

Вар. здійсн. 2. Сполука згідно з вар. здійсн. 1 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду.

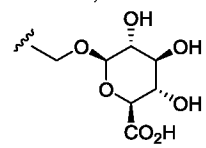
Вар. здійсн. 3. Сполука згідно з вар. здійсн. 2 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, вибраний із групи, що

складається з: $SM-S$, $SM-O$, $SM-N$ і $SM-N^R$, де атом сірки, кисню або азоту приєднаний безпосередньо або опосередковано до C- або D-кільця глюкокортикостероїду, і R являє собою C₁₋₄алкіл.

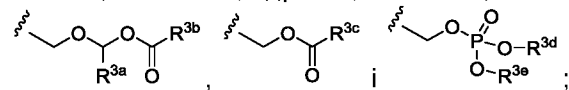
Вар. здійсн. 4. Сполука згідно з вар. здійсн. 3 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де атом сірки, кисню або азоту приєднаний безпосередньо або опосередковано до D-кільця глюкокортикостероїду.

Вар. здійсн. 5. Сполука згідно з вар. здійсн. 2 або вар. здійсн. 3 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-a, де:

R¹ вибраний із групи, що складається з водню та галогену; R² вибраний із групи, що складається з водню, галогену та гідрокси; R³ вибраний із групи, що складається з -CH₂OH, -CH₂SH, -CH₂Cl, -SCH₂Cl,

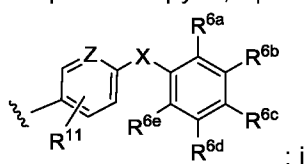


-SCH₂F, -SCH₂CF₃, гідрокси, -OCH₂CN, -OCH₂Cl, -OCH₂F, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -SCH₂CN,



R^{3a} вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; R^{3b} вибраний із групи, що складається з C₁₋₄алкілу та C₁₋₄алкокси; R^{3c} вибраний із групи, що складається з водню, C₁₋₄алкілу, -CH₂OH і C₁₋₄алкокси; R^{3d} і R^{3e} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу;

R^{9a} вибраний із групи, що складається з необов'язково заміщеного алкілу, необов'язково заміщеного циклоалкілу, необов'язково заміщеного арилу та необов'язково заміщеного гетероарилу; R^{9b} вибраний із групи, що складається з водню та алкілу; або R^{9a} являє собою:



R^{9b} являє собою водень або метил;

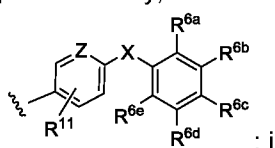
X вибраний із групи, що складається з -(CR^{4a}R^{4b})_t-, -O-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NR⁵-, -CH₂S-, -CH₂O-, -N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-, -CR^{4c}=CR^{4d}- і -C≡C-; або X відсутній; t дорівнює 1 або 2;

Z вибраний із групи, що складається з =CH-, =C(OH)- і =N-; кожен із R^{4a} та R^{4b} незалежно вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; або R^{4a} та R^{4b}, взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють 3-6-членний циклоалкіл; R^{4c} і R^{4d} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; R⁵ вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; кожен із R^{6a}, R^{6b}, R^{6c}, R^{6d} і R^{6e} незалежно вибраний із групи, що складається з водню, галогену, C₁₋₄алкілу, C₁₋₄галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси; R^{8a} та R^{8b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; R¹¹ вибраний із групи, що складається з водню, галогену, C₁₋₄алкілу, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси; і == являє собою одинарний або подвійний зв'язок.

Вар. здійсн. 6. Сполука згідно з вар. здійсн. 5 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-b.

Вар. здійсн. 7. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 2-4 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-c, де: R¹ вибраний із групи, що складається з водню та галогену;

R² вибраний із групи, що складається з водню, галогену та гідрокси; R^{9a} вибраний із групи, що складається з необов'язково заміщеного алкілу, необов'язково заміщеного циклоалкілу, необов'язково заміщеного арилу та необов'язково заміщеного гетероарилу; і R^{9b} вибраний із групи, що складається з водню та алкілу; або R^{9a} являє собою:



R^{9b} являє собою водень;

W вибраний із групи, що складається з -O- та -S-; X вибраний із групи, що складається з -(CR^{4a}R^{4b})_t-, -O-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NR⁵-, -CH₂S-, -CH₂O-, -N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-, -CR^{4c}=CR^{4d}- і -C≡C-; або X відсутній; t дорівнює 1 або 2; Z вибраний із групи, що складається з =CH-, =C(OH)- і =N-; кожен із R^{4a} та R^{4b} незалежно вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; або R^{4a} та R^{4b}, взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють 3-6-членний циклоалкіл; R^{4c} і R^{4d} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; R⁵ вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; кожен із R^{6a}, R^{6b}, R^{6c}, R^{6d} і R^{6e} незалежно вибраний із групи, що складається з водню, галогену, C₁₋₄алкілу, C₁₋₄галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси; R^{8a} та R^{8b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; R¹¹ вибраний із

групи, що складається з водню, галогену, C₁₋₄алкілу, C₁₋₄галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтію та алкокси; i === являє собою одинарний або подвійний зв'язок.

Вар. здійсн. 8. Сполука згідно з вар. здійсн. 7 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-d.

Вар. здійсн. 9. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 2-4 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-e, де: R¹ вибраний із групи, що складається з водню та галогену; R² вибраний із групи, що складається з водню, галогену та гідрокси; R^{9c} вибраний із групи, що складається з водню, C₁₋₄алкілу та -C(=O)R^{9e}; R^{9d} вибраний із групи, що складається з водню, необов'язково заміщеного алкілу, необов'язково заміщеного циклоалкілу, необов'язково заміщеного арилу та необов'язково заміщеного гетероарилу; R^{9e} вибраний із групи, що складається з водню, необов'язково заміщеного алкілу, необов'язково заміщеного циклоалкілу, необов'язково заміщеного арилу та необов'язково заміщеного гетероарилу; W вибраний із групи, що складається з -O- та -S-; i === являє собою одинарний або подвійний зв'язок.

Вар. здійсн. 10. Сполука згідно з вар. здійсн. 9 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-f.

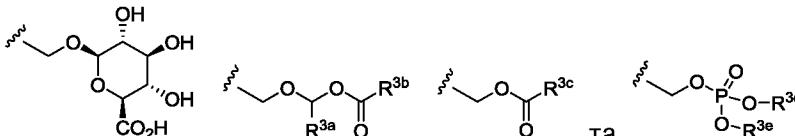
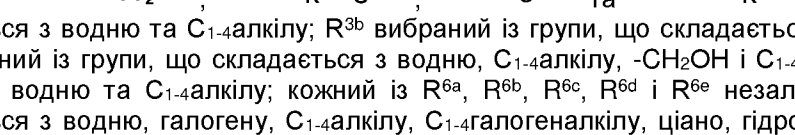
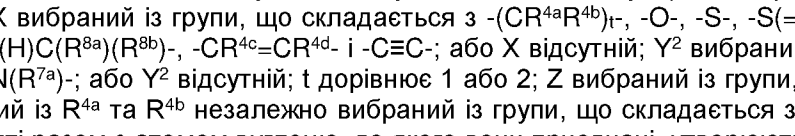
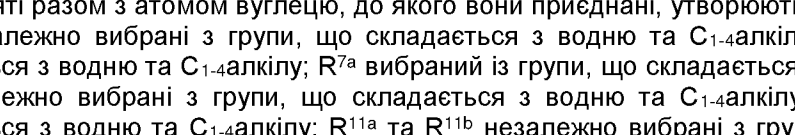
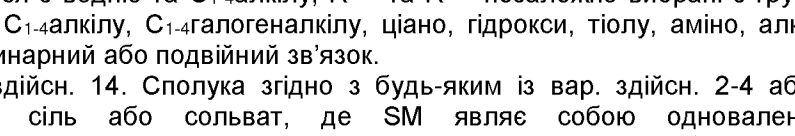
Вар. здійсн. 11. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 7-10 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де W являє собою -S-.

Вар. здійсн. 12. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 7-10 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де W являє собою -O-.

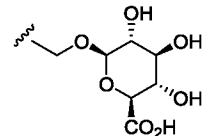
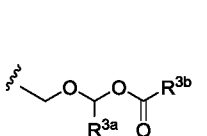
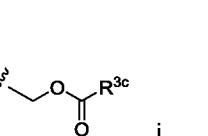
Вар. здійсн. 13. Сполука, що характеризується формулою I-b,

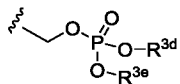
(SM-L-Q)_n-A² I-b,

або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де: A² являє собою білок; L являє собою лінкер; Q являє собою гетеробіфункціональну групу або гетеротрифункціональну групу або Q відсутній; n становить 1-10; i SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується будь-якою з формули II-l, формули II-m, формули II-n, формули II-o, формули II-p або формули II-q, де: R¹ вибраний із групи, що складається з водню та галогену; R² вибраний із групи, що складається з водню, галогену та гідрокси; R³ вибраний із групи, що складається з -CH₂OH, -CH₂SH, -CH₂Cl, -SCH₂Cl, -SCH₂F, -SCH₂CF₃, гідрокси, -OCH₂CN, -OCH₂Cl, -OCH₂F, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -

 SCH₂CN,  ,  ,  та  ; R^{3a} вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; R^{3b} вибраний із групи, що складається з C₁₋₄алкілу та C₁₋₄алкокси; R^{3c} вибраний із групи, що складається з водню, C₁₋₄алкілу, -CH₂OH і C₁₋₄алкокси; R^{3d} і R^{3e} незалежно вибрані з водню та C₁₋₄алкілу; кожний із R^{6a}, R^{6b}, R^{6c}, R^{6d} і R^{6e} незалежно вибраний із групи, що складається з водню, галогену, C₁₋₄алкілу, C₁₋₄галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтію та алкокси; X вибраний із групи, що складається з -(CR^{4a}R^{4b})_t-, -O-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)₂-, -NR⁵-, -CH₂S-, -CH₂O-, -N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-, -CR^{4c}=CR^{4d}- і -C≡C-; або X відсутній; Y² вибраний із групи, що складається з -O-, -S- і -N(R^{7a})-; або Y² відсутній; t дорівнює 1 або 2; Z вибраний із групи, що складається з =CR^{11a}- та =N-; кожний із R^{4a} та R^{4b} незалежно вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; або R^{4a} та R^{4b}, взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють 3-6-членний циклоалкіл; R^{4c} і R^{4d} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; R⁵ вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; R^{7a} вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; R^{8a} та R^{8b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; R^{9f} вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; R^{11a} та R^{11b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню, галогену, C₁₋₄алкілу, C₁₋₄галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтію та алкокси; i === являє собою одинарний або подвійний зв'язок.

Вар. здійсн. 14. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 2-4 або 13 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-l, де: R¹ вибраний із групи, що складається з водню та галогену; R² вибраний із групи, що складається з водню, галогену та гідрокси; R³ вибраний із групи, що складається з -CH₂OH, -CH₂SH, -CH₂Cl, -SCH₂Cl, -SCH₂F, -SCH₂CF₃, гідрокси, -OCH₂CN, -

 ,  ,  ; OCH₂Cl, -OCH₂F, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -SCH₂CN, i

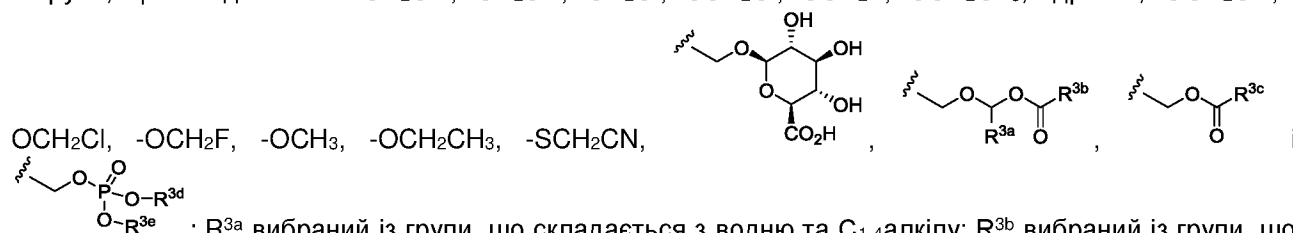


; R^{3a} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{3b} вибраний із групи, що складається з C_{1-4} алкілу та C_{1-4} алкокси; R^{3c} вибраний із групи, що складається з водню, C_{1-4} алкілу, $-CH_2OH$ і C_{1-4} алкокси; R^{3d} і R^{3e} незалежно вибрані з водню та C_{1-4} алкілу; X вибраний із групи, що складається з $-(CR^{4a}R^{4b})_t-$, $-O-$, $-S-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-NR^5-$, $-CH_2S-$, $-CH_2O-$, $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$, $-CR^{4c}=CR^{4d}-$ і $-C\equiv C-$; або X відсутній; t дорівнює 1 або 2; Z вибраний із групи, що складається з $=CR^{11a}-$ та $=N-$; кожний із R^{4a} та R^{4b} незалежно вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; або R^{4a} та R^{4b} , взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють 3-6-членний циклоалкіл; R^{4c} і R^{4d} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^5 вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; кожний із R^{6a} , R^{6c} , R^{6d} і R^{6e} незалежно вибраний із групи, що складається з водню, галогену, C_{1-4} алкілу, C_{1-4} галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси; Y^2 вибраний із групи, що складається з $-O-$, $-S-$ і $-N(R^{7a})-$; або Y^2 відсутній; R^{7a} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{8a} та R^{8b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{9f} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{11a} та R^{11b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню, галогену, C_{1-4} алкілу, C_{1-4} галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси; i — являє собою одинарний або подвійний зв'язок.

Вар. здійсн. 15. Сполука згідно з вар. здійсн. 14 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-m.

Вар. здійсн. 16. Сполука згідно з вар. здійсн. 14 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-n.

Вар. здійсн. 17. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 2-4 або 13 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-o, де: R^1 вибраний із групи, що складається з водню та галогену; R^2 вибраний із групи, що складається з водню, галогену та гідрокси; R^3 вибраний із групи, що складається з $-CH_2OH$, $-CH_2SH$, $-CH_2Cl$, $-SCH_2Cl$, $-SCH_2F$, $-SCH_2CF_3$, гідрокси, $-OCH_2CN$,



; R^{3a} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{3b} вибраний із групи, що складається з C_{1-4} алкілу та C_{1-4} алкокси; R^{3c} вибраний із групи, що складається з водню, C_{1-4} алкілу, $-CH_2OH$ і C_{1-4} алкокси; R^{3d} і R^{3e} незалежно вибрані з водню та C_{1-4} алкілу; X вибраний із групи, що складається з $-(CR^{4a}R^{4b})_t-$, $-O-$, $-S-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-NR^5-$, $-CH_2S-$, $-CH_2O-$, $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$, $-CR^{4c}=CR^{4d}-$ і $-C\equiv C-$; або X відсутній; t дорівнює 1 або 2; Z вибраний із групи, що складається з $=CR^{11a}-$ та $=N-$; кожний із R^{4a} та R^{4b} незалежно вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; або R^{4a} та R^{4b} , взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють 3-6-членний циклоалкіл; R^{4c} і R^{4d} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^5 вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; кожний із R^{6a} , R^{6b} , R^{6d} і R^{6e} незалежно вибраний із групи, що складається з водню, галогену, C_{1-4} алкілу, C_{1-4} галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси; Y^2 вибраний із групи, що складається з $-O-$, $-S-$ і $-N(R^{7a})-$; або Y^2 відсутній; R^{7a} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{8a} та R^{8b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{9f} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{11a} та R^{11b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню, галогену, C_{1-4} алкілу, C_{1-4} галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси; i — являє собою одинарний або подвійний зв'язок.

Вар. здійсн. 18. Сполука згідно з вар. здійсн. 17 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-p.

Вар. здійсн. 19. Сполука згідно з вар. здійсн. 17 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-q.

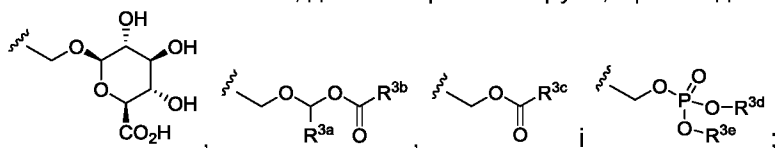
Вар. здійсн. 20. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 5-19 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де $==$ являє собою подвійний зв'язок.

Вар. здійсн. 21. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 5-20 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^1 вибраний із групи, що складається з водню та фтору.

Вар. здійсн. 22. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 5-21 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^2 вибраний із групи, що складається з водню та фтору.

Вар. здійсн. 23. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 5, 6 або 13-22 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^3 вибраний із групи, що складається з $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{Cl}$, $-\text{SCH}_2\text{Cl}$, $-\text{SCH}_2\text{F}$ і гідрокси.

Вар. здійсн. 24. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 5, 6 або 13-22 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^3 вибраний із групи, що складається з:



R^{3a} вибраний із групи, що складається з водню та метилу; R^{3b} вибраний із групи, що складається з метилу, етилу, ізопропілу, ізобутилу, метокси, етокси, ізопропокси та ізобутокси; R^{3c} вибраний із групи, що складається з водню, метилу, етилу, $-\text{CH}_2\text{OH}$, метокси, етокси та ізопропокси; R^{3d} і R^{3e} незалежно вибрані з групи, що складається з водню, метилу та етилу.

Вар. здійсн. 25. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 5-8 або 11-24 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^5 і R^{8a} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та метилу.

Вар. здійсн. 26. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 5-8, 11-25 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де Z являє собою $=\text{CH}-$.

Вар. здійсн. 27. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 5-8 або 11-25 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де Z являє собою $=\text{N}-$.

Вар. здійсн. 28. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 5-8 або 11-27 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{6a} , R^{6d} і R^{6e} являють собою водень.

Вар. здійсн. 29. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 13-28 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де Y^2 являє собою $-\text{N}(R^{7a})-$.

Вар. здійсн. 30. Сполука згідно з вар. здійсн. 29 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7a} вибраний із групи, що складається з водню та метилу.

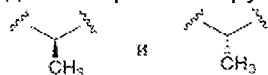
Вар. здійсн. 31. Сполука згідно з вар. здійсн. 30 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7a} являє собою водень.

Вар. здійсн. 32. Сполука згідно з вар. здійсн. 30 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7a} являє собою метил.

Вар. здійсн. 33. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 5-8 або 13-32 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де: X вибраний із групи, що складається з $-(\text{CR}^{4a}\text{R}^{4b})_t$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$ і $-\text{N}(\text{H})\text{CH}(\text{R}^{8a})-$; t дорівнює 1; R^{4a} та R^{4b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та метилу; або R^{4a} та R^{4b} , взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють 3-членний циклоалкіл; і R^{8a} вибраний із групи, що складається з водню та метилу.

Вар. здійсн. 34. Сполука згідно з вар. здійсн. 33 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де X являє собою $-\text{CH}_2-$.

Вар. здійсн. 35. Сполука згідно з вар. здійсн. 33 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де X вибраний із групи, що складається з:



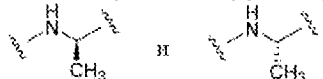
Вар. здійсн. 36. Сполука згідно з вар. здійсн. 33 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де X являє собою $-\text{O}-$.

Вар. здійсн. 37. Сполука згідно з вар. здійсн. 33 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де X являє собою $-\text{S}-$.

Вар. здійсн. 38. Сполука згідно з вар. здійсн. 33 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де X являє собою $-\text{CH}_2\text{S}-$.

Вар. здійсн. 39. Сполука згідно з вар. здійсн. 33 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де X являє собою $-\text{N}(\text{H})\text{CH}_2-$.

Вар. здійсн. 40. Сполука згідно з вар. здійсн. 33 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де X вибраний із групи, що складається з:



Вар. здійсн. 41. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 13-16 або 20-40 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{6c} вибраний із групи, що складається з водню, $-\text{Cl}$, $-\text{OCH}_3$ і гідрокси.

Вар. здійсн. 42. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 13 або 17-40 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{6b} вибраний із групи, що складається з водню, $-\text{Cl}$, $-\text{OCH}_3$ і гідрокси.

Вар. здійсн. 43. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 13-42 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{9f} являє собою водень.

Вар. здійсн. 44. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 13-42 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{9f} являє собою метил.

Вар. здійсн. 45. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 13-44 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{11a} вибраний із групи, що складається з водню та гідрокси.

Вар. здійсн. 46. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 13-44 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{11b} являє собою водень.

Вар. здійсн. 47. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-46 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де L являє собою розщеплюваний лінкер.

Вар. здійсн. 48. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-47 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де розщеплюваний лінкер передбачає сукцинімід, амід, тіосечовину, тіоетер, оксим або самовідщеплювану групу або їх комбінацію.

Вар. здійсн. 49. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-48 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де розщеплюваний лінкер передбачає пептид.

Вар. здійсн. 50. Сполука згідно з вар. здійсн. 49 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де розщеплюваний лінкер передбачає трипептид.

Вар. здійсн. 51. Сполука згідно з вар. здійсн. 49 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де розщеплюваний лінкер передбачає дипептид.

Вар. здійсн. 52. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-47 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де розщеплюваний лінкер передбачає естер фосфорної кислоти.

Вар. здійсн. 53. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-47 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де розщеплюваний лінкер передбачає діестер пірофосфорної кислоти.

Вар. здійсн. 54. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-53 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де Q відсутній.

Вар. здійсн. 55. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-53 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де Q являє собою гетеробіфункціональну групу, вибрану з групи, що складається з Q-1, Q-2, Q-3, Q-4, Q-5 і Q-6, де m дорівнює 1, 2, 3, 4, 5 або 6.

Вар. здійсн. 56. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-53 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де Q являє собою гетеротрифункціональну групу, яка являє собою Q-7.

Вар. здійсн. 57. Сполука згідно з вар. здійсн. 55 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де Q вибраний із групи, що складається з Q-1, Q-2, Q-3 і Q-4.

Вар. здійсн. 58. Сполука згідно з вар. здійсн. 57 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де Q вибраний із групи, що складається з Q-3 і Q-4.

Вар. здійсн. 59. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-47 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де -L-Q- являє собою LQ-1; m дорівнює 1 або 2; і R^{10a} та R^{10b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та необов'язково заміщеного C_{1-6} алкілу.

Вар. здійсн. 60. Сполука згідно з вар. здійсн. 59 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де -L-Q- являє собою LQ-2.

Вар. здійсн. 61. Сполука згідно з вар. здійсн. 59 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де -L-Q- являє собою LQ-3.

Вар. здійсн. 62. Сполука згідно з вар. здійсн. 59 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де -L-Q- являє собою LQ-4.

Вар. здійсн. 63. Сполука згідно з вар. здійсн. 59 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де -L-Q- являє собою LQ-5.

Вар. здійсн. 64. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-47 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де -L-Q- являє собою LQ-6; m дорівнює 1 або 2; і R^{10a} та R^{10b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та необов'язково заміщеного C_{1-6} алкілу.

Вар. здійсн. 65. Сполука згідно з вар. здійсн. 64 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де -L-Q- являє собою LQ-7.

Вар. здійсн. 66. Сполука згідно з вар. здійсн. 64 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де -L-Q- являє собою LQ-8.

Вар. здійсн. 67. Сполука згідно з вар. здійсн. 64 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де -L-Q- являє собою LQ-9.

Вар. здійсн. 68. Сполука згідно з вар. здійсн. 64 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де -L-Q- являє собою LQ-10.

Вар. здійсн. 69. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-47 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де L являє собою нерозщеплюваний лінкер.

Вар. здійсн. 70. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-47 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де лінкер містить одну або декілька поліетиленгліколевих ланок.

Вар. здійсн. 71. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-47 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де -L-Q- являє собою LQ-11; m дорівнює 1 або 2; і x дорівнює 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 або 15.

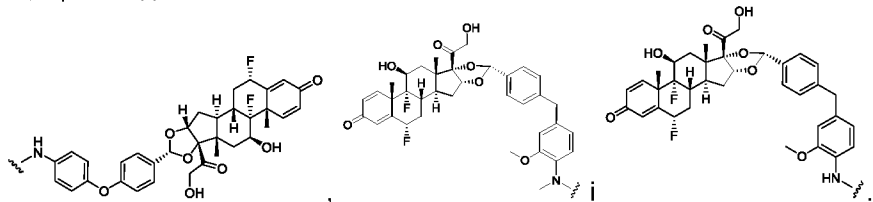
Вар. здійсн. 97. Сполука згідно з вар. здійсн. 96 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де n становить 2-5.

Вар. здійсн. 98. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-95 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де n дорівнює 2.

Вар. здійсн. 99. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-95 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де n дорівнює 4.

Вар. здійсн. 100. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1 або 47-99 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, який являє собою будь-яку з хімічних структур, представлених у таблиці II.

Вар. здійсн. 101. Сполука згідно з вар. здійсн. 100 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, вибраний із групи, що складається з:



Вар. здійсн. 102. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-101 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де A^1 являє собою антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент, або де A^2 являє собою антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент.

Вар. здійсн. 103. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-101 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де A^1 являє собою білок, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа, який зв'язується з людським TNF-альфа та/або мишачим TNF-альфа, або де A^2 являє собою білок, який зв'язується з людським TNF-альфа та/або мишачим TNF-альфа.

Вар. здійсн. 104. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-101 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де A^1 являє собою білок, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа, який зв'язується з розчинним TNF-альфа, або де A^2 являє собою білок, який зв'язується з розчинним TNF-альфа.

Вар. здійсн. 105. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-101 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де A^1 являє собою білок, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа, який зв'язується з мембранозв'язувальним TNF-альфа, або де A^2 являє собою білок, який зв'язується з мембранозв'язувальним TNF-альфа.

Вар. здійсн. 106. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-101 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де A^1 являє собою білок, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа, що передбачає антитіло до TNF, або де A^2 являє собою білок, що передбачає антитіло до TNF.

Вар. здійсн. 107. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-101 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де A^1 являє собою білок, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа, який передбачає антигензв'язувальний фрагмент антитіла до TNF, або де A^2 являє собою білок, що передбачає антигензв'язувальний фрагмент антитіла до TNF.

Вар. здійсн. 108. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 102-105 або 107 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де антигензв'язувальний фрагмент вибраний із групи, що складається з Fab, Fab', F(ab')₂, одноланцюгового Fv або scFv, зв'язаного дисульфідним зв'язком Fv, домену V-NAR, IgNar, інтраантитіла, IgGΔCH2, мініантитіла, F(ab')₃, тетрамерного антитіла, тримерного антитіла, димерного антитіла, одnodоменого антитіла, DVD-Ig, Fcab, mAb2, (scFv)₂ або scFv-Fc.

Вар. здійсн. 109. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-108 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент є мишачим, химерним, гуманізованим або людським.

Вар. здійсн. 110. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-101 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де A^1 являє собою білок, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа, що передбачає розчинний рецептор TNF, або де A^2 являє собою білок, що передбачає розчинний рецептор TNF.

Вар. здійсн. 111. Сполука згідно з вар. здійсн. 110 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де розчинний рецептор TNF являє собою розчинний рецептор p75 TNF.

Вар. здійсн. 112. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-101 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де A^1 передбачає константний домен важкого ланцюга або його фрагмент, або де A^2 передбачає константний домен важкого ланцюга або його фрагмент.

Вар. здійсн. 113. Сполука згідно з вар. здійсн. 112 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де константний домен важкого ланцюга або його фрагмент передбачає константний домен, вибраний із групи, що складається з (a) константного домену IgA; (b) константного домену IgD; (c)

константного домену IgE; (d) константного домену IgG1; (e) константного домену IgG2; (f) константного домену IgG3; (g) константного домену IgG4 і (h) константного домену IgM, або являє собою фрагмент кожного з переліченого.

Вар. здійсн. 114. Сполука згідно з вар. здійсн. 113 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де константний домен важкого ланцюга передбачає константний домен важкого ланцюга людського IgG1 або його фрагмент.

Вар. здійсн. 115. Сполука згідно з вар. здійсн. 114 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де константний домен важкого ланцюга передбачає Fc-домен людського IgG1.

Вар. здійсн. 116. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-101 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де A¹ передбачає константний домен легкого ланцюга або його фрагмент, або де A² передбачає константний домен легкого ланцюга або його фрагмент.

Вар. здійсн. 117. Сполука згідно з вар. здійсн. 116 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де константний домен легкого ланцюга або його фрагмент передбачає константний домен, вибраний із групи, що складається з (a) константного домену Ig-каппа та (b) константного домену Ig-лямбда, або являє собою фрагмент кожного з переліченого.

Вар. здійсн. 118. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-101 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де A¹ конкурентно інгібує зв'язування антитіла, вибраного з групи, що складається з адаліумабу, інфліксимабу, цертоліумабу пеголу та голіумабу з TNF-альфа, або де A² конкурентно інгібує зв'язування антитіла, вибраного з групи, що складається з адаліумабу, інфліксимабу, цертоліумабу пеголу та голіумабу з TNF-альфа.

Вар. здійсн. 119. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-101 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де A¹ зв'язується з тим самим епітопом TNF-альфа, що й антитіло, вибране з групи, що складається з адаліумабу, інфліксимабу, цертоліумабу пеголу, афелімомабу, нерелімомабу, озораліумабу, плакулумабу та голіумабу, або де A² зв'язується з тим самим епітопом TNF-альфа, що й антитіло, вибране з групи, що складається з адаліумабу, інфліксимабу, цертоліумабу пеголу, афелімомабу, нерелімомабу, озораліумабу, плакулумабу та голіумабу.

Вар. здійсн. 120. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-101 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де білок, що пригнічує активність TNF-альфа, або білок вибраний із групи, що складається з адаліумабу, інфліксимабу, цертоліумабу пеголу, афелімомабу, нерелімомабу, озораліумабу, плакулумабу та голіумабу.

Вар. здійсн. 121. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-101 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де A¹ містить послідовності CDR1, CDR2 і CDR3 важкого ланцюга відповідно під SEQ ID NO:3 або 6, SEQ ID NO:4 та SEQ ID NO:5 та послідовності CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельної області легкого ланцюга відповідно під SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33 та SEQ ID NO:34, або де A² містить послідовності CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельної області важкого ланцюга відповідно під SEQ ID NO:3 або 6, SEQ ID NO:4 та SEQ ID NO:5 та послідовності CDR1, CDR2 і CDR3 варіабельної області легкого ланцюга відповідно під SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:33 та SEQ ID NO:34.

Вар. здійсн. 122. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-101 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де A¹ містить послідовність варіабельної області важкого ланцюга під SEQ ID NO:50 та послідовність варіабельної області легкого ланцюга під SEQ ID NO:59, або де A² містить послідовність варіабельної області важкого ланцюга під SEQ ID NO:50 та послідовність варіабельної області легкого ланцюга під SEQ ID NO:59.

Вар. здійсн. 123. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-101 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де A¹ не зв'язується з TNF-бета, або де A² не зв'язується з TNF-бета.

Вар. здійсн. 124. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-101 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де A¹ зв'язується з TNF-бета, або де A² зв'язується з TNF-бета.

Вар. здійсн. 125. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-101 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де A¹ нейтралізує індуковану людським TNF-альфа цитотоксичність у стандартному *in vitro* аналізі із застосуванням клітин L929 при значенні IC₅₀, що становить 1 X 10⁻⁷ М або менше, або де A² нейтралізує індуковану людським TNF-альфа цитотоксичність у стандартному *in vitro* аналізі із застосуванням клітин L929 при значенні IC₅₀, що становить 1 X 10⁻⁷ М або менше.

Вар. здійсн. 126. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-101 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де A¹ блокує взаємодію TNF-альфа з рецепторами клітинної поверхні p55 і p75, або де A² блокує взаємодію TNF-альфа з рецепторами клітинної поверхні p55 і p75.

Вар. здійсн. 127. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-101 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де A¹ спричиняє лізис *in vitro* клітин, що експресують поверхневий TNF, у присутності комплементу, або де A² спричиняє лізис *in vitro* клітин, що експресують поверхневий TNF, у присутності комплементу.

Вар. здійсн. 128. Сполука згідно з вар. здійсн. 111 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де розчинний рецептор p75 TNF являє собою етанерцепт.

Вар. здійсн. 129. Сполука згідно з вар. здійсн. 102 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де антитіло являє собою адаліумаб.

Вар. здійсн. 130. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-101, де A^1 зв'язується з Fc-гамма-рецептором, або де A^2 зв'язується з Fc-гамма-рецептором.

Вар. здійсн. 131. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-101, де A^1 є активним в аналізі щодо трансмембранного TNF-альфа із застосуванням репортера GRE та/або аналізі із застосуванням клітин L929, або де A^2 є активним в аналізі щодо гена-репортера GRE трансмембранного TNF-альфа та/або в аналізі із застосуванням клітин L929.

Вар. здійсн. 132. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1 або 102-131 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, яка являє собою будь-яку з хімічних структур, представлених у таблиці III, де n становить 1-5, і A являє собою A^1 або A^2 .

Вар. здійсн. 133. Сполука згідно з вар. здійсн. 132 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, яка являє собою будь-яку з хімічних структур, представлених у таблиці IV, де A являє собою A^1 або A^2 .

Вар. здійсн. 134. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1 або 102-131 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, яка являє собою будь-яку з хімічних структур, представлених у таблиці V, де n становить 1-5, і A являє собою A^1 або A^2 .

Вар. здійсн. 135. Сполука згідно з вар. здійсн. 134 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де n дорівнює 2 або 4.

Вар. здійсн. 136. Фармацевтична композиція, що містить сполуку згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-135 або її фармацевтичну прийнятну сіль або сольват і фармацевтично прийнятний носій.

Вар. здійсн. 137. Фармацевтична композиція, яка містить багато сполук згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-135 або фармацевтичну сіль або сольват кожної з них, де сполуки у фармацевтичній композиції містять в середньому від 1 до 10 SM-L-Q на A^1 або A^2 , тобто n становить 1-10, від 2 до 6 SM-L-Q на A^1 або A^2 , від 3 до 4 SM-L-Q на A^1 або A^2 , приблизно 2 SM-L-Q на A^1 або A^2 , приблизно 3 SM-L-Q на A^1 або A^2 або приблизно 4 SM-L-Q на A^1 або A^2 .

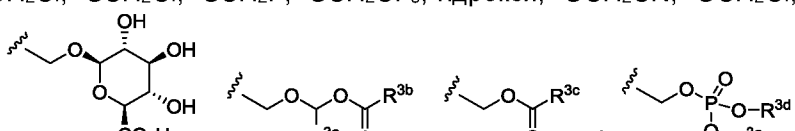
Вар. здійсн. 138. Спосіб здійснення лізису клітини, що експресує поверхневий TNF-альфа, який передбачає приведення клітини у контакт зі сполукою згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-135 або фармацевтичною композицією згідно з вар. здійсн. 136 або 137.

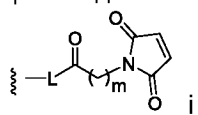
Вар. здійсн. 139. Спосіб лікування аутоімунного захворювання у пацієнта, який потребує цього, що передбачає введення указаному пацієнту сполуки згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-135 або фармацевтичної композиції згідно з вар. здійсн. 136 або 137.

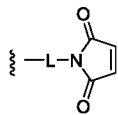
Вар. здійсн. 140. Спосіб згідно з вар. здійсн. 139, де вказане аутоімунне захворювання являє собою ревматоїдний артрит, ювенільний ідіопатичний артрит, псоріатичний артрит, анкілозуючий спондилоартрит, хворобу Крона у дорослих, хворобу Крона у дітей, неспецифічний виразковий коліт, бляшкоподібний псоріаз, гнійний гідраденіт, увейт, хворобу Бехчета, спондилоартропатію або псоріаз.

Вар. здійсн. 141. Спосіб лікування захворювання або розладу, який характеризується підвищенням рівнем TNF-альфа у синовіальній рідині, у пацієнта, який потребує цього, який передбачає введення указаному пацієнту сполуки згідно з будь-яким із вар. здійсн. 1-135 або фармацевтичної композиції згідно з вар. здійсн. 136 або 137.

Вар. здійсн. 142. Сполука, що характеризується формулою VII, або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де: R^1 вибраний із групи, що складається з водню та галогену; R^2 вибраний із групи, що складається з водню, галогену та гідрокси; R^3 вибраний із групи, що складається з $-CH_2OH$, $-CH_2SH$, $-CH_2Cl$, $-SCH_2Cl$, $-SCH_2F$, $-SCH_2CF_3$, гідрокси, $-OCH_2CN$, $-OCH_2Cl$, $-OCH_2F$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, -


SCH₂CN, R^{3a} вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; R^{3b} вибраний із групи, що складається з C₁₋₄алкілу та C₁₋₄алкокси; R^{3c} вибраний із групи, що складається з водню, C₁₋₄алкілу, $-CH_2OH$ і C₁₋₄алкокси; R^{3d} і R^{3e} незалежно вибрані з водню та C₁₋₄алкілу; X вибраний із групи, що складається з $-(CR^{4a}R^{4b})_t$, $-O-$, $-S-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-NR^5-$, $-CH_2S-$, $-CH_2O-$, $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$, $-CR^{4c}=CR^{4d}-$ і $-C\equiv C-$; або X відсутній; t дорівнює 1 або 2; Z вибраний із групи, що складається з $=CR^{11a}-$ та $=N-$; кожний із R^{4a} та R^{4b} незалежно вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; або R^{4a} та R^{4b} , взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють 3-6-членний циклоалкіл; R^{4c} і R^{4d} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; R^5 вибраний із групи, що складається з водню та C₁₋₄алкілу; кожний із R^{6a} , R^{6b} , R^{6c} і R^{6d} незалежно вибраний із групи, що складається з водню, галогену, C₁₋₄алкілу, v галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси; R^{7a} вибраний із групи, що складається

з водню та C₁₋₄алкілу; R^{7b} вибраний із групи, що складається з водню, $-L-H$, $-L-PG$,  і



; m дорівнює 1, 2, 3, 4, 5 або 6; L являє собою лінкер; PG являє собою захисну групу; R^{9f} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{8a} та R^{8b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{11a} та R^{11b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню, галогену, C_{1-4} алкілу, C_{1-4} галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси; i === являє собою одинарний або подвійний зв'язок.

Вар. здійсн. 143. Сполука згідно з вар. здійсн. 142 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7b} вибраний із групи, що складається з R^{7b-1} , R^{7b-2} і R^{7b-3} ; m дорівнює 1, 2, 3, 4, 5 або 6; i кожний із R^{10a} та R^{10b} незалежно вибраний із групи, що складається з водню та необов'язково заміщеного C_{1-6} алкілу.

Вар. здійсн. 144. Сполука згідно з вар. здійсн. 142 або 143 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, що характеризується формулою VIII.

Вар. здійсн. 145. Сполука згідно з вар. здійсн. 144 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, що характеризується формулою VIII-a.

Вар. здійсн. 146. Сполука згідно з вар. здійсн. 144 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, що характеризується формулою VIII-b.

Вар. здійсн. 147. Сполука згідно з вар. здійсн. 142 або 143 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, що характеризується формулою IX.

Вар. здійсн. 148. Сполука згідно з вар. здійсн. 147 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, що характеризується формулою IX-a.

Вар. здійсн. 149. Сполука згідно з вар. здійсн. 147 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, що характеризується формулою IX-b.

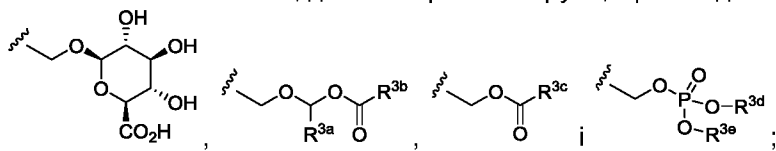
Вар. здійсн. 150. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 142-149 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де === являє собою подвійний зв'язок.

Вар. здійсн. 151. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 142-150 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^1 вибраний із групи, що складається з водню та фтору.

Вар. здійсн. 152. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 142-151 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^2 вибраний із групи, що складається з водню та фтору.

Вар. здійсн. 153. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 142-152 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^3 вибраний із групи, що складається з $-CH_2OH$, $-CH_2Cl$, $-SCH_2Cl$, $-SCH_2F$ і гідрокси.

Вар. здійсн. 154. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 142-152 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^3 вибраний із групи, що складається з:



R^{3a} вибраний із групи, що складається з водню та метилу; R^{3b} вибраний із групи, що складається з метилу, етилу, ізопропілу, ізобутилу, метокси, етокси, ізопропокси та ізобутокси; R^{3c} вибраний із групи, що складається з водню, метилу, етилу, $-CH_2OH$, метокси, етокси та ізопропокси; R^{3d} і R^{3e} незалежно вибрані з групи, що складається з водню, метилу та етилу.

Вар. здійсн. 155. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 142-154 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^5 і R^{8a} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та метилу.

Вар. здійсн. 156. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 142-155 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де Z являє собою $=CH-$.

Вар. здійсн. 157. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 142-155 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де Z являє собою $=N-$.

Вар. здійсн. 158. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 142-155 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7a} вибраний із групи, що складається з водню та метилу.

Вар. здійсн. 159. Сполука згідно з вар. здійсн. 158 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7a} являє собою водень.

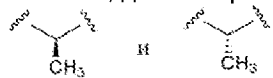
Вар. здійсн. 160. Сполука згідно з вар. здійсн. 158 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7a} являє собою метил.

Вар. здійсн. 161. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 142-160 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де:

X вибраний із групи, що складається з $-(CR^{4a}R^{4b})_t-$, $-O-$, $-S-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-CH_2S-$ і $-N(H)CH(R^{8a})-$; t дорівнює 1; i R^{4a} та R^{4b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та метилу; або R^{4a} та R^{4b} , взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють 3-членний циклоалкіл.

Вар. здійсн. 162. Сполука згідно з вар. здійсн. 161 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де X являє собою $-\text{CH}_2-$.

Вар. здійсн. 163. Сполука згідно з вар. здійсн. 161 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де X вибраний із групи, що складається з:



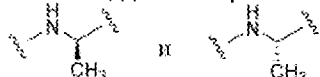
Вар. здійсн. 164. Сполука згідно з вар. здійсн. 161 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де X являє собою $-\text{O}-$.

Вар. здійсн. 165. Сполука згідно з вар. здійсн. 161 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де X являє собою $-\text{S}-$.

Вар. здійсн. 166. Сполука згідно з вар. здійсн. 161 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де X являє собою $-\text{CH}_2\text{S}-$.

Вар. здійсн. 167. Сполука згідно з вар. здійсн. 161 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де X являє собою $-\text{N}(\text{H})\text{CH}_2-$.

Вар. здійсн. 168. Сполука згідно з вар. здійсн. 161 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де X вибраний із групи, що складається з:



Вар. здійсн. 169. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 142-168 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{11b} являє собою водень.

Вар. здійсн. 170. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 142-169 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7b} являє собою водень.

Вар. здійсн. 171. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 142-170 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{6b} вибраний із групи, що складається з водню, $-\text{Cl}$, $-\text{OCH}_3$ і гідрокси.

Вар. здійсн. 172. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 142-171 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{9f} являє собою водень.

Вар. здійсн. 173. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 142-171 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{9f} являє собою метил.

Вар. здійсн. 174. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 142-173 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{11a} вибраний із групи, що складається з водню та гідрокси.

Вар. здійсн. 175. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 142-174 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{11b} являє собою водень.

Вар. здійсн. 176. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 143-175 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7b} являє собою R^{7b-1} .

Вар. здійсн. 177. Сполука згідно з вар. здійсн. 176 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{10a} та R^{10b} незалежно являють собою необов'язково заміщений C_{1-6} алкіл.

Вар. здійсн. 178. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 143-175 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7b} являє собою R^{7b-2} , і PG являє собою ВОС.

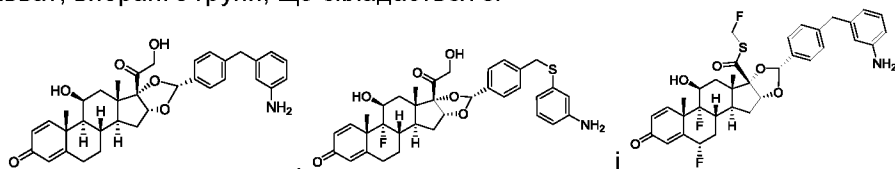
Вар. здійсн. 179. Сполука згідно з вар. здійсн. 178 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{10a} та R^{10b} незалежно являють собою необов'язково заміщений C_{1-6} алкіл.

Вар. здійсн. 180. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. 143-175 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7b} являє собою R^{7b-3} .

Вар. здійсн. 181. Сполука згідно з вар. здійсн. 180 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де m дорівнює 1 або 2, і кожний із R^{10a} та R^{10b} являє собою необов'язково заміщений C_{1-6} алкіл.

Вар. здійсн. 182. Сполука згідно з вар. здійсн. 142 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, яка являє собою будь-яку одну або декілька зі сполук, представлених у таблиці VI.

Вар. здійсн. 183. Сполука згідно з вар. здійсн. 182 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, вибрані з групи, що складається з:



Вар. здійсн. 184. Сполука згідно з вар. здійсн. 142 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, яка являє собою будь-яку одну або декілька із хімічних структур, представлених у таблиці VIII, де R^{7b} вибраний із групи, що складається з R^{7b-4} , R^{7b-5} і R^{7b-6} .

Вар. здійсн. 185. Сполука згідно з вар. здійсн. 184 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7b} являє собою R^{7b-4} .

Вар. здійсн. 186. Сполука згідно з вар. здійсн. 184 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7b} являє собою R^{7b-5} .

Вар. здійсн. 187. Сполука згідно з вар. здійсн. 184 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7b} являє собою R^{7b-6} .

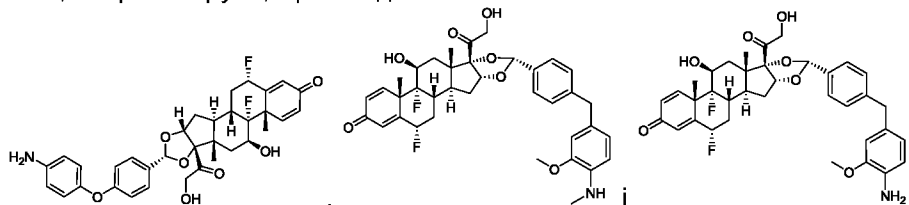
Вар. здійсн. 188. Сполука згідно з вар. здійсн. 142 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, яка являє собою будь-яку одну або декілька із хімічних структур, представлених у таблиці VIII,

де R^{7b} являє собою будь-яку з хімічних структур, представлених у таблиці IX.

Вар. здійсн. 189. Сполука згідно з вар. здійсн. 142 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, яка являє собою будь-яку зі сполук, представлених у таблиці X.

Вар. здійсн. 190. Сполука згідно з вар. здійсн. 142 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, яка являє собою будь-яку зі сполук, представлених у таблиці VII.

Вар. здійсн. 191. Сполука згідно з вар. здійсн. 190 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, вибрані з групи, що складається з:



Вар. здійсн. 192. Сполука згідно з вар. здійсн. 142 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, яка являє собою будь-яку зі сполук, представлених у таблиці XI, де R^{7b} вибраний із групи, що складається з R^{7b-4} , R^{7b-5} і R^{7b-6} .

Вар. здійсн. 193. Сполука згідно з вар. здійсн. 192 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7b} являє собою R^{7b-4} .

Вар. здійсн. 194. Сполука згідно з вар. здійсн. 192 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7b} являє собою R^{7b-5} .

Вар. здійсн. 195. Сполука згідно з вар. здійсн. 192 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7b} являє собою R^{7b-6} .

Вар. здійсн. 196. Сполука згідно з вар. здійсн. 142 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, яка являє собою будь-яку з хімічних структур, представлених у таблиці XI,

де R^{7b} являє собою будь-яку зі структур, представлених у таблиці IX.

Вар. здійсн. 197. Сполука згідно з вар. здійсн. 142 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, яка являє собою будь-яку зі сполук, представлених у таблиці XII.

Вар. здійсн. 198. Фармацевтична композиція, яка містить сполуку згідно з будь-яким із вар. здійсн. 142-197 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7b} являє собою водень, і фармацевтично прийнятний носій.

Вар. здійсн. 199. Спосіб лікування аутоімунного або запального захворювання у пацієнта, який потребує цього, при цьому спосіб передбачає введення указаному пацієнту сполуки згідно з будь-яким із вар. здійсн. 142-197 або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату, де R^{7b} являє собою водень, або фармацевтичної композиції згідно з вар. здійсн. 198.

Вар. здійсн. 200. Спосіб згідно з вар. здійсн. 199, де вказане аутоімунне захворювання являє собою ревматоїдний артрит, ювенільний ідіопатичний артрит, псоріатичний артрит, анкілозуючий спондилоартрит, хворобу Крона у дорослих, хворобу Крона у дітей, неспецифічний виразковий коліт, бляшкоподібний псоріаз або гнійний гідраденіт.

Вар. здійсн. 201. Спосіб одержання сполуки, що характеризується формулою I-c, або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату, де: A^1 являє собою білок, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа; L являє собою лінкер; n становить 1-10; i SM являє собою радикал на основі глюкокортикостероїду, при цьому спосіб включає: а) кон'югацію сполуки, що характеризується формулою X, з білком, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа; та б) виділення сполуки, що характеризується формулою I-c, або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату.

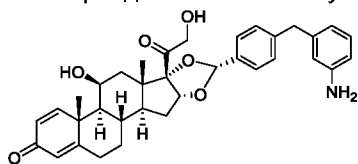
Вар. здійсн. 202. Спосіб згідно з вар. здійсн. 201, який додатково передбачає здійснення гідролізу сполуки, що характеризується формулою I-c, з одержанням сполуки, що характеризується формулою I-d.

Вар. здійсн. 203. Спосіб одержання сполуки, що характеризується формулою I-e, або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату, де: A^1 являє собою білок, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа; L являє собою лінкер; R^{7a} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; n становить 1-10; m дорівнює 1, 2, 3, 4, 5 або 6; i SM являє собою радикал на основі глюкокортикостероїду, при цьому спосіб включає: а) кон'югацію сполуки, що характеризується

формулою XI, з білком, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа; та b) виділення сполуки, що характеризується формулою I-e, або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату.

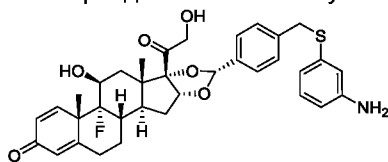
Вар. здійсн. 204. Спосіб згідно з вар. здійсн. 203, який додатково передбачає здійснення гідролізу сполуки, що характеризується формулою I-e, з одержанням сполуки, що характеризується формулою I-f.

Вар. здійсн. 205. Сполука згідно з вар. здійсн. 182, яка являє собою:



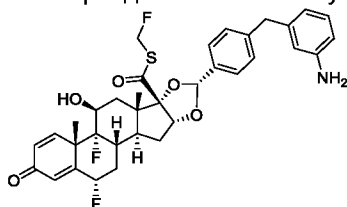
або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват.

Вар. здійсн. 206. Сполука згідно з вар. здійсн. 182, яка являє собою:



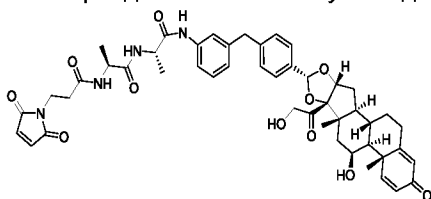
або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват.

Вар. здійсн. 207. Сполука згідно з вар. здійсн. 182, яка являє собою:



або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват.

Вар. здійсн. 208. Сполука згідно з вар. здійсн. 189, яка являє собою:



або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват.

Вар. здійсн. 209. Сполука згідно з вар. здійсн. 132 або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, яка являє собою будь-яку з хімічних структур, представлених у таблиці IV, де A являє собою A¹ або A².

В даному винаході також передбачені вар. здійсн. I – XXXIII як конкретні варіанти здійснення. Формули і таблиці, які згадуються в даних конкретних варіантах здійснення та які не показані у вар. здійсн. I – XXXII, викладені в описі вище.

Вар. здійсн. I. Сполука, що характеризується формулою I-a,

(SM-L-Q)_n-A¹ I-a,

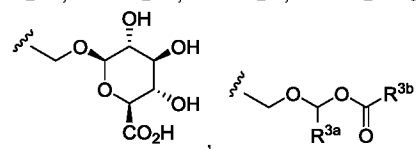
де: A¹ являє собою білок, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа; L являє собою лінкер; Q являє собою гетеробіфункціональну групу або гетеротрифункціональну групу або Q відсутній; n становить 1-10; і SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду.

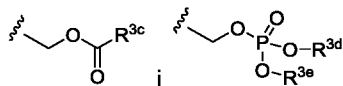
Вар. здійсн. II. Сполука, що характеризується формулою I-b,

(SM-L-Q)_n-A² I-b

де A² являє собою білок; L являє собою лінкер; Q являє собою гетеробіфункціональну групу або гетеротрифункціональну групу або Q відсутній; n становить 1-10; і SM являє собою радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-m або формулою II-p; R¹ вибраний із групи, що складається з водню та галогену; R² вибраний із групи, що складається з водню, галогену та гідрокси; R³ вибраний із групи, що складається з -CH₂OH, -CH₂SH, -CH₂Cl, -SCH₂Cl, -SCH₂F, -SCH₂CF₃,

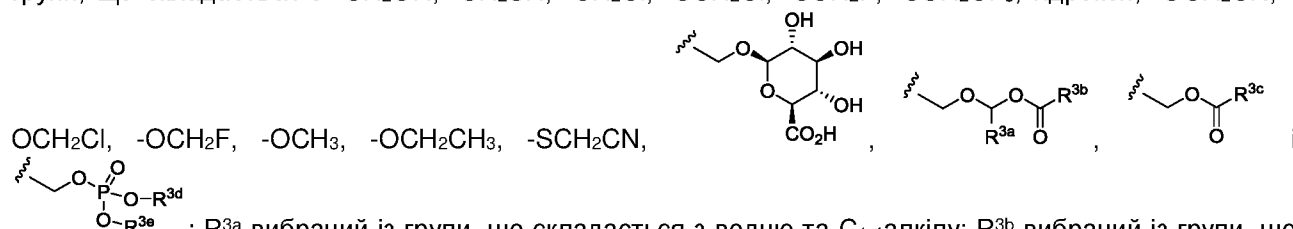
гідрокси, -OCH₂CN, -OCH₂Cl, -OCH₂F, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -SCH₂CN,





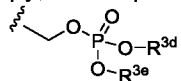
; R^{3a} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{3b} вибраний із групи, що складається з C_{1-4} алкілу та C_{1-4} алкокси; R^{3c} вибраний із групи, що складається з водню, C_{1-4} алкілу, $-CH_2OH$ і C_{1-4} алкокси; R^{3d} і R^{3e} незалежно вибрані з водню та C_{1-4} алкілу; кожний із R^{6a} , R^{6b} , R^{6c} , R^{6d} і R^{6e} незалежно вибраний із групи, що складається з водню, галогену, C_{1-4} алкілу, C_{1-4} галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси; X вибраний із групи, що складається з $-(CR^{4a}R^{4b})_t-$, $-O-$, $-S-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-NR^5-$, $-CH_2S-$, $-CH_2O-$, $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$, $-CR^{4c}=CR^{4d}-$ і $-C\equiv C-$; або X відсутній; Y^2 вибраний із групи, що складається з $-O-$, $-S-$ і $-N(R^{7a})-$; або Y^2 відсутній; t дорівнює 1 або 2; Z вибраний із групи, що складається з $=CR^{11a}-$ та $=N-$; кожний із R^{4a} та R^{4b} незалежно вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; або R^{4a} та R^{4b} , взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють 3-6-членний циклоалкіл; R^{4c} і R^{4d} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^5 вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{7a} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{8a} та R^{8b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{9f} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{11a} та R^{11b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню, галогену, C_{1-4} алкілу, C_{1-4} галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси; $i =$ являє собою одинарний або подвійний зв'язок.

Вар. здійсн. III. Сполука згідно з вар. здійсн. I або II, де SM являє собою радикал на основі глюкокортикостероїду, що характеризується формулою II-m; R^1 вибраний із групи, що складається з водню та галогену; R^2 вибраний із групи, що складається з водню, галогену та гідрокси; R^3 вибраний із групи, що складається з $-CH_2OH$, $-CH_2SH$, $-CH_2Cl$, $-SCH_2Cl$, $-SCH_2F$, $-SCH_2CF_3$, гідрокси, $-OCH_2CN$,



; R^{3a} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{3b} вибраний із групи, що складається з C_{1-4} алкілу та C_{1-4} алкокси; R^{3c} вибраний із групи, що складається з водню, C_{1-4} алкілу, $-CH_2OH$ і C_{1-4} алкокси; R^{3d} і R^{3e} незалежно вибрані з водню та C_{1-4} алкілу; кожний із R^{6a} , R^{6c} , R^{6d} та R^{6e} незалежно вибраний із групи, що складається з водню, галогену, C_{1-4} алкілу, C_{1-4} галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси; X вибраний із групи, що складається з $-(CR^{4a}R^{4b})_t-$, $-O-$, $-S-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-NR^5-$, $-CH_2S-$, $-CH_2O-$, $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$, $-CR^{4c}=CR^{4d}-$ і $-C\equiv C-$; або X відсутній; Y^2 вибраний із групи, що складається з $-O-$, $-S-$ і $-N(R^{7a})-$; або Y^2 відсутній; t дорівнює 1 або 2; Z являє собою $=CH-$; кожний із R^{4a} та R^{4b} незалежно вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; або R^{4a} та R^{4b} , взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють 3-6-членний циклоалкіл; R^{4c} і R^{4d} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^5 вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{7a} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{8a} та R^{8b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{9f} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{11b} вибраний із групи, що складається з водню, галогену, C_{1-4} алкілу, C_{1-4} галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси; $i =$ являє собою одинарний або подвійний зв'язок.

Вар. здійсн. IV. Сполука згідно з вар. здійсн. II або III, де $=$ являє собою подвійний зв'язок; R^1 вибраний із групи, що складається з водню та фтору; R^2 вибраний із групи, що складається з водню та фтору; R^3 вибраний із групи, що складається з $-CH_2OH$, $-CH_2Cl$, $-SCH_2Cl$, $-SCH_2F$ і



; R^{3d} і R^{3e} незалежно вибрані з групи, що складається з водню, метилу та етилу; R^{6a} , R^{6c} , R^{6d} і R^{6e} являють собою водень; X вибраний із групи, що складається з $-CH_2-$, $-O-$, $-S-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-CH_2S-$ і $-N(H)CH_2-$; Y^2 являє собою $-N(H)-$; Z являє собою $=CH-$; R^{9f} являє собою водень; i R^{11b} являє собою водень.

Вар. здійсн. V. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. I – IV, де L являє собою лінкер, який передбачає дипептид.

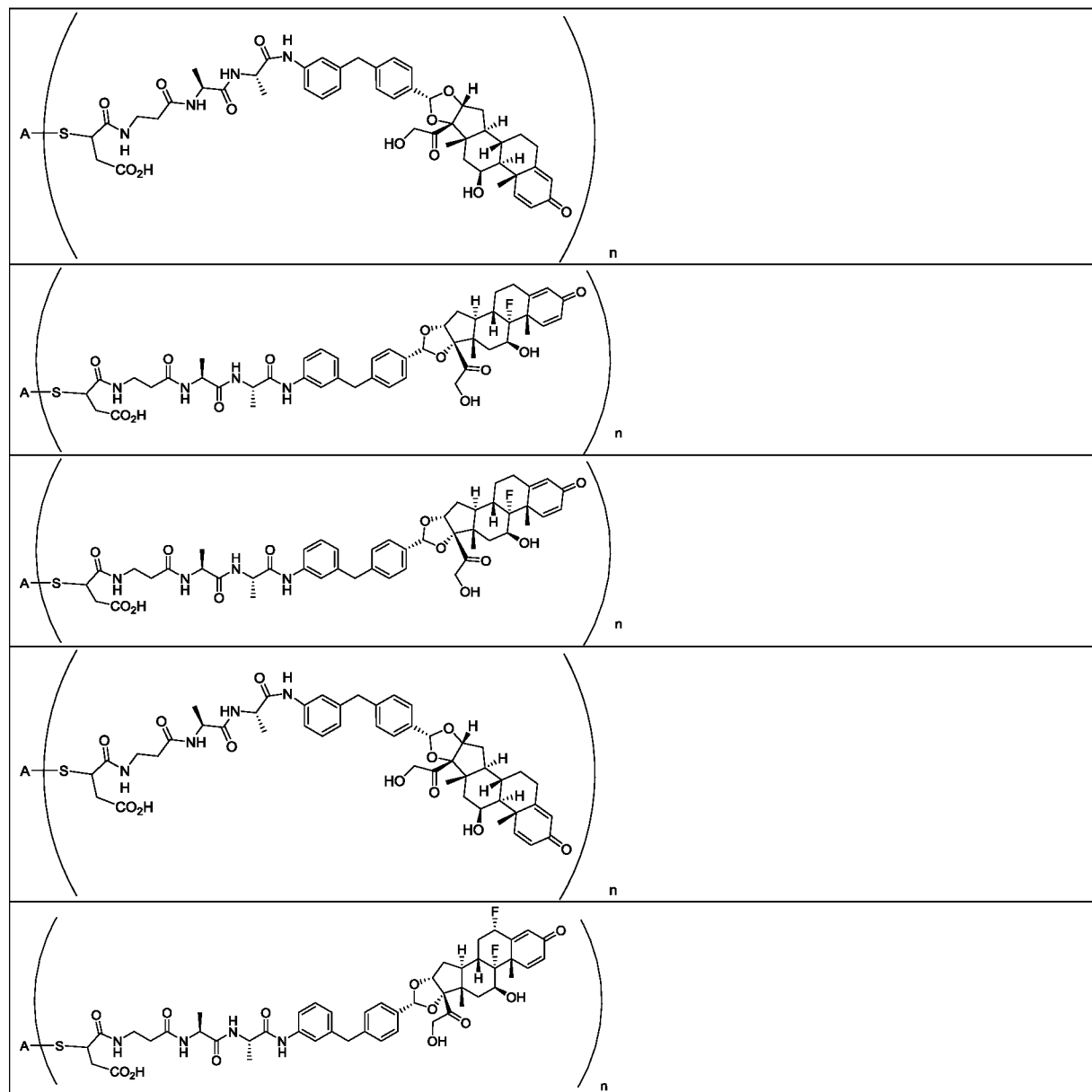
Вар. здійсн. VI. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. I – V, де Q являє собою гетеробіфункціональну групу, вибрану з групи, що складається з Q-3 і Q-4, і m дорівнює 1, 2, 3 або 4.

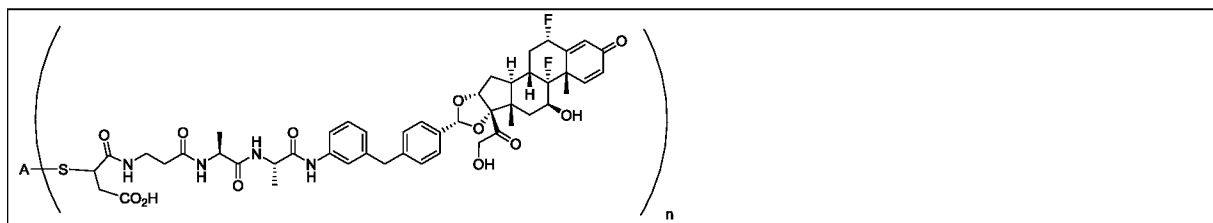
Вар. здійсн. VII. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. I – VII, де $-L-Q-$ являє собою LQ-7; m дорівнює 2 або 3; і R^{10a} та R^{10b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу.

Вар. здійсн. VIII. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. I-VII, де n становить 2-5.

Вар. здійсн. IX. Сполука згідно з вар. здійсн. I або II, де SM являє собою одновалентний радикал на основі глюкокортикостероїду, який являє собою будь-яку зі сполук, представлених у таблиці II.

Вар. здійсн. XIV. Сполука, вибрана з групи, що складається з:





де n становить 1-5, і А являє собою антитіло, що містить послідовності важкого та легкого ланцюгів відповідно під SEQ ID NO:66 та SEQ ID NO:73.

Вар. здійсн. XV. Сполука згідно з вар. здійсн. XIV, вибрана з групи, що складається з:

Структура		n
	4	4
	2	2
	4	4
	2	2
	4	4
	2	2

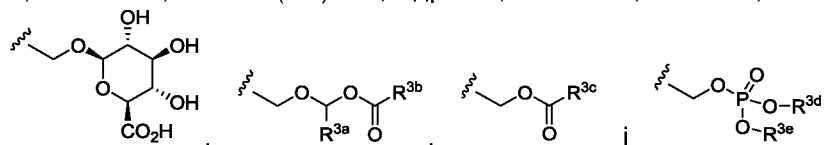
Вар. здійсн. XVI. Сполука згідно з вар. здійсн. XIV, де сполука являє собою:

Структура	n
	2

Вар. здійсн. XXII. Фармацевтична композиція, що містить сполуку згідно з будь-яким із вар. здійсн. I – XXI і фармацевтично прийнятний носій.

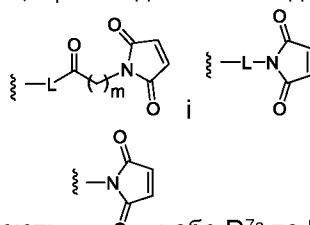
Вар. здійсн. XXIII. Спосіб лікування аутоімунного захворювання у пацієнта, який потребує цього, що передбачає введення указаному пацієнту сполуки згідно з будь-яким із вар. здійсн. I – XXI або фармацевтичної композиції згідно з вар. здійсн. XXII, де необов'язково вказане аутоімунне захворювання являє собою ревматоїдний артрит, ювенільний ідіопатичний артрит, псоріатичний артрит, анкілозуючий спондилоартрит, хворобу Крона у дорослих, хворобу Крона у дітей, неспецифічний виразковий коліт, бляшкоподібний псоріаз, гнійний гідраденіт, увеїт, хворобу Бехчета, спондилоартропатію або псоріаз.

Вар. здійсн. XXIV. Сполука, що характеризується формулою VII, або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^1 вибраний із групи, що складається з водню та галогену; R^2 вибраний із групи, що складається з водню, галогену та гідрокси; R^3 вибраний із групи, що складається з $-CH_2OH$, $-CH_2SH$, $-CH_2Cl$, $-SCH_2Cl$, $-SCH_2F$, $-SCH_2CF_3$, $-CH_2OS(=O)_2OH$, гідрокси, $-OCH_2CN$, $-OCH_2Cl$, $-OCH_2F$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-SCH_2CN$,



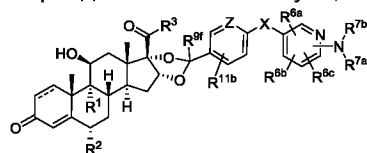
виробаний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{3b} вибраний із групи, що складається з C_{1-4} алкілу та C_{1-4} алкокси; R^{3c} вибраний із групи, що складається з водню, C_{1-4} алкілу, $-CH_2OH$, C_{1-4} алкокси, $-CH_2$ (аміно) та $-CH_2CH_2C(=O)OR^{3f}$; R^{3d} і R^{3e} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{3f} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; X вибраний із групи, що складається з $-(CR^{4a}R^{4b})_t$, $-O-$, $-S-$, $-S(=O)-$, $-S(=O)_2-$, $-NR^{5-}$, $-CH_2S-$, $-CH_2O-$, $-N(H)C(R^{8a})(R^{8b})-$, $-CR^{4c}=CR^{4d}-$, $-C\equiv C-$, $-N(R^5)C(=O)-$ та $-OC(=O)-$; або X відсутній; t дорівнює 1 або 2; Z вибраний із групи, що складається з $=CR^{11a}-$ та $=N-$; кожний із R^{4a} та R^{4b} незалежно вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; або R^{4a} та R^{4b} , взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють 3-6-членний циклоалкіл; R^{4c} і R^{4d} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^5 вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; кожний із R^{6a} , R^{6b} , R^{6c} і R^{6d} незалежно вибраний із групи, що складається з водню, галогену, C_{1-4} алкілу, галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси; R^{7a} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{7b} вибраний із

групи, що складається з водню, $-L-H$, $-L-PG$,

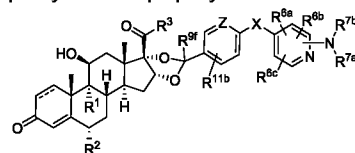


атомом азоту, до якого вони приєднані, утворюють ; або R^{7a} та R^{7b} , взяті разом з атомом азоту, до якого вони приєднані, утворюють нітрогрупу ($-NO_2$); m дорівнює 1, 2, 3, 4, 5 або 6; L являє собою лінкер; PG являє собою захисну групу; R^{9f} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{8a} та R^{8b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; R^{11a} та R^{11b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню, галогену, C_{1-4} алкілу, C_{1-4} галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси; i == являє собою одинарний або подвійний зв'язок.

Вар. здійсн. XXV. Сполука, що характеризується формулою VII-A або формулою VII-B,



VII-A або



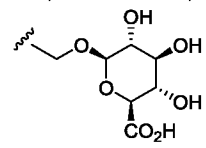
VII-B,

або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де:

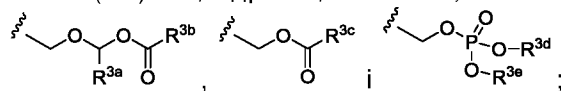
R^1 вибраний із групи, що складається з водню та галогену;

R^2 вибраний із групи, що складається з водню, галогену та гідрокси;

R^3 вибраний із групи, що складається з $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{SH}$, $-\text{CH}_2\text{Cl}$, $-\text{SCH}_2\text{Cl}$, $-\text{SCH}_2\text{F}$, $-\text{SCH}_2\text{CF}_3$, -



$\text{CH}_2\text{OS}(=\text{O})_2\text{OH}$, гідрокси, $-\text{OCH}_2\text{CN}$, $-\text{OCH}_2\text{Cl}$, $-\text{OCH}_2\text{F}$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$, $-\text{SCH}_2\text{CN}$,



R^{3a} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу;

R^{3b} вибраний із групи, що складається з C_{1-4} алкілу та C_{1-4} алкокси;

R^{3c} вибраний із групи, що складається з водню, C_{1-4} алкілу, $-\text{CH}_2\text{OH}$, C_{1-4} алкокси, $-\text{CH}_2(\text{аміно})$ та $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{OR}^{3f}$;

R^{3d} і R^{3e} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу;

R^{3f} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; X вибраний із групи, що складається з $-(\text{CR}^{4a}\text{R}^{4b})_t-$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{NR}^5-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$, $-\text{CH}_2\text{O}-$, $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{R}^{8a})(\text{R}^{8b})-$, $-\text{CR}^{4c}=\text{CR}^{4d}-$, $-\text{C}\equiv\text{C}-$, $-\text{N}(\text{R}^5)\text{C}(=\text{O})-$ та $-\text{OC}(=\text{O})-$; або

X відсутній;

t дорівнює 1 або 2;

Z вибраний із групи, що складається з $=\text{CR}^{11a}-$ та $=\text{N}-$;

кожний із R^{4a} та R^{4b} незалежно вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; або

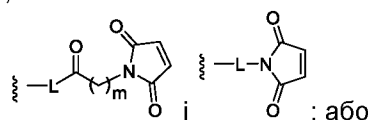
R^{4a} та R^{4b} , взяті разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють 3-6-членний циклоалкіл;

R^{4c} і R^{4d} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу;

R^5 вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу;

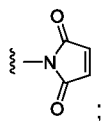
кожний із R^{6a} , R^{6b} і R^{6c} незалежно вибраний із групи, що складається з водню, галогену, C_{1-4} алкілу, галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси;

R^{7a} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу;



R^{7b} вибраний із групи, що складається з водню, $-\text{L}-\text{H}$, $-\text{L}-\text{PG}$,

R^{7a} та R^{7b} , взяті разом з атомом азоту, до якого вони приєднані, утворюють:



m дорівнює 1, 2, 3, 4, 5 або 6;

L являє собою лінкер;

PG являє собою захисну групу;

R^{9f} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу;

R^{8a} та R^{8b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу;

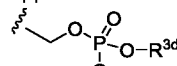
R^{11a} та R^{11b} незалежно вибрані з групи, що складається з водню, галогену, C_{1-4} алкілу, C_{1-4} галогеналкілу, ціано, гідрокси, тіолу, аміно, алкілтіо та алкокси; і

$==$ являє собою одинарний або подвійний зв'язок.

Вар. здійсн. XXVI. Сполука згідно з вар. здійсн. XXIV або XXV або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7b} вибраний із групи, що складається з R^{7b-1} , R^{7b-2} і R^{7b-3} ; m дорівнює 1, 2, 3, 4, 5 або 6; і кожний із R^{10a} та R^{10b} незалежно вибраний із групи, що складається з водню та необов'язково заміщеного C_{1-6} алкілу.

Вар. здійсн. XXVII. Сполука згідно з вар. здійсн. XXIV або XXVI або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, що характеризується формулою VIII-a.

Вар. здійсн. XXVIII. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. XXIV – XXVII або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де $==$ являє собою подвійний зв'язок; R^1 вибраний із групи, що складається з водню та фтору; R^2 вибраний із групи, що складається з водню та фтору; R^3 вибраний із



групи, що складається з $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{Cl}$, $-\text{SCH}_2\text{Cl}$, $-\text{SCH}_2\text{F}$ і

з групи, що складається з водню, метилу та етилу; Z являє собою $=\text{CH}-$; R^{6a} , R^{6b} , R^{6c} і R^{6d} являють собою водень; R^{7a} являє собою водень; X вибраний із групи, що складається з $-\text{CH}_2-$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$ і $-\text{N}(\text{H})\text{CH}_2-$; R^{9f} являє собою водень; і R^{11b} являє собою водень.

Вар. здійсн. XXIX. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. XXIV – XXVIII або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7b} являє собою водень.

Вар. здійсн. XXX. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. XXIV – XXVIII або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7b} являє собою R^{7b-1} .

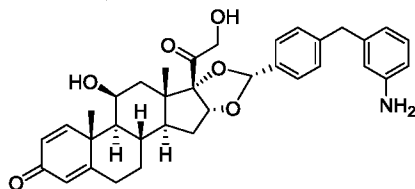
Вар. здійсн. XXXI. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. XXIV – XXVIII або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7b} являє собою R^{7b-2} , і PG являє собою BOC.

Вар. здійсн. XXXII. Сполука згідно з будь-яким із вар. здійсн. XXIV – XXVIII або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, де R^{7b} являє собою R^{7b-3} .

Вар. здійсн. XXXIII. Сполука згідно з вар. здійсн. XXIX або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, яка являє собою будь-яку одну або декілька зі сполук, представлених у таблиці VI.

Вар. здійсн. XXXIV. Сполука згідно з вар. здійсн. XXIX або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, яка являє собою будь-яку зі сполук, представлених у таблиці VII.

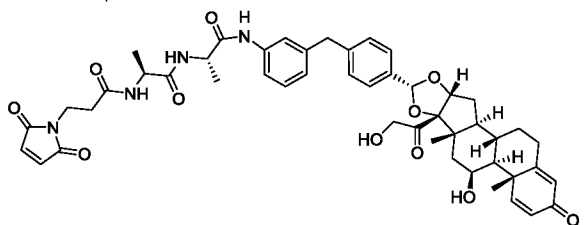
Вар. здійсн. XXXV. Сполука згідно з вар. здійсн. XXXIII або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, яка являє собою:



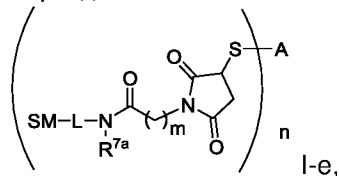
Вар. здійсн. XXXVI. Сполука згідно з вар. здійсн. XXIV або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, яка являє собою будь-яку одну або декілька зі сполук, представлених у таблиці VIII, де R^{7b} вибраний із групи, що складається з R^{7b-4} , R^{7b-5} і R^{7b-6} .

Вар. здійсн. XXXVII. Сполука згідно з вар. здійсн. XXIV або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, яка являє собою будь-яку одну або декілька зі сполук, представлених у таблиці X.

Вар. здійсн. XXXVIII. Сполука згідно з вар. здійсн. XXXVII або її фармацевтично прийнятні сіль або сольват, яка являє собою:



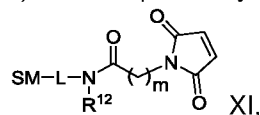
Вар. здійсн. XXXIX. Спосіб одержання сполуки, що характеризується формулою I-e,



або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату, де A являє собою A^1 або A^2 ; A^1 являє собою білок, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа; A^2 являє собою білок; L являє собою лінкер; R^{7a} вибраний із групи, що складається з водню та C_{1-4} алкілу; n становить 1-10; m дорівнює 1, 2, 3, 4, 5 або 6; і SM являє собою радикал на основі глюкокортикостероїду,

при цьому спосіб включає:

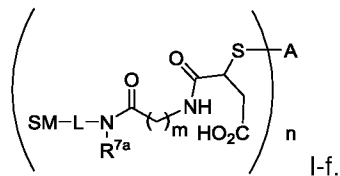
а) кон'югацію сполуки, що характеризується формулою XI,



з білком, що пригнічує активність фактора некрозу пухлин (TNF) альфа, або з білком і

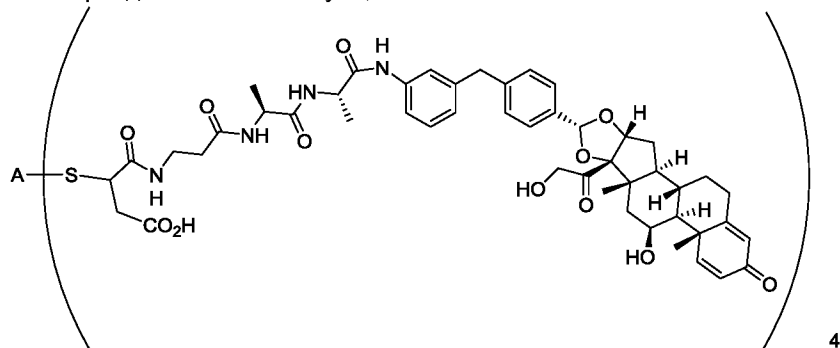
б) виділення сполуки, що характеризується формулою I-e, або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату.

Вар. здійсн. XL. Спосіб згідно з вар. здійсн. XXXIV, який додатково передбачає здійснення гідролізу сполуки, що характеризується формулою I-e, з одержанням сполуки, що характеризується формулою I-f,



або її фармацевтично прийнятних солі або сольвату.

Вар. здійсн. XLI. Сполука, яка являє собою:



де А являє собою адалімумаб.

Вар. здійсн. XLII. Композиція, яка містить сполуку згідно з вар. здійсн. XLI.

Варіанти здійснення даного винаходу можуть бути додатково визначені за допомогою посилання на наступні необмежувальні приклади, які докладно описують одержання певних антитіл за даним винаходом та способи застосування антитіл за даним винаходом. Спеціалістам в даній галузі техніки буде очевидно, що без відхилення від обсягу даного винаходу на практиці може бути реалізовано багато модифікацій, як матеріалів, так і способів.

Приклади

Зрозуміло, що описані у даному документі приклади та варіанти здійснення призначені лише для ілюстративних цілей, і з урахуванням цього фахівці в даній галузі зможуть припустити різні модифікації або зміни, які будуть знаходитись у межах суті та сфери дії даного винаходу.

Аналітичні способи синтезу сполук та визначення характеристик

Аналітичні дані включені в процедури, наведені нижче, в ілюстрації загальних процедур або в таблиці прикладів. Якщо інше не вказано, то всі дані ^1H і ^{13}C ЯМР одержували на приладі Varian Mercury Plus, 400 МГц, або Bruker AVIII, 300 МГц; хімічні зсуви вказані в частинах на мільйон (ppm). Аналітичні дані HPLC або докладно описано в експериментальній частині, або згадано у таблиці умов LC/MS і HPLC із застосуванням способу, передбаченого в Таблиця 7.

Таблиця 7

Перелік способів LC/MS та GC/MS

Спосіб	Умови
a	Гradient становив 10-100% В за 3,4 хв. з утриманням при 100% В протягом 0,45 хв., 100-10% В за 0,01 хв., і потім утримували при 10% В протягом 0,65 хв. (витрата 0,8 мл/хв.). Рухома фаза А являла собою 0,0375% трифтороцтової кислоти у воді, рухома фаза В являла собою 0,018% TFA у MeCN. Колонка, яку використовували для хроматографії, являла собою колонку Luna-C18, 2,0 x 50 мм, Phenomenex (частинки по 5 мкм). Способи детектування являють собою детектування за допомогою діодної матриці (DAD) і випарного детектора світлорозсіювання (ELSD), а також позитивну електророзпилювальну іонізацію (MS).
b	Gradient становив 1-90% В за 3,4 хв., 90-100% В за 0,45 хв., 100-1% В за 0,01 хв., і потім утримували при 1% В протягом 0,65 хв. (витрата 0,8 мл/хв.). Рухома фаза А являла собою 0,0375% $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ у воді, рухома фаза В являла собою 0,018% $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ у CH_3CN . Колонка, яку використовували для хроматографії, являла собою колонку Luna-C18, 2,0 x 50 мм, Phenomenex (частинки по 5 мкм). Способи детектування являють собою детектування за допомогою діодної матриці (DAD) і випарного детектора світлорозсіювання (ELSD), а також позитивну електророзпилювальну іонізацію (MS).
c	Gradient становив 10-100% В за 3,4 хв. з утриманням при 100% В протягом 0,45 хв., 100-10% В за 0,01 хв., і потім утримували при 10% В протягом 0,65 хв. (витрата 0,8 мл/хв.). Рухома фаза А являла собою 0,0375% $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ у воді, рухома фаза В являла собою 0,018% $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ у CH_3CN . Колонка, яку використовували для хроматографії, являла собою колонку Luna-C18, 2,0 x 50 мм, Phenomenex (частинки по 5 мкм). Способи детектування являють собою детектування за допомогою діодної матриці (DAD) і випарного детектора світлорозсіювання (ELSD), а також позитивну електророзпилювальну іонізацію (MS).
d	Gradient становив 5% В за 0,2 хв. і досягав 95% В протягом 1,7 хв., потім з утриманням при 95% В протягом 1,3 хв., назад до 5% В протягом 0,01 хв. (витрата 2,3

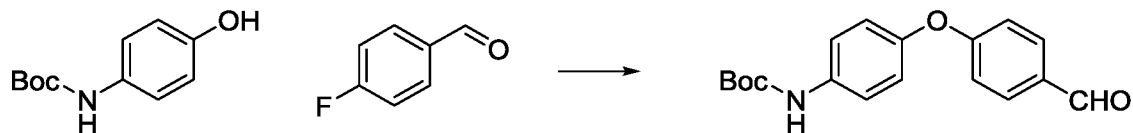
	мл/хв.). Рухома фаза А являла собою 0,01% TFA у воді, і рухома фаза В являла собою 0,01% TFA в MeCN ступеня чистоти для HPLC. Колонка, яку використовували для хроматографії, являла собою колонку XBridge C18 (4,6 x 50 мм, частинки по 3,5 мкм). Способи детектування являють собою детектування за допомогою діодної матриці (DAD) і випарного детектора світлорозсіювання (ELSD), а також позитивну/негативну електророзпилювальну іонізацію.
e	Гradient становив від 5% В до 95% В за 1,5 хв., потім з утримуванням при 95% В протягом 1,5 хв., назад до 5% В за 0,01 хв. (витрата 2,3 мл/хв.). Рухома фаза А являла собою 10 мМ NH ₄ HCO ₃ у воді, і рухома фаза В являла собою MeCN ступеня чистоти для HPLC. Колонка, яку використовували для хроматографії, являла собою колонку XBridge C18 (4,6 x 50 мм, частинки по 3,5 мкм). Способи детектування являють собою детектування за допомогою діодної матриці (DAD) і випарного детектора світлорозсіювання (ELSD), а також позитивну/негативну електророзпилювальну іонізацію.
f	Рухома фаза: А: вода (0,01% TFA); В: MeCN (0,01% TFA). Gradient: зростання В від 5% до 95% В за 1,2 хв., 95% В протягом 1,3 хв., назад до 5% В за 0,01 хв. за витрати 2,0 мл/хв. Колонка: SunFire C18 (4,6 x 50 мм, 3,5 мкм). Температура колонки: 50 °C. Детектування: УФ (214, 254 нм) і MS (ESI, позит. режим, 110-1000 а. о. м.).
g	Gradient становив 5% В за 0,1 хв. і досягав 95% В протягом 1,0 хв., потім з утримуванням при 95% В протягом 0,9 хв., назад до 5% В протягом 0,01 хв. (витрата 3,0 мл/хв.). Рухома фаза А являла собою 0,05% TFA у воді, і рухома фаза В являла собою 0,05% TFA в MeCN ступеня чистоти для HPLC. Колонка, яку використовували для хроматографії, являла собою колонку для швидкого розділення Zorbax SB-C18 Rapid Resolution HT (4,6 x 30 мм, частинки по 1,8 мкм). Способи детектування являють собою детектування за допомогою діодної матриці (DAD) і випарного детектора світлорозсіювання (ELSD), а також позитивну/негативну електророзпилювальну іонізацію.
h	Рухома фаза: А: вода (0,1% TFA); В: MeCN (0,1% TFA). Gradient: зростання В від 5% до 95% В за 1,3 хв., 95% В протягом 1,5 хв., назад до 5% В за 0,01 хв. за витрати 2 мл/хв. Колонка: SunFire C18 (4,6 x 50 мм, 3,5 мкм). Температура колонки: 50 °C.
i	Рухома фаза: А: вода (0,01% TFA); В: MeCN (0,01% TFA). Gradient: 5% В протягом 0,2 хв., зростання до 95% В за 1,5 хв., 95% В протягом 1,5 хв., назад до 5% В за 0,01 хв., за витрати 2 мл/хв. Колонка: SunFire C18 (50 x 4,6 мм, 3,5 мкм). Температура колонки: 50 °C.
j	Рухома фаза: А: вода (0,05% TFA); В: MeCN (0,05% TFA). Gradient: зростання від 5% до 100% В за 1,3 хв. за витрати 2 мл/хв. Колонка: SunFire C18 (4,6 x 50 мм, 3,5 мкм). Детектування: УФ (214, 254 нм) і MS (ESI, позит. режим, 110-1000 а. о. м.). Температура колонки: 50 °C.
k	Рухома фаза: А: вода (10 мМ NH ₄ HCO ₃); В: MeCN. Gradient: зростання від 5% до 95% В за 1,5 хв. за витрати 1,8 мл/хв. Колонка: XBridge C18 (4,6 x 50 мм, 3,5 мкм). Температура колонки: 50 °C.
l	Рухома фаза: А: вода (10 мМ NH ₄ HCO ₃); В: MeCN. Gradient: зростання від 10% до 95% В за 1,5 хв. за витрати 1,8 мл/хв. Колонка: Xbridge C18(2) (4,6 x 50 мм, 3,5 мкм). Температура колонки: 50 °C. Детектування: УФ (214, 254 нм) і MS (ESI, позит. режим, 103-800 а. о. м.).
m	Рухома фаза: А: вода (0,01% TFA), В: MeCN (0,01% TFA). 5% В зростання до 95% В за 1,2 хв, 95% В протягом 1,3 хв, назад до 5% В за 0,01хв. Витрата: 2,0 мл/хв. Колонка: SunFire C18, 4,6*50 мм, 3,5мкм. Температура колонки: 50 °C. Детектування: УФ (214, 4 нм) і MS (ESI, позит. режим, 110-1000 а. о. м.).
n	Gradient становив 10-100% В за 3,4 хв. з утримуванням при 100% В за 0,45 хв., 100-10% В за 0,01 хв., і потім утримували при 10% В протягом 0,65 хв. (витрата 0,8 мл/хв.). Рухома фаза А являла собою 0,0375% TFA у воді. Рухома фаза В являла собою 0,018% TFA у CH ₃ CN. Колонка, яку використовували для хроматографії, являла собою колонку Luna-C18, Phenomenex (2,0 x 50 мм, частинки по 5 мкм). Способи детектування являють собою детектування за допомогою діодної матриці (DAD) і випарного детектора світлорозсіювання (ELSD), а також позитивну електророзпилювальну іонізацію (MS).
o	Застосовували gradient 5-100% MeCN (А) і 10 мМ ацетату амонію у воді (В) за витрати 1,5 мл/хв. (0-0,05 хв. 5% А, 0,05-1,2 хв. 5-100% А, 1,2-1,4 хв. 100% А, 1,4-1,5 хв. 100-5% А, післястартове відстрочення 0,25 хв.).
q	2 спарені колонки C8, 5 мкм, 100 Å, Waters Sunfire (кожна 30 мм x 75 мм). Застосовували gradient MeCN (А) та 10 мМ ацетату амонію у воді (В) за витрати 50 мл/хв. (0-0,5 хв. 5%

	A, 0,5-8,5 хв. лінійний градієнт від X до Y% A, 8,7-10,7 хв. 100% A, 10,7-11 хв. лінійний градієнт 100-05% A). Лінійний градієнт вказано у процедурі синтезу сполуки.
r	Застосовували градієнт 5-100% MeCN (A) і 0,1% TFA у воді (B) за витрати 1,5 мл/хв. (0-0,05 хв. 5% A, 0,05-1,2 хв. 5-100% A, 1,2-1,4 хв. 100% A, 1,4-1,5 хв. 100-5% A, післястартове відстрочення 0,25 хв.).
s	Аналітичну UPLC-MS проводили на системах мас-спектрометра Waters SQD і Acquity UPLC, що працюють під контролем програмного забезпечення MassLynx 4.1 і Openlynx 4.1. Мас-спектрометр SQD експлуатували в умовах позитивної іонізації APCI. Застосовували колонку Waters BEH C8, 1,7 мкм (2,1 мм × 30 мм) за температури 55 °C. Застосовували градієнт 10-100% ацетонітрилу (A) і 10 mM ацетату амонію у воді (B) за витрати 1,0 мл/хв. (0-0,1 хв. 10% A, 0,1-1,1 хв. 10-100% A, 1,1-1,3 хв. 100% A, 1,3-1,4 хв. 100-10% A).

Абревіатури, що застосовуються у прикладах, є наступними.

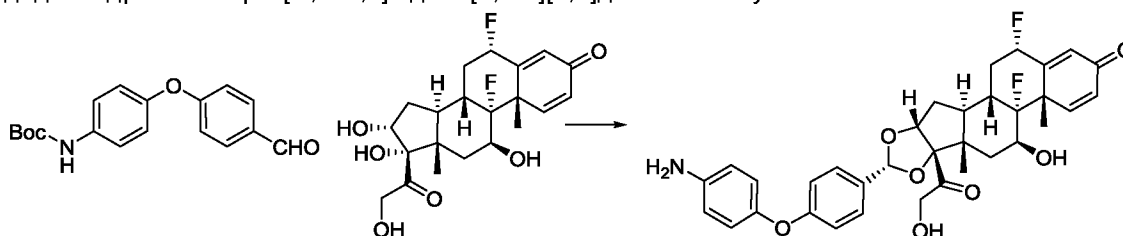
APCI	Хімічна іонізація за атмосферного тиску	HIC	Хроматографія гідрофобної взаємодії
Bn	Бензил	HPLC	Високоєфективна рідинна хроматографія
BOC	Трет-бутилоксикарбоніл	IBX	2-Йодоксибензойна кислота
BSA	Альбумін бичачої сироватки	MeCN	ацетонітрил
Cbz	Карбобензилокси	MeOH	Метанол
CuCN	Ціанід міді	MgSO ₄	Сульфат магнію
D ₂ O	Дейтерована вода	хв.	хвилина(и)
DAD	Діодна матриця	MP-NaCNBH ₃	Ціаноборогідрид натрію на твердій підкладці
DCM	Дихлорметан	MTBE	Диметил-метил-трет-бутиловий етер
DIAD	Діізопропілазодикарбоксилат	NaCN	Ціанід натрію
DIPEA	N,N-діізопропілетиламін	NaHCO ₃	Гідрокарбонат натрію
DMA	Диметилацетамід	NaHSO ₃	Гідросульфат натрію
DMF	Диметилформамід	Na ₂ SO ₄	Сульфат натрію
DMSO	Диметилсульфоксид	ЯМР	Ядерний магнітний резонанс
EIC	Хроматограма за виділеним іоном	Pd ₂ dba ₃	Трис(добензиліденацетон)дипаладій(0)
ELSD	Випарний детектор світлорозсіювання	PBST	Фосфатно-сольовий буферний розчин з Tween 20
екв.	Еквівалент	PE	Петролейний етер
Et ₂ O	Діетиловий етер	PPh ₃	Трифенілфосфін
EtOAc	Етилацетат		
Fmoc	9-Флуоренілметилоксикарбоніл	RP	Обернена фаза
h	година (-и)	R _t	Час утримування
H ₂ SO ₄	Сірчана кислота	TBAF	Тетрабутиламонію фторид
HATU	1-[Біс(диметиламіно)метилен]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]піридин-3-оксиду гексафторфосфат	TBS-Cl	Трет-бутилхлордиметилсилан
HCl	Хлористоводнева кислота	TFA	Трифтороцтова кислота
HEPES	4-(2-Гідроксиетил)-1-піперазинетансульфонова кислота	TLC	Тонкошарова хроматографія

Приклад 1. Синтез (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(4-амінофенокси)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону
Стадія 1. Синтез трет-бутил(4-(4-формілфенокси)феніл)карбамату



До розчину трет-бутил(4-гідроксифеніл)карбамату (10 г, 47,8 ммоль) і 4-фторбензальдегіду (11,86 г, 96 ммоль) у N,N-диметилформаміді (100 мл) додавали карбонат калію (39,6 г, 287 ммоль). Суміш перемішували за 90°C протягом 5 годин. Готували, як описано вище, один додатковий флакон. Дві реакційні суміші повністю об'єднували і розводили за допомогою DCM (300 мл), потім екстрагували водою (3 X 100 мл). Органічний шар промивали сольовим розчином (100 мл) і висушували над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували за зниженого тиску. Залишок очищували за допомогою колонкової хроматографії (елюювали за допомогою PE: EtOAc = від 30:1 до 5:1) з одержанням цільової сполуки (20 г, 63,8 ммоль, вихід 66,7%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. ¹H ЯМР (400MHz, DMSO-d₆) δ 9,91 (s, 1H), 9,45 (s, 1H), 7,90 (d, J=8,6 Гц, 2H), 7,54 (d, J=8,8 Гц, 2H), 7,11 - 7,02 (m, 4H), 1,48 (s, 9H).

Стадія 2. Синтез (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(4-амінофенокси)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону

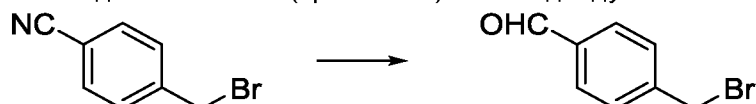


Забезпечували перемішування суспензії (6S,8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17S)-6,9-дифтор-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3H-циклопента[а]фенантрен-3-ону (4,5 г, 10,91 ммоль) і сульфату магнію (6,57 г, 54,6 ммоль) у MeCN (100 мл) за 20°C протягом 1 години. Однією порцією додавали розчин трет-бутил(4-(4-формілфенокси)феніл)карбамату (3,42 г, 10,91 ммоль) у MeCN (100 мл). За допомогою шприца по краплях додавали трифторметансульфонову кислоту (4,84 мл, 54,6 ммоль), підтримуючи при цьому внутрішню температуру 25 °C із застосуванням льодяної бані. Після завершення додавання суміш перемішували за 20°C протягом 2 годин. Готували, як описано вище, три додаткові флакони. Усі чотири реакційні суміші об'єднували і фільтрували, фільтрат концентрували за зниженого тиску з одержанням залишка, який очищували за допомогою Prep-HPLC з одержанням цільової сполуки (7,5 г, 12,34 ммоль, вихід 28,8%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. LCMS (Спосіб а, Таблиця 7) R_t = 2,21 хв.; MS маса/заряд = 608,3 (M+H)⁺; ¹H ЯМР (400MHz, DMSO-d₆) δ 7,36 (d, J=8,6 Гц, 2H), 7,27 (d, J=10,1 Гц, 1H), 6,85 (d, J=8,6 Гц, 2H), 6,75 (d, J=8,6 Гц, 2H), 6,58 (d, J=8,6 Гц, 2H), 6,29 (dd, J=1,3, 10,1 Гц, 1H), 6,13 (s, 1H), 5,76 - 5,65 (m, 1H), 5,62 - 5,57 (m, 1H), 5,54 (d, J=3,1 Гц, 1H), 5,44 (s, 1H), 5,12 (t, J=5,8 Гц, 1H), 5,00 (s, 2H), 4,94 (d, J=4,9 Гц, 1H), 4,53 (dd, J=6,4, 19,4 Гц, 1H), 4,26 - 4,14 (m, 2H), 2,72 - 2,58 (m, 1H), 2,34 - 2,17 (m, 2H), 2,04 (d, J=13,7 Гц, 1H), 1,77 - 1,62 (m, 3H), 1,49 (s, 3H), 0,86 (s, 3H). Спосіб Prep-HPLC: Прибор: система напівпрепаративної HPLC Gilson 281, рухома фаза: A: CF₃CO₂H/H₂O = 0,075% об./об; B: CH₃OH; колонка: Luna C18, 250*50 мм*10 мкм, Phenomenex; витрата: 80 мл/хв.; довжина хвилі спостереження: 220 & 254 нм.

Час	0,0	20,0	20,1	20,2	30,2	30,3	31,5
В%	28	58	58	100	100	28	28

Приклад 2. Синтез (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-амінобензил)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону

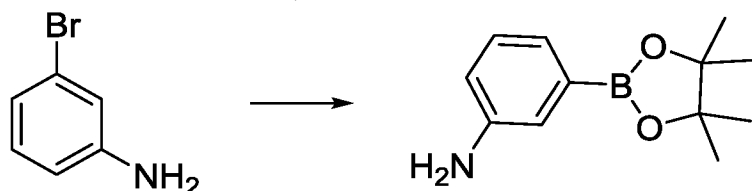
Стадія 1. Синтез 4-(бромметил)бензальдегіду



Діізобутилалюмінію гідрид (153 мл, 153 ммоль, 1 М у толуолі) додавали по краплях до розчину 4-(бромметил)бензонітрилу (20 г, 102 ммоль), що має температуру 0 °C, у толуолі (400 мл) протягом 1 години. Готували, як описано вище, два додаткові флакони. Всі три реакційні суміші об'єднували. До змішаного розчину додавали 10% водну HCl (1,5 л). Суміш екстрагували за допомогою DCM (3 X 500 мл). Органічний шар висушували над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували за зниженого тиску.

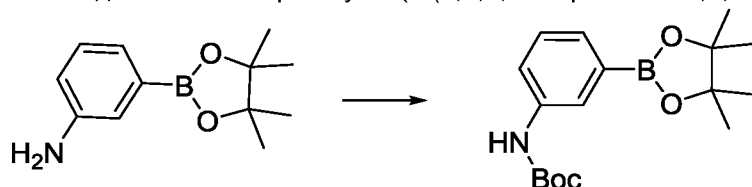
Залишок очищували за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (елюювали за допомогою PE/EtOAc = 10/1) з одержанням цільової сполуки (50 г, вихід 82%) у вигляді твердої речовини білого кольору. ¹H ЯМР (400MHz, хлороформ-d) δ 10,02 (s, 1H), 7,91 - 7,82 (m, 2H), 7,56 (d, J=7,9 Гц, 2H), 4,55 - 4,45 (m, 2H).

Стадія 2. Синтез 3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)аніліну



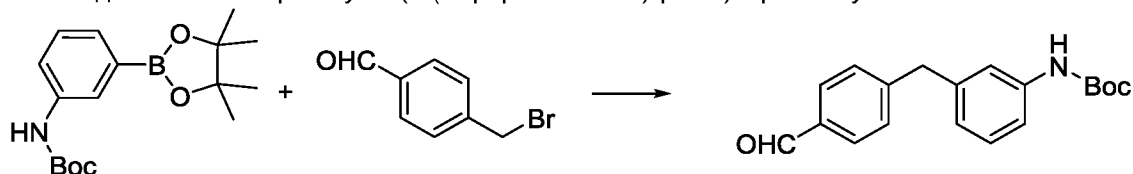
До розчину 3-броманіліну (40 г, 233 ммоль) в 1,4-діоксані (480 мл) додавали 4,4,4',4',5,5,5',5'-октаметил-2,2'-бі(1,3,2-діоксаборолан) (94 г, 372 ммоль), ацетат калію (45,6 г, 465 ммоль), 2-дициклогексилфосфіно-2',4',6'-триізопропіл-1,1'-біфеніл (X-phos) (8,07 г, 13,95 ммоль), трис(дибензиліденацетон)дипаладій(0) (8,52 г, 9,30 ммоль). Потім суміш нагрівали за 80 °С протягом 4 годин в атмосфері азоту. Готували, як описано вище, інший додатковий флакон. Дві реакційні суміші об'єднували, концентрували і залишок очищували за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (елюювали за допомогою PE/EtOAc = 10/1) з одержанням цільової сполуки (60 г, вихід 55,4%) у вигляді твердої речовини світло-жовтого кольору. ¹H ЯМР (400MHz, хлороформ-d) δ 7,23 - 7,13 (m, 3H), 6,80 (d, J=7,5 Гц, 1H), 3,82 - 3,38 (m, 2H), 1,34 (s, 12H).

Стадія 3. Синтез трет-бутил(3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)феніл)карбамату



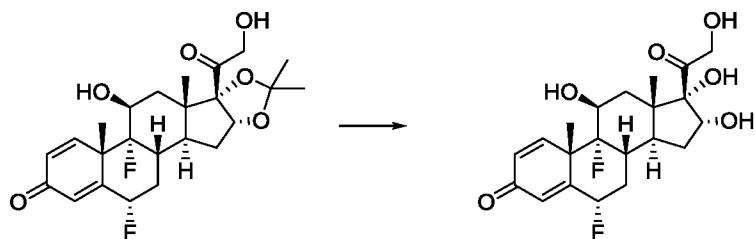
3-(4,4,5,5-Тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)анілін (30 г, 137 ммоль) і ди-трет-бутилдикарбонат (38,9 г, 178 ммоль) змішували у толуолі (600 мл) за 100 °С протягом 24 годин. Готували, як описано вище, інший додатковий флакон. Дві реакційні суміші об'єднували. Суміш коричневого кольору випарювали, розчиняли в EtOAc (1,5 л), промивали 0,1 н. HCl (3 X 2 л) і сольовим розчином (3 л), висушували над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували за зниженого тиску з одержанням указаної у заголовку сполуки (50 г, вихід 57%) у вигляді твердої речовини червоного кольору. ¹H ЯМР (400MHz, хлороформ-d) δ 7,63 (br. s., 2H), 7,48 (d, J=7,1 Гц, 1H), 7,37 - 7,28 (m, 1H), 1,52 (s, 9H), 1,34 (s, 12H).

Стадія 4. Синтез трет-бутил(3-(4-формілбензил)феніл)карбамату



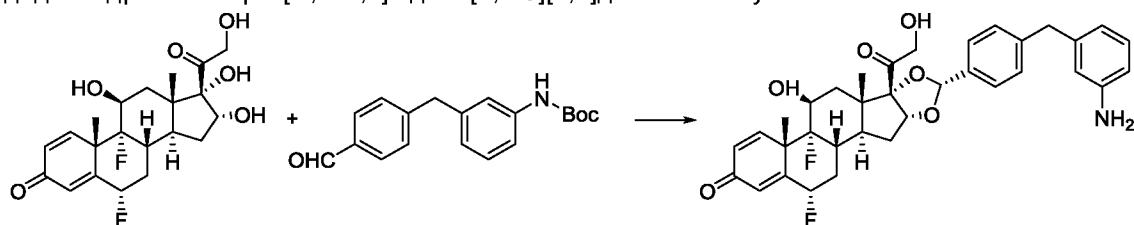
Суміш 4-(бромметил)бензальдегіду (24,94 г, 125 ммоль), комплексу 1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцендіхлорпаладій(II) з DCM (13,75 г, 18,80 ммоль), трет-бутил(3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)феніл)карбамату (20 г, 62,7 ммоль) і карбонату калію (43,3 г, 313 ммоль) у тетрагідрофурані (400 мл) нагрівали до 80 °С протягом 12 годин. Готували, як описано вище, інший додатковий флакон. Дві реакційні суміші об'єднували. Реакційну суміш розводили водою (500 мл). Водний шар екстрагували за допомогою EtOAc (3 x 500 мл). Органічний шар висушували над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували за зниженого тиску. Залишок очищували за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (елюювали за допомогою PE/EtOAc = 10/1) з одержанням указаної у заголовку сполуки (15 г, вихід 38,4%) у вигляді твердої речовини білого кольору. ¹H ЯМР (400MHz, хлороформ-d) δ 9,95 (s, 1H), 7,78 (d, J=7,9 Гц, 2H), 7,33 (d, J=7,9 Гц, 2H), 7,27 - 7,13 (m, 3H), 6,82 (d, J=7,1 Гц, 1H), 6,47 (br. s., 1H), 4,00 (s, 2H), 1,48 (s, 9H).

Стадія 5. Синтез (6S,8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17S)-6,9-дифтор-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3H-циклопента[а]фенантрен-3-ону



(2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a,10,10-тетраметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он (20 г, 44,2 ммоль) суспендували у 40% водній HBF_4 (440 мл) і суміш перемішували за 25 °C протягом 48 годин. Після завершення реакції додавали 2 л H_2O і збирали тверду речовину за допомогою фільтрації з одержанням твердої речовини білого кольору. Дану тверду речовину промивали за допомогою H_2O (1 л) і потім MeOH (200 мл) з одержанням указаної у заголовку сполуки (11 г, вихід 60,3%) у вигляді твердої речовини білого кольору. ^1H ЯМР (400MHz, DMSO-d_6) δ 7,25 (d, $J=10,1$ Гц, 1H), 6,28 (d, $J=10,1$ Гц, 1H), 6,10 (s, 1H), 5,73 - 5,50 (m, 1H), 5,39 (br. s., 1H), 4,85 - 4,60 (m, 2H), 4,50 (d, $J=19,4$ Гц, 1H), 4,20 - 4,04 (m, 2H), 2,46 - 2,06 (m, 6H), 1,87 - 1,75 (m, 1H), 1,56 - 1,30 (m, 6H), 0,83 (s, 3H).

Стадія 6. Синтез (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-амінобензил)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону

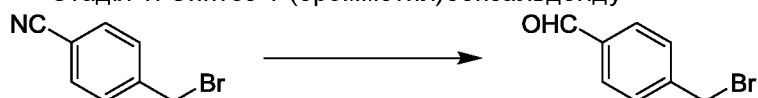


Забезпечували перемішування суспензії (6S,8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17S)-6,9-дифтор-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3H-циклопента[а]фенантрен-3-ону (4,4 г, 10,67 ммоль) і сульфату магнію (6,42 г, 53,3 ммоль) у MeCN (100 мл) за 20 °C протягом 1 години. Однією порцією додавали розчин трет-бутил(3-(4-формілбензил)феніл)карбамату (3,65 г, 11,74 ммоль) в MeCN (100 мл). Трифторметансульфову кислоту додавали по краплях (9,01 мл, 53,3 ммоль), підтримуючи при цьому внутрішню температуру нижче 25 °C із застосуванням льодяної бані. Після завершення додавання суміш перемішували за 20 °C протягом 2 годин. Готували, як описано вище, три додаткові флакони. Всі чотири реакційні суміші об'єднували. Змішаний розчин концентрували і залишок очищували за допомогою Prep-HPLC з одержанням указаної у заголовку сполуки (4,5 г, вихід 14,2%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. LCMS (Спосіб b, Таблиця 7) R_t = 2,65 хв.; MS маса/заряд = 606,2 ($\text{M}+\text{H}^+$); ^1H ЯМР (400MHz, DMSO-d_6) δ 7,44 - 7,17 (m, 5H), 6,89 (t, $J=7,7$ Гц, 1H), 6,44 - 6,25 (m, 4H), 6,13 (br. s., 1H), 5,79 - 5,52 (m, 2H), 5,44 (s, 1H), 5,17 - 4,89 (m, 3H), 4,51 (d, $J=19,4$ Гц, 1H), 4,25 - 4,05 (m, 2H), 3,73 (s, 2H), 3,17 (br. s., 1H), 2,75 - 2,55 (m, 1H), 2,36 - 1,97 (m, 3H), 1,76 - 1,64 (m, 3H), 1,59 - 1,39 (m, 4H), 0,94 - 0,78 (m, 3H). Спосіб Prep-HPLC: Прибор: система напівпрепаративної HPLC Gilson 281; рухома фаза: A: мурашина кислота/ H_2O =0,01% об./об.; B: CH_3CN ; колонка: Luna C18, 150*25, 5 мікронів; витрата: 25 мл/хв.; довжина хвилі спостереження: 220 і 254 нм.

Час	0,0	10,5	10,6	10,7	13,7	13,8	15,0
В%	15	35	35	100	100	10	10

Приклад 2A. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-амінобензил)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону (спол. No. 41)

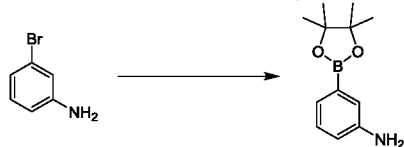
Стадія 1. Синтез 4-(бромметил)бензальдегіду



До розчину 4-(бромметил)бензонітрилу (50 г, 255 ммоль) у толуолі (1 л) по краплях додавали діізобутиلالюмінію гідрид (383 мл, 383 ммоль, 1 М у толуолі) за 0 °C. Суміш перемішували протягом 1 години. Готували, як описано вище, два додаткові флакони. Всі три реакційні суміші об'єднували. Додавали 10% водну HCl (1,5 л) і потім екстрагували за допомогою DCM (3 X 1,5 л). Органічний шар висушували над Na_2SO_4 , фільтрували та концентрували за зниженого тиску. Залишок очищували за

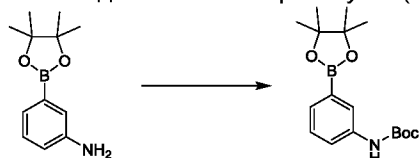
допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (елюювали за допомогою петролейного етеру/етилацетату = 10/1) з одержанням указаної у заголовку сполуки (120 г, 82%) у вигляді твердої речовини білого кольору. ^1H ЯМР (400MHz, CDCl_3) δ 10,01 (s, 1H), 7,86 (d, $J=8,4$ Гц, 2H), 7,55 (d, $J=7,9$ Гц, 2H), 4,51 (s, 2H).

Стадія 2. Синтез 3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)аніліну



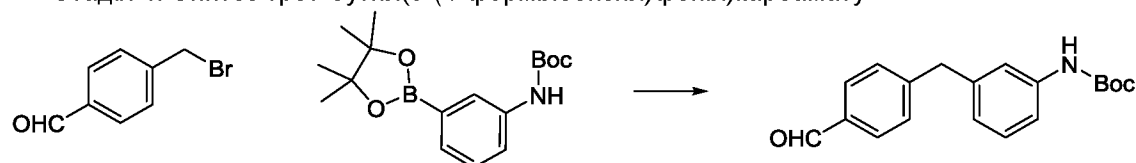
До розчину 3-броманіліну (80 г, 465 ммоль) в 1,4-діоксані (960 мл) додавали 4,4,4',4',5,5,5',5'-октаметил-2,2'-бі(1,3,2-діоксаборолан) (177 г, 698 ммоль), ацетат калію (91 г, 930 ммоль), 2-дициклогексилфосфіно-2',4',6'-триізопропіл-1,1'-біфеніл (13,45 г, 23,25 ммоль) і трис(дибензиліденацетон)дипаладій(0) (17,03 г, 18,60 ммоль). Суміш нагрівали при 80°C протягом 4 годин в атмосфері азоту. Готували, як описано вище, два додаткові флакони. Три реакційні суміші об'єднували, концентрували і залишок очищували за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (елюювали за допомогою петролейного етеру/етилацетату = 10/1) з одержанням указаної у заголовку сполуки (150 г, 46,6%) у вигляді твердої речовини світло-жовтого кольору. ^1H ЯМР (400MHz, CDCl_3) δ 7,23 - 7,13 (m, 3H), 6,80 (d, $J=7,5$ Гц, 1H), 3,82 - 3,38 (m, 2H), 1,34 (s, 12H).

Стадія 3. Синтез трет-бутил(3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)феніл)карбамату



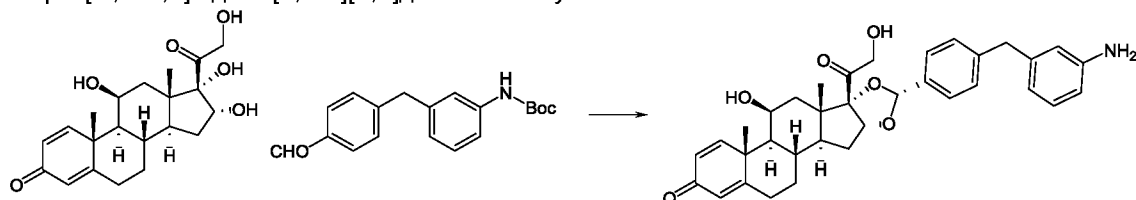
3-(4,4,5,5-Тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)анілін (50 г, 228 ммоль) і ди-трет-бутилдикарбонат (64,8 г, 297 ммоль) змішували у толуолі (500 мл) і суміш перемішували за 100 °C протягом 24 годин. Готували, як описано вище, два додаткові флакони. Три реакційні суміші об'єднували. Суміш коричневого кольору концентрували і залишок промивали за допомогою РЕ з одержанням указаної у заголовку сполуки (120 г, 49,5%) у вигляді твердої речовини білого кольору. ^1H ЯМР (400MHz, CDCl_3) δ 7,62 (s, 2H), 7,48 (d, $J=7,5$ Гц, 1H), 7,35 - 7,29 (m, 1H), 6,46 (br. s., 1H), 1,52 (s, 9H), 1,34 (s, 12H).

Стадія 4. Синтез трет-бутил(3-(4-формілбензил)феніл)карбамату



Суміш 4-(бромметил)бензальдегіду (29,9 г, 150 ммоль), 1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцендихлорпаладій(II) (20,63 г, 28,2 ммоль), трет-бутил(3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)феніл)карбамату (30 г, 94 ммоль) і карбонату калію (64,9 г, 470 ммоль) у THF (600 мл) нагрівали до 80 °C протягом 12 годин. Готували, як описано вище, три додаткові флакони. Всі чотири реакційні суміші об'єднували. Реакційну суміш розводили водою (1 л). Водний шар екстрагували за допомогою EtOAc (3 X 800 мл). Органічний шар висушували над Na_2SO_4 , фільтрували та концентрували за зниженого тиску. Залишок очищували за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (елюювали за допомогою РЕ/EtOAc = 10/1) з одержанням указаної у заголовку сполуки (35,5 г, 27,3%) у вигляді твердої речовини білого кольору. ^1H ЯМР (400MHz, CDCl_3) δ 9,97 (s, 1H), 7,80 (d, $J=7,9$ Гц, 2H), 7,35 (d, $J=7,9$ Гц, 2H), 7,26 (s, 2H), 7,24 - 7,13 (m, 2H), 6,84 (d, $J=7,1$ Гц, 1H), 6,43 (br. s., 1H), 4,02 (s, 2H), 1,50 (s, 9H).

Стадія 5. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-амінобензил)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону



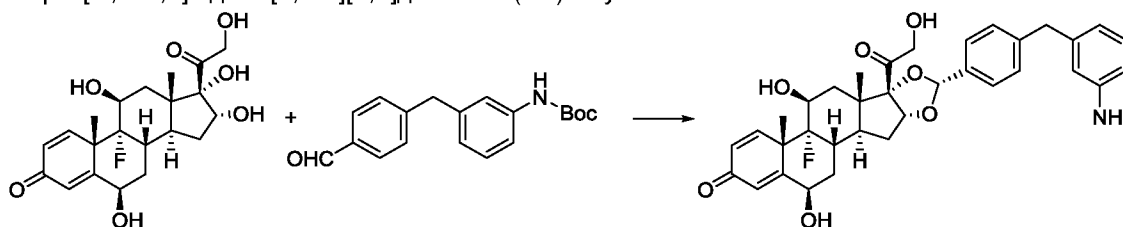
До розчину (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3H-циклопента[а]фенантрен-3-ону (6 г, 15,94 ммоль) і трет-бутил(3-(4-формілбензил)феніл)карбамату (4,96 г, 15,94 ммоль) у MeCN (50 мл)

додавали по краплях перхлорну кислоту (4,79 мл, 80 ммоль), підтримуючи при цьому внутрішню температуру нижче 25 °С із застосуванням льодяної бані. Після завершення додавання суміш перемішували за 20°C протягом 2 годин. Готували, як описано вище, три додаткові флакони. Всі чотири реакційні суміші об'єднували. Реакційну суміш гасили насиченим водним розчином NaHCO_3 (500 мл) і екстрагували дихлорметаном (3 X 800 мл). Органічну фазу концентрували і залишок очищували за допомогою Prep-HPLC з одержанням указаної у заголовку сполуки (10 г, 27,0%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. ^1H ЯМР (400MHz, DMSO-d_6) δ 7,36 (d, $J=7,9$ Гц, 2H), 7,31 (d, $J=10,1$ Гц, 1H), 7,20 (d, $J=7,9$ Гц, 2H), 6,89 (t, $J=7,9$ Гц, 1H), 6,39 - 6,28 (m, 3H), 6,16 (dd, $J=1,5, 9,9$ Гц, 1H), 5,93 (s, 1H), 5,39 (s, 1H), 5,08 (t, $J=5,7$ Гц, 1H), 4,98 - 4,87 (m, 3H), 4,78 (d, $J=3,1$ Гц, 1H), 4,49 (dd, $J=6,2, 19,4$ Гц, 1H), 4,29 (br. s., 1H), 4,17 (dd, $J=5,5, 19,6$ Гц, 1H), 3,74 (s, 2H), 2,61 - 2,53 (m, 1H), 2,36 - 2,26 (m, 1H), 2,11 (d, $J=11,0$ Гц, 1H), 2,07 (s, 1H), 2,02 (d, $J=12,8$ Гц, 1H), 1,83 - 1,54 (m, 5H), 1,39 (s, 3H), 1,16 - 0,96 (m, 2H), 0,85 (s, 3H). LCMS: t_R = 2,365 хв., чистота 98%, маса/заряд = 570,2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ LC/MS (Таблиця 7, Спосіб а)

Спосіб Prep-HPLC: Прибор: система напівпрепаративної HPLC Gilson 281, рухома фаза: А: $\text{CF}_3\text{COOH}/\text{H}_2\text{O}=0,075\%$ об./об; В: CH_3CN , колонка: Luna(2) C18, 250*50 мм*10 мкм, Phenomenex; витрата: 80 мл/хв., довжина хвилі спостереження: 220&254 нм, Час В%, 0,028, 20,045, 20,145, 20,2100, 30,2100, 0,328, 31,528.

Приклад 2В

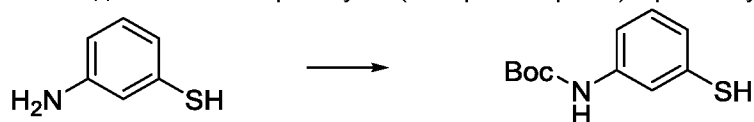
Синтез (2R,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-амінобензил)феніл)-6b-фтор-2,7-дигідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону



Трифторметансульфонову кислоту (1,34 мл, 15,11 ммоль) додавали по краплях до суспензії (6R,8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17S)-9-фтор-6,11,16,17-тетрагідрокси-17-(2-гідроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3H-циклопента[а]фенантрен-3-ону (1,55 г, 3,78 ммоль), трет-бутил(3-(4-формілбензил)феніл)карбамату (із прикладу 2, стадії 4) (1,176 г, 3,78 ммоль) і MgSO_4 (2,273 г, 18,89 ммоль) у MeCN (15,1 мл), яка має температуру -10 °С. Через 20 хв. реакцію гасили за допомогою додавання насиченого водного розчину NaHCO_3 (15 мл), після чого додавали воду (60 мл) і EtOAc (100 мл). Органічний шар послідовно промивали водою (60 мл), сольовим розчином (60 мл), висушували (Na_2SO_4) і видаляли розчинник за зниженого тиску. Очищенням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 40 г) із градієнтом елюювання 40-100% EtOAc /гептани одержували вказану у заголовку сполуку у вигляді піни (880 мг, 1,458 ммоль, вихід 39%) з чистотою 90%. Продукт можна додатково очищувати за допомогою HPLC з оберненою фазою на колонці Waters XBridge™ RP18, 5 мікронів (30 x 100 мм). Застосовували градієнт MeCN (А) та 0,1 mM NH_4CO_3 у воді (В) за витрати 40 мл/хв. (0-5,0 хв. 5% А, 5,0-19,0 хв. лінійний градієнт 15-55% А). LC-MS (Спосіб г, Таблиця 7) R_t = 0,72 хв., маса/заряд = 604,3 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$. ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 7,37 – 7,31 (m, 2H), 7,28 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,24 – 7,19 (m, 2H), 6,93 – 6,85 (m, 1H), 6,36 (d, J = 2,1 Гц, 2H), 6,35 (p, J = 1,1 Гц, 1H), 6,23 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,10 (d, J = 1,9 Гц, 1H), 5,45 (s, 1H), 5,38 (s, 1H), 5,10 (s, 1H), 4,96 – 4,91 (m, 3H), 4,51 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,38 (s, 1H), 4,28 – 4,16 (m, 2H), 3,74 (s, 2H), 2,76 – 2,60 (m, 1H), 2,20 (td, J = 12,5, 6,3 Гц, 1H), 2,08 (s, 2H), 1,86 (d, J = 11,8 Гц, 1H), 1,75 – 1,58 (m, 7H), 0,89 (s, 3H).

Приклад 3. Синтез (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофеніл)тіо)феніл)-6b-фтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону

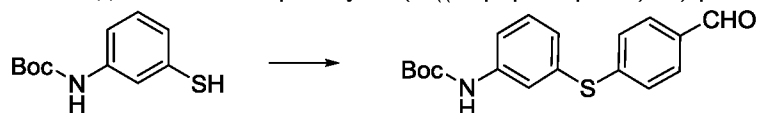
Стадія 1. Синтез трет-бутил(3-меркаптофеніл)карбамату



До суміші перхлорату цинку (0,422 г, 1,598 ммоль) і 3-амінобензолтіолу (10 г, 80 ммоль) додавали по краплях ди-трет-бутилдикарбонат (22,66 г, 104 ммоль). Розчин перемішували за 25 °С протягом 12 годин. Готували, як описано вище, три додаткові флакони. Чотири реакційні суміші об'єднували. Суміш розчиняли в EtOAc (200 мл) і промивали водою (500 мл). Органічний шар висушували над Na_2SO_4 , фільтрували та концентрували за зниженого тиску з одержанням залишка. Залишок очищували за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (елюювали за допомогою PE/EtOAc = 5/1) з одержанням цільової сполуки (50 г, вихід 69,4%) у вигляді твердої речовини білого кольору. ^1H

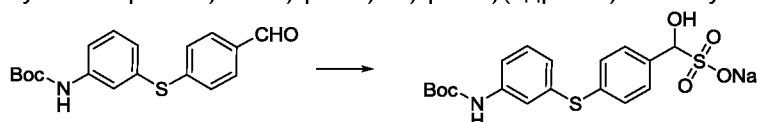
ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,45 (br. s., 1H), 7,16 - 7,09 (m, 1H), 7,06 - 7,01 (m, 1H), 6,92 (d, J=7,4 Гц, 1H), 6,55 (br. s., 1H), 3,46 (s, 1H), 1,52 (s, 9H).

Стадія 2. Синтез трет-бутил(3-((4-формілфеніл)тіо)феніл)карбамату



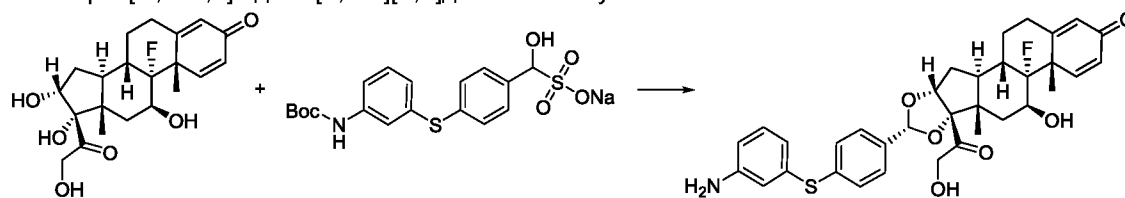
До розчину трет-бутил(3-((4-формілфеніл)тіо)феніл)карбамату (10 г, 44,4 ммоль) у DMF (300 мл) додавали трифенілфосфін (11,64 г, 44,4 ммоль) і N-етил-N-ізопропілпропан-2-амін (11,47 г, 89 ммоль) за 25 °С. Реакційну суміш перемішували за 25 °С протягом 30 хвилин в атмосфері N₂. До суміші додавали 4-фторбензальдегід (8,26 г, 66,6 ммоль) за 100 °С і суміш перемішували за 100 °С протягом 12 годин. Готували, як описано вище, чотири додаткові флакони. П'ять реакційних сумішей об'єднували. Суміш розводили водою (2 л) та екстрагували за допомогою EtOAc (3 × 1 л). Органічний шар висушували над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували за зниженого тиску. Залишок очищували за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (елюювали за допомогою PE/EtOAc = 10/1) з одержанням цільової сполуки (55 г, вихід 75%) у вигляді жовтого масла. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 9,90 (s, 1H), 7,71 (d, J=8,4 Гц, 2H), 7,58 (s, 1H), 7,48 - 7,41 (m, 1H), 7,33 (t, J=7,9 Гц, 1H), 7,25 (d, J=8,4 Гц, 2H), 7,17 (d, J=7,9 Гц, 1H), 6,72 (br. s., 1H), 1,50 (s, 9H), 4,45 (br. s., 1H), 7,16 - 7,09 (m, 1H), 7,06 - 7,01 (m, 1H), 6,92 (d, J=7,4 Гц, 1H), 6,55 (br. s., 1H), 3,46 (s, 1H), 1,52 (s, 9H).

Стадія 3. Синтез натрій(4-((3-((трет-бутоксикарбоніл)аміно)феніл)тіо)феніл)(гідрокси)метансульфонату



До розчину альдегіду (15 г, 45,5 ммоль) у CH₃CN (30 мл) додавали розчин метабісульфіту натрію (11,25 г, 59,2 ммоль) у воді (90 мл) за 25 °С. Суміш перемішували за 25 °С протягом 48 годин. Готували, як описано вище, інший додатковий флакон. Дві реакційні суміші об'єднували. Розчин фільтрували і тверду речовину промивали водою (150 мл), CH₃CN (150 мл) і висушували за зниженого тиску з одержанням цільової сполуки (32 г, вихід 81%) у вигляді твердої речовини білого кольору. ¹H ЯМР (400MHz, DMSO-d₆) δ 9,45 (br. s., 1H), 7,54 - 7,49 (m, 1H), 7,47 - 7,35 (m, 3H), 7,33 - 7,17 (m, 3H), 6,85 (d, J=7,9 Гц, 1H), 5,97 (d, J=4,9 Гц, 1H), 4,98 (d, J=4,9 Гц, 1H), 1,45 (s, 9H).

Стадія 4. Синтез (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофеніл)тіо)феніл)-6b-фтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону

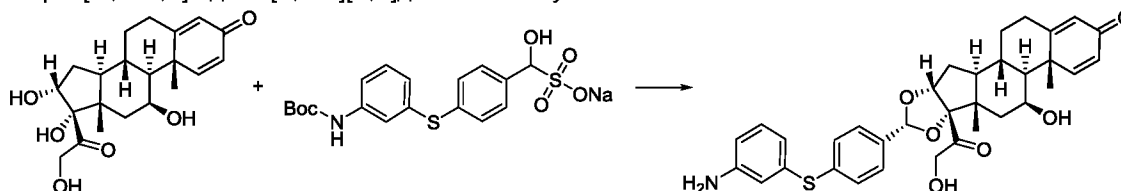


До розчину (8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17S)-9-фтор-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3H-циклопента[а]фенантрен-3-ону (6 г, 15,21 ммоль) і натрій(4-((3-((трет-бутоксикарбоніл)аміно)феніл)тіо)феніл)(гідрокси)метансульфонату (4,74 г, 15,21 ммоль) у THF (50 мл) по краплях додавали перхлорну кислоту (4,58 мл, 76 ммоль), підтримуючи при цьому внутрішню температуру нижче 25 °С із застосуванням льодяної бані. Після завершення додавання суміш перемішували за 20 °С протягом 2 годин. Готували, як описано вище, три додаткові флакони. Всі чотири реакційні суміші об'єднували. Реакційну суміш гасили насич. водним розчином NaHCO₃ (500 мл) і екстрагували за допомогою DCM (3 X 800 мл). Органічну фазу концентрували і залишок очищували за допомогою Prep-HPLC з одержанням цільової сполуки (9,5 г, 25,8%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. LCMS (Спосіб b, Таблиця 7) R_t = 2,68 хв., маса/заряд = 588,1 (M+H)⁺; ¹H ЯМР (400MHz, DMSO-d₆) δ 7,37 - 7,26 (m, 3H), 7,21 (d, J=7,9 Гц, 2H), 6,89 (t, J=7,7 Гц, 1H), 6,43 - 6,30 (m, 3H), 6,23 (d, J=10,1 Гц, 1H), 6,04 (s, 1H), 5,75 (s, 1H), 5,44 (s, 2H), 5,09 (t, J=5,7 Гц, 1H), 4,93 (br. s., 3H), 4,50 (dd, J=6,2, 19,4 Гц, 1H), 4,28 - 4,09 (m, 2H), 3,74 (s, 2H), 2,73 - 2,54 (m, 2H), 2,35 (d, J=13,2 Гц, 1H), 2,25 - 2,12 (m, 1H), 2,05 (d, J=15,0 Гц, 1H), 1,92 - 1,77 (m, 1H), 1,74 - 1,58 (m, 3H), 1,50 (s, 3H), 1,45 - 1,30 (m, 1H), 0,87 (s, 3H). Спосіб Prep-HPLC: Прибор: система напівпрепаративної HPLC Gilson 281; рухома фаза: A: CF₃CO₂H/H₂O=0,075% об./об.; B: CH₃CN; колонка: Luna C18, 250 x *50 мм*10 мікронів, Phenomenex; витрата: 80 мл/хв.; довжина хвилі спостереження: 220 і 254 нм.

Час	0,0	20,0	20,1	20,2	30,2	30,3	31,5

B%	10	42	42	100	100	10	10

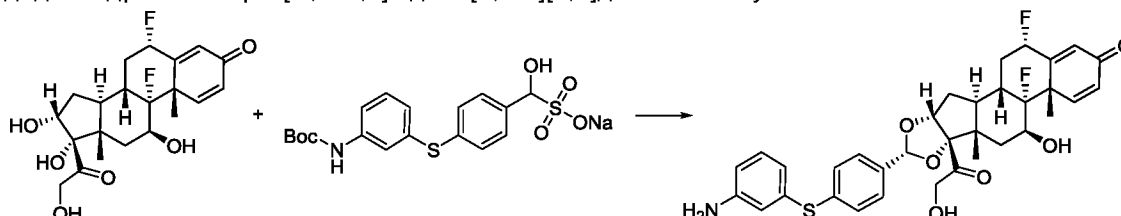
Приклад 4. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофеніл)тіо)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону



До розчину (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3H-циклопента[а]фенантрен-3-ону (6 г, 15,94 ммоль) і натрій(4-((3-((трет-бутоксикарбоніл)аміно)феніл)тіо)феніл)(гідрокси)метансульфонату (4,96 г, 15,94 ммоль) у MeCN (50 мл) додавали по краплях перхлорну кислоту (4,79 мл, 80 ммоль), підтримуючи при цьому внутрішню температуру нижче 25 °C із застосуванням льодяної бані. Після завершення додавання суміш перемішували за 20°C протягом 2 годин. Готували, як описано вище, три додаткові флакони. Всі чотири реакційні суміші об'єднували. Реакційну суміш гасили насич. водним розчином NaHCO₃ (500 мл) та екстрагували за допомогою DCM (3 X 800 мл). Органічну фазу концентрували і залишок очищували за допомогою Преп-HPLC з одержанням цільової сполуки (10 г, 27,0%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. LCMS (Спосіб b, Таблиця 7) R_t = 2,36 хв., маса/заряд = 570,2 (M+H)⁺; ¹H ЯМР (400MHz, DMSO-d₆) δ 7,36 (d, J=7,9 Гц, 2H), 7,31 (d, J=10,1 Гц, 1H), 7,20 (d, J=7,9 Гц, 2H), 6,89 (t, J=7,9 Гц, 1H), 6,39 - 6,28 (m, 3H), 6,16 (dd, J=1,5, 9,9 Гц, 1H), 5,93 (s, 1H), 5,39 (s, 1H), 5,08 (t, J=5,7 Гц, 1H), 4,98 - 4,87 (m, 3H), 4,78 (d, J=3,1 Гц, 1H), 4,49 (dd, J=6,2, 19,4 Гц, 1H), 4,29 (br. s., 1H), 4,17 (dd, J=5,5, 19,6 Гц, 1H), 3,74 (s, 2H), 2,61 - 2,53 (m, 1H), 2,36 - 2,26 (m, 1H), 2,11 (d, J=11,0 Гц, 1H), 2,07 (s, 1H), 2,02 (d, J=12,8 Гц, 1H), 1,83 - 1,54 (m, 5H), 1,39 (s, 3H), 1,16 - 0,96 (m, 2H), 0,85 (s, 3H). Спосіб Преп-HPLC: Прибор: система напівпрепаративної HPLC Gilson 281; рухома фаза: A: CF₃CO₂H/H₂O=0,075% об./об.; B: CH₃CN; колонка: Luna C18, 250*50 мм*10 мікронів, Phenomenex; витрата: 80 мл/хв.; довжина хвилі спостереження: 220 і 254 нм.

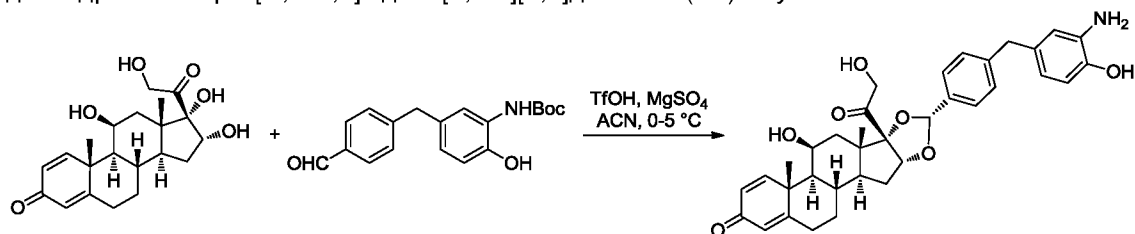
Час	0,0	20,0	20,1	20,2	30,2	30,3	31,5
B%	28	45	45	100	100	28	28

Приклад 5. Синтез (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофеніл)тіо)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону



До розчину стероїду (10 г, 24,25 ммоль) у CH₃CN (200 мл) додавали сульфат магнію (10,21 г, 85 ммоль) за 25 °C. Суміш перемішували за 25 °C протягом 4 годин. Потім до вищевказаного розчину додавали натрій(4-((3-((трет-бутоксикарбоніл)аміно)феніл)тіо)феніл)(гідрокси)метансульфонат (10,51 г, 24,25 ммоль) і трифторметансульфонову кислоту (20,48 мл, 121 ммоль) за 0 °C. Одержану суміш перемішували за 25 °C протягом 1 години. Готували, як описано вище, два додаткові флакони. Три реакційні суміші об'єднували. Суміш розводили 1 н. NaOH (300 мл) та екстрагували за допомогою EtOAc (3 X 600 мл). Органічний шар концентрували за зниженого тиску з одержанням залишка. Залишок розчиняли в EtOAc (60 мл) та додавали 2-бутанон (180 мл). Після перемішування протягом 30 хвилин збирали тверду речовину за допомогою фільтрації й очищували за допомогою Преп-HPLC з одержанням указаної у заголовку сполуки (8,4 г, вихід 17,52%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. LCMS (Спосіб c, Таблиця 7) R_t = 2,66 хв.; MS маса/заряд = 624,1 (M+H)⁺; ¹H ЯМР (400MHz, DMSO-d₆) δ 7,39 (d, J=8,4 Гц, 2H), 7,25 (d, J=8,4 Гц, 3H), 7,03 (t, J=7,7 Гц, 1H), 6,61 (s, 1H), 6,53 (t, J=8,2 Гц, 2H), 6,29 (dd, J=1,5, 9,9 Гц, 1H), 6,12 (s, 1H), 5,76 - 5,49 (m, 2H), 5,46 (s, 1H), 4,96 (d, J=4,9 Гц, 1H), 4,52 (d, J=19,4 Гц, 1H), 4,21 (d, J=19,4 Гц, 2H), 2,74 - 2,53 (m, 2H), 2,34 - 2,13 (m, 2H), 2,09 - 1,96 (m, 1H), 1,79 - 1,62 (m, 3H), 1,57 - 1,43 (m, 4H), 0,86 (s, 3H). Спосіб Преп-HPLC: Прибор: LC-8A, Shimadzu для препаративної HPLC; колонка: Luna C18, 250*50 мм*10 мікронів, Phenomenex; рухома фаза: A для H₂O (0,09% CF₃CO₂H) і B для CH₃CN; градієнт: B від 22% до 52% за 20 хв.; витрата: 80 мл/хв.; довжина хвилі: 220&254 нм.

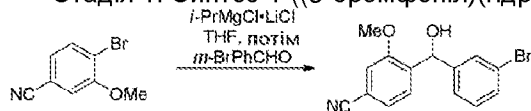
Приклад 6. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-аміно-4-гідроксибензил)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону



Трифлатну кислоту (0,2 мл, 2,183 ммоль) додавали по краплях до зависі (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-декагідро-3H-циклопента[а]фенантрен-3-ону (0,164 г, 0,437 ммоль), трет-бутил(2-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)-5-(4-формілбензил)феніл)карбамату (0,193 г, 0,437 ммоль) та MgSO_4 (0,189 г, 1,572 ммоль) в MeCN (1,8 мл), яка має температуру 0 °C. Через 40 хв. реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc (15 мл) і потім промивали послідовно насиченим водним розчином NaHCO_3 (10 мл x 2) і насиченим водно-сольовим розчином (5 мл). Органічну фазу висушували (Na_2SO_4) і видаляли розчинник за зниженого тиску. Очищуванням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 12 г) із градієнтом елюювання 0-10% MeOH/DCM одержували вказану у заголовку сполуку (163 мг, 0,278 ммоль, вихід 64%) у вигляді воскоподібної твердої речовини. Порцію даного матеріалу (прибл. 48,9 мг) додатково очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою на колонції C18(2), 10 мікронів, Phenomenex (колонка 250 X 50 мм). Застосовували градієнт MeCN (A) та 0,1% TFA у воді (B) за витрати 90 мл/хв. (0-5,0 хв. 15% A, 5,0-20 хв. лінійний градієнт 15-70% A, утримування 2 хв.). Об'єднані фракції концентрували за зниженого тиску для видалення летких розчинників і одержаний розчин заморожували і ліофілізували з одержанням твердої речовини брудно-білого кольору (11,9 мг). LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t = 0,75$ хв., маса/заряд = 586,26 $[\text{M}+\text{H}^+]$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,27 (s, 1H), 9,04 (s, 2H), 7,34 (d, J = 8,0 Гц, 2H), 7,28 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,18 (d, J = 8,0 Гц, 2H), 6,94 (dd, J = 8,1, 2,1 Гц, 1H), 6,90 (d, J = 2,1 Гц, 1H), 6,82 (d, J = 8,2 Гц, 1H), 6,17 - 6,07 (m, 1H), 5,90 (d, J = 1,6 Гц, 1H), 5,37 (s, 1H), 4,89 (d, J = 4,9 Гц, 1H), 4,75 (s, 1H), 4,46 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,26 (q, J = 3,3 Гц, 1H), 4,14 (d, J = 19,5 Гц, 1H), 3,80 (s, 2H), 2,58 - 2,46 (m, 1H), 2,36 - 1,92 (m, 3H), 1,76 - 1,56 (m, 4H), 1,36 (s, 3H), 1,10 - 0,90 (m, 2H), 0,83 (s, 3H).

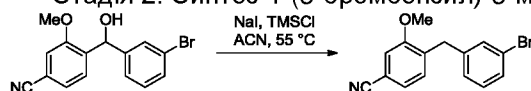
Приклад 7. Синтез (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-амінобензил)-3-гідроксифеніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону

Стадія 1. Синтез 4-((3-бромфеніл)(гідрокси)метил)-3-метоксибензонітрилу



Комплекс ізопропілмагнію хлориду з хлоридом літію (1,3 М в THF, 8,34 мл, 10,85 ммоль) додавали по краплях до розчину 4-бром-3-метоксибензонітрилу (2 г, 9,43 ммоль), який має температуру 0-5 °C, у THF (21 мл). Реакційну суміш перемішували протягом 5 год., після чого по краплях додавали розчин 3-бромбензальдегіду (1,979 г, 10,38 ммоль) у THF (10,5 мл), підтримуючи температуру <10 °C. Забезпечували повільне нагрівання реакційної суміші до кімнатної температури протягом ночі. Реакцію гасили насиченим водним розчином NH_4Cl (25 мл) і екстрагували за допомогою MTBE (50 мл X 3). Об'єднані органічні речовини промивали сольовим розчином (20 мл), висушували (Na_2SO_4) і видаляли розчинники за зниженого тиску. Очищуванням за допомогою хроматографії (80 г діоксиду кремнію) із градієнтом елюювання 0-10% MTBE/гептани одержували вказану у заголовку сполуку (1,77 г, 5,56 ммоль, вихід 59%) у вигляді бежевої в'язкої рідини/масла. LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t = 0,86$ хв.; MS (ESI-) маса/заряд = 315,7 $[\text{M}-\text{H}^+]$. ^1H ЯМР (501 МГц, DMSO-d_6) δ 7,67 (d, J = 7,8 Гц, 1H), 7,47 (t, J = 1,8 Гц, 1H), 7,43 (dd, J = 7,8, 1,5 Гц, 1H), 7,41 (d, J = 1,4 Гц, 1H), 7,40 - 7,36 (m, 1H), 7,28 (dt, J = 7,8, 1,5 Гц, 1H), 7,23 (d, J = 7,8 Гц, 1H), 6,10 (d, J = 4,4 Гц, 1H), 5,94 (d, J = 4,1 Гц, 1H), 3,80 (s, 3H).

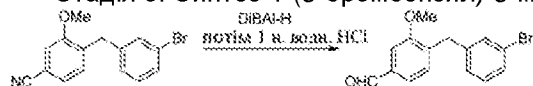
Стадія 2. Синтез 4-(3-бромбензил)-3-метоксибензонітрилу



До розчину йодиду натрію (5,00 г, 33,4 ммоль) у MeCN (18,5 мл) кімнатної температури додавали хлортриметилсилан (3,63 г, 33,4 ммоль), що призводило до негайного осадження твердої речовини білого кольору. Потім додавали розчин 4-((3-бромфеніл)(гідрокси)метил)-3-метоксибензонітрилу (1,77 г, 5,56 ммоль) у MeCN (18,5 мл), після чого реакційну суміш нагрівали до 55 °C протягом 60 хв. Після охолодження до кімнатної температури реакційну суміш розділяли між MTBE (50 мл) і водою (50 мл). Після розділення шарів водну фазу екстрагували за допомогою MTBE (50 мл X 2). Об'єднані органічні

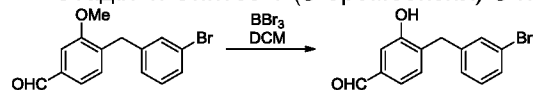
речовини промивали послідовно 1 М водним розчином $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (50 мл X 2), після цього насиченим водно-сольовим розчином (30 мл), висушували (Na_2SO_4) і видаляли розчинники за зниженого тиску. Очищенням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 80 г) із градієнтом елюювання 5-40% MTBE/гептани одержували вказану у заголовку сполуку (1,58 г, 5,23 ммоль, вихід 94%) у вигляді твердої речовини брудно-білого кольору. LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t = 1,02$ хв.; MS маса/заряд = не проявився. ^1H ЯМР (501 МГц, DMSO-d_6) δ 7,42 (d, J = 1,5 Гц, 1H), 7,39 - 7,30 (m, 4H), 7,22 (td, J = 7,6, 0,6 Гц, 1H), 7,18 (dt, J = 7,7, 1,4 Гц, 1H), 3,94 (s, 2H), 3,82 (s, 3H).

Стадія 3. Синтез 4-(3-бромбензил)-3-метоксибензальдегіду



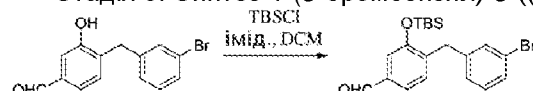
Діізобутилалюмінію гідрид (4,9 мл, 1,0 М розчин у гексанах, 4,9 ммоль) по краплях додавали протягом 5 хв. до розчину 4-(3-бромбензил)-3-метоксибензонітрилу (0,99 г, 3,28 ммоль), який має температуру 0 °С, у толуолі (16 мл), підтримуючи температуру < 6 °С. Через 10 хв. реакцію гасили шляхом обережного додавання 1 н. водного розчину HCl (100 мл) за 0 °С. Потім її екстрагували за допомогою DCM (50 мл X 4), промивали насиченим водно-сольовим розчином (30 мл) і видаляли розчинник за зниженого тиску. Очищенням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 40 г) із градієнтом елюювання 0-40% MTBE/гептани одержували вказану у заголовку сполуку (780 мг, 2,56 ммоль, вихід 78%) у вигляді безбарвного масла. LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t = 0,95$ хв.; MS (DCI^+) маса/заряд = 303,9, 305,9 (M^+). ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 9,93 (s, 1H), 7,47 (dd, J = 7,5, 1,5 Гц, 1H), 7,44 (d, J = 1,5 Гц, 1H), 7,42 - 7,33 (m, 3H), 7,25 - 7,17 (m, 2H), 3,96 (s, 2H), 3,85 (s, 3H).

Стадія 4. Синтез 4-(3-бромбензил)-3-гідроксибензальдегіду



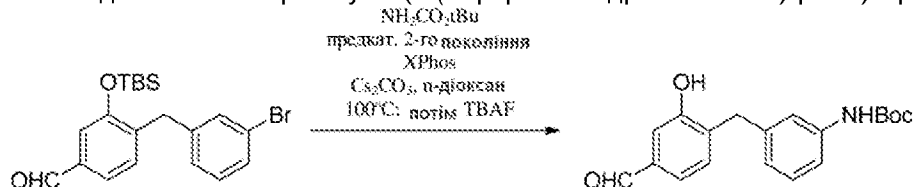
Трибромід бору (1,0 М у метиленхлориді, 6,4 мл, 6,4 ммоль) додавали по краплях до розчину 4-(3-бромбензил)-3-метоксибензальдегіду (0,78 г, 2,56 ммоль), який має температуру 0-3 °С, у DCM (7,8 мл). Реакційну суміш перемішували за 0 °С протягом 30 хв.; потім перемішували протягом 90 хв. за кімнатної температури. За зниженого тиску видаляли розчинник і одержане темне масло оброблювали за допомогою MeOH (20 мл) та води (15 мл), у результаті чого одержували неоднорідну суміш. Додавали MeCN до одержання однорідного розчину (прибл. 10 мл) і розчин перемішували протягом ночі. За зниженого тиску видаляли леткі розчинники й одержану водну суспензію екстрагували за допомогою DCM (25 мл X 3). Об'єднані органічні речовини промивали сольовим розчином (20 мл), висушували над Na_2SO_4 і видаляли розчинник за зниженого тиску. Очищенням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 40 г) із градієнтом елюювання 10-50% MTBE/гептани одержували 4-(3-бромбензил)-3-гідроксибензальдегід (660 мг, 2,267 ммоль, вихід 89%) у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t = 0,85$ хв.; MS (DCI^+) маса/заряд = 307,98, 309,97 [$\text{M} + \text{NH}_4^+$]. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 10,07 (s, 1H), 9,83 (s, 1H), 7,39 (q, J = 1,3 Гц, 1H), 7,33 (ddt, J = 6,5, 4,4, 2,0 Гц, 1H), 7,30 (d, J = 0,9 Гц, 2H), 7,25 (s, 1H), 7,25 - 7,15 (m, 2H), 3,92 (s, 2H).

Стадія 5. Синтез 4-(3-бромбензил)-3-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)бензальдегіду



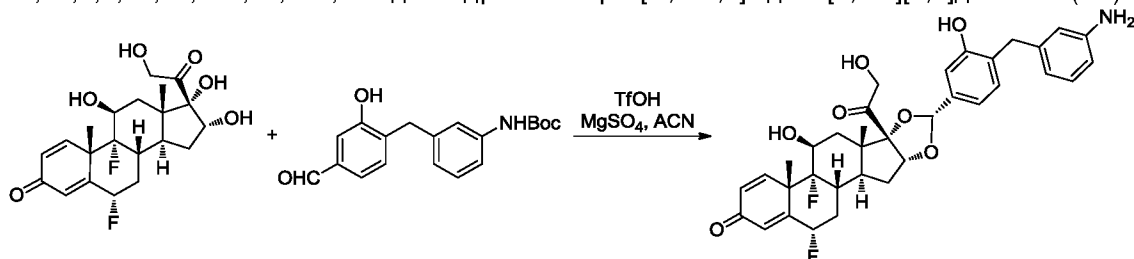
Імідазол (0,231 г, 3,40 ммоль) і трет-бутилдиметилхлорсилан (0,410 г, 2,72 ммоль) додавали до суспензії 4-(3-бромбензил)-3-гідроксибензальдегіду (0,660 г, 2,267 ммоль), яка має кімнатну температуру, у DCM (7,6 мл) і перемішували протягом 3 год. Додавали MeOH (0,5 мл) і перемішування продовжували протягом 10 хв., після чого реакційну суміш розводили за допомогою DCM (100 мл), промивали послідовно водою (25 мл), 1 н. водним розчином HCl (25 мл) і насиченим водно-сольовим розчином (20 мл). Органічну фазу висушували (Na_2SO_4) і видаляли розчинник за зниженого тиску з одержанням сиропу. Очищенням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 40 г) із градієнтом елюювання 0-10% MTBE/гептани одержували цільову сполуку (820 мг, 2,023 ммоль, вихід 89%) у вигляді безбарвного масла. LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t = 1,18$ хв.; MS (DCI^+) маса/заряд = 422,07, 424,09 [$\text{M} + \text{NH}_4^+$]. ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 9,94 (s, 1H), 7,50 (dd, J = 7,7, 1,6 Гц, 1H), 7,42 - 7,36 (m, 2H), 7,36 - 7,32 (m, 2H), 7,25 (t, J = 7,8 Гц, 1H), 7,17 (ddd, J = 7,7, 1,7, 1,0 Гц, 1H), 4,01 (s, 2H), 0,92 (s, 9H), 0,26 (s, 6H).

Стадія 6. Синтез трет-бутил(3-(4-форміл-2-гідроксибензил)феніл)карбамату



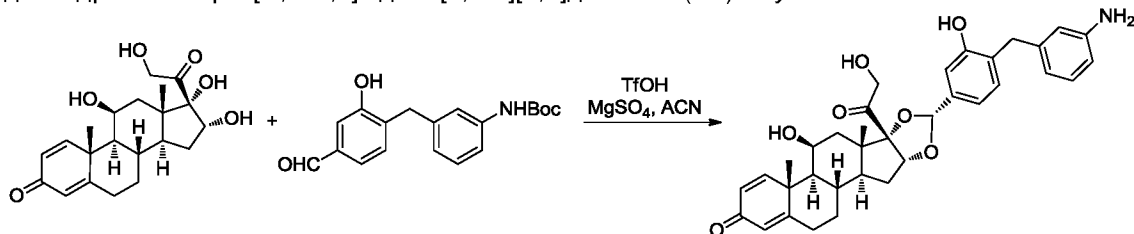
Через суміш 4-(3-бромбензил)-3-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)бензальдегіду (0,820 г, 2,023 ммоль), трет-бутилкарбамату (0,3027 г, 2,58 ммоль), Cs_2CO_3 (1,006 г, 3,09 ммоль) у п-діоксані (16 мл) барботували азот протягом 30 хв. Додавали предкаталізатор 2-го покоління XPhos (0,0937 г, 0,119 ммоль) і продовжували барботування протягом 5 хв., після чого реакційну суміш нагрівали до 100 °С протягом 4 год. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, оброблювали 1 н. водним розчином HCl (25 мл) та екстрагували за допомогою MTBE (25 мл x 3). Об'єднані органічні речовини промивали сольовим розчином (30 мл), висушували над Na_2SO_4 і видаляли розчинник за зниженого тиску. Залишок повторно розчиняли у THF (16 мл, 0,125 M) і оброблювали за допомогою TBAF/ SiO_2 (1,0-1,5 ммоль/г, 4,1338 г, 4,13-6,2 ммоль) протягом 45 хв., після чого видаляли розчинник за зниженого тиску. Очищуванням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 40 г) із градієнтом елюювання 0-75% MTBE/гептани одержували трет-бутил(3-(4-форміл-2-гідроксибензил)феніл)карбамат (380 мг, 1,161 ммоль, вихід 57%), який виділяли у вигляді липкої піни. LCMS (Спосіб г, Таблиця 7) $R_t = 0,85$ хв.; MS (DCI+) маса/заряд = 345,0 $[\text{M}+\text{NH}_4^+]$. ^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10,04 (s, 1H), 9,86 (s, 1H), 9,25 (s, 1H), 7,37 (s, 1H), 7,34 - 7,28 (m, 2H), 7,27 - 7,20 (m, 2H), 7,14 (t, $J = 7,8$ Гц, 1H), 6,82 (dt, $J = 7,7, 1,2$ Гц, 1H), 3,89 (s, 2H), 1,45 (s, 9H).

Стадія 7. Синтез (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-амінобензил)-3-гідроксифеніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону



Трифлатну кислоту (0,060 мл, 0,680 ммоль) по краплях додавали до зависі (6S,8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17S)-6,9-дифтор-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3H-циклопента[а]фенантрен-3-ону (0,056 г, 0,136 ммоль), трет-бутил(3-(4-форміл-2-гідроксибензил)феніл)карбамату (0,049 г, 0,150 ммоль) і MgSO_4 (0,049 г, 0,408 ммоль), яка має температуру 0 °С, в MeCN (1,5 мл), підтримуючи температуру реакційної суміші < 5 °С. Через 30 хв. реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc (15 мл) і промивали послідовно насиченим водним розчином NaHCO_3 (5 мл x 2) і потім насиченим водно-сольовим розчином (3 мл). Органічну фазу висушували (Na_2SO_4) і видаляли розчинник за зниженого тиску. Проводили очищення за допомогою HPLC з оберненою фазою на колонці C18(2), 10 мікронів, Phenomenex (колонка 250 x 30 мм). Застосовували градієнт MeCN (A) та 0,1% мурашиної кислоти у воді (B) за витрати 60 мл/хв. (0-5,0 хв. 15% A, 5,0-20,0 хв. лінійний градієнт 15-80% A, утримування 5 хв.). Об'єднані фракції концентрували за зниженого тиску для видалення летких розчинників, а потім ліофілізували з одержанням указаної у заголовку сполуки у вигляді білої аморфної твердої речовини (6,7 мг). LCMS (Спосіб г, Таблиця 7) $R_t = 0,70$ хв.; MS маса/заряд = 622,39 $[\text{M}+\text{H}^+]$. ^1H ЯМР (501 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,51 (s, 1H), 7,25 (d, $J = 10,2$ Гц, 1H), 6,96 (d, $J = 7,7$ Гц, 1H), 6,89 - 6,81 (m, 2H), 6,75 (d, $J = 7,7$ Гц, 1H), 6,37 - 6,24 (m, 4H), 6,11 (s, 1H), 5,63 (ddd, $J = 49,2, 11,2, 6,4$ Гц, 1H), 5,50 (d, $J = 4,3$ Гц, 1H), 5,30 (s, 1H), 5,07 (s, 1H), 4,91 (d, $J = 4,8$ Гц, 1H), 4,85 (s, 2H), 4,47 (d, $J = 19,3$ Гц, 1H), 4,21 4,14 (m, 2H), 3,70 - 3,60 (m, 2H), 2,69 - 2,50 (m, 1H), 2,26 (s, 1H), 2,31 - 2,16 (m, 1H), 2,07 - 1,94 (m, 1H), 1,68 (q, $J = 10,2, 8,9$ Гц, 2H), 1,64 1,50 (m, 1H), 1,48 (s, 3H), 0,84 (s, 3H).

Приклад 8. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-амінобензил)-3-гідроксифеніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону

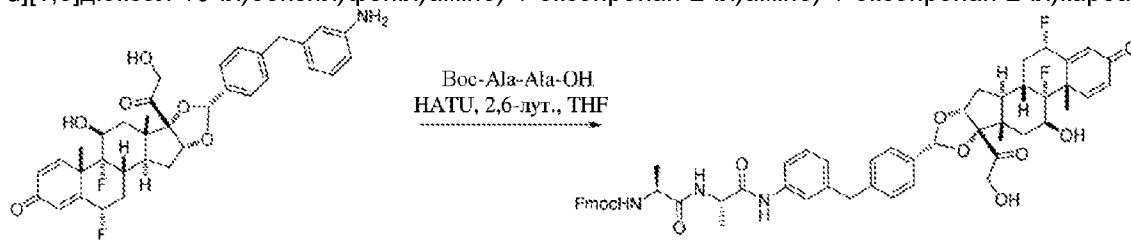


Трифлатну кислоту (0,35 мл, 3,83 ммоль) по краплях додавали до зависі (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3H-циклопента[а]фенантрен-3-ону (0,296 г, 0,786 ммоль), трет-бутил(3-(4-форміл-2-гідроксибензил)феніл)карбамату (0,251 г, 0,767 ммоль) і MgSO_4 (0,332 г, 2,76 ммоль), яка має температуру 0 °С, у MeCN (3,0 мл), підтримуючи температуру реакційної суміші <

5 °C. Через 40 хв. реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc (15 мл) і промивали послідовно насиченим водним розчином NaHCO₃ (10 мл X 2) і потім насиченим водно-сольовим розчином (5 мл). Органічний шар висушували над Na₂SO₄ і видаляли розчинник за зниженого тиску. Очищуванням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 12 г) із градієнтом елюювання 0-10% MeOH/DCM одержували вказану у заголовку сполуку (238,4 мг, 0,407 ммоль, вихід 53%) у вигляді твердої речовини білого кольору. Порцію даного матеріалу (прибл. 79,1 мг) додатково очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою на колонці C18(2), 10 мікронів, Phenomenex (колонка 250 X 30 мм). Застосовували градієнт MeCN (A) та 0,1% TFA у воді (B) за витрати 60 мл/хв. (0-5,0 хв. 15% A, 5,0-20 хв. лінійний градієнт 15-60% A, утримування 2 хв.). Об'єднані фракції концентрували за зниженого тиску для видалення летких розчинників і одержаний розчин заморожували і ліофілізували з одержанням вказаної у заголовку сполуки у вигляді твердої речовини брудно-білого кольору (43,4 мг). LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) R_t = 0,73 хв.; MS маса/заряд = 586,2 [M+H⁺]. ¹H ЯМР (501 МГц, DMSO-d₆) δ 9,61 (s, 1H), 7,30 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,27 - 7,20 (m, 1H), 7,04 (dd, J = 7,7, 2,9 Гц, 2H), 6,95 - 6,91 (m, 2H), 6,90 (d, J = 1,6 Гц, 1H), 6,79 (dd, J = 7,7, 1,6 Гц, 1H), 6,15 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 5,92 (d, J = 1,6 Гц, 1H), 5,29 (s, 1H), 4,88 (d, J = 5,1 Гц, 1H), 4,79 (s, 1H), 4,45 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,28 (q, J = 3,3 Гц, 1H), 4,15 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 3,82 (s, 2H), 2,59 - 2,49 (m, 1H), 2,30 (dt, J = 13,0, 3,8 Гц, 1H), 2,16 - 2,05 (m, 1H), 2,07 - 1,98 (m, 1H), 1,75 (d, J = 3,0 Гц, 2H), 1,73 - 1,54 (m, 3H), 1,38 (s, 3H), 1,05 (qd, J = 12,9, 4,8 Гц, 1H), 0,97 (dd, J = 11,2, 3,6 Гц, 1H), 0,84 (s, 3H).

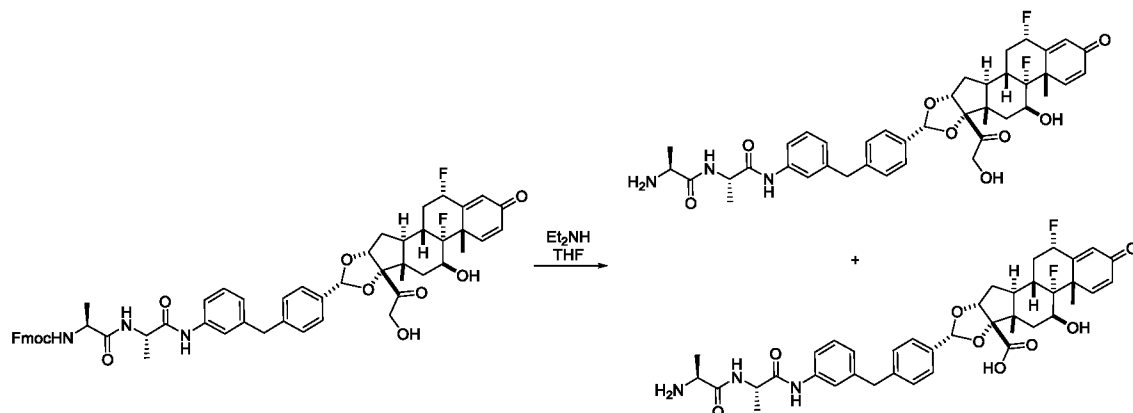
Приклад 9. Синтез (S)-N-(3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)-2-((S)-2-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанамідо)пропанамідо)пропанаміду

Стадія 1. Синтез (9H-флуорен-9-іл)метил-((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)карбамату



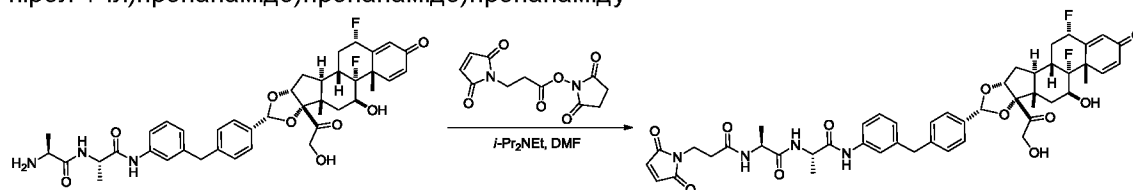
HATU (1,3 г, 3,41 ммоль) і 2,6-лутидин (0,4 мл, 3,43 ммоль) додавали до суспензії (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-амінобензил)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону (1,0327 г, 1,705 ммоль) і (S)-2-((S)-2-(((9H-флуорен-9-іл)метокси)карбоніл)аміно)пропанамідо)пропанової кислоти (0,782 г, 2,046 ммоль), яка має кімнатну температуру, у THF (11,5 мл). Через 3 години за кімнатної температури реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc (16 мл), потім промивали послідовно 1 н. водним розчином HCl (4 мл x 3) і насиченим водно-сольовим розчином (4 мл). Очищуванням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 40 г) із градієнтом елюювання 75-100% EtOAc/гептани одержували вказану у заголовку сполуку (0,926 г, 0,955 ммоль, вихід 56%). LC-MS (Спосіб r, Таблиця 7) R_t = 1,01 хв., m/z = 970.18 [M+H⁺]. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 9,85 (d, J = 5,6 Гц, 1H), 8,08 (d, J = 7,3 Гц, 1H), 7,89 (dd, J = 7,5, 1,0 Гц, 2H), 7,76 - 7,69 (m, 2H), 7,55 (d, J = 7,4 Гц, 1H), 7,49 - 7,16 (m, 13H), 6,94 - 6,88 (m, 1H), 6,30 (ddd, J = 10,1, 3,7, 1,9 Гц, 1H), 6,14 (dt, J = 2,6, 1,2 Гц, 1H), 5,74 - 5,55 (m, 1H), 5,53 (dt, J = 5,0, 2,5 Гц, 1H), 5,12 (t, J = 6,0 Гц, 1H), 4,95 (d, J = 5,1 Гц, 1H), 4,52 (dd, J = 19,4, 6,2 Гц, 1H), 4,38 (p, J = 7,0 Гц, 1H), 4,32 - 4,16 (m, 5H), 4,09 (p, J = 6,9 Гц, 1H), 3,88 (d, J = 10,9 Гц, 2H), 2,65 - 2,60 (m, 1H), 2,33 - 2,20 (m, 1H), 2,05 (d, J = 13,5 Гц, 1H), 1,77 - 1,63 (m, 3H), 1,50 (s, 3H), 1,28 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,23 (d, J = 7,1 Гц, 4H), 0,88 (d, J = 12,6 Гц, 3H).

Стадія 2. Синтез (S)-2-аміно-N-((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)пропанаміду



До розчину (9H-флуорен-9-іл)метил((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)карбамату (1,18 г, 1,216 ммоль), який має кімнатну температуру, у THF (6,0 мл) додавали діетиламін (0,5 мл, 4,79 ммоль). Через 2 год. додавали MTBE (10 мл), що призвело до негайного осадження твердої речовини жовтого кольору. Дану завесь перемішували протягом 90 хв., фільтрували та промивали за допомогою MTBE (5 мл x 3) з одержанням твердої речовини жовтого кольору (802,7 мг). Даний матеріал додатково очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою на колонці C18(2), 10 мікронів, Phenomenex (колонка 250 x 50 мм). Застосовували градієнт MeCN (A) та 0,1% мурашиної кислоти у воді (B) за витрати 90 мл/хв. (0-5,0 хв. 15% A, 5,0-20,0 хв. лінійний градієнт 15-75% A, утримування 2 хв., 22,0-22,5 хв. лінійний градієнт 75-95%, утримування протягом 4 хв.). Об'єднані фракції концентрували за зниженого тиску до сухого стану і потім висушували протягом ночі у вакуумній печі за 50 °C. LC-MS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t = 0,76$ хв., маса/заряд = 748,5 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР вказує на те, що вказана у заголовку сполука знаходиться у суміші приблизно 1:1 з (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-(((S)-2-((S)-2-амінопропанамідо)пропанамідо)бензил)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-8b-карбоною кислотою (загалом 0,170 г, 0,115 моль і вихід кожної сполуки 10%). ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 10,00 (d, J = 3,3 Гц, 2H), 8,42 (d, J = 34,2 Гц, 2H), 8,30 (s, 1H), 7,48 – 7,37 (m, 3H), 7,38 – 7,29 (m, 5H), 7,31 – 7,15 (m, 8H), 6,92 (d, J = 7,6 Гц, 2H), 6,28 (ddd, J = 10,3, 6,6, 1,9 Гц, 3H), 6,12 (d, J = 3,7 Гц, 3H), 5,77 – 5,53 (m, 3H), 5,45 (d, J = 7,7 Гц, 3H), 5,04 – 4,99 (m, 1H), 4,94 (d, J = 5,1 Гц, 1H), 4,50 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,40 (s, 3H), 4,23 – 4,12 (m, 2H), 3,54 (dq, J = 17,6, 6,9 Гц, 1H), 2,71 – 2,56 (m, 1H), 2,30 – 2,15 (m, 1H), 2,03 (d, J = 14,2 Гц, 2H), 1,94 (d, J = 14,3 Гц, 1H), 1,84 (d, J = 14,1 Гц, 1H), 1,76 – 1,59 (m, 7H), 1,49 (d, J = 2,6 Гц, 8H), 1,39 – 1,10 (m, 13H), 1,00 (s, 4H), 0,86 (s, 3H).

Стадія 3. Синтез (S)-N-(3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)-2-((S)-2-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанамідо)пропанамідо)пропанаміду

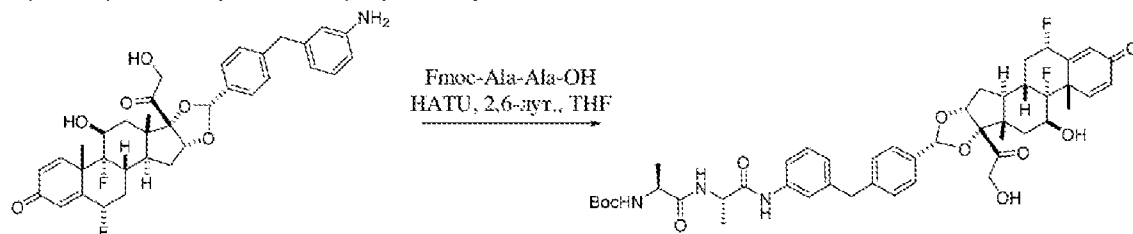


До розчину (S)-2-аміно-N-((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)пропанаміду (0,170 г, 0,227 ммоль) і N-сукцинімідил-3-малеїмідопропіонату (0,0691 г, 0,260 ммоль), який має кімнатну температуру, у DMF (2,5 мл) додавали діізопропілетиламін (0,1 мл, 0,573 ммоль). Через 30 хв. pH реакційної суміші регулювали до показника 4-5 шляхом додавання по краплях 7% розчину TFA у воді (1,2 мл). Неочищену суміш очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою на колонці C18(2), 10 мікронів, Phenomenex (колонка 250 x 50 мм). Застосовували градієнт MeCN (A) та 0,1% TFA у воді (B) за витрати 90 мл/хв. (0-5,0 хв. 15% A, 5,0-20 хв. лінійний градієнт 15-85% A, утримування 2 хв.). Об'єднані фракції концентрували за зниженого тиску для видалення летких розчинників і одержаний розчин заморожували і ліофілізували з одержанням твердої речовини білого кольору (85,2 мг, 0,0473 ммоль, вихід 21%). LC-MS (Спосіб R, Таблиця 7) $R_t = 0,82$ хв., маса/заряд = 899,92 $[M+H]^+$. Дані ^1H ЯМР відповідали суміші 1:1 указаної у заголовку сполуки

(2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанамідо)пропанамідо)пропанамідо)бензил)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-6a,8a-диметил-4-оксо-1,2,4,6a,6b,7,8,8a,11a,12,12a,12b-додекагідро-8bH-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-8b-карбонової кислоти (див. приклад 10 для альтернативного одержання вказаної у заголовку сполуки, яке дозволяє уникнути даної суміші). MS-аналіз підтверджує, що даний матеріал являє собою суміш з двох сполук з масою/зарядом = 899,1 [M+H⁺] і масою/зарядом = 885,0 [M+H⁺]. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9,71 (s, 2H), 8,16 (d, J = 7,1 Гц, 2H), 8,03 (d, J = 7,3 Гц, 2H), 7,49 – 7,29 (m, 9H), 7,30 – 7,13 (m, 9H), 6,96 (s, 3H), 6,92 – 6,85 (m, 2H), 6,27 (dt, J = 10,1, 1,9 Гц, 2H), 6,11 (d, J = 2,3 Гц, 2H), 5,74 – 5,53 (m, 2H), 5,46 (d, J = 23,9 Гц, 4H), 4,93 (d, J = 5,0 Гц, 1H), 4,32 (p, J = 7,1 Гц, 2H), 4,27 – 4,13 (m, 3H), 4,17 (s, 3H), 3,59 (t, J = 7,3 Гц, 4H), 2,69 – 2,53 (m, 2H), 2,38 (t, J = 7,3 Гц, 4H), 2,28 (s, 3H), 2,22 (s, 1H), 2,08 – 1,98 (m, 1H), 1,98 – 1,90 (m, 1H), 1,83 – 1,68 (m, 2H), 1,69 (s, 2H), 1,66 (s, 2H), 1,48 (d, J = 3,7 Гц, 8H), 1,25 (d, J = 7,0 Гц, 6H), 1,15 (d, J = 7,1 Гц, 6H), 0,99 (s, 3H), 0,84 (s, 3H).

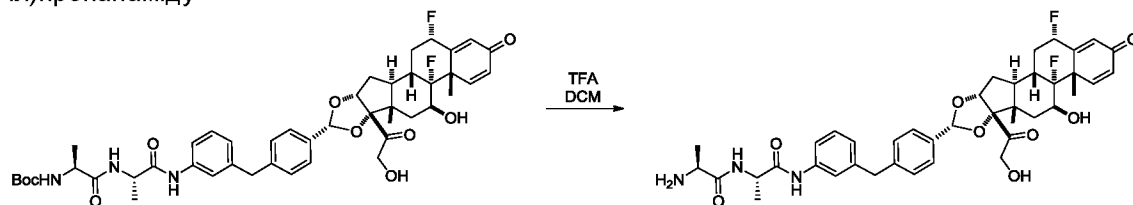
Приклад 10. Синтез (S)-N-(3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)-2-((S)-2-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанамідо)пропанамідо)пропанаміду

Стадія 1. Синтез трет-бутил-((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)карбамату



HATU (610 мг, 1,605 ммоль) і 2,6-лутидин (0,3 мл, 2,58 ммоль) додавали до суміші (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-амінобензил)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону (648,1 мг, 1,070 ммоль) і (S)-2-((S)-2-((трет-бутоксикарбоніл)аміно)пропанамідо)пропанової кислоти (334 мг, 1,284 ммоль), яка має кімнатну температуру, у THF (11,5 мл). Через 9 годин реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc (16 мл), потім промивали 1 н. водним розчином HCl (4 мл x 3), після цього насиченим водно-сольовим розчином (4 мл). Очищенням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 40 г) із градієнтом елюювання 0-10% MeOH/DCM одержували вказану у заголовку сполуку у вигляді жовтої піни (773,7 мг, 0,912 ммоль, вихід 85%). LC-MS (Спосіб r, Таблиця 7) R_t = 0,92 хв., маса/заряд = 848,53 [M+H⁺].

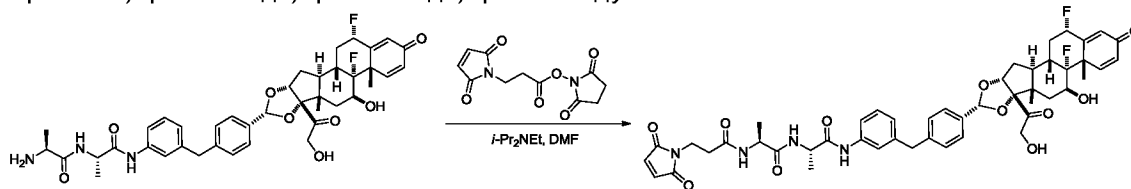
Стадія 2. Синтез (S)-2-аміно-N-((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)карбамату



До розчину трет-бутил-((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)карбамату (0,7683 г, 0,906 ммоль), який має кімнатну температуру, у DCM (6,0 мл) по краплях додавали TFA (1,97 мл, 25,6 ммоль). Через 50 хв. видаляли розчинник за зниженого тиску з одержанням сиропу коричневого кольору. Залишок розчиняли у DMSO:MeOH 1:1 (12 мл) та очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою на колонці C18(2), 10 мікронів, Phenomenex (колонка 250 x 50 мм). Застосовували градієнт MeCN (A) та 0,1% TFA у воді (B) за витрати 90 мл/хв. (0-5,0 хв. 15% A, 5,0-20 хв. лінійний градієнт 15-75% A, утримування 2 хв., 22,0-22,5 хв. лінійний градієнт 75-95% A, утримування 4 хв.). Об'єднані фракції концентрували за зниженого тиску до сухого стану і залишок висушували протягом ночі у вакуумній печі за 50 °C з одержанням вказаної у заголовку сполуки (230 мг, 0,308 ммоль, вихід 34%). LC-MS (Спосіб r, Таблиця 7) основний ізомер ацеталу R_t = 0,73 хв., m/z = 748,78 [M+H⁺]. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 10,01 (s, 1H), 8,62 (d,

$J = 7,2$ Гц, 1H), 8,04 (d, $J = 5,4$ Гц, 3H), 7,46 – 7,31 (m, 4H), 7,31 – 7,13 (m, 4H), 6,91 (d, $J = 7,6$ Гц, 1H), 6,27 (dd, $J = 10,2, 1,9$ Гц, 1H), 6,11 (s, 1H), 5,76 – 5,47 (m, 2H), 5,43 (s, 1H), 4,93 (d, $J = 4,6$ Гц, 1H), 4,49 (d, $J = 19,5$ Гц, 1H), 4,42 (q, $J = 7,1$ Гц, 1H), 4,23 – 4,13 (m, 2H), 2,72 – 2,54 (m, 1H), 2,33 – 2,16 (m, 2H), 2,02 (dt, $J = 13,6, 3,6$ Гц, 1H), 1,69 (h, $J = 5,9, 5,1$ Гц, 3H), 1,48 (s, 4H), 1,33 (d, $J = 7,0$ Гц, 3H), 1,30 (d, $J = 7,1$ Гц, 3H), 0,85 (s, 3H).

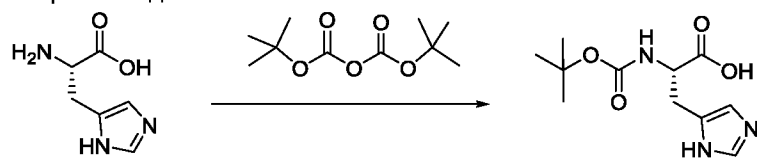
Стадія 3. Синтез (S)-N-(3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)-2-((S)-2-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанамідо)пропанамідо)пропанаміду



До розчину (S)-2-аміно-N-((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)пропанаміду (0,220 г, 0,294 ммоль) і N-сукцинімідил-3-малеїмідопропіонату (0,086 г, 0,324 ммоль), який має кімнатну температуру, у DMF (2,8 мл) додавали діізопропілетиламін (0,1 мл, 0,573 ммоль). Через 30 хв. рН реакційної суміші регулювали до показника 4-5 шляхом додавання по краплях 7% розчину TFA у воді (1,0 мл). Неочищену суміш очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою на колонці C18(2), 10 мікронів, Phenomenex (колонка 250 x 50 мм). Застосовували градієнт MeCN (A) та 0,1% TFA у воді (B) за витрати 90 мл/хв. (0-5,0 хв. 15% A, 5,0-20 хв. лінійний градієнт 15-85% A, утримування 2 хв.). Об'єднані фракції концентрували за зниженого тиску для видалення летких розчинників і одержаний розчин заморожували і ліофілізували з одержанням твердої речовини білого кольору (175,2 мг, 0,195 ммоль, вихід 66%). LC-MS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t = 0,82$ хв., маса/заряд = 899,87 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 9,70 (s, 1H), 8,14 (d, $J = 7,0$ Гц, 1H), 8,01 (d, $J = 7,2$ Гц, 1H), 7,47 – 7,35 (m, 2H), 7,32 (d, $J = 8,1$ Гц, 2H), 7,26 – 7,10 (m, 4H), 6,95 (s, 1H), 6,87 (dt, $J = 7,6, 1,3$ Гц, 1H), 6,26 (dd, $J = 10,2, 1,9$ Гц, 1H), 6,09 (d, $J = 2,0$ Гц, 1H), 5,72 – 5,51 (m, 1H), 5,48 (s, 1H), 5,41 (s, 1H), 4,91 (d, $J = 4,9$ Гц, 1H), 4,47 (d, $J = 19,4$ Гц, 1H), 4,30 (p, $J = 7,1$ Гц, 1H), 4,25 – 4,11 (m, 3H), 3,85 (s, 2H), 3,57 (t, $J = 7,3$ Гц, 2H), 2,71 – 2,48 (m, 1H), 2,36 (dd, $J = 8,0, 6,7$ Гц, 2H), 2,23 (ddt, $J = 25,1, 12,2, 6,6$ Гц, 2H), 2,01 (dt, $J = 13,7, 3,7$ Гц, 1H), 1,75 – 1,57 (m, 3H), 1,48 (p, $J = 11,9$ Гц, 1H), 1,46 (s, 3H), 1,24 (d, $J = 7,2$ Гц, 3H), 1,13 (d, $J = 7,2$ Гц, 3H), 0,83 (s, 3H).

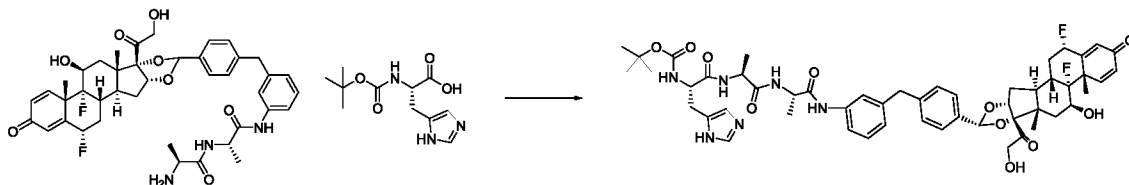
Приклад 11. Синтез (S)-N-((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)-2-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанамідо)-3-(1H-імідазол-4-іл)пропанаміду

Стадія 1. Синтез (S)-2-((трет-бутоксикарбоніл)аміно)-3-(1H-імідазол-5-іл)пропанової кислоти, 2-хлористоводневої кислоти



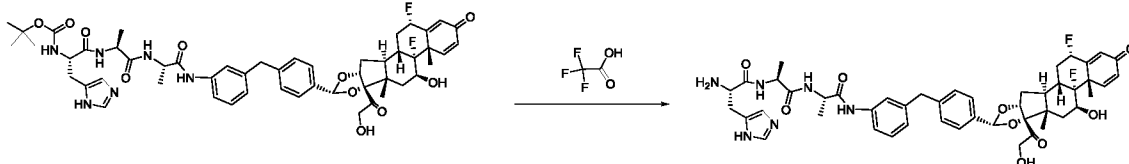
До розчину (S)-2-аміно-3-(1H-імідазол-5-іл)пропанової кислоти (1,55 г, 9,99 ммоль) у воді (40 мл) і 1,4-діоксані (10 мл) за 0 °C додавали NaOH (10 мл, 19,98 ммоль) і ВОС-ангідрид (2,319 мл, 9,99 ммоль). Одержану суміш перемішували за 23 °C протягом 4 год. Потім суміш підкислювали розчином HCl до рН 5 і промивали за допомогою EtOAc (3 X 30 мл). Далі неорганічний шар сублімували з одержанням указаної у заголовку сполуки (включаючи NaCl) (4,449 г, 9,90 ммоль, вихід 99%) у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб m, Таблиця 7) $R_t = 1,22$ хв., маса/заряд 256,2 $(M+1)^+$.

Стадія 2. Синтез трет-бутил-((S)-1-((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-3-(1H-імідазол-5-іл)-1-оксопропан-2-іл)карбамату



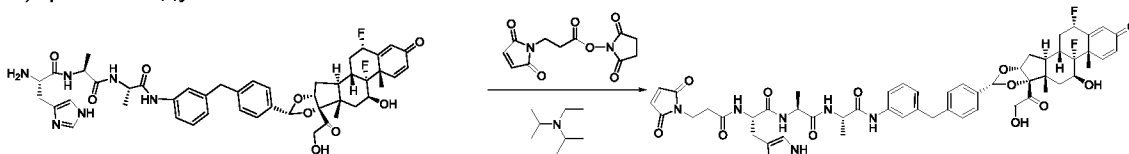
До розчину (S)-2-((трет-бутоксикарбоніл)аміно)-3-(1H-імідазол-5-іл)пропанової кислоти, 2-хлористоводневої кислоти (170 мг, 0,197 ммоль), (S)-2-((трет-бутоксикарбоніл)аміно)-3-(1H-імідазол-5-іл)пропанової кислоти, 2-хлористоводневої кислоти (443 мг, 0,986 ммоль) у THF (20 мл) за 0 °С додавали DIPEA (0,345 мл, 1,973 ммоль) і HATU (90 мг, 0,237 ммоль), DMAP (31,3 мг, 0,256 ммоль) і одержану суміш перемішували за 0 °С протягом 10 хв. і забезпечували поступове нагрівання до 25 °С протягом 16 год. Після цього суміш концентрували з одержанням залишка, який очищували за допомогою DCM/MeOH (10:1) і силікагелю з одержанням указаної у заголовку сполуки (194 мг, 0,138 ммоль, вихід 69,9%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. LCMS (Спосіб т, Таблиця 7) $R_t = 1,72$ хв., маса/заряд 985,3 ($M+1$)⁺; ¹H ЯМР: (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm: 0,82-0,89 (m, 10H), 1,12-1,18 (m, 9H), 1,23 (s, 9H), 1,68-1,71 (m, 2H), 2,20-2,33 (m, 2H), 3,86-3,88 (m, 2H), 4,18-4,29 (m, 4H), 4,36-4,39 (m, 1H), 4,49-4,54 (m, 1H), 4,94 (d, J = 4,4 Гц, 1H), 5,13 (bs, 1H), 5,45 (s, 1H), 5,57-5,74 (m, 2H), 6,12 (s, 1H), 6,29 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 6,91 (d, J = 8,0 Гц, 1H), 7,01 (d, J = 8,0 Гц, 1H), 7,10-7,25 (m, 4H), 7,29-7,37 (m, 3H), 7,44-7,49 (m, 2H), 8,06 (d, J = 6,0 Гц, 1H).

Стадія 3. Синтез (S)-2-аміно-N-((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS, 10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)-3-(1H-імідазол-5-іл)пропанаміду, 3-трифтороцтової кислоти



До розчину трет-бутил((S)-1-(((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-3-(1H-імідазол-5-іл)-1-оксопропан-2-іл)карбамату (120 мг, 0,122 ммоль) у DCM (3 мл) додавали TFA (0,6 мл, 7,79 ммоль) і реакційну суміш перемішували за 20 °С протягом 1 години. Після цього суміш розводили за допомогою DCM, концентрували під вакуумом за температури приблизно 25 °С з одержанням указаної у заголовку сполуки (149 мг, 0,103 ммоль, вихід 84,90%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. LCMS (Спосіб т, Таблиця 7) $R_t = 1,64$ хв., маса/заряд 885,3 ($M+1$)⁺.

Стадія 4. Синтез (S)-N-((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)-2-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанамідо)-3-(1H-імідазол-4-іл)пропанаміду

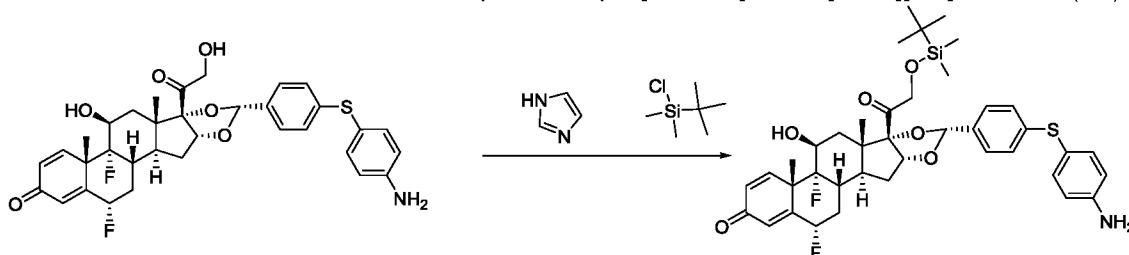


DIPEA (0,106 мл, 0,607 ммоль) додавали до розчину (S)-2-аміно-N-((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)-3-(1H-імідазол-5-іл)пропанаміду, 3-трифтороцтової кислоти (149 мг, 0,121 ммоль) і 2,5-діоксопіролідін-1-іл-3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанату (48,5 мг, 0,182 ммоль) у DMF (2 мл) за 0 °С, а потім суміш перемішували за кімнатної температури протягом 2 год. Реакційну суміш очищували за допомогою Prep-HPLC (рухома фаза: A=0,05% TFA у воді, B=MeCN; витрата: 2 мл/хв.) з одержанням указаної у заголовку сполуки (11,4 мг, 9,02 ммоль, вихід 7,43%) у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб т, Таблиця 7) $R_t = 1,62$ хв., маса/заряд 1058,3 ($M+Na$)⁺; ¹H ЯМР: (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm: 0,86 (s, 3H), 1,24-1,29 (m, 9H), 1,46-1,54 (m, 3H), 1,68-1,76 (m, 2H), 1,98-2,06 (m, 2H), 2,20-2,33 (m, 2H), 2,40-2,44 (m, 2H), 2,60-2,68 (m, 1H), 2,88-2,94 (m, 1H), 3,00-3,05 (m, 1H), 3,57 (t, J = 7,4 Гц, 2H), 3,89 (s, 2H), 4,18-4,39 (m, 4H), 4,49-4,60 (m, 2H), 4,95 (d, J = 4,8 Гц, 1H), 5,46 (s, 1H), 5,54-5,74 (m, 2H), 6,13 (s,

1H), 6,30 (d, J= 10,4 Гц, 1H), 6,92 (d, J= 7,6 Гц, 1H), 7,00 (s, 2H), 7,20-7,28 (m, 4H), 7,35-7,46 (m, 5H), 8,16 (d, J= 6,4 Гц, 1H), 8,23 (d, J= 7,2 Гц, 1H), 8,31 (d, J= 8,4 Гц, 1H), 8,96 (s, 1H), 9,89 (s, 1H).

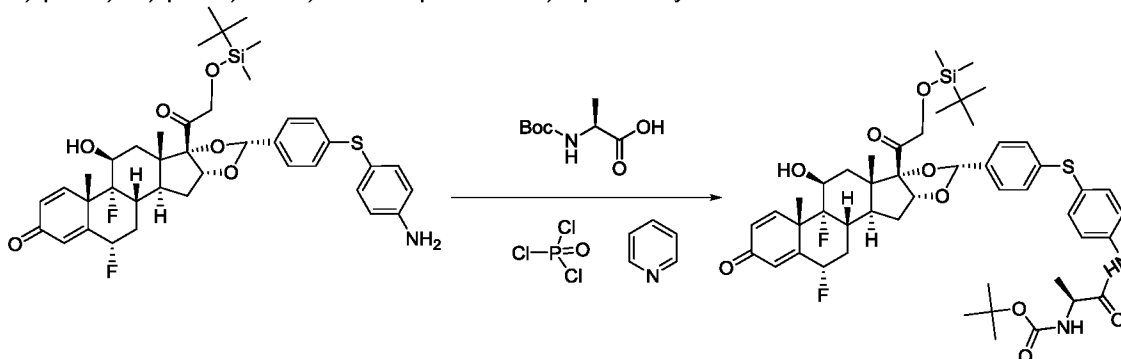
Приклад 12. Синтез (S)-5-(((S)-1-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)феніл)тіо)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-4-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанамідо)-5-оксопентанової кислоти (спол. № 81)

Стадія 1. Синтез (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-амінофеніл)тіо)феніл)-8b-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)ацетил)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-6а,8а-диметил-6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону



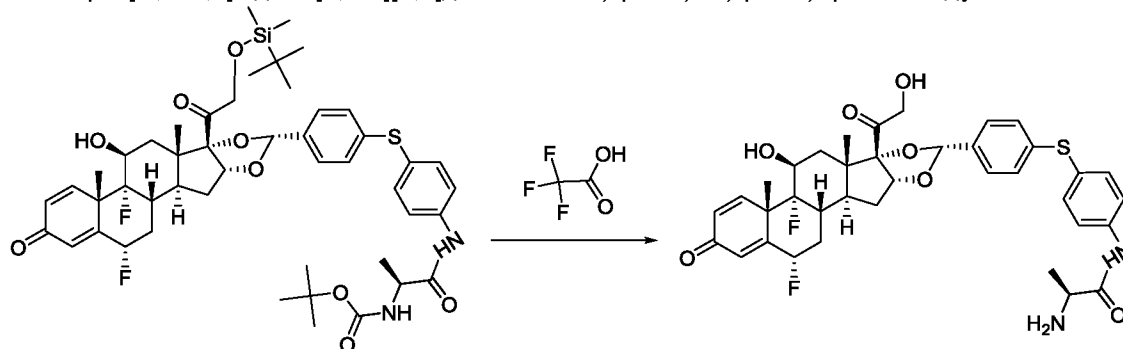
До перемішаного розчину (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-амінофеніл)тіо)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону (62,4 мг, 0,1 ммоль) та імідазолу (34,0 мг, 0,500 ммоль) у DCM додавали TBS-Cl (45,2 мг, 0,300 ммоль) за 0 °С. Після цього перемішування продовжували протягом 30 хв. за тієї ж температури, далі забезпечували нагрівання суміші до кімнатної температури і її перемішували протягом 2 год. Реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc (10 мл), промивали водою (2 x 10 мл) і сольовим розчином (1 x 10 мл), висушували над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували in vacuo. Залишок очищували за допомогою колонки (EA:PE= 1:10-1:1) з одержанням продукту, що являє собою (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-амінофеніл)тіо)феніл)-8b-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)ацетил)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-6а,8а-диметил-6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-он (50 мг, 0,068 ммоль, вихід 67,8%). LCMS (Спосіб m, Таблиця 7) R_t= 2,144 хв., маса/заряд 738 (M+H).

Стадія 2. Синтез трет-бутил((S)-1-((4-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-8b-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)ацетил)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)феніл)тіо)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)карбамату



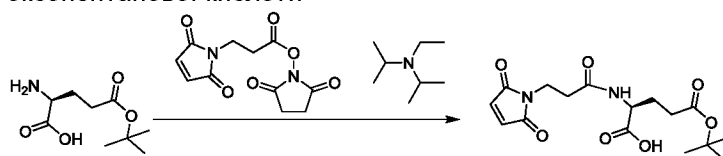
До перемішаного розчину (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-амінофеніл)тіо)феніл)-8b-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)ацетил)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-6а,8а-диметил-6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону (0,148 г, 0,2 ммоль) і (S)-2-((трет-бутоксикарбоніл)аміно)пропанової кислоти (0,076 г, 0,400 ммоль) у DCM (3 мл) додавали піридин (0,162 мл, 2,000 ммоль), після чого по краплях додавали POCl₃ (0,075 мл, 0,800 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 1 години за температури навколишнього середовища, потім концентрували in vacuo і залишок очищували за допомогою колонки (EA:PE=1:10-9:1) з одержанням трет-бутил((S)-1-((4-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-8b-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)ацетил)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)феніл)тіо)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)карбамату (0,073 г, 0,080 ммоль, вихід 40%) у вигляді напівтвердої речовини. LCMS (Спосіб m, Таблиця 7) R_t= 2,156 хв., маса/заряд 909 (M+H).

Стадія 3. Синтез (S)-2-аміно-N-(4-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)феніл)тіо)феніл)пропанаміду



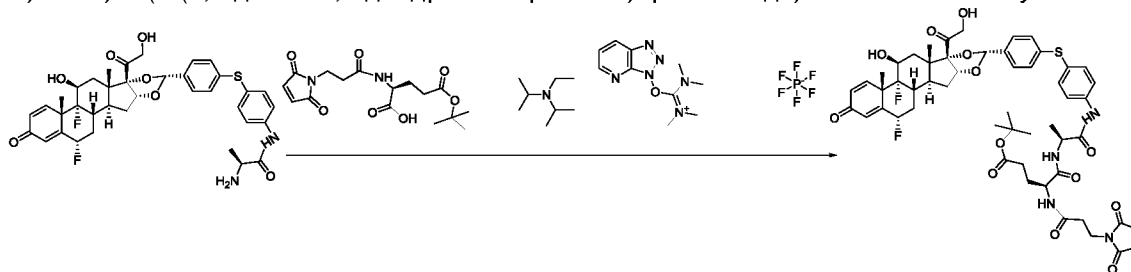
До перемішаного розчину трет-бутил((S)-1-((4-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-8b-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)ацетил)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)феніл)тіо)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)карбамату (0,091 г, 0,1 ммоль) у метиленхлориді (1 мл) додавали TFA (1 мл, 12,98 ммоль) і розчин перемішували протягом 2 годин за температури навколишнього середовища, потім концентрували in vacuo з одержанням продукту, що являє собою (S)-2-аміно-N-(4-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)феніл)тіо)феніл)пропанамід (7,21 г, 10,38 ммоль, вихід 80%). LCMS (Спосіб m, Таблиця 7) $R_t = 1,653$ хв., маса/заряд 695 (M+H).

Стадія 4. Синтез (S)-5-(трет-бутокс)-2-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанамідо)-5-оксопентанової кислоти



До перемішаного розчину (S)-2-аміно-5-(трет-бутокс)-5-оксопентанової кислоти (406 мг, 2 ммоль) і 2,5-діоксопіролідин-1-іл-3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропаноату (532 мг, 2,000 ммоль) у диметилформаміді (2 мл) додавали DIPEA (0,524 мл, 3,00 ммоль). Після цього перемішування продовжували протягом 2 год. за кімнатної температури, реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc (10 мл), промивали водою (2 X 10 мл) і сольовим розчином (1 x 10 мл), висушували над Na_2SO_4 , фільтрували і концентрували in vacuo і залишок очищували за допомогою колонки (MeOH/DCM=0:10-1:10) з одержанням указаної у заголовку сполуки (209 мг, 0,590 ммоль, вихід 29,5%) у вигляді жовтого масла. LCMS (Спосіб m, Таблиця 7) $R_t = 1,490$ хв., маса/заряд 377 (M+Na).

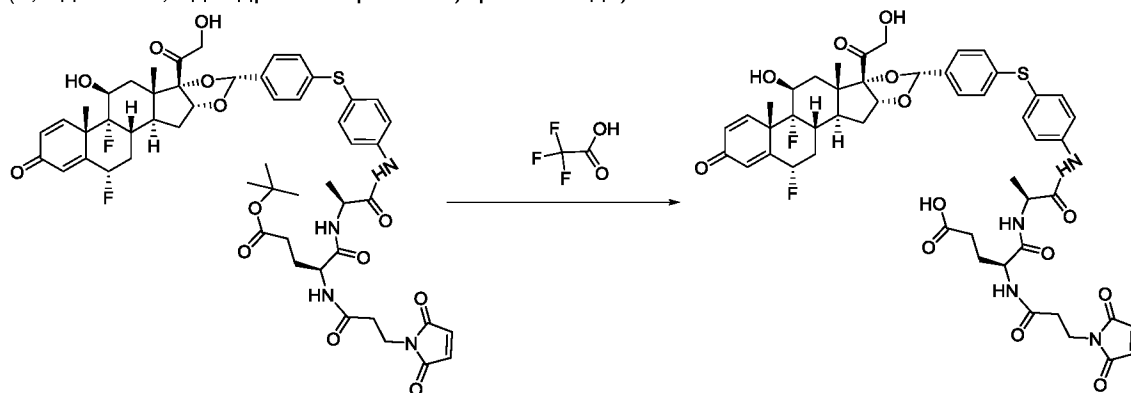
Стадія 5. Синтез (S)-трет-бутил-5-(((S)-1-((4-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)феніл)тіо)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-4-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанамідо)-5-оксопентанової кислоти



Розчин (S)-2-аміно-N-(4-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)феніл)тіо)феніл)пропанаміду (40 мг, 0,058 ммоль), (S)-5-(трет-бутокс)-2-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанамідо)-5-оксопентанової кислоти (30,6 мг, 0,086 ммоль), HATU (32,8 мг, 0,086 ммоль) і DIPEA (0,030 мл, 0,173 ммоль) у диметилформаміді (2 мл) перемішували протягом ночі за кімнатної температури і розводили за допомогою EtOAc (10 мл), промивали водою (2 X 10 мл) і сольовим розчином (1 x 10 мл), висушували над Na_2SO_4 , фільтрували і випарювали за зниженого тиску. Залишок очищували за допомогою колонкової хроматографії

(MeOH/DCM=0:10;1:10) з одержанням указаної у заголовку сполуки (30 мг, 0,029 ммоль, вихід 50,5%). LCMS (Спосіб т, Таблица 7) $R_t = 2,051$ хв., маса/заряд 1031 (M+H).

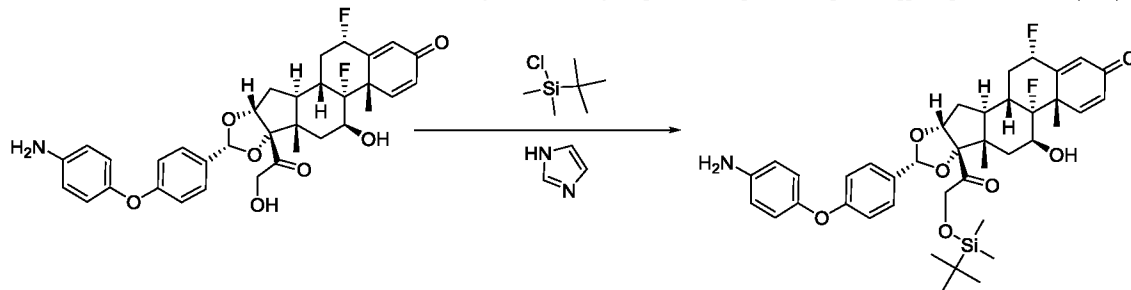
Стадія 6. Синтез (S)-5-(((S)-1-((4-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)феніл)тіо)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-4-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанамідо)-5-оксопентанової кислоти



До перемішаного розчину (S)-трет-бутил-5-(((S)-1-((4-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)феніл)тіо)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-4-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанамідо)-5-оксопентаноату (10,31 мг, 0,01 ммоль) у DCM (0,5 мл) додавали TFA (0,5 мл, 6,49 ммоль). Після цього перемішування продовжували протягом 2 год., реакційну суміш концентрували in vacuo з одержанням указаної у заголовку сполуки (6,83 мг, 7,00 мкмоль, вихід 70%). LCMS (Спосіб т, Таблица 7) $R_t = 1,875$ хв., маса/заряд 975 (M+H).

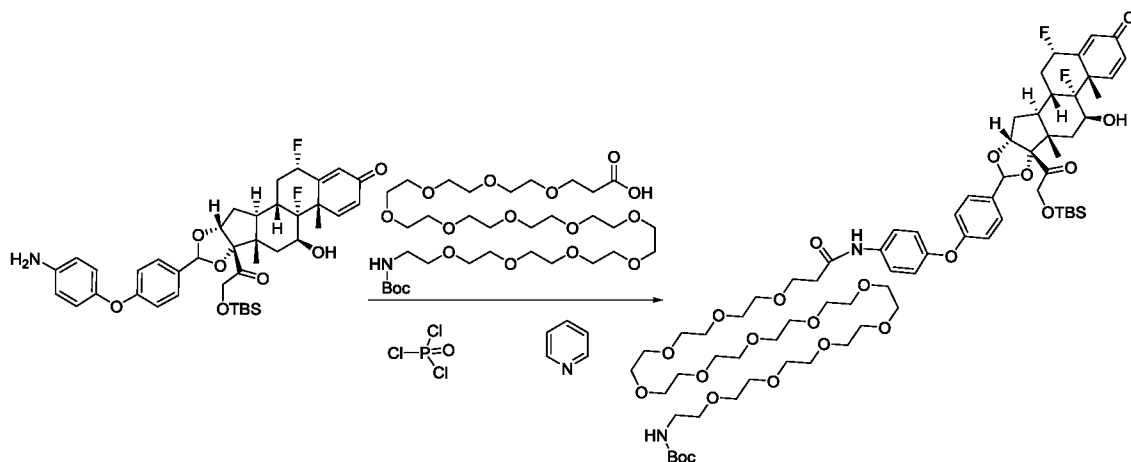
Приклад 13. Синтез N-(4-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)фенокси)феніл)-1-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанамідо)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-додекаоксанонатриаконтан-39-аміду

Стадія 1. Синтез (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(4-амінофенокси)феніл)-8b-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)ацетил)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-6а,8а-диметил-6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону



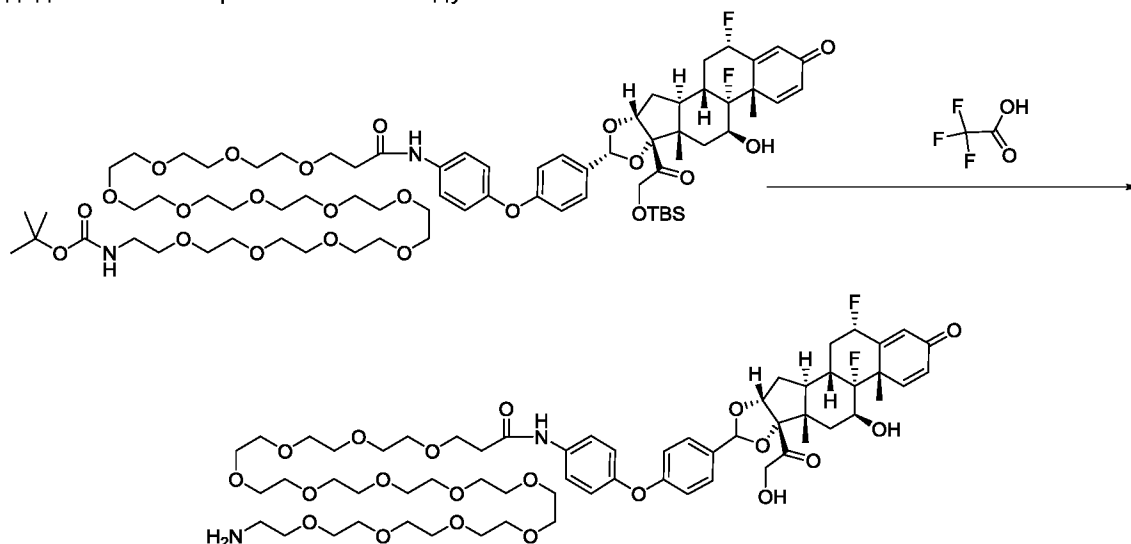
До перемішаного розчину (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(4-амінофенокси)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону (290 мг, 0,477 ммоль) та імідазолу (162 мг, 2,386 ммоль) в CH_2Cl_2 (10 мл) додавали TBS-Cl (216 мг, 1,432 ммоль) за 0 °C. Після цього перемішування продовжували протягом 30 хв. за тієї ж температури, далі забезпечували нагрівання суміші до кімнатної температури і її перемішували протягом 2 год. Реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc (10 мл), промивали водою (2 x 10 мл) і сольовим розчином (1 x 10 мл), висушували над Na_2SO_4 , фільтрували і концентрували in vacuo. Залишок очищували за допомогою колонки (EA:PE= 1:10-9:1) з одержанням указаної у заголовку сполуки (300 мг, 0,416 ммоль, вихід 87 %). LCMS (Спосіб т, Таблица 7) $R_t = 1,812$ хв., маса/заряд 722 (M+H).

Стадія 2. Синтез трет-бутил(39-((4-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,11aR,12aS,12bS)-8b-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)ацетил)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)фенокси)феніл)аміно)-39-оксо-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-додекаоксанонатриаконтан-39-аміду



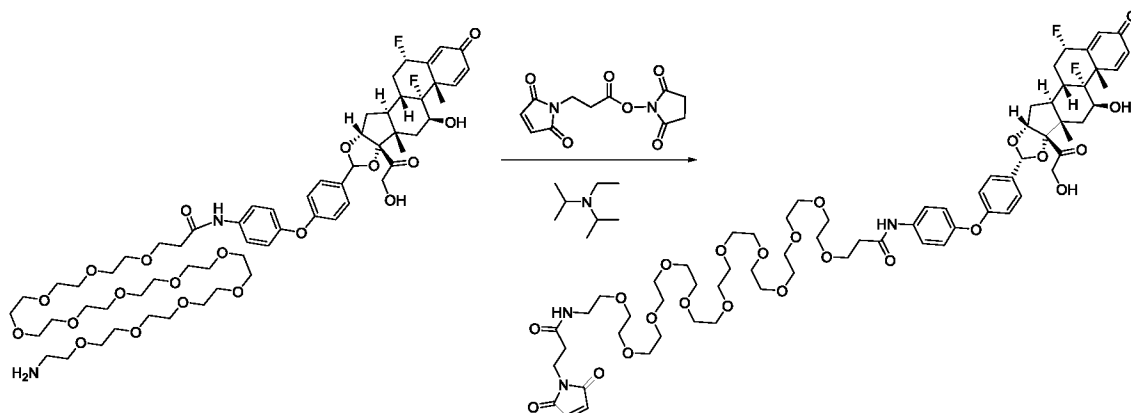
До перемішаного розчину (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(4-амінофенокси)феніл)-8b-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)ацетил)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-6a,8a-диметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону (144 мг, 0,2 ммоль) і 2,2-диметил-4-оксо-3,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38,41-тридекакса-5-азатетратетраконтан-44-ової кислоти (144 мг, 0,200 ммоль) у CH_2Cl_2 (3 мл) додавали піридин (0,162 мл, 2,000 ммоль), після чого по краплях додавали POCl_3 (0,037 мл, 0,400 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 1 години за температури навколишнього середовища, потім концентрували in vacuo і залишок очищували за допомогою колонкової хроматографії ($\text{MeOD}:\text{DCM}=0:10:1:10$) з одержанням указаної у заголовку сполуки (120 мг, 0,084 ммоль, вихід 42,2%) у вигляді напівтвердої речовини. LCMS (Спосіб m, Таблиця 7) $R_t=2,065$ хв., маса/заряд 1422 ($M+H-100$).

Стадія 3. Синтез 1-аміно-N-(4-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)фенокси)феніл)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-додекаоксанона-триаконтан-39-аміду



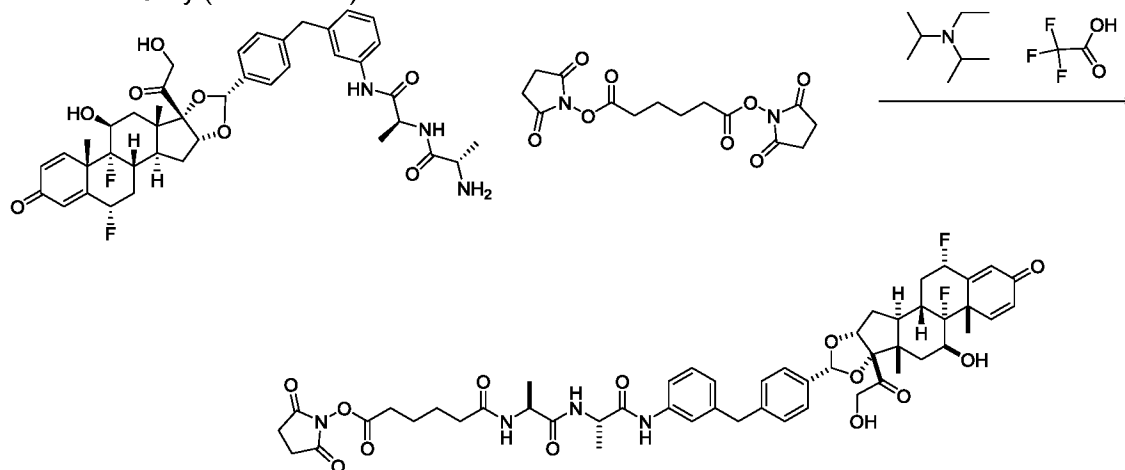
До перемішаного розчину трет-бутил(39-((4-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-8b-(2-((трет-бутилдиметилсиліл)окси)ацетил)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)фенокси)феніл)аміно)-39-оксо-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-додекаоксанона-триаконтан-39-аміду)карбамату (190 мг, 0,134 ммоль) у метиленхлориді (0,5 мл) додавали TFA (0,1 мл, 1,298 ммоль) і розчин перемішували протягом 2 годин за температури навколишнього середовища, потім концентрували in vacuo з одержанням указаної у заголовку сполуки (100 мг, 0,083 ммоль, вихід 62,0%). LCMS (Спосіб m, Таблиця 7) $R_t=1,521$ хв., маса/заряд 1208 ($M+H$).

Стадія 4. Синтез N-(4-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)фенокси)феніл)-1-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанамідо)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-додекаоксанона-триаконтан-39-аміду



До розчину 1-аміно-N-(4-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)фенокси)феніл)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-додекаоксанона-39-аміду (0,024 г, 0,02 ммоль) і 2,5-діокспіролідін-1-іл-3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропаноату (7,99 мг, 0,030 ммоль) у N,N-диметилформаміді (1 мл) додавали DIPEA (6,99 мкл, 0,040 ммоль) і суміш перемішували за кімнатної температури протягом 2 год. Реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc (10 мл) і промивали водою (2 x 10 мл), сольовим розчином (1 x 10 мл), висушували над Na₂SO₄, фільтрували і концентрували in vacuo. Залишок очищували за допомогою колонкової хроматографії (MeOH/DCM=0:100-10:100) з одержанням указаної у заголовку сполуки (0,011 г, 8,20 мкмоль, вихід 41%). LCMS (Спосіб m, Таблиця 7) R_t= 1,679 хв., маса/заряд 1359 (M+H).

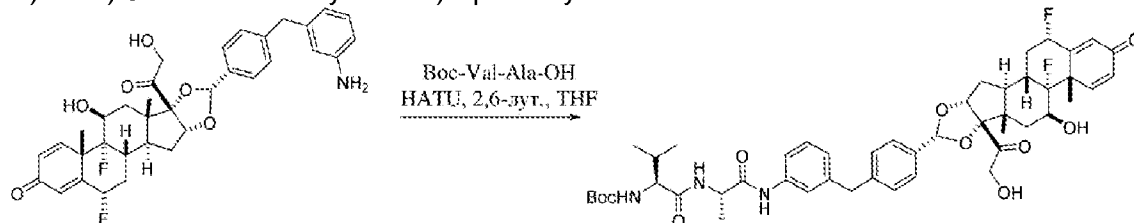
Приклад 14. Синтез 2,5-діокспіролідін-1-іл-6-(((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксипропан-2-іл)аміно)-1-оксипропан-2-іл)аміно)-6-оксогексаноату (спол. № 78)



Розчин (S)-2-аміно-N-((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксипропан-2-іл)пропанаміду (0,060 г, 0,080 ммоль) і N,N-діізопропілетиламіну (0,14 мл, 0,802 ммоль) в DMSO (1 мл) по краплях додавали до розчину біс(2,5-діокспіролідін-1-іл)адипату (0,273 г, 0,802 ммоль), який має кімнатну температуру, у DMSO (3,5 мл). Через 60 хв. реакцію гасили за допомогою додавання 7 ваг. % розчину TFA у воді з доведенням pH реакційної суміші до показника 4-5. Неочищену реакційну суміш очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою на колонці C18(2), 5 мікронів, Phenomenex (колонка 250 x 21 мм). Застосовували градієнт MeCN (A) та 0,1% мурашиної кислоти у воді (B) за витрати 30 мл/хв. (0-1,0 хв. 15% A, 1,0-11 хв. лінійний градієнт 15-80% A, утримування 1 хв.). Об'єднані фракції концентрували за зниженого тиску для видалення летких розчинників і одержаний розчин заморожували і ліофілізували з одержанням указаної у заголовку сполуки у вигляді твердої речовини білого кольору (21,2 мг, 0,022 ммоль, вихід 27%). LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) R_t= 0,80 хв., маса/заряд = 1005,1 [M+MeOH+H⁺]. ¹H ЯМР (DMSO) δ 0,84 (s, 3H), 1,17 (d, J = 7,1Hz, 3H), 1,25 (d, J = 7,1Hz, 3H), 1,48 (s, 4H), 1,57 (q, J = 6,2Hz, 4H), 1,68 (dq, J = 13,7, 6,3Hz, 3H), 1,99-2,06 (m, 1H), 2,09-2,18 (m, 2H), 2,18-2,36 (m, 2H), 2,55-2,72 (m, 3H), 2,78 (s, 4H), 3,87 (s, 2H), 4,14-4,22 (m, 2H), 4,26 (p, J = 7,1Hz, 1H), 4,33 (p, J = 7,1Hz, 1H), 4,49 (d, J = 19,4Hz, 1H), 4,93 (d, J = 5,1Hz, 1H), 5,43 (s, 1H), 5,49 (d, J = 5,4Hz,

1H), 5,54-5,75 (m, 1H), 6,11 (s, 1H), 6,28 (dd, J = 10,2, 2,0Hz, 1H), 6,89 (d, J = 7,6Hz, 1H), 7,17 (t, J = 7,9Hz, 1H), 7,23 (t, J = 9,7Hz, 3H), 7,34 (d, J = 7,8Hz, 2H), 7,39 (s, 1H), 7,44 (d, J = 8,1Hz, 1H), 7,99 (d, J = 7,2Hz, 1H), 8,02 (d, J = 7,3Hz, 1H), 9,77 (s, 1H); MS (ESI-) маса/заряд = 971.

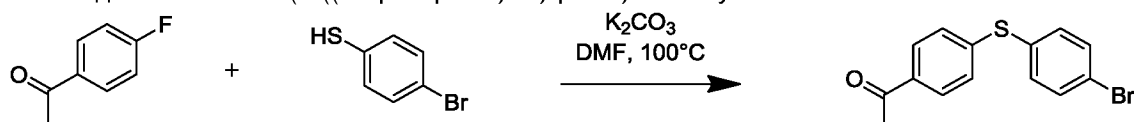
Приклад 15. Синтез трет-бутил((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксoproпан-2-іл)аміно)-3-метил-1-оксобутан-2-іл)карбамату



HATU (106 мг, 0,280 ммоль) і 2,6-лутидин (0,1 мл, 0,859 ммоль) додавали до суспензії (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-амінобензил)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону (113 мг, 0,187 ммоль) і (трет-бутоксикарбоніл)-L-валіл-L-аланіну (53,8 мг, 0,187 ммоль), яка має кімнатну температуру, у THF (1,25 мл). Через 8 год. реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc (16 мл), потім промивали послідовно 1 М водним розчином HCl (4 мл x 3), насиченим водним розчином NaHCO₃ (4 мл) і потім насиченим водно-сольовим розчином (4 мл). Розчинник видаляли за зниженого тиску і продукт очищували за допомогою хроматографії (12 г діоксиду кремнію) із градієнтом елювання 0-10% MeOH/DCM з одержанням указаної у заголовку сполуки (148,6 мг, 0,170 ммоль, вихід 91%). LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) R_t = 0,94 хв., маса/заряд = 875,9 [M+H⁺]. ¹H ЯМР (DMSO-d₆) δ 9,85 (s, 1H), 7,99 (d, J = 7,1 Гц, 1H), 7,43 (dd, J = 8,0, 1,7 Гц, 1H), 7,36 – 7,31 (m, 3H), 7,27 – 7,15 (m, 5H), 6,89 (d, J = 7,5 Гц, 1H), 6,67 (d, J = 8,8 Гц, 1H), 6,27 (dd, J = 10,2, 1,9 Гц, 1H), 6,11 (s, 1H), 5,73 – 5,52 (m, 1H), 5,50 (dd, J = 4,5, 1,7 Гц, 1H), 5,43 (s, 1H), 5,07 (t, J = 5,9 Гц, 1H), 4,93 (d, J = 4,8 Гц, 1H), 4,49 (dd, J = 19,5, 6,4 Гц, 1H), 4,37 (t, J = 7,0 Гц, 1H), 4,25 – 4,12 (m, 2H), 3,87 (s, 2H), 3,80 (t, J = 7,7 Гц, 1H), 2,73 – 2,53 (m, 1H), 2,23 (ddd, J = 18,7, 11,9, 6,0 Гц, 2H), 2,08 – 1,99 (m, 1H), 1,93 (q, J = 7,0 Гц, 1H), 1,77 – 1,59 (m, 3H), 1,48 (s, 3H), 1,35 (s, 9H), 1,25 (d, J = 7,0 Гц, 3H), 0,89 – 0,74 (m, 9H).

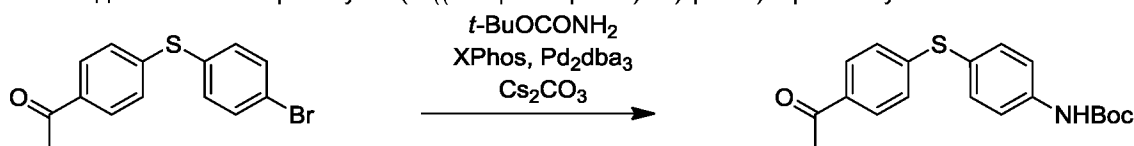
Приклад 16. Синтез (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-амінофеніл)тіо)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a,10-триметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону і (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-амінофеніл)тіо)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a,10-триметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону

Стадія 1. Синтез 1-(4-((4-бромфеніл)тіо)феніл)етанону



До перемішаного розчину 4-бромбензолтіолу (3,1 г, 16,40 ммоль) і K₂CO₃ (2,72 г, 19,67 ммоль) у DMF (45 мл) додавали 1-(4-фторфеніл)етанон (2,19 мл, 18,04 ммоль), після чого реакційну суміш нагрівали до 100 °C протягом 20 хв. Реакційну суміш охолоджували до температури навколишнього середовища, розводили водою (50 мл) і екстрагували за допомогою EtOAc (3 X 50 мл). Об'єднані органічні речовини висушували (MgSO₄) і видаляли розчинники за зниженого тиску. Очищенням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 120 г) із градієнтом елювання 0-60% EtOAc/гептани одержували вказану у заголовку сполуку (3,24 г, 10,55 ммоль, вихід 64%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) R_t = 0,95 хв.; маса/заряд = 307,0 [M+H⁺]. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,87 (d, J = 8,7 Гц, 2H), 7,62 (d, J = 8,6 Гц, 2H), 7,38 (d, J = 8,6 Гц, 2H), 7,28 (d, J = 8,7 Гц, 2H), 2,50 (s, 3H).

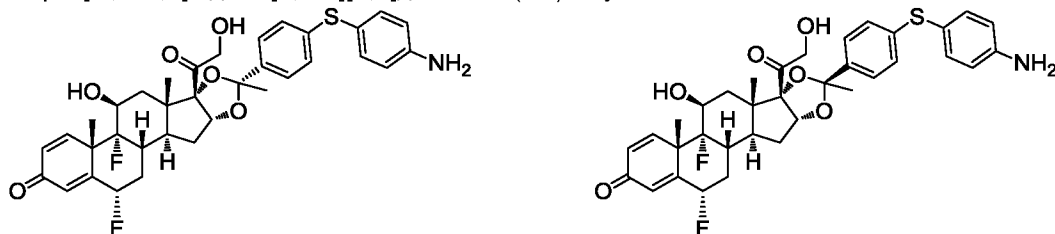
Стадія 2. Синтез трет-бутил(4-((4-ацетилфеніл)тіо)феніл)карбамату



Через суміш 1-(4-((4-бромфеніл)тіо)феніл)етанону (3,24 г, 10,55 ммоль), трет-бутилкарбамату (1,483 г, 12,66 ммоль), Cs₂CO₃ (5,15 г, 15,82 ммоль) і дициклогексил(2',4',6'-триізопропіл-[1,1'-біфеніл]-2-іл)фосфіну (0,503 г, 1,055 ммоль) в 1,4-діоксані барботували азот протягом 30 хв. Колбу

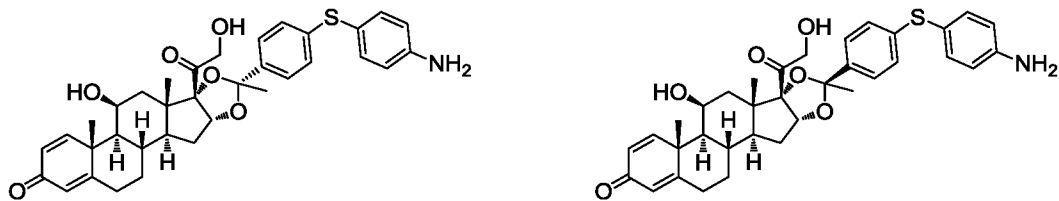
вакуумували і заповнювали знову за допомогою N₂ (3X). Додавали Pd₂dba₃ (0,290 г, 0,316 ммоль), і реакційну суміш вакуумували, і колбу заповнювали знову за допомогою N₂ (3X). Реакційну суміш нагрівали до 100 °C протягом 18 год. Реакційну суміш охолоджували до температури навколишнього середовища, оброблювали водою (75 мл), потім екстрагували за допомогою EtOAc (3 X 50 мл), висушували (MgSO₄) і видаляли розчинники за зниженого тиску. Очищенням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 120 г) із градієнтом елюювання 0-60% EtOAc/гептани одержували вказану у заголовку сполуку (2,0 г, 5,82 ммоль, вихід 55%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) R_t = 0,96 хв.; маса/заряд = 344,0 [M+H⁺]. ¹H ЯМР (501 МГц, DMSO-d₆) δ 9,62 (s, 1H), 7,82 (d, J = 8,7 Гц, 2H), 7,58 (d, J = 8,7 Гц, 2H), 7,43 (d, J = 6,7 Гц, 2H), 7,11 (d, J = 8,7 Гц, 2H), 2,49 (s, 3H), 1,47 (s, 9H).

Стадія 3. Синтез (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-амінофеніл)тіо)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a,10-триметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону і (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-амінофеніл)тіо)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a,10-триметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону



Трифлатну кислоту (0,431 мл, 4,85 ммоль) додавали по краплях до зависі (6S,8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17S)-6,9-дифтор-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3H-циклопента[а]фенантрен-3-ону (0,400 г, 0,970 ммоль), трет-бутил(4-((4-ацетилфеніл)тіо)феніл)карбамату (0,366 г, 1,067 ммоль) і MgSO₄ (0,350 г, 2,91 ммоль), яка має температуру 0 °C, у MeCN (4,0 мл). Через 30 хв. реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc (25 мл), промивали послідовно насиченим водним розчином NaHCO₃ (20 мл), насиченим водно-сольовим розчином (25 мл), висушували (MgSO₄), і потім видаляли розчинник за зниженого тиску з одержанням жовтої піни. Очищенням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 40 г) із градієнтом елюювання 0-10% MeOH/DCM одержували продукт у вигляді суміші ізомерів кеталю (460 мг, 0,721 ммоль, вихід 74%). Порцію даного матеріалу очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою на колонці C18(2), 10 мікронів, Phenomenex (колонка 250 X 50 мм). Застосовували градієнт MeCN (A) та 0,1% TFA у воді (B) за витрати 90 мл/хв. (0-5,0 хв. 15% A, 5,0-18 хв. лінійний градієнт 15-75% A, потім утримування 5 хв.). Об'єднані фракції концентрували для видалення летких розчинників за зниженого тиску й одержані розчини заморожували і ліофілізували з одержанням ізомерів кеталю у вигляді твердих речовин жовтого кольору. Мінорний ізомер кеталю: (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-амінофеніл)тіо)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a,10-триметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-он. Порошок жовтого кольору (10,0 мг). LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) R_t = 0,80 хв.; маса/заряд = 638,2 [M+H⁺]. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 7,33 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 7,23 (dd, J = 10,1, 1,5 Гц, 1H), 7,19 – 7,12 (m, 2H), 6,96 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 6,76 – 6,63 (m, 2H), 6,29 (dd, J = 10,2, 1,9 Гц, 1H), 6,10 (s, 1H), 5,66 – 5,45 (m, 2H), 5,14 (d, J = 5,8 Гц, 1H), 4,65 (d, J = 19,3 Гц, 1H), 4,22 – 4,07 (m, 2H), 2,48 – 2,35 (m, 1H), 2,14 – 2,04 (m, 1H), 2,02 – 1,91 (m, 1H), 1,77 – 1,64 (m, 2H), 1,63 – 1,56 (m, 1H), 1,50 (dd, J = 13,2, 6,3 Гц, 1H), 1,44 (s, 3H), 1,36 (s, 3H), 1,14 – 0,98 (m, 1H), 0,80 (s, 3H). Основний ізомер кеталю: (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-амінофеніл)тіо)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a,10-триметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-он. Порошок жовтого кольору (18,1 мг). LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) R_t = 0,85 хв.; маса/заряд = 638,2 [M+H⁺]. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 7,28 (d, J = 10,2 Гц, 1H), 7,20 (dd, J = 8,4, 7,2 Гц, 4H), 6,95 (d, J = 8,4 Гц, 2H), 6,73 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 6,31 (d, J = 12,0 Гц, 1H), 6,13 (s, 1H), 5,75 – 5,57 (m, 1H), 5,53 (s, 1H), 5,00 (d, J = 5,1 Гц, 1H), 4,22 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 4,06 – 3,80 (m, 4H), 2,72 – 2,55 (m, 1H), 2,39 – 2,27 (m, 1H), 2,17 – 2,02 (m, 2H), 1,79 – 1,56 (m, 3H), 1,50 (d, J = 12,4 Гц, 6H), 0,73 (s, 3H).

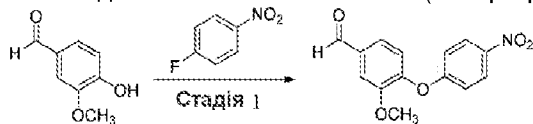
Приклад 17. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-амінофеніл)тіо)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a,10-триметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону і (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-амінофеніл)тіо)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a,10-триметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону



Трифлатну кислоту (0,24 мл, 2,66 ммоль) додавали по краплях до зависі (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3H-циклопента[а]фенантрен-3-ону (0,200 г, 0,531 ммоль), трет-бутил-(4-((4-ацетилфеніл)тіо)феніл)карбамату (0,201 г, 0,584 ммоль) і MgSO_4 (0,192 г, 1,59 ммоль), яка має температуру 0°C , у MeCN (2,0 мл). Через 30 хв. реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc (15 мл), промивали послідовно насиченим водним розчином NaHCO_3 (10 мл), а потім насиченим водно-сольовим розчином (10 мл), висушували (MgSO_4) і видаляли розчинник за зниженого тиску з одержанням піни жовтого кольору. Очищуванням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 24 г) із градієнтом елюювання 0-10% MeOH/DCM одержували продукт у вигляді суміші ізомерів кеталю (198 мг, 0,329 ммоль, вихід 62%). Порцію даного матеріалу очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою на колонці C18(2), 10 мікронів, Phenomenex (колонка 250 X 50 мм). Застосовували градієнт MeCN (A) та 0,1% TFA у воді (B) за витрати 90 мл/хв. (0-5,0 хв. 15% A, 5,0-18 хв. лінійний градієнт 15-75% A, потім утримування 5 хв.). Об'єднані фракції концентрували для видалення летких розчинників за зниженого тиску й одержаний розчин заморожували і ліофілізували з одержанням обох ізомерів кеталю у вигляді твердих речовин білого кольору. Основний ізомер кеталю: (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-амінофеніл)тіо)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a,10-триметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-он. Порошок білого кольору (14,6 мг). LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t = 0,83$ хв.; маса/заряд = 602,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (501 МГц, DMSO- d_6) δ 7,30 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,22 - 7,12 (m, 4H), 6,91 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 6,68 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 6,16 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 5,91 (s, 1H), 4,93 (d, J = 4,6 Гц, 1H), 4,74 (brs, 2H), 4,30 (d, J = 2,9 Гц, 1H), 4,02 - 3,79 (m, 4H), 2,53 (dt, J = 14,7, 7,6 Гц, 1H), 2,30 (d, J = 14,8 Гц, 1H), 2,16 - 1,95 (m, 2H), 1,85 (d, J = 3,6 Гц, 1H), 1,78 - 1,67 (m, 2H), 1,55 (td, J = 15,2, 13,3, 7,7 Гц, 2H), 1,50 (s, 3H), 1,37 (s, 3H), 1,13 - 0,97 (m, 2H), 0,70 (s, 3H). Мінорний ізомер кеталю: (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-амінофеніл)тіо)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a,10-триметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-он. Порошок білого кольору (12,0 мг). LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t = 0,80$ хв.; маса/заряд = 602,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (501 МГц, DMSO- d_6) δ 7,32 (d, J = 6,8 Гц, 2H), 7,25 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,13 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 6,95 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 6,66 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 6,13 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 5,87 (s, 1H), 5,09 (d, J = 6,1 Гц, 1H), 4,71 (brs, 1H), 4,62 (d, J = 19,3 Гц, 1H), 4,22 (d, J = 2,9 Гц, 1H), 4,11 (d, J = 19,2 Гц, 2H), 2,47 - 2,37 (m, 1H), 2,25 - 2,07 (m, 1H), 1,94 (qd, J = 11,3, 3,8 Гц, 1H), 1,87 - 1,75 (m, 1H), 1,70 (s, 2H), 1,59 - 1,44 (m, 2H), 1,32 (d, J = 5,1 Гц, 6H), 1,18 - 1,03 (m, 1H), 0,78 (s, 3H), 0,61 (dd, J = 11,2, 3,5 Гц, 1H), 0,50 (qd, J = 12,9, 4,8 Гц, 1H).

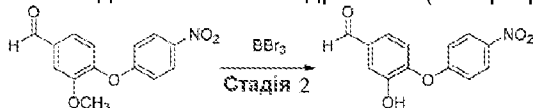
Приклад 18. Синтез 2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(4-амінофенокси)-3-гідроксифеніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону

Стадія 1. Синтез 3-метокси-4-(4-нітрофенокси)бензальдегіду



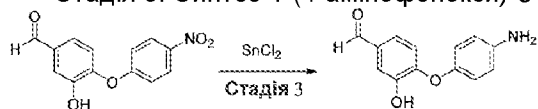
Ванілін (2,5 г, 16,43 ммоль), 4-фторнітробензол (2,61 мл, 24,65 ммоль) і карбонат калію (4,54 г, 32,9 ммоль) розчиняли у DMF (15 мл) і перемішували за 80°C протягом ночі. Після охолодження суміш оброблювали водою та екстрагували за допомогою EtOAc (x2). Об'єднані органічні шари промивали водою і сольовим розчином, висушували (Na_2SO_4) і концентрували. Очищуванням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 120 г) із градієнтом елюювання 0-40% EtOAc в гептанах одержували вказану у заголовку сполуку у вигляді твердої речовини світло-жовтого кольору (3,37 г, 75%). LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t = 0,88$ хв.; маса/заряд не проявився. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 10,00 (s, 1H), 8,26 - 8,17 (m, 2H), 7,72 - 7,60 (m, 2H), 7,42 (d, J = 8,1 Гц, 1H), 7,12 - 7,03 (m, 2H), 3,82 (s, 3H).

Стадія 2. Синтез 3-гідрокси-4-(4-нітрофенокси)бензальдегіду



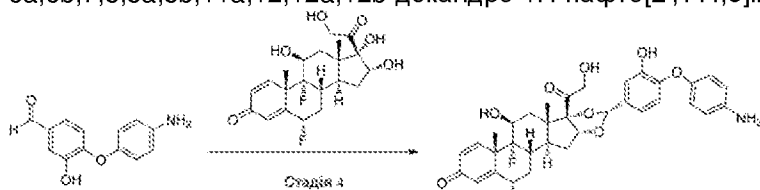
Трибромборан (110 мл, 110 ммоль) додавали до розчину 3-метокси-4-(4-нітрофенокси)бензальдегіду (6,02 г, 22,03 ммоль) у DCM (100 мл), який має температуру -78 °С. Реакційну суміш перемішували за -78 °С протягом 1 год., потім перемішували за 0 °С протягом 5 годин. Суміш змішували з льодом і екстрагували за допомогою DCM. Об'єднані органічні шари промивали водою і сольовим розчином, висушували (Na₂SO₄) і концентрували. Очищенням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 120 г) із градієнтом елюювання 0-30% EtOAc в гептанах одержували вказану у заголовку сполуку у вигляді масла пурпурного кольору (5,55 г, вихід 97%). LCMS (Спосіб г, Таблиця 7) R_t = 0,80 хв.; маса/заряд не проявився. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 10,24 (s, 1H), 8,22 – 8,14 (m, 2H), 7,36 (s, 1H), 7,30 (d, J = 2,1 Гц, 1H), 7,15 – 7,07 (m, 2H), 7,02 – 6,96 (m, 2H).

Стадія 3. Синтез 4-(4-амінофенокси)-3-гідроксибензальдегіду



Хлорид двовалентного олова (18,29 г, 96 ммоль) додавали до розчину доданого 3-гідрокси-4-(4-нітрофенокси)бензальдегіду (5 г, 19,29 ммоль), хлориду двовалентного олова (18,29 г, 96 ммоль) в етанолі (60 мл), який нагрівали до 80 °С протягом 2 год. Суміш охолоджували й обережно змішували з льодом і насиченим водним розчином бікарбонату натрію, потім декілька разів екстрагували за допомогою EtOAc. Об'єднані органічні шари промивали сольовим розчином, висушували (Na₂SO₄), фільтрували через Celite® і фільтрат концентрували з одержанням указаної у заголовку сполуки у вигляді твердої речовини жовтого кольору (1,18 г, вихід 27%). LCMS (Спосіб г, Таблиця 7) R_t = 0,48 хв.; маса/заряд = не проявився. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9,90 – 9,87 (m, 1H), 10,90 – 9,26 (m, 2H), 8,66 – 8,56 (m, 1H), 7,66 – 7,61 (m, 1H), 7,50 – 7,46 (m, 1H), 7,46 – 7,38 (m, 2H), 7,38 – 7,29 (m, 4H), 7,16 – 6,99 (m, 6H); MS(ESI-) маса/заряд = 227,9 (M-H).

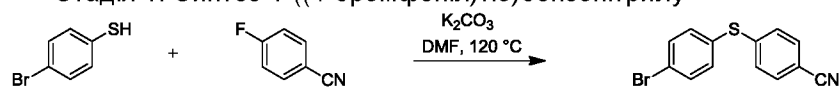
Стадія 4. Синтез (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(4-амінофенокси)-3-гідроксифеніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону



До розчину 4-(4-амінофенокси)-3-гідроксибензальдегіду (0,611 г, 2,67 ммоль) і (6S,8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17S)-6,9-дифтор-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3H-циклопента[а]фенантрен-3-ону (1 г, 2,425 ммоль), який має кімнатну температуру, у THF (70 мл) додавали перхлорну кислоту (2,64 мл, 24,25 ммоль). Через 16 годин реакційну суміш оброблювали водою і двічі екстрагували за допомогою EtOAc. Об'єднані органічні шари промивали насиченим водним розчином бікарбонату натрію, насиченим водним розчином тіосульфату натрію, потім насиченим водно-сольовим розчином, висушували (Na₂SO₄) і видаляли розчинник за зниженого тиску. Цей матеріал очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою на колонці C18(2), 5 мікронів, Phenomenex (колонка 250 x 21 мм). Застосовували градієнт MeCN (A) та 0,1% TFA у воді (B) за витрати 30 мл/хв. (0,0-1,0 хв. 15% A, 1,0-10 хв. лінійний градієнт до 65% A, утримання 1 хв.). Об'єднані фракції концентрували за зниженого тиску для видалення летких розчинників та одержаний розчин заморожували і ліофілізували з одержанням у заголовку продукту у вигляді твердої речовини жовтого кольору (338,9 мг, вихід 23%). LCMS (Спосіб г, Таблиця 7) R_t = 0,72 хв.; MS (ESI+) 624,2 (M+H); ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9,88 (s, 2H), 7,28 (dd, 1H), 7,27 – 7,22 (m, 2H), 7,07 (d, 1H), 7,00 (d, 1H), 6,96 – 6,88 (m, 3H), 6,30 (dd, 1H), 6,18 – 6,08 (m, 1H), 5,78 – 5,67 (m, 1H), 5,65 – 5,52 (m, 1H), 5,42 (s, 1H), 5,00 – 4,95 (m, 1H), 4,53 (d, 1H), 4,27 – 4,18 (m, 2H), 2,79 – 2,57 (m, 1H), 2,36 – 2,28 (m, 1H), 2,24 (td, 1H), 2,13 – 2,01 (m, 1H), 1,80 – 1,66 (m, 3H), 1,65 – 1,52 (m, 1H), 1,51 (s, 3H), 0,88 (s, 3H).

Приклад 19. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-амінофеніл)сульфоніл)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону

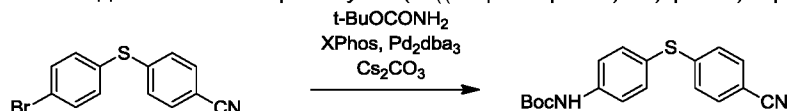
Стадія 1. Синтез 4-((4-бромфеніл)тіо)бензонітрилу



Карбонат калію (4,39 г, 31,7 ммоль) додавали до розчину 4-бромбензолтіолу (5,0 г, 26,4 ммоль) і 4-фторбензонітрилу (3,20 г, 26,4 ммоль) у DMF (50 мл), який нагрівали до 120 °С протягом 3 год. Реакційну суміш охолоджували до 0 °С, додавали воду (100 мл) і суміш екстрагували за допомогою

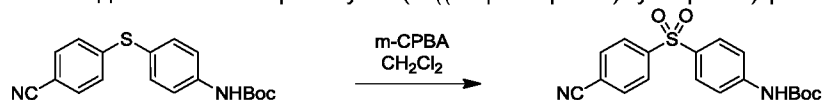
EtOAc (3 X 50 мл). Об'єднані органічні речовини висушували (MgSO₄) і видаляли розчинник за зниженого тиску. Очищенням за допомогою хроматографії (80 г діоксиду кремнію) із градієнтом елюювання 0-60% EtOAc/гептани одержували вказану у заголовку сполуку (6,82 г, 23,5 ммоль, вихід 89%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) R_t = 0,95 хв.; маса/заряд = 291,2 [M+H⁺]. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,72 (d, J = 8,7 Гц, 2H), 7,65 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 7,43 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 7,26 (d, J = 8,7 Гц, 2H).

Стадія 2. Синтез трет-бутил(4-((4-ціанофеніл)тіо)феніл)карбамату



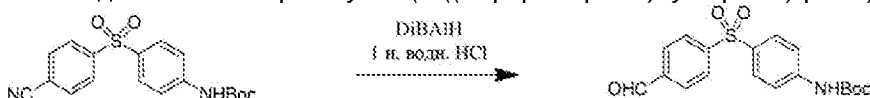
Через суміш 4-((4-бромфеніл)тіо)бензонітрилу (6,0 г, 20,68 ммоль), трет-бутилкарбамату (2,91 г, 24,81 ммоль), діізопропіл(2',4',5'-триізопропіл-[1,1'-біфеніл]-2-іл)фосфіну (0,820 г, 2,068 ммоль) і Cs₂CO₃ (10,11 г, 31,0 ммоль) в 1,4-діоксані (207 мл) барботували азот протягом 30 хв. Колбу вакуумували і заповнювали знову за допомогою N₂ (3X). Додавали Pd₂dba₃ (0,568 г, 0,620 ммоль), і реакційну суміш вакуумували, і колбу заповнювали знову за допомогою N₂ (3X рази). Реакційну суміш нагрівали до 100 °C протягом 28 год. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, після чого її оброблювали водою (200 мл), екстрагували за допомогою EtOAc (3 X 75 мл), висушували (MgSO₄) і видаляли розчинники за зниженого тиску. Очищенням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 120 г) із градієнтом елюювання 0-30% EtOAc/гептани одержували вказану у заголовку сполуку (3,20 г, 9,80 ммоль, вихід 47%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) R_t = 1,0 хв.; маса/заряд = 344,1 [M+NH₄⁺]. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9,67 (s, 1H), 7,69 (d, J = 8,7 Гц, 2H), 7,61 (d, J = 8,7 Гц, 2H), 7,47 (d, J = 8,7 Гц, 2H), 7,14 (d, J = 8,6 Гц, 2H), 1,49 (s, 9H).

Стадія 3. Синтез трет-бутил(4-((4-ціанофеніл)сульфоніл)феніл)карбамату



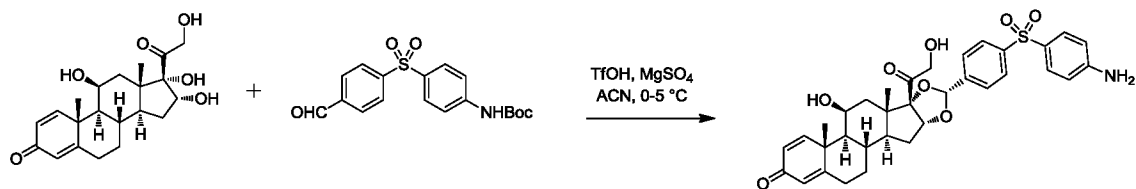
Порціями додавали 3-хлорпероксибензойну кислоту (639 мг, 3,71 ммоль) до розчину трет-бутил(4-((4-ціанофеніл)тіо)феніл)карбамату (480 мг, 1,471 ммоль), який має кімнатну температуру, у CH₂Cl₂ (15 мл). Через 30 хв. реакційну суміш розділяли між водою (20 мл) та EtOAc (10 мл). Шари розділяли і водну фазу екстрагували за допомогою EtOAc (2 X 25 мл). Об'єднані органічні речовини промивали насиченим водно-сольовим розчином (50 мл), висушували над MgSO₄ і видаляли розчинники за зниженого тиску. Очищенням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 40 г) із градієнтом елюювання 0-60% EtOAc/гептани одержували вказану у заголовку сполуку (372 мг, 1,04 ммоль, вихід 71%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) R_t = 0,86 хв.; маса/заряд = 376,0 [M+NH₄⁺]. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9,92 (s, 1H), 8,06 (s, 4H), 7,87 (d, J = 8,9 Гц, 2H), 7,66 (d, J = 9,0 Гц, 2H), 1,45 (s, 9H).

Стадія 4. Синтез трет-бутил(4-((4-формілфеніл)сульфоніл)феніл)карбамату



Діізобутилалюмінію гідрид (6,53 мл, 1,0 M у толуолі, 6,53 ммоль) додавали по краплях протягом 5 хвилин до розчину трет-бутил(4-((4-ціанофеніл)сульфоніл)феніл)карбамату (0,780 г, 2,176 ммоль), який має температуру 0 °C, у THF (20 мл). Через 30 хв. додавали діізобутилалюмінію гідрид (1,0 M у толуолі) (2,176 мл, 2,176 ммоль) і реакційну суміш перемішували за 0 °C протягом додаткової 1 год. Реакцію гасили за 0 °C шляхом повільного додавання 1 н. водного розчину HCl (120 мл) і екстрагували водну фазу за допомогою EtOAc (2 X 75 мл). Об'єднані органічні речовини промивали насиченим водно-сольовим розчином (50 мл), висушували над MgSO₄ і видаляли розчинники за зниженого тиску. Очищенням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 80 г) із градієнтом елюювання 0-10% CH₂Cl₂/MeOH одержували вказану у заголовку сполуку (0,275 г, 0,761 ммоль, вихід 35%) у вигляді масла жовтого кольору. LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) R_t = 0,83 хв.; маса/заряд = 359,9 [M-H⁻]. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 10,04 (s, 1H), 9,89 (s, 1H), 8,18 - 7,97 (m, 4H), 7,85 (d, J = 8,9 Гц, 2H), 7,64 (d, J = 8,9 Гц, 2H), 1,43 (s, 9H).

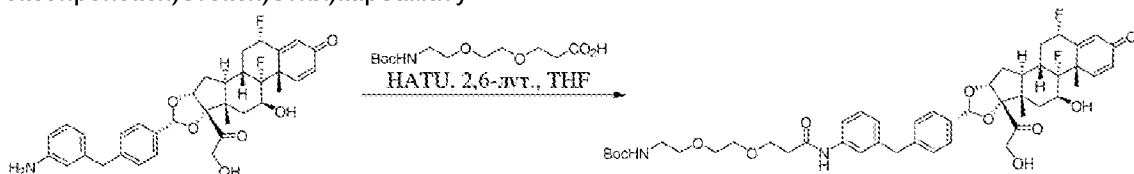
Стадія 5. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((4-амінофеніл)сульфоніл)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону



Трифлатну кислоту (0,12 мл, 1,328 ммоль) додавали по краплях до зависі (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3Н-циклопента[а]фенантрен-3-ону (0,100 г, 0,266 ммоль), трет-бутил(4-((4-формілфеніл)сульфоніл)феніл)карбамату (0,106 г, 0,292 ммоль) і MgSO_4 (0,096 г, 0,797 ммоль), яка має температуру 0 °C, у MeCN (1,0 мл). Через 30 хвилин реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc (15 мл) і потім промивали насиченим водним розчином NaHCO_3 (10 мл), після цього насиченим водно-сольовим розчином (10 мл) і висушували (MgSO_4). За допомогою видалення розчинника за зниженого тиску одержували піну світло-жовтого кольору, яку очищували за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 24 г) із градієнтом елюювання 0-10% $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ з одержанням безбарвної речовини у склоподібному стані. Ізмери ацеталю розділяли за допомогою препаративної HPLC з оберненою фазою на колонці C18(2), 10 мікронів, Phenomenex (колонка 250 x 30 мм). Застосовували градієнт MeCN (A) та 0,1% TFA у воді (B) за витрати 60 мл/хв. (0-3,0 хв. 15% A, 3,0-18 хв. лінійний градієнт 15-80% A, потім утримування 5 хв.). Об'єднані фракції концентрували для видалення летких розчинників за зниженого тиску й одержаний розчин заморожували і ліофілізували з одержанням указаної у заголовку сполуки у вигляді твердої речовини білого кольору (8,0 мг, вихід 18%). LCMS (Спосіб г, Таблиця 7) $R_t = 0,76$ хв.; MS маса/заряд = 620,0 $[\text{M}+\text{H}^+]$. ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,81 (d, J = 8,4 Гц, 2H), 7,61 (d, J = 8,4 Гц, 2H), 7,49 (d, J = 8,8 Гц, 2H), 7,27 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 6,56 (d, J = 8,8 Гц, 2H), 6,12 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 5,89 (s, 1H), 5,47 (s, 1H), 4,91 (d, J = 4,6 Гц, 1H), 4,73 (s, 1H), 4,48 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,24 (s, 1H), 4,13 (d, J = 19,5 Гц, 1H), 2,51 (s, 2H), 2,32 - 2,22 (m, 1H), 2,13 - 2,01 (m, 1H), 2,02 - 1,88 (m, 1H), 1,78 - 1,56 (m, 5H), 1,35 (s, 3H), 1,11 - 0,96 (m, 2H), 0,82 (s, 3H).

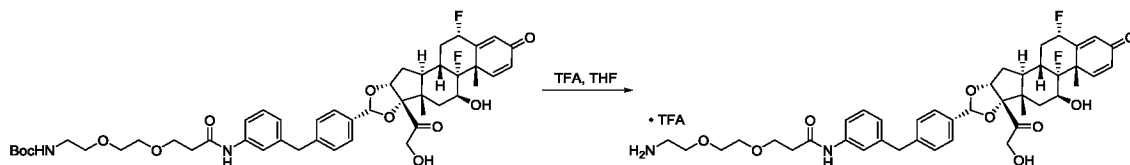
Приклад 20. N-(3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)-3-(2-(2-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанамідо)етокси)етокси)пропанамід

Стадія 1. Синтез трет-бутил(2-(2-(3-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-3-оксопропокси)етокси)етил)карбамату



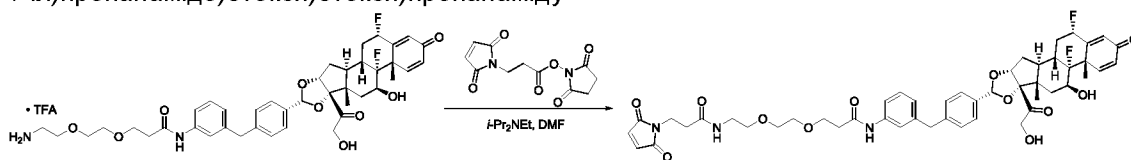
До розчину 2,2-диметил-4-оксо-3,8,11-триокса-5-азатетрадекан-14-ової кислоти (0,100 г, 0,361 ммоль), (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-амінобензил)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону (0,199 г, 0,328 ммоль) і 2,6-диметилпіридину (0,12 мл, 0,983 ммоль), який має кімнатну температуру, у THF (2,0 мл) додавали HATU (0,125 г, 0,328 ммоль). Через 24 години видаляли розчинники за зниженого тиску і реакційну суміш очищували за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 24 г) із градієнтом елюювання 0-10% $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ з одержанням указаної у заголовку сполуки у вигляді піни світло-жовтого кольору (226 мг, 0,261 ммоль, вихід 80%). LCMS (Спосіб г, Таблиця 7) $R_t = 0,91$ хв., маса/заряд = 865,5 $[\text{M}+\text{H}^+]$. ^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$) δ 0,86 (s, 3H), 1,36 (s, 9H), 1,50 (s, 4H), 1,71 (ddt, J = 17,9, 13,3, 5,8 Гц, 3H), 1,94 - 2,14 (m, 2H), 2,18 - 2,39 (m, 1H), 2,55 - 2,74 (m, 1H), 3,03 (q, J = 6,0 Гц, 2H), 3,48 (hept, J = 3,1, 2,7 Гц, 4H), 3,66 (t, J = 6,3 Гц, 2H), 3,88 (s, 2H), 4,13 - 4,26 (m, 2H), 4,51 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,94 (d, J = 5,1 Гц, 1H), 5,45 (s, 1H), 5,52 (dd, J = 4,3, 1,7 Гц, 1H), 5,65 (dddd, J = 48,5, 11,4, 6,7, 2,0 Гц, 1H), 6,13 (d, J = 2,1 Гц, 1H), 6,73 (t, J = 5,8 Гц, 1H), 6,80 - 6,97 (m, 1H), 7,18 (t, J = 7,8 Гц, 1H), 7,25 (td, J = 9,1, 8,2, 1,6 Гц, 3H), 7,32 - 7,39 (m, 3H), 7,45 (dd, J = 8,4, 2,0 Гц, 1H), 7,63 (d, J = 7,8 Гц, 1H), 8,11 - 8,85 (m, 1H), 9,83 (s, 1H).

Стадія 2. 3-(2-(2-аміноетокси)етокси)-N-(3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)пропанамід



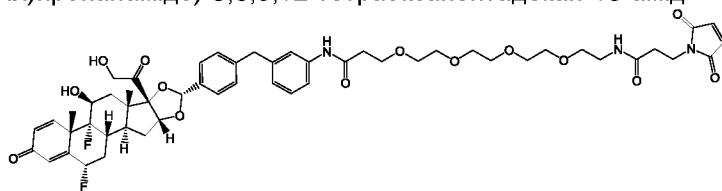
До розчину трет-бутил(2-(2-(3-((3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1Н-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-3-оксипропокс)етокси)етил)карбамату (226 мг, 0,261 ммоль) в CH_2Cl_2 (3,0 мл), який має кімнатну температуру, додавали TFA (1,0 мл, 12,98 ммоль). Через 45 хв. леткі речовини видаляли під вакуумом і неочищений продукт переносили на наступну стадію без додаткового очищення, забезпечуючи вихід 100%. LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t = 0,80$ хв., маса/заряд = 765,4 $[\text{M}+\text{H}^+]$.

Стадія 3. Синтез N-(3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1Н-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)-3-(2-(2-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1Н-пірол-1-іл)пропанамідо)етокси)етокси)пропанаміду



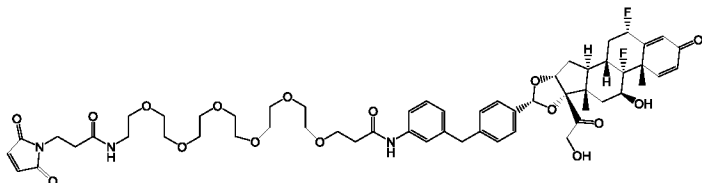
До розчину 3-(2-(2-аміноетокси)етокси)-N-(3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1Н-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)пропанаміду (0,226 г, 0,295 ммоль) і 2,5-діоксопіролідін-1-іл-3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1Н-пірол-1-іл)пропанаміду (0,087 г, 0,325 ммоль), який має кімнатну температуру, у DMF (2,0 мл) додавали N,N-діізопропілетиламін (0,155 мл, 0,88 ммоль). Через 45 хв. неочищену реакційну суміш очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою на колонці C18(2), 10 мікронів, Phenomenex (колонка 250 x 50 мм). Застосовували градієнт MeCN (A) та 0,1% мурашиної кислоти у воді (B) за витрати 80 мл/хв. (0-5,0 хв. 18% A, 5,0-25,0 хв. лінійний градієнт 15-80% A, утримування 5 хв.). Об'єднані фракції концентрували за зниженого тиску для видалення летких розчинників і одержаний розчин заморожували і ліофілізували з одержанням указаної у заголовку сполуки у вигляді твердої речовини білого кольору (48 мг, 0,052 ммоль, вихід 18%). LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t = 0,84$ хв., маса/заряд = 916,4 $[\text{M}+\text{H}^+]$. ^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$) δ 0,84 (s, 3H), 1,48 (s, 4H), 1,59 – 1,76 (m, 3H), 2,03 (d, J = 13,9 Гц, 1H), 2,17 – 2,38 (m, 4H), 2,54 – 2,72 (m, 1H), 3,11 (q, J = 5,8 Гц, 2H), 3,31 – 3,35 (m, 4H), 3,42 – 3,51 (m, 4H), 3,57 (dd, J = 7,8, 6,8 Гц, 2H), 3,64 (t, J = 6,3 Гц, 2H), 3,86 (s, 2H), 4,10 – 4,25 (m, 2H), 4,49 (dd, J = 19,5, 6,0 Гц, 1H), 4,93 (d, J = 5,1 Гц, 1H), 5,07 (t, J = 5,9 Гц, 1H), 5,43 (s, 1H), 5,51 (s, 1H), 5,53 – 5,74 (m, 1H), 6,11 (s, 1H), 6,28 (dd, J = 10,2, 1,9 Гц, 1H), 6,88 (d, J = 7,5 Гц, 1H), 6,97 (s, 2H), 7,16 (t, J = 7,8 Гц, 1H), 7,20 – 7,28 (m, 3H), 7,30 – 7,39 (m, 3H), 7,38 – 7,48 (m, 1H), 7,96 (t, J = 5,6 Гц, 1H), 9,81 (s, 1H).

Приклад 21. N-(3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1Н-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)-1-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1Н-пірол-1-іл)пропанамідо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амід



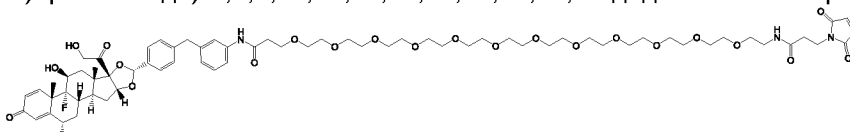
Одержували за допомогою такої ж процедури, як у прикладі 20. Тверда речовина білого кольору (17 мг, 0,017 ммоль, вихід 9%). LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t = 0,82$ хв., маса/заряд = 1026 $[\text{M}+\text{Na}^+]$. ^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$) δ 0,85 (s, 3H), 1,22 (s, 8H), 1,49 (s, 3H), 1,61 – 1,77 (m, 2H), 2,03 (d, J = 13,9 Гц, 1H), 2,12 – 2,40 (m, 3H), 2,55 – 2,66 (m, 1H), 3,12 (q, J = 5,8 Гц, 2H), 3,33 (s, 1H), 3,41 – 3,51 (m, 11H), 3,58 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 3,65 (t, J = 6,3 Гц, 2H), 3,87 (s, 2H), 4,18 (d, J = 14,1 Гц, 2H), 4,42 – 4,61 (m, 1H), 4,93 (d, J = 5,2 Гц, 1H), 5,07 (s, 1H), 5,44 (s, 1H), 5,50 (s, 1H), 5,6-5,7 (m, 1H), 6,28 (dd, J = 10,2, 1,9 Гц, 1H), 6,88 (d, J = 7,8 Гц, 1H), 6,98 (s, 2H), 7,17 (t, J = 7,9 Гц, 1H), 7,24 (t, J = 9,8 Гц, 3H), 7,32 – 7,38 (m, 3H), 7,43 (d, J = 8,3 Гц, 1H), 7,98 (s, 1H), 9,81 (s, 1H).

Приклад 22. N-(3-(4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1Н-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)-1-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1Н-пірол-1-іл)пропанамідо)-3,6,9,12,15,18-гексаоксагенікозан-21-амід



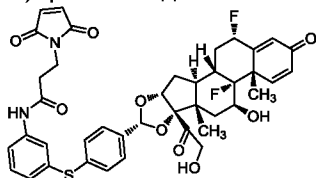
Одержували за допомогою такої ж процедури, як у прикладі 20. Тверда речовина білого кольору (23,2 мг, 0,021 ммоль, вихід 22%). LCMS (Спосіб г, Таблиця 7) $R_t = 0,83$ хв., маса/заряд = 1092,3 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР ($DMSO-d_6$) δ 0,84 (s, 3H), 1,48 (s, 4H), 1,58 – 1,76 (m, 3H), 2,02 (dt, $J = 14,0, 3,6$ Гц, 1H), 2,17 – 2,37 (m, 4H), 2,62 (dtd, $J = 24,1, 11,9, 4,4$ Гц, 1H), 3,12 (q, $J = 5,8$ Гц, 2H), 3,40 – 3,52 (m, 23H), 3,57 (t, $J = 7,3$ Гц, 2H), 3,64 (t, $J = 6,3$ Гц, 2H), 3,86 (s, 2H), 4,10 – 4,25 (m, 2H), 4,49 (d, $J = 19,4$ Гц, 1H), 4,92 (d, $J = 5,0$ Гц, 1H), 5,08 (s, 1H), 5,43 (s, 1H), 5,49 – 5,73 (m, 2H), 6,11 (s, 1H), 6,27 (dd, $J = 10,1, 1,9$ Гц, 1H), 6,87 (d, $J = 7,6$ Гц, 1H), 6,97 (s, 2H), 7,16 (t, $J = 7,8$ Гц, 1H), 7,23 (dd, $J = 13,9, 9,0$ Гц, 3H), 7,30 – 7,38 (m, 3H), 7,43 (d, $J = 8,1$ Гц, 1H), 7,98 (t, $J = 5,6$ Гц, 1H), 9,81 (s, 1H).

Приклад 23. N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)-1-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанамідо)-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33,36-додекаоксанонатриаконтан-39-амід



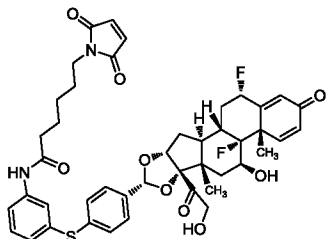
Одержували за допомогою такої ж процедури, як у прикладі 20. Виділяли у вигляді безбарвної речовини у склоподібному стані (20 мг, 0,015 ммоль, вихід 18%). LCMS (Спосіб г, Таблиця 7) $R_t = 0,85$ хв., маса/заряд = 1356,4 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР ($DMSO-d_6$) δ 0,84 (s, 3H), 1,48 (s, 4H), 1,67 (d, $J = 14,3$ Гц, 3H), 2,03 (d, $J = 14,0$ Гц, 1H), 2,30 (q, $J = 9,8, 8,5$ Гц, 4H), 2,65 (s, 1H), 3,13 (q, $J = 5,8$ Гц, 2H), 3,34 (t, $J = 6,2$ Гц, 2H), 3,39 – 3,54 (m, 46H), 3,57 (t, $J = 7,3$ Гц, 2H), 3,64 (t, $J = 6,2$ Гц, 2H), 3,86 (s, 2H), 4,18 (d, $J = 14,6$ Гц, 2H), 4,49 (d, $J = 19,2$ Гц, 1H), 4,93 (d, $J = 4,8$ Гц, 1H), 5,07 (s, 1H), 5,43 (s, 1H), 5,50 (s, 1H), 5,62 (d, $J = 41,1$ Гц, 1H), 6,11 (s, 1H), 6,20 – 6,36 (m, 1H), 6,87 (d, $J = 7,5$ Гц, 1H), 6,98 (s, 2H), 7,16 (t, $J = 7,8$ Гц, 1H), 7,23 (t, $J = 9,0$ Гц, 3H), 7,34 (d, $J = 8,4$ Гц, 3H), 7,43 (d, $J = 8,4$ Гц, 1H), 7,97 (s, 1H), 9,80 (s, 1H).

Приклад 24. N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)феніл)тіо)феніл)-3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанамід



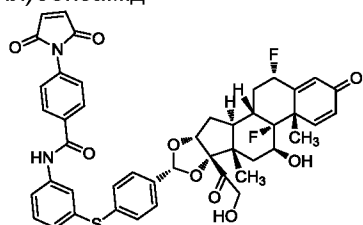
У флакон об'ємом 4 мл додавали 3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанову кислоту (43,5 мг, 0,26 ммоль) з наступним додаванням HATU (148 мг, 0,39 ммоль), розчиненого в DMA (1,0 мл), після цього додавали чистий N,N-діізопропілетиламін (67 мкл, 0,39 ммоль). Потім додавали розчин (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофеніл)тіо)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону (80,83 мг, 0,13 ммоль) (80,83 мг, 0,13 ммоль), розчиненого в DMA (0,5 мл). Реакційну суміш струшували за кімнатної температури протягом 2 годин. Реакційну суміш перевіряли за допомогою LC/MS і очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою (спосіб q, лінійний градієнт 45-75%) з одержанням указаної у заголовку сполуки. LCMS (Спосіб s, Таблиця 7) $R_t = 0,78$ хв.; MS маса/заряд = 775,3 $(M+H)^+$; ^1H ЯМР (400 МГц, $DMSO-d_6/D_2O$, Температура = 27 °C) δ 7,61 – 7,57 (m, 1H), 7,49 – 7,44 (m, 1H), 7,43 – 7,37 (m, 2H), 7,34 – 7,22 (m, 4H), 7,06 – 7,02 (m, 1H), 6,92 (s, 2H), 6,29 (dd, $J = 10,2, 1,9$ Гц, 1H), 6,14 – 6,09 (m, 1H), 5,72 – 5,52 (m, 1H), 5,46 (s, 1H), 4,98 – 4,93 (m, 1H), 4,52 (d, $J = 19,4$ Гц, 1H), 4,26 – 4,14 (m, 2H), 3,73 – 3,71 (m, 2H), 3,69 – 3,65 (m, 2H), 2,73 – 2,55 (m, 1H), 2,35 – 2,26 (m, 1H), 2,25 – 2,12 (m, 1H), 2,03 – 1,95 (m, 1H), 1,79 – 1,62 (m, 3H), 1,55 – 1,39 (m, 4H), 0,85 (s, 3H).

Приклад 25. N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)феніл)тіо)феніл)-6-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)гексанамід



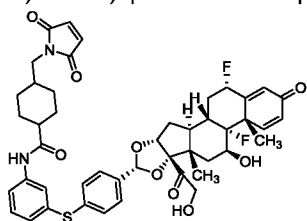
Одержували, як описано у прикладі 24, із 6-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)гексанової кислоти. Очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою (спосіб s, лінійний градієнт 50-80%). LCMS (Спосіб c, Таблиця 7) $R_t = 0,82$ хв.; MS маса/заряд = 817,3 (M+H)⁺; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆/D₂O, Температура = 27 °C) δ 7,68 - 7,65 (m, 1H), 7,53 - 7,49 (m, 1H), 7,42 - 7,38 (m, 2H), 7,33 - 7,24 (m, 4H), 7,04 - 7,01 (m, 1H), 6,91 (s, 2H), 6,29 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,14 - 6,10 (m, 1H), 5,72 - 5,53 (m, 1H), 5,46 (s, 1H), 4,96 - 4,92 (m, 1H), 4,51 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,24 - 4,15 (m, 2H), 3,38 (t, J = 7,0 Гц, 2H), 2,70 - 2,54 (m, 1H), 2,35 - 2,11 (m, 5H), 2,03 - 1,96 (m, 1H), 1,76 - 1,61 (m, 3H), 1,59 - 1,41 (m, 8H), 1,24 - 1,13 (m, 2H), 0,85 (s, 3H).

Приклад 26. N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)феніл)тіо)феніл)-4-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)бензамід



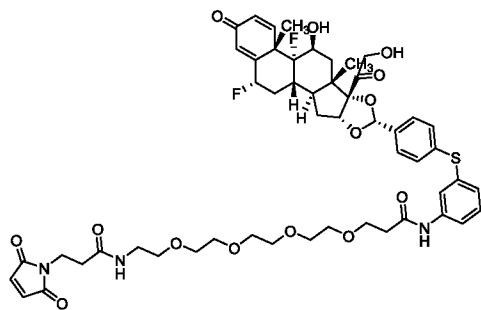
Одержували, як описано у прикладі 24, із 4-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)бензойної кислоти. Очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою (спосіб s, лінійний градієнт 50-80%). LCMS (Спосіб c, Таблиця 7) $R_t = 0,83$ хв.; MS маса/заряд = 823,2 (M+H)⁺; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆/D₂O, Температура = 27 °C) δ 8,02 - 7,97 (m, 2H), 7,88 - 7,85 (m, 1H), 7,77 - 7,73 (m, 1H), 7,52 - 7,47 (m, 2H), 7,44 - 7,36 (m, 3H), 7,35 - 7,30 (m, 2H), 7,29 - 7,23 (m, 1H), 7,15 (s, 2H), 7,14 - 7,10 (m, 1H), 6,29 (dd, J = 10,2, 1,9 Гц, 1H), 6,15 - 6,09 (m, 1H), 5,71 - 5,54 (m, 1H), 5,47 (s, 1H), 4,97 - 4,94 (m, 1H), 4,52 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,24 - 4,14 (m, 2H), 2,70 - 2,57 (m, 1H), 2,37 - 2,27 (m, 1H), 2,24 - 2,12 (m, 1H), 2,03 - 1,97 (m, 1H), 1,75 - 1,64 (m, 3H), 1,54 - 1,42 (m, 4H), 0,85 (s, 3H).

Приклад 27. N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)феніл)тіо)феніл)-4-((2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)метил)циклогексанкарбоксамід



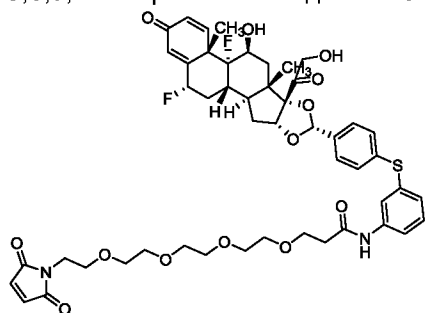
Одержували, як описано у прикладі 24, із 4-((2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)метил)циклогексан-1-карбонової кислоти. Очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою (спосіб q, лінійний градієнт 50-80%). LCMS (Спосіб s, Таблиця 7) $R_t = 0,85$ хв.; MS маса/заряд = 843,3 (M+H)⁺; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆/D₂O, Температура = 27 °C) δ 7,68 (t, J = 2,0 Гц, 1H), 7,54 - 7,49 (m, 1H), 7,42 - 7,37 (m, 2H), 7,35 - 7,22 (m, 4H), 7,04 - 7,01 (m, 1H), 6,95 (s, 2H), 6,29 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,12 (s, 1H), 5,71 - 5,53 (m, 1H), 5,46 (s, 1H), 4,99 - 4,93 (m, 1H), 4,51 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,25 - 4,15 (m, 2H), 3,26 (d, J = 7,0 Гц, 2H), 2,73 - 2,58 (m, 1H), 2,35 - 2,14 (m, 3H), 2,03 - 1,96 (m, 1H), 1,83 - 1,62 (m, 7H), 1,59 - 1,40 (m, 5H), 1,37 - 1,24 (m, 2H), 0,98 - 0,87 (m, 2H), 0,85 (s, 3H).

Приклад 28. N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)феніл)тіо)феніл)-1-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанамідо)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амід



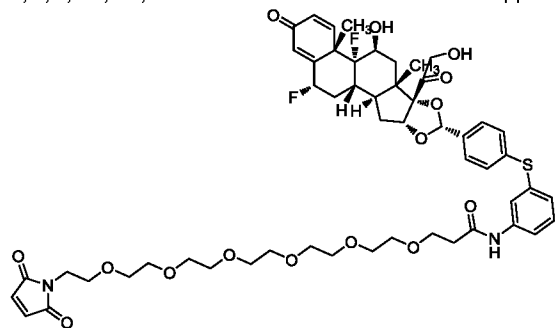
Одержували, як описано у прикладі 24, із 1-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)-3-оксо-7,10,13,16-тетраокса-4-азанонадекан-19-ової кислоти. Очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою (спосіб s, лінійний градієнт 45-75%). LCMS (Спосіб c, Таблиця 7) $R_t = 0,76$ хв.; MS маса/заряд = 1022,4 ($M+H$)⁺; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆/D₂O, Температура = 27 °C) δ 7,70 - 7,66 (m, 1H), 7,55 - 7,50 (m, 1H), 7,43 - 7,37 (m, 2H), 7,34 - 7,23 (m, 4H), 7,06 - 7,01 (m, 1H), 6,92 (s, 2H), 6,29 (dd, J = 10,2, 1,9 Гц, 1H), 6,14 - 6,11 (m, 1H), 5,72 - 5,53 (m, 1H), 5,46 (s, 1H), 5,00 - 4,92 (m, 1H), 4,51 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,26 - 4,15 (m, 2H), 3,66 (t, J = 6,1 Гц, 2H), 3,59 (t, J = 7,2 Гц, 2H), 3,51 - 3,40 (m, 11H), 3,33 (t, J = 5,8 Гц, 2H), 3,12 (t, J = 5,8 Гц, 2H), 2,70 - 2,58 (m, 1H), 2,51 - 2,47 (m, 3H), 2,36 - 2,25 (m, 3H), 2,24 - 2,13 (m, 1H), 2,04 - 1,97 (m, 1H), 1,75 - 1,65 (m, 3H), 1,56 - 1,42 (m, 4H), 0,85 (s, 3H).

Приклад 29. N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)феніл)тіо)феніл)-1-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-амід



Одержували, як описано у прикладі 24, із 1-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)-3,6,9,12-тетраоксапентадекан-15-ової кислоти. Очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою (спосіб s, лінійний градієнт 45-75%). LCMS (Спосіб c, Таблиця 7) $R_t = 0,80$ хв.; MS маса/заряд = 951,3 ($M+H$)⁺; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆/D₂O, Температура = 27 °C) δ 7,69 - 7,66 (m, 1H), 7,54 - 7,49 (m, 1H), 7,42 - 7,37 (m, 2H), 7,35 - 7,24 (m, 4H), 7,06 - 7,01 (m, 1H), 6,93 (s, 2H), 6,29 (dd, J = 10,2, 1,9 Гц, 1H), 6,17 - 6,10 (m, 1H), 5,71 - 5,55 (m, 1H), 5,46 (s, 1H), 4,98 - 4,93 (m, 1H), 4,51 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,24 - 4,16 (m, 2H), 3,66 (t, J = 6,1 Гц, 2H), 3,56 - 3,51 (m, 2H), 3,50 - 3,36 (m, 14H), 2,71 - 2,60 (m, 1H), 2,51 - 2,48 (m, 2H), 2,33 - 2,27 (m, 1H), 2,18 (q, J = 10,5 Гц, 1H), 2,03 - 1,94 (m, 1H), 1,74 - 1,66 (m, 3H), 1,56 - 1,44 (m, 4H), 0,85 (s, 3H).

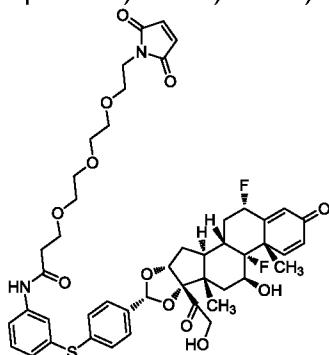
Приклад 30. N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)феніл)тіо)феніл)-1-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)-3,6,9,12,15,18-гексаоксагенікозан-21-амід



Одержували, як описано у прикладі 24, із 1-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)-3,6,9,12,15,18-гексаоксагенікозан-21-ової кислоти. Очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою (спосіб q, лінійний градієнт 10-100%). LCMS (Спосіб s, Таблиця 7) $R_t = 0,80$ хв.; MS маса/заряд не іонізувалось; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆/D₂O, Температура = 27 °C) δ 7,69 - 7,66 (m, 1H), 7,55 - 7,50 (m, 1H), 7,44 - 7,37 (m, 2H), 7,34 - 7,24 (m, 4H), 7,06 - 7,01 (m, 1H), 6,94 (s, 2H), 6,29 (dd, J = 10,2, 1,9 Гц, 1H), 6,13 (s,

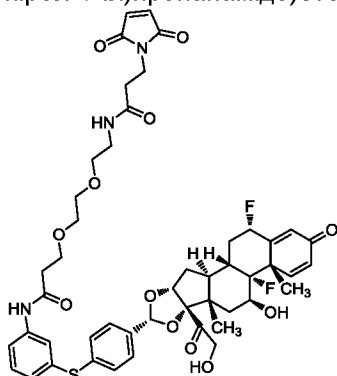
1H), 5,69 - 5,55 (m, 1H), 5,46 (s, 1H), 4,97 - 4,93 (m, 1H), 4,51 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,23 - 4,16 (m, 2H), 3,66 (t, J = 6,1 Гц, 2H), 3,56 - 3,38 (m, 22H), 2,70 - 2,63 (m, 1H), 2,54 - 2,53 (m, 2H), 2,51 - 2,48 (m, 2H), 2,33 - 2,26 (m, 1H), 2,18 (q, J = 10,3 Гц, 1H), 2,03 - 1,97 (m, 1H), 1,73 - 1,65 (m, 3H), 1,55 - 1,44 (m, 4H), 0,85 (s, 3H).

Приклад 31. N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)феніл)тіо)феніл)-3-(2-(2-(2-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)етокси)етокси)етокси)пропанамід



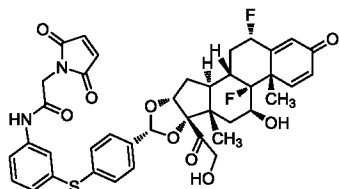
Одержували, як описано у прикладі 24, із 3-(2-(2-(2-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)етокси)етокси)етокси)пропанової кислоти. Очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою (спосіб q, лінійний градієнт 45-75%). LCMS (Спосіб s, Таблиця 7) R_t = 0,80 хв.; MS маса/заряд = 908,1 (M+H)⁺; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆/D₂O, Температура = 27 °C) δ 7,69 - 7,66 (m, 1H), 7,54 - 7,51 (m, 1H), 7,42 - 7,38 (m, 2H), 7,34 - 7,24 (m, 4H), 7,06 - 7,02 (m, 1H), 6,93 (s, 2H), 6,29 (dd, J = 10,2, 1,9 Гц, 1H), 6,12 (s, 1H), 5,68 - 5,55 (m, 1H), 5,46 (s, 1H), 4,98 - 4,94 (m, 1H), 4,51 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,24 - 4,16 (m, 2H), 3,64 (t, J = 6,1 Гц, 2H), 3,55 - 3,50 (m, 2H), 3,47 - 3,37 (m, 9H), 2,69 - 2,66 (m, 1H), 2,54 - 2,53 (m, 1H), 2,50 - 2,47 (m, 2H), 2,32 - 2,25 (m, 1H), 2,21 - 2,14 (m, 1H), 2,03 - 1,97 (m, 1H), 1,74 - 1,65 (m, 3H), 1,54 - 1,43 (m, 4H), 0,85 (s, 3H).

Приклад 32. N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)феніл)тіо)феніл)-3-(2-(2-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанамідо)етокси)етокси)пропанамід



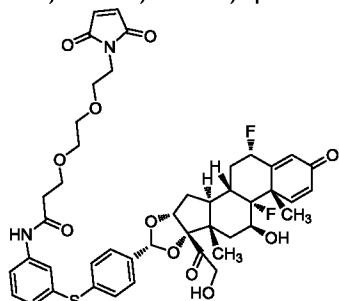
Одержували, як описано у прикладі 24, із 3-(2-(2-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)пропанамідо)етокси)етокси)пропанової кислоти. Очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою (спосіб q, лінійний градієнт 45-75%). LCMS (Спосіб s, Таблиця 7) R_t = 0,76 хв.; MS маса/заряд = 934,4 (M+H)⁺; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆/D₂O, Температура = 27 °C) δ 7,69 - 7,66 (m, 1H), 7,54 - 7,49 (m, 1H), 7,42 - 7,38 (m, 2H), 7,34 - 7,23 (m, 4H), 7,05 - 7,01 (m, 1H), 6,91 (s, 2H), 6,29 (dd, J = 10,2, 1,9 Гц, 1H), 6,13 (s, 1H), 5,68 - 5,56 (m, 1H), 5,46 (s, 1H), 4,97 - 4,93 (m, 1H), 4,51 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,24 - 4,15 (m, 2H), 3,66 (t, J = 6,2 Гц, 2H), 3,58 (t, J = 7,2 Гц, 2H), 3,51 - 3,43 (m, 4H), 3,33 (t, J = 5,8 Гц, 2H), 3,10 (t, J = 5,7 Гц, 2H), 2,63-2,58(m,1H), 2,55 - 2,53 (m, 1H), 2,50 - 2,49 (m, 2H), 2,32 - 2,27 (m, 2H), 2,18 (q, J = 10,3 Гц, 1H), 2,03 - 1,97 (m, 1H), 1,73 - 1,63 (m, 3H), 1,54 - 1,42 (m, 4H), 0,85 (s, 3H).

Приклад 33. N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)феніл)тіо)феніл)-2-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)ацетамід



Одержували, як описано у прикладі 24, із 2-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)оцтової кислоти. Очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою (спосіб s, лінійний градієнт 45-75%). LCMS (Спосіб c, Таблиця 7) $R_t = 0,95$ хв.; MS маса/заряд = 761,7 (M+H)⁺; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆/D₂O, Температура = 27 °C) δ 7,65 - 7,61 (m, 1H), 7,52 - 7,47 (m, 1H), 7,44 - 7,39 (m, 2H), 7,36 (t, J = 7,9 Гц, 1H), 7,33 - 7,25 (m, 3H), 7,11 - 7,08 (m, 1H), 7,07 (s, 2H), 6,32 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,15 (s, 1H), 5,72 - 5,55 (m, 1H), 5,47 (s, 1H), 5,00 - 4,92 (m, 1H), 4,53 (d, J = 19,5 Гц, 1H), 4,30 - 4,17 (m, 4H), 2,72 - 2,61 (m, 1H), 2,38 - 2,28 (m, 1H), 2,19 (q, J = 10,3 Гц, 1H), 2,05 - 1,98 (m, 1H), 1,78 - 1,64 (m, 3H), 1,60 - 1,42 (m, 4H), 0,87 (s, 3H).

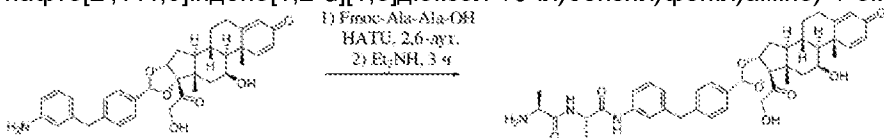
Приклад 34. N-(3-((4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)феніл)тіо)феніл)-3-(2-(2-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)етокси)етокси)пропанамід



Одержували, як описано у прикладі 24, із 3-(2-(2-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)етокси)етокси)пропанової кислоти. Очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою (спосіб q, лінійний градієнт 40-75%). LCMS (Спосіб c, Таблиця 7) $R_t = 0,95$ хв.; MS маса/заряд = 863,9 (M+H)⁺; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆/D₂O, Температура = 27 °C) δ 7,71 - 7,66 (m, 1H), 7,55 - 7,51 (m, 1H), 7,44 - 7,38 (m, 2H), 7,36 - 7,25 (m, 4H), 7,08 - 7,03 (m, 1H), 6,91 (s, 2H), 6,31 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,14 (s, 1H), 5,72 - 5,55 (m, 1H), 5,47 (s, 1H), 4,98 - 4,94 (m, 1H), 4,53 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,27 - 4,14 (m, 2H), 3,63 (t, J = 6,1 Гц, 2H), 3,53 - 3,43 (m, 8H), 2,72 - 2,61 (m, 1H), 2,48 (t, J = 6,2 Гц, 2H), 2,35 - 2,24 (m, 1H), 2,20 (q, J = 10,4 Гц, 1H), 2,05 - 1,96 (m, 1H), 1,76 - 1,65 (m, 3H), 1,57 - 1,41 (m, 4H), 0,87 (s, 3H).

Приклад 34A. Синтез 3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)-N-((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)пропанаміду

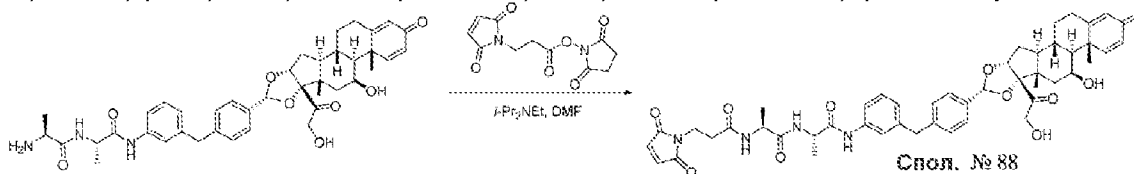
Стадія 1. Синтез (S)-2-аміно-N-((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)пропанаміду



До розчину (S)-2-((S)-2-(((9H-флуорен-9-іл)метокси)карбоніл)аміно)пропанамідо)пропанової кислоти (765 мг, 2,00 ммоль), (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-амінобензил)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону (600 мг, 1,053 ммоль), який має температуру 0 °C, у DCM (6 мл) і DMF (12 мл) додавали HATU (601 мг, 1,580 ммоль) і 2,6-лутидин (0,37 мл, 3,16 ммоль). Через 30 хв. суміш нагрівали до кімнатної температури і перемішували протягом ночі. До реакційної суміші додавали діетиламін (2,18 мл, 21,06 ммоль) і перемішування продовжували за кімнатної температури протягом 3 год., після чого видаляли леткі розчинники за зниженого тиску. Залишок розчиняли у DMSO:MeOH 1:1 (12 мл) та очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою на колонці C18(2), 10 мікронів, Phenomenex (колонка 250 x 50 мм). Застосовували градієнт MeCN (A) та 0,1% TFA у воді (B) за витрати 90 мл/хв. (0-5,0 хв. 15% A, 5,0-20 хв. лінійний градієнт 15-85% A, утримування 5 хв.). Об'єднані фракції продукту ліофілізували з одержанням указаної у заголовку сполуки у вигляді твердої речовини брудно-білого кольору (447 мг, 0,628 ммоль, вихід 60%). LC-MS (спосіб r, Таблиця 7) $R_t = 0,78$ хв., маса/заряд = 711,9 [M+H]. ¹H ЯМР (501 МГц, DMSO-d₆) δ 10,03 (s,

1H), 8,63 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 8,07 (d, J = 5,4 Гц, 3H), 7,44 – 7,38 (m, 2H), 7,38 – 7,34 (m, 2H), 7,29 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,23 – 7,16 (m, 3H), 6,90 (dt, J = 7,7, 1,3 Гц, 1H), 6,14 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 5,90 (t, J = 1,6 Гц, 1H), 5,38 (s, 1H), 4,90 (d, J = 5,3 Гц, 1H), 4,52 – 4,37 (m, 2H), 4,27 (q, J = 3,3 Гц, 1H), 4,16 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 3,87 (s, 2H), 2,58 – 2,49 (m, 1H), 2,28 (ddd, J = 13,4, 4,5, 2,1 Гц, 1H), 2,09 (dtd, J = 17,0, 10,6, 5,0 Гц, 1H), 2,00 (dd, J = 12,2, 5,7 Гц, 1H), 1,78 – 1,54 (m, 5H), 1,37 (s, 3H), 1,35 (s, 3H), 1,30 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,01 (ddd, J = 22,1, 11,9, 4,2 Гц, 2H), 0,84 (s, 3H).

Стадія 2. Синтез 3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)-N-((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)пропанаміду

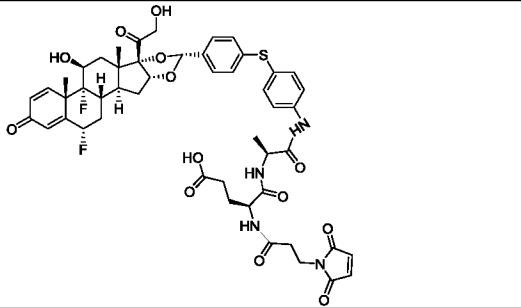
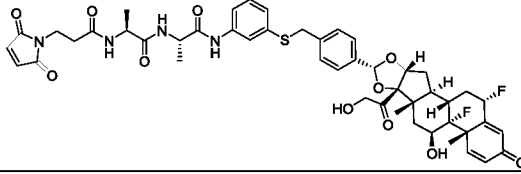
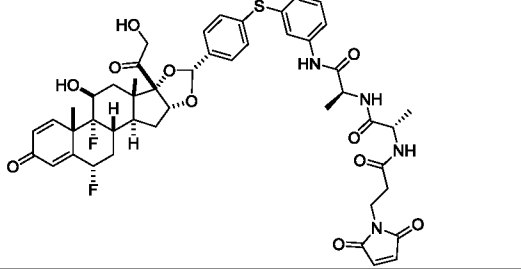
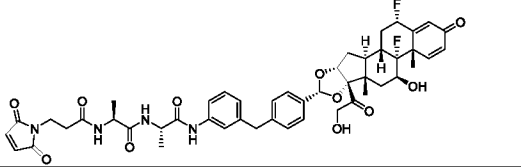
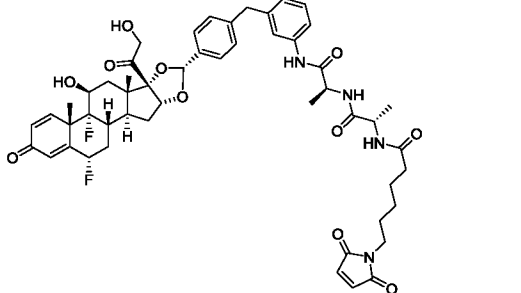
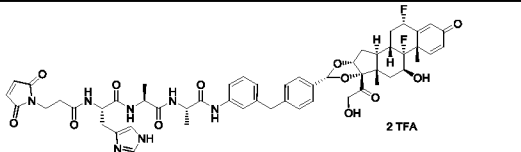
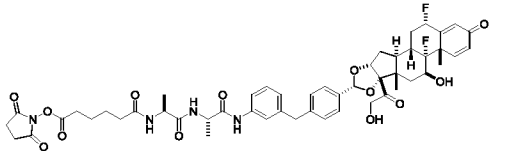
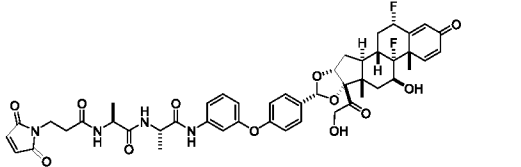
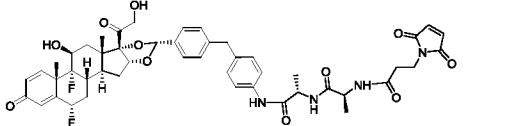


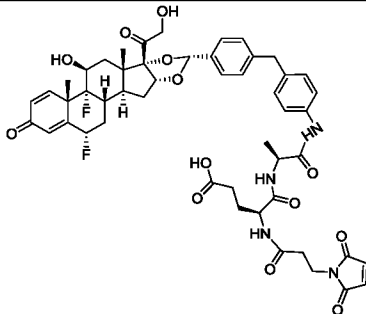
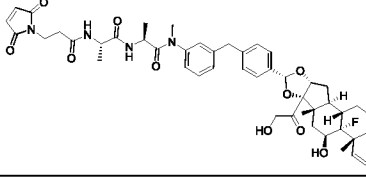
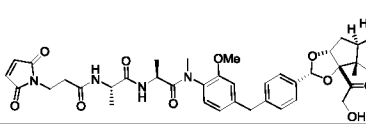
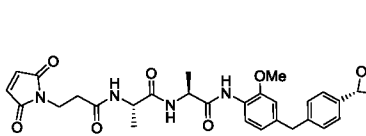
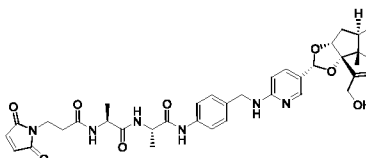
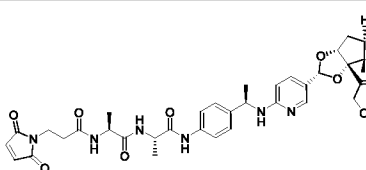
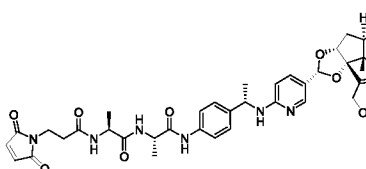
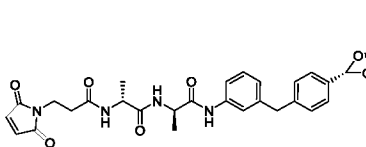
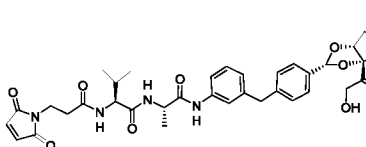
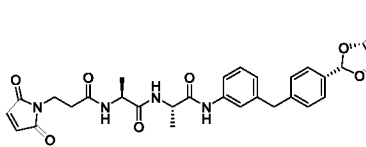
До розчину N-сукцинімідил-3-малеїмідопропіонату (250 мг, 0,938 ммоль) і (S)-2-аміно-N-((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)пропанаміду (445 мг, 0,625 ммоль), який має кімнатну температуру, у DMF (12 мл) додавали N,N-діізопропілетиламін (0,33 мл, 1,875 ммоль). Через 30 хв. за кімнатної температури видаляли леткі розчинники за зниженого тиску. Залишок розводили за допомогою DMSO:MeOH 1:1 (12 мл) та очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою на колонці C18(2), 10 мікронів, Phenomenex (колонка 250 x 50 мм). Застосовували градієнт MeCN (A) та 0,1% TFA у воді (B) за витрати 90 мл/хв. (0-5,0 хв. 25% A, 5,0-20 хв. лінійний градієнт 25-90% A, утримування 5 хв.). Об'єднані фракції продукту ліофілізували з одержанням указаної у заголовку сполуки у вигляді твердої речовини брудно-білого кольору (295,1 мг, 0,342 ммоль, вихід 55%). LC-MS (Спосіб r, Таблиця 7) Rt = 0,85 хв., m/z = 863,4 [M+H]. ¹H ЯМР (501 МГц, DMSO-d₆) δ 9,71 (s, 1H), 8,17 (d, J = 7,0 Гц, 1H), 8,03 (d, J = 7,3 Гц, 1H), 7,43 (dd, J = 7,8, 1,1 Гц, 2H), 7,38 – 7,32 (m, 2H), 7,29 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,22 – 7,15 (m, 3H), 6,96 (s, 2H), 6,88 (dt, J = 7,8, 1,3 Гц, 1H), 6,13 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 5,90 (t, J = 1,6 Гц, 1H), 5,37 (s, 1H), 4,90 (d, J = 5,4 Гц, 1H), 4,48 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,32 (p, J = 7,1 Гц, 1H), 4,27 (q, J = 3,3 Гц, 1H), 4,21 (p, J = 7,1 Гц, 1H), 4,16 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 3,87 (s, 2H), 3,59 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 2,57 – 2,49 (m, 1H), 2,38 (dd, J = 8,0, 6,6 Гц, 2H), 2,32 – 2,24 (m, 1H), 2,15 – 2,04 (m, 1H), 2,04 – 1,95 (m, 1H), 1,80 – 1,54 (m, 5H), 1,37 (s, 3H), 1,26 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,15 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,02 (ddd, J = 21,2, 12,1, 4,2 Гц, 2H), 0,84 (s, 3H).

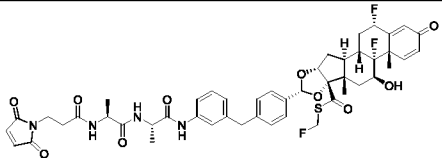
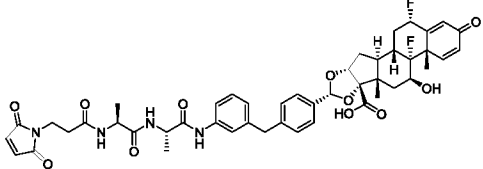
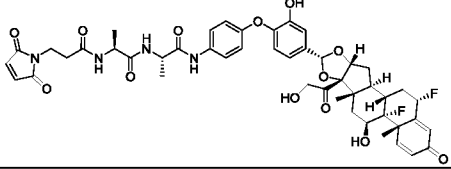
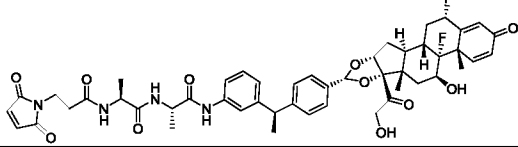
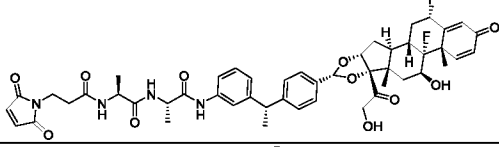
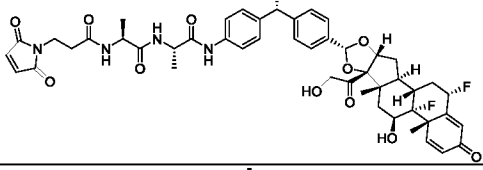
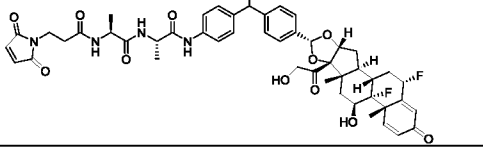
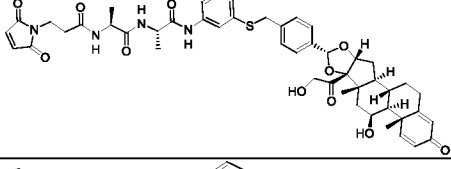
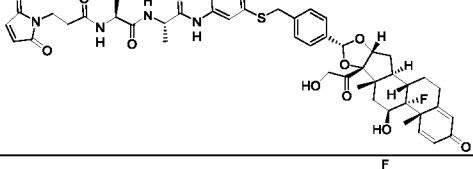
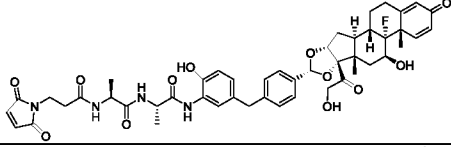
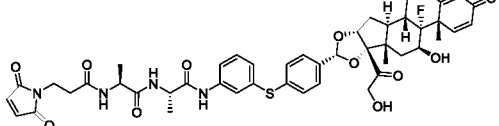
Приклад 35

Нижчеказані сполуки одержували із застосуванням способів, описаних вище.

№ сполуки	Структура
70	
71	
72	

72	
73	
74	
75	
76	
77	
78	
79	
80	

81	
82	
83	
84	
85	
86	
87	
89	
90	
99	

100	
101	
102	
103	
104	
105	
106	
107	
108	
109	
110	

111	
112	
113	
114	
115	
116	
117	
118	
119	
120	
121	
122	

123	
124	
125	
126	
127	
128	
129	
130	
131	
132	
133	

Спол №	Дані LCMS	Дані ¹ H ЯМР

70	Спосіб а LC-MS, Таблиця 7 $R_t = 1,28$ хв.; маса/заряд = 894,0 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,79-0,87 (m, 10H), 0,95-1,13 (m, 1H), 1,29 (d, J = 7,1Hz, 3H), 1,38 (s, 3H), 1,57-1,76 (m, 2H), 1,76 (s, 2H), 1,90-2,01 (m, 2H), 2,05 (s, 2H), 2,28 (s, 2H), 2,43 (dd, J = 14,4, 7,0Hz, 2H), 3,58 (p, J = 6,8Hz, 2H), 4,11 (dd, J = 8,4, 6,7Hz, 1H), 4,16 (d, J = 19,4Hz, 1H), 4,28 (s, 1H), 4,36 (q, J = 6,7Hz, 1H), 4,49 (d, J = 19,4Hz, 1H), 4,75 (s, 1H), 4,90 (d, J = 5,1Hz, 1H), 5,40 (s, 1H), 5,90 (s, 1H), 6,14 (dd, J = 10,1, 1,9Hz, 1H), 6,89-7,02 (m, 6H), 7,29 (d, J = 10,1Hz, 1H), 7,42 (d, J = 8,7Hz, 2H), 7,56-7,63 (m, 2H), 7,98 (d, J = 8,4Hz, 1H), 8,13 (d, J = 6,9Hz, 1H), 9,86 (s, 1H)
71	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,79$ хв.; маса/заряд = 900,91 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,85 (s, 3H), 1,16 (d, J = 7,1Hz, 3H), 1,29 (d, J = 7,1Hz, 3H), 1,48 (s, 3H), 1,53 (d, J = 12,6Hz, 1H), 1,60-1,77 (m, 3H), 1,98-2,09 (m, 1H), 2,24 (dd, J = 21,2, 8,6Hz, 2H), 2,39 (dd, J = 8,0, 6,5Hz, 2H), 2,53-2,72 (m, 1H), 3,59 (dd, J = 8,1, 6,5Hz, 2H), 4,13-4,27 (m, 2H), 4,34 (p, J = 7,1Hz, 1H), 4,51 (dd, J = 19,5, 6,4Hz, 1H), 4,93 (d, J = 5,0Hz, 1H), 5,07 (t, J = 6,0Hz, 1H), 5,45 (s, 1H), 5,50 (dd, J = 4,5, 1,7Hz, 1H), 5,53-5,75 (m, 1H), 6,07-6,12 (m, 1H), 6,27 (dd, J = 10,2, 1,9Hz, 1H), 6,92-7,00 (m, 6H), 7,24 (dd, J = 10,2, 1,4Hz, 1H), 7,36-7,43 (m, 2H), 7,58-7,66 (m, 2H), 8,08 (d, J = 7,3Hz, 1H), 8,18 (d, J = 7,0Hz, 1H), 9,83 (s, 1H)
72	Спосіб m LC-MS, Таблиця 7 $R_t = 1,71$ хв.; маса/заряд = 917 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (MeOH-d ₄) δ: 1,00 (s, 3H), 1,37 (dd, J = 12,2, 7,1 Гц, 3H), 1,48 (t, J = 7,2 Гц, 3H), 1,59 (s, 4H), 1,69 (dd, J = 27,0, 13,1 Гц, 2H), 1,79 (dd, J = 13,7, 5,8 Гц, 2H), 2,26 (d, J = 13,6 Гц, 1H), 2,38 (d, J = 8,0 Гц, 3H), 2,56 (td, J = 12,5, 11,2, 6,8 Гц, 3H), 2,60 – 2,81 (m, 1H), 3,80 (dt, J = 12,7, 6,8 Гц, 2H), 4,24 (dd, J = 11,9, 7,0 Гц, 1H), 4,32 (s, 2H), 4,43 – 4,51 (m, 1H), 4,64 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 5,07 (d, J = 4,6 Гц, 1H), 5,47 (s, 1H), 5,57 (d, J = 42,9 Гц, 1H), 6,27 – 6,38 (m, 3H), 6,73 (d, J = 3,0 Гц, 2H), 7,16 – 7,25 (m, 2H), 7,36 (dt, J = 16,7, 8,0 Гц, 6H), 7,70 (dd, J = 22,7, 8,4 Гц, 2H)
72	Спосіб m LC-MS, Таблиця 7 $R_t = 1,88$ хв.; маса/заряд = 975 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (MeOH-d ₄) δ: 1,00 (s, 3H), 1,49 (d, J = 7,2 Гц, 3H), 1,59 (s, 3H), 1,60 – 1,89 (m, 3H), 2,04 (d, J = 52,2 Гц, 1H), 2,27 (d, J = 13,5 Гц, 1H), 2,31 – 2,52 (m, 4H), 2,58 (t, J = 6,7 Гц, 2H), 3,81 (t, J = 6,7 Гц, 2H), 4,34 (d, J = 19,7 Гц, 3H), 4,42 – 4,53 (m, 1H), 4,64 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 5,07 (d, J = 4,6 Гц, 1H), 5,47 (s, 1H), 5,58 (d, J = 40,9 Гц, 1H), 6,25 – 6,47 (m, 2H), 6,76 (s, 2H), 7,20 (d, J = 8,1 Гц, 2H), 7,28 – 7,44 (m, 5H), 7,67 (d, J = 8,5 Гц, 2H)
73	Спосіб а LC-MS, Таблиця 7 $R_t = 2,08$ хв.; маса/заряд = 931,30 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,84 (s, 3H), 1,16 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,27 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,48 (s, 4H), 1,59 – 1,77 (m, 3H), 1,96 – 2,08 (m, 1H), 2,13 – 2,33 (m, 2H), 2,39 (dd, J = 7,9, 6,7 Гц, 2H), 2,52 (s, 1H), 2,53 – 2,72 (m, 1H), 3,59 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 4,08 – 4,26 (m, 5H), 4,32 (p, J = 7,0 Гц, 1H), 4,50 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,93 (d, J = 5,0 Гц, 1H), 5,44 (s, 1H), 5,45 – 5,51 (m, 1H), 5,63 (dt, J = 48,4, 9,3 Гц, 1H), 6,11 (d, J = 2,1 Гц, 1H), 6,28 (dd, J = 10,2, 1,9 Гц, 1H), 6,93 – 7,02 (m, 3H), 7,19 (t, J = 8,0 Гц, 1H), 7,24 (dd, J = 10,1, 1,4 Гц, 1H), 7,30 – 7,44 (m, 5H), 7,65 (t, J = 1,9 Гц, 1H), 8,05 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 8,16 (d, J = 7,0 Гц, 1H), 9,77 (s, 1H)
74	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,82$ хв.; маса/заряд = 918,60 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,84 (s, 3H), 1,15 (d, J = 7,1Hz, 3H), 1,26 (d, J = 7,2Hz, 4H), 1,48 (s, 4H), 1,59-1,79 (m, 3H), 1,94-2,10 (m, 1H), 2,10-2,31 (m, 2H), 2,37 (t, J = 7,3Hz, 2H), 2,51-2,77 (m, 1H), 3,58 (t, J = 7,3Hz, 2H), 4,10-4,25 (m, 3H), 4,31 (p, J = 7,1Hz, 1H), 4,51 (d, J = 19,4Hz, 1H), 4,94 (d, J = 5,0Hz, 1H), 5,45 (s, 1H), 5,50 (s, 1H), 5,62 (dt, J = 48,6, 9,4Hz, 1H), 6,10 (s, 1H), 6,27 (dd, J = 10,1, 1,9Hz, 1H), 6,96 (s, 2H), 7,02 (dd, J = 7,3, 1,7Hz, 1H), 7,20-7,34 (m, 4H), 7,40 (d, J = 8,3Hz, 2H), 7,58 (dd, J = 7,9, 2,1Hz, 1H), 7,69 (d, J = 2,1Hz, 1H), 8,07 (d, J = 7,2Hz, 1H), 8,16 (d, J = 7,0Hz, 1H), 9,89 (s, 1H)
75	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,82$ хв.; маса/заряд = 899,87 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,83 (s, 3H), 1,13 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,24 (d, J = 7,2 Гц, 3H), 1,46 (s, 4H), 1,57 – 1,77 (m, 3H), 2,01 (dt, J = 13,9, 3,7 Гц, 1H), 2,13 – 2,32 (m, 2H), 2,36 (dd, J = 8,0, 6,7 Гц, 2H), 2,51 – 2,73 (m, 1H), 3,56 (d, J = 7,3 Гц, 2H), 3,85 (s, 2H), 4,10 – 4,25 (m, 3H), 4,30 (p, J = 7,1 Гц, 1H), 4,47 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,91 (d, J = 4,9 Гц, 1H), 5,41 (s, 1H), 5,48 (s, 1H), 5,51 – 5,71 (m, 1H), 6,09 (d, J = 2,0 Гц, 1H), 6,26 (dd, J = 10,2, 1,9 Гц, 1H), 6,87 (dt, J = 7,6, 1,3 Гц, 1H), 6,95 (s, 2H), 7,16 (t, J = 7,8 Гц, 1H), 7,18 – 7,27 (m, 3H), 7,32 (d, J = 8,1 Гц, 2H), 7,39 (d, J = 1,9 Гц, 1H), 7,43 (dd, J = 8,5, 1,9 Гц, 1H), 8,01 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 8,14 (d, J = 7,0 Гц, 1H), 9,70 (s, 1H)

76	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 1,00$ хв.; маса/заряд = не проявився	^1H ЯМР (DMSO- d_6) δ : 0,88 (d, J = 7,4 Гц, 3H), 1,19 (dt, J = 33,9, 7,1 Гц, 1H), 1,35 – 1,63 (m, 10H), 1,61 – 1,85 (m, 2H), 2,06 (q, J = 7,4 Гц, 3H), 2,16 – 2,35 (m, 1H), 2,38 (t, J = 7,3 Гц, 1H), 3,87 (d, J = 8,1 Гц, 2H), 4,10 – 4,42 (m, 3H), 4,67 – 5,15 (m, 2H), 5,51 – 5,73 (m, 3H), 6,11 (s, 1H), 6,28 (dd, J = 10,1, 2,1 Гц, 1H), 6,89 (d, J = 7,3 Гц, 1H), 6,92 – 7,02 (m, 3H), 7,13 – 7,29 (m, 5H), 7,30 – 7,41 (m, 2H), 7,42 – 7,57 (m, 1H), 7,88 – 8,34 (m, 2H), 9,74 (s, 1H)
77	Спосіб m, Таблиця 7 $R_t = 1,62$ хв.; маса/заряд = 1058,3 [M+Na ⁺]	^1H ЯМР (DMSO- d_6) δ : 0,86 (s, 3H), 1,26 (dd, J = 15,9, 6,5 Гц, 9H), 1,50 (s, 4H), 1,70 (t, J = 8,4 Гц, 3H), 1,90 – 2,10 (m, 2H), 2,14 – 2,35 (m, 1H), 2,35 – 2,45 (m, 1H), 2,54 – 2,77 (m, 1H), 2,96 (ddd, J = 47,6, 15,3, 6,6 Гц, 2H), 3,57 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 3,89 (s, 2H), 4,20 (d, J = 19,0 Гц, 1H), 4,32 (dt, J = 27,9, 7,0 Гц, 2H), 4,45 – 4,64 (m, 2H), 4,94 (d, J = 4,7 Гц, 1H), 5,07 (d, J = 39,6 Гц, 1H), 5,45 (s, 1H), 5,49 – 5,79 (m, 2H), 6,12 (s, 1H), 6,29 (dd, J = 10,2, 1,8 Гц, 1H), 6,92 (d, J = 7,6 Гц, 1H), 6,99 (s, 2H), 7,20 (t, J = 7,9 Гц, 1H), 7,25 (t, J = 8,6 Гц, 3H), 7,33 – 7,42 (m, 4H), 7,45 (d, J = 8,1 Гц, 1H), 8,31 (d, J = 8,0 Гц, 1H), 8,95 (s, 1H), 9,88 (s, 1H), 14,10 (s, 2H)
78	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,80$ хв.; маса/заряд = 1005,1 [M+MeOH+H ⁺]	^1H ЯМР (DMSO- d_6) δ : 0,84 (s, 3H), 1,17 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,25 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,48 (s, 4H), 1,57 (q, J = 6,2 Гц, 4H), 1,68 (dq, J = 13,7, 6,3, 5,6 Гц, 3H), 1,99 – 2,06 (m, 1H), 2,09 – 2,18 (m, 2H), 2,18 – 2,36 (m, 2H), 2,55 – 2,72 (m, 3H), 2,78 (s, 4H), 3,87 (s, 2H), 4,14 – 4,22 (m, 2H), 4,26 (p, J = 7,1 Гц, 1H), 4,33 (p, J = 7,1 Гц, 1H), 4,49 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,93 (d, J = 5,1 Гц, 1H), 5,43 (s, 1H), 5,49 (d, J = 5,4 Гц, 1H), 5,54 – 5,75 (m, 1H), 6,11 (s, 1H), 6,28 (dd, J = 10,2, 2,0 Гц, 1H), 6,89 (d, J = 7,6 Гц, 1H), 7,17 (t, J = 7,9 Гц, 1H), 7,23 (t, J = 9,7 Гц, 3H), 7,34 (d, J = 7,8 Гц, 2H), 7,39 (s, 1H), 7,44 (d, J = 8,1 Гц, 1H), 7,99 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 8,02 (d, J = 7,3 Гц, 1H), 9,77 (s, 1H)
79	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,80$ хв.; маса/заряд = 901,81 [M+H ⁺]	^1H ЯМР (DMSO- d_6) δ : 0,85 (s, 3H), 1,14 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,26 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,48 (s, 4H), 1,61 – 1,80 (m, 3H), 2,04 (d, J = 13,1 Гц, 1H), 2,25 (ddd, J = 18,6, 14,9, 8,4 Гц, 2H), 2,37 (dd, J = 8,0, 6,5 Гц, 2H), 2,53 – 2,74 (m, 1H), 3,57 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 4,09 – 4,24 (m, 2H), 4,30 (p, J = 7,1 Гц, 1H), 4,52 (dd, J = 19,5, 6,4 Гц, 1H), 4,94 (d, J = 5,0 Гц, 1H), 5,08 (t, J = 5,9 Гц, 1H), 5,46 (s, 1H), 5,48 – 5,53 (m, 1H), 5,63 (dt, J = 48,9, 9,1 Гц, 1H), 6,10 (s, 1H), 6,27 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,69 (ddd, J = 7,9, 2,6, 1,1 Гц, 1H), 6,96 (s, 2H), 6,98 – 7,06 (m, 2H), 7,22 – 7,32 (m, 2H), 7,32 – 7,40 (m, 2H), 7,39 – 7,51 (m, 2H), 8,06 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 8,15 (d, J = 7,0 Гц, 1H), 9,87 (s, 1H)
80	Спосіб m, Таблиця 7 $R_t = 1,64$ хв.; маса/заряд = 899 [M+H ⁺]	^1H ЯМР (MeOH- d_4) δ : 1,00 (s, 3H), 1,36 (dd, J = 11,5, 7,1 Гц, 4H), 1,46 (t, J = 6,9 Гц, 3H), 1,53 – 1,76 (m, 5H), 1,75 – 1,89 (m, 2H), 2,28 (d, J = 13,8 Гц, 1H), 2,33 – 2,48 (m, 1H), 2,48 – 2,62 (m, 2H), 2,61 – 2,84 (m, 1H), 3,72 – 3,88 (m, 2H), 3,95 (s, 2H), 4,18 – 4,40 (m, 3H), 4,46 (q, J = 6,9 Гц, 1H), 4,65 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 5,07 (d, J = 4,6 Гц, 1H), 5,43 – 5,69 (m, 2H), 6,30 – 6,39 (m, 2H), 6,69 (s, 2H), 7,14 (dd, J = 8,2, 5,6 Гц, 2H), 7,23 (dd, J = 7,9, 3,4 Гц, 3H), 7,34 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,38 (d, J = 7,8 Гц, 2H), 7,51 (d, J = 8,2 Гц, 2H), 7,55 (d, J = 8,2 Гц, 1H), 8,55 (s, 1H)
81	Спосіб m, Таблиця 7 $R_t = 1,526$ хв.; маса/заряд = 957 [M+H ⁺]	^1H ЯМР (MeOH- d_4) δ : 0,88 (s, 3H), 1,21 (d, J = 11,6 Гц, 3H), 1,35 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,48 (s, 3H), 1,57 (dd, J = 25,8, 13,5 Гц, 2H), 1,68 (dd, J = 13,4, 5,5 Гц, 2H), 1,83 (dd, J = 14,4, 7,5 Гц, 1H), 1,88 – 2,05 (m, 1H), 2,12 – 2,21 (m, 1H), 2,30 (q, J = 12,7, 10,3 Гц, 3H), 2,44 (t, J = 6,7 Гц, 2H), 2,49 – 2,73 (m, 1H), 3,68 (t, J = 6,7 Гц, 2H), 3,82 (s, 2H), 4,11 – 4,28 (m, 3H), 4,34 (q, J = 7,1 Гц, 1H), 4,53 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,95 (d, J = 4,6 Гц, 1H), 5,30 – 5,59 (m, 2H), 6,23 (dd, J = 13,2, 3,0 Гц, 2H), 6,60 (s, 2H), 7,02 (d, J = 8,2 Гц, 2H), 7,10 (d, J = 7,9 Гц, 2H), 7,24 (dd, J = 15,1, 8,9 Гц, 3H), 7,37 (d, J = 8,2 Гц, 2H)
82	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,77$ хв.; 913,27 [M+H ⁺]	^1H ЯМР (DMSO- d_6) δ : 0,84 (s, 3H), 0,96 (s, 2H), 1,01 – 1,19 (m, 4H), 1,19 – 1,35 (m, 2H), 1,48 (s, 3H), 1,67 (d, J = 14,3 Гц, 2H), 2,03 (d, J = 19,7 Гц, 1H), 2,13 – 2,42 (m, 5H), 2,64 (d, J = 8,4 Гц, 2H), 3,08 (s, 3H), 3,38 – 3,61 (m, 1H), 3,93 (s, 2H), 4,17 (d, J = 18,9 Гц, 3H), 4,49 (d, J = 19,3 Гц, 1H), 4,92 (d, J = 4,8 Гц, 1H), 5,43 (s, 1H), 5,49 (s, 1H), 5,53 – 5,77 (m, 1H), 6,11 (s, 1H), 6,28 (dd, J = 10,2, 1,8 Гц, 1H), 6,96 (d, J = 6,1 Гц, 1H), 7,10 – 7,41 (m, 8H), 7,83 – 8,20 (m, 1H)

83	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,88$ хв.; маса/заряд = 943,52 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,84 (s, 3H), 0,93 (dd, J = 23,5, 6,9 Гц, 3H), 1,04 – 1,16 (m, 3H), 1,48 (s, 4H), 1,60 – 1,76 (m, 3H), 2,03 (d, J = 20,7 Гц, 1H), 2,17 – 2,26 (m, 1H), 2,24 – 2,40 (m, 2H), 2,55 – 2,72 (m, 2H), 2,96 (d, J = 13,0 Гц, 3H), 3,55 (t, J = 7,3 Гц, 1H), 3,72 (d, J = 57,6 Гц, 3H), 3,93 (d, J = 4,7 Гц, 2H), 4,10 – 4,28 (m, 4H), 4,49 (d, J = 19,5 Гц, 1H), 4,93 (d, J = 5,0 Гц, 1H), 5,44 (d, J = 2,9 Гц, 1H), 5,50 (d, J = 4,2 Гц, 1H), 5,63 (dt, J = 48,7, 9,8 Гц, 1H), 6,11 (s, 1H), 6,28 (dd, J = 10,2, 1,9 Гц, 1H), 6,82 (t, J = 7,1 Гц, 1H), 6,93 – 7,00 (m, 1H), 7,02 – 7,07 (m, 1H), 7,19 (d, J = 7,9 Гц, 1H), 7,24 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 7,29 – 7,41 (m, 4H), 7,93 (d, J = 7,1 Гц, 1H)
84	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,82$ хв.; маса/заряд = 929,45 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,83 (s, 3H), 1,17 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,25 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,46 (s, 4H), 1,58 – 1,77 (m, 3H), 2,01 (dt, J = 13,8, 4,1 Гц, 1H), 2,23 (dtd, J = 25,2, 12,3, 10,9, 5,8 Гц, 2H), 2,31 – 2,40 (m, 2H), 2,49 – 2,73 (m, 1H), 3,56 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 3,74 (s, 3H), 3,84 (s, 2H), 4,11 – 4,20 (m, 2H), 4,27 (p, J = 7,1 Гц, 1H), 4,39 (p, J = 7,2 Гц, 1H), 4,47 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,91 (d, J = 4,8 Гц, 1H), 5,41 (s, 1H), 5,42 – 5,50 (m, 1H), 5,50 – 5,78 (m, 1H), 6,09 (s, 1H), 6,26 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,70 (dd, J = 8,3, 1,8 Гц, 1H), 6,89 (d, J = 1,8 Гц, 1H), 6,95 (s, 2H), 7,23 (d, J = 8,5 Гц, 3H), 7,31 (d, J = 7,9 Гц, 2H), 7,87 (d, J = 8,2 Гц, 1H), 8,14 (d, J = 7,5 Гц, 1H), 8,23 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 8,81 (s, 1H)
85	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,73$ хв.; маса/заряд = 897,3 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,84 (s, 3H), 1,16 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,27 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,39 (qd, J = 13,1, 5,2 Гц, 1H), 1,48 (s, 3H), 1,55 – 1,72 (m, 3H), 1,78 – 1,90 (m, 1H), 2,03 (d, J = 25,4 Гц, 1H), 2,13 (td, J = 12,2, 6,8 Гц, 1H), 2,29 – 2,41 (m, 3H), 2,48 (p, J = 1,9 Гц, 1H), 2,58 – 2,69 (m, 1H), 3,59 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 4,09 – 4,26 (m, 3H), 4,29 – 4,44 (m, 3H), 4,47 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,82 – 4,91 (m, 1H), 5,32 (s, 1H), 5,41 (s, 1H), 6,02 (d, J = 1,7 Гц, 1H), 6,22 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,47 (d, J = 8,7 Гц, 1H), 6,97 (s, 2H), 7,18 – 7,21 (m, 2H), 7,23 (t, J = 6,2 Гц, 1H), 7,27 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,33 (dd, J = 8,7, 2,3 Гц, 1H), 7,44 – 7,57 (m, 2H), 7,95 (d, J = 2,3 Гц, 1H), 8,04 (d, J = 7,3 Гц, 1H), 8,10 – 8,23 (m, 2H), 9,73 (s, 1H)
86	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,73$ хв.; маса/заряд = 911,46 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,83 (s, 3H), 1,15 (d, J = 7,2 Гц, 3H), 1,26 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,36 (d, J = 6,7 Гц, 4H), 1,48 (s, 3H), 1,63 (t, J = 11,1 Гц, 3H), 1,74 – 1,90 (m, 1H), 1,93 – 2,19 (m, 2H), 2,26 – 2,41 (m, 3H), 2,48 (p, J = 1,8 Гц, 1H), 2,58 – 2,70 (m, 1H), 3,59 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 4,09 – 4,27 (m, 3H), 4,33 (p, J = 7,2 Гц, 1H), 4,46 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,85 (d, J = 4,1 Гц, 1H), 4,93 (t, J = 6,9 Гц, 1H), 5,04 (s, 1H), 5,30 (s, 1H), 5,40 (dd, J = 4,5, 1,7 Гц, 1H), 6,02 (s, 1H), 6,21 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,48 (s, 1H), 6,97 (s, 2H), 7,26 (t, J = 9,3 Гц, 3H), 7,32 (d, J = 8,0 Гц, 1H), 7,48 (d, J = 8,3 Гц, 2H), 7,90 (d, J = 2,2 Гц, 1H), 8,03 (d, J = 7,3 Гц, 1H), 8,16 (d, J = 7,0 Гц, 1H), 9,71 (s, 1H)
87	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,72$ хв.; маса/заряд = 911,64 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,83 (s, 3H), 1,15 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,27 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,35 (d, J = 6,8 Гц, 4H), 1,48 (s, 3H), 1,55 – 1,70 (m, 3H), 1,77 – 1,88 (m, 1H), 1,99 (d, J = 13,5 Гц, 1H), 2,12 (td, J = 12,3, 6,6 Гц, 1H), 2,28 – 2,40 (m, 3H), 2,48 (p, J = 1,8 Гц, 1H), 2,56 – 2,69 (m, 1H), 3,59 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 4,06 – 4,28 (m, 3H), 4,33 (p, J = 7,2 Гц, 1H), 4,45 (dd, J = 19,4, 6,4 Гц, 1H), 4,85 (d, J = 4,9 Гц, 1H), 4,93 (t, J = 7,2 Гц, 1H), 5,03 (t, J = 6,0 Гц, 1H), 5,28 (s, 1H), 5,40 (dd, J = 4,4, 1,9 Гц, 1H), 6,02 (d, J = 2,1 Гц, 1H), 6,22 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,43 (d, J = 8,6 Гц, 1H), 6,97 (s, 2H), 7,16 (d, J = 7,8 Гц, 1H), 7,20 – 7,33 (m, 4H), 7,44 – 7,49 (m, 2H), 7,90 (d, J = 2,3 Гц, 1H), 8,03 (d, J = 7,3 Гц, 1H), 8,17 (d, J = 7,1 Гц, 1H), 9,71 (s, 1H)
88	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,87$ хв.; маса/заряд = 863,32 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,84 (s, 3H), 1,02 (ddd, J = 21,3, 12,1, 4,2 Гц, 2H), 1,15 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,26 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,37 (s, 3H), 1,53 – 1,81 (m, 4H), 2,00 (dd, J = 12,2, 5,5 Гц, 1H), 2,04 – 2,15 (m, 1H), 2,23 – 2,33 (m, 1H), 2,38 (dd, J = 8,0, 6,6 Гц, 2H), 2,51 (d, J = 18,2 Гц, 1H), 3,59 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 3,87 (s, 2H), 4,16 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,21 (p, J = 7,1 Гц, 1H), 4,27 (q, J = 3,3 Гц, 1H), 4,32 (p, J = 7,1 Гц, 1H), 4,48 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,72 (s, 2H), 4,90 (d, J = 5,4 Гц, 1H), 5,37 (s, 1H), 5,90 (t, J = 1,6 Гц, 1H), 6,13 (dd, J = 10,1, 1,8 Гц, 1H), 6,88 (dt, J = 7,9, 1,3 Гц, 1H), 6,96 (s, 2H), 7,14 – 7,22 (m, 3H), 7,29 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,33 – 7,38 (m, 2H), 7,43 (dd, J = 7,8, 1,1 Гц, 2H), 8,03 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 8,17 (d, J = 7,0 Гц, 1H), 9,71 (s, 1H)

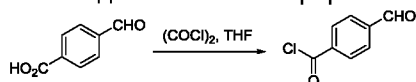
89	Спосіб m, Таблиця 7 $R_t = 1,99$ хв.; маса/заряд = 863 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (MeOH-d ₄) δ: 1,01 (d, J = 8,5 Гц, 3H), 1,10 – 1,30 (m, 2H), 1,34 (dd, J = 10,5, 7,1 Гц, 3H), 1,45 (dd, J = 7,2, 3,6 Гц, 3H), 1,52 (s, 3H), 1,80 (t, J = 13,0 Гц, 1H), 1,90 (p, J = 8,3, 7,3 Гц, 1H), 2,04 (d, J = 12,4 Гц, 1H), 2,12 – 2,32 (m, 2H), 2,42 (d, J = 11,2 Гц, 1H), 2,46 – 2,58 (m, 2H), 2,60 – 2,78 (m, 1H), 3,68 – 3,84 (m, 2H), 3,96 (d, J = 6,0 Гц, 2H), 4,12 (d, J = 19,3 Гц, 1H), 4,16 – 4,27 (m, 1H), 4,27 – 4,38 (m, 1H), 4,43 (d, J = 6,2 Гц, 2H), 5,40 (d, J = 6,3 Гц, 1H), 6,05 (s, 1H), 6,12 (d, J = 4,4 Гц, 1H), 6,28 (dd, J = 9,9, 1,8 Гц, 1H), 6,75 (d, J = 3,3 Гц, 2H), 6,96 (d, J = 7,7 Гц, 1H), 7,15 – 7,30 (m, 5H), 7,43 (d, J = 18,7 Гц, 3H), 7,56 (d, J = 8,2 Гц, 3H)
90	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,91$ хв.; маса/заряд = 891,36 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,79 (d, J = 6,8 Гц, 3H), 0,82 (d, J = 6,8 Гц, 3H), 0,84 (s, 2H), 0,95 – 1,12 (m, 2H), 1,26 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,38 (d, J = 4,7 Гц, 3H), 1,54 – 1,77 (m, 4H), 1,91 (h, J = 6,8 Гц, 1H), 1,96 – 2,05 (m, 1H), 2,04 – 2,17 (m, 1H), 2,23 – 2,34 (m, 1H), 2,37 – 2,47 (m, 2H), 2,49 – 2,58 (m, 1H), 3,51 – 3,67 (m, 2H), 3,87 (s, 2H), 4,11 (s, 1H), 4,16 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,27 (q, J = 3,4 Гц, 1H), 4,32 (p, J = 7,1 Гц, 1H), 4,48 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,73 (s, 1H), 4,90 (d, J = 5,3 Гц, 1H), 5,38 (s, 1H), 5,90 (d, J = 1,6 Гц, 1H), 6,13 (dt, J = 10,1, 1,8 Гц, 1H), 6,88 (dt, J = 7,7, 1,3 Гц, 1H), 6,96 (s, 2H), 7,18 (dd, J = 16,7, 8,1 Гц, 3H), 7,29 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,32 – 7,40 (m, 3H), 7,43 (ddd, J = 8,1, 2,2, 1,0 Гц, 1H), 7,99 (d, J = 8,4 Гц, 1H), 8,10 (d, J = 7,0 Гц, 1H), 9,74 (s, 1H)
99	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,85$ хв.; маса/заряд = 881,46 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,83 (s, 3H), 1,13 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,24 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,35 (qd, J = 13,3, 12,8, 5,1 Гц, 1H), 1,46 (s, 3H), 1,63 (q, J = 9,7, 8,5 Гц, 3H), 1,73 – 1,88 (m, 1H), 2,01 (dt, J = 13,7, 3,5 Гц, 1H), 2,14 (td, J = 11,8, 7,2 Гц, 1H), 2,26 – 2,40 (m, 3H), 2,48 – 2,69 (m, 2H), 3,57 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 3,85 (s, 2H), 4,17 (ddd, J = 17,5, 11,7, 6,2 Гц, 3H), 4,30 (p, J = 7,2 Гц, 1H), 4,47 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,83 – 4,95 (m, 1H), 5,40 (s, 2H), 5,99 (d, J = 1,6 Гц, 1H), 6,20 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,87 (d, J = 7,5 Гц, 1H), 6,95 (s, 2H), 7,16 (t, J = 7,9 Гц, 1H), 7,20 (d, J = 8,1 Гц, 2H), 7,25 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,31 (d, J = 8,0 Гц, 2H), 7,38 (d, J = 1,9 Гц, 1H), 7,43 (dd, J = 8,0, 2,0 Гц, 1H), 8,01 (d, J = 7,3 Гц, 1H), 8,14 (d, J = 7,1 Гц, 1H), 9,70 (s, 1H)
100	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,87$ хв.; маса/заряд = 933,0 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,93 (s, 3H), 1,15 (d, J = 7,2 Гц, 3H), 1,26 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,48 (s, 4H), 1,73 (dd, J = 25,4, 11,3 Гц, 3H), 2,00 (d, J = 14,1 Гц, 1H), 2,12 – 2,26 (m, 1H), 2,27 (s, 1H), 2,37 (q, J = 8,3, 7,8 Гц, 2H), 2,65 (d, J = 33,3 Гц, 1H), 3,59 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 3,88 (s, 2H), 4,14 – 4,27 (m, 2H), 4,32 (t, J = 7,2 Гц, 1H), 4,92 (d, J = 3,5 Гц, 1H), 5,50 (s, 1H), 5,55 (s, 1H), 5,54 – 5,72 (m, 1H), 5,79 – 6,04 (m, 2H), 6,11 (s, 1H), 6,28 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,90 (d, J = 7,7 Гц, 1H), 6,97 (s, 2H), 7,18 (t, J = 7,8 Гц, 1H), 7,24 (t, J = 9,5 Гц, 3H), 7,34 (d, J = 7,8 Гц, 2H), 7,40 (s, 1H), 7,46 (d, J = 8,2 Гц, 1H), 8,03 (d, J = 7,3 Гц, 1H), 8,16 (d, J = 7,1 Гц, 1H), 9,72 (s, 1H)
101	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,84$ хв.; маса/заряд = 885,41 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,99 (s, 3H), 1,15 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,25 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,49 (s, 4H), 1,60 – 1,75 (m, 2H), 1,79 (d, J = 14,0 Гц, 1H), 1,94 (dt, J = 14,4, 3,5 Гц, 1H), 2,20 (q, J = 10,4 Гц, 1H), 2,24 – 2,33 (m, 1H), 2,38 (dd, J = 8,0, 6,5 Гц, 2H), 2,62 (dtd, J = 30,0, 12,0, 11,5, 4,1 Гц, 1H), 3,59 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 3,87 (s, 2H), 4,16 (d, J = 9,1 Гц, 1H), 4,21 (p, J = 7,2 Гц, 1H), 4,32 (p, J = 7,2 Гц, 1H), 5,00 (t, J = 2,9 Гц, 1H), 5,40 – 5,47 (m, 1H), 5,48 (s, 1H), 5,54 – 5,72 (m, 1H), 6,11 (s, 1H), 6,27 (dd, J = 10,2, 1,9 Гц, 1H), 6,89 (d, J = 7,6 Гц, 1H), 6,96 (s, 2H), 7,17 (t, J = 7,9 Гц, 1H), 7,21 (d, J = 8,0 Гц, 2H), 7,24 (dd, J = 10,3, 1,5 Гц, 1H), 7,32 (d, J = 7,9 Гц, 2H), 7,39 (t, J = 1,9 Гц, 1H), 7,46 (dd, J = 8,1, 2,1 Гц, 1H), 8,04 (d, J = 7,3 Гц, 1H), 8,16 (d, J = 7,1 Гц, 1H), 9,73 (s, 1H)
102	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,77$ хв.; маса/заряд = 917,22 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,85 (s, 3H), 1,16 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,28 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,48 (s, 3H), 1,56 (p, J = 12,4, 12,0 Гц, 1H), 1,62 – 1,76 (m, 3H), 1,98 – 2,10 (m, 1H), 2,22 (td, J = 12,3, 6,6 Гц, 1H), 2,24 – 2,33 (m, 1H), 2,38 (td, J = 7,0, 1,0 Гц, 2H), 2,54 – 2,72 (m, 1H), 3,59 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 4,15 – 4,25 (m, 3H), 4,33 (p, J = 7,1 Гц, 1H), 4,50 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,93 (d, J = 5,0 Гц, 1H), 5,36 (s, 1H), 5,50 (s, 1H), 5,55 – 5,73 (m, 1H), 6,11 (q, J = 1,5 Гц, 1H), 6,27 (dd, J = 10,2, 1,9 Гц, 1H), 6,78 – 6,83 (m, 2H), 6,84 (d, J = 1,8 Гц, 2H), 6,97 (s, 2H), 7,01 (d, J = 1,6 Гц, 1H), 7,25 (dd, J = 10,1, 1,5 Гц, 1H), 7,45 – 7,61 (m, 2H), 8,04 (d, J = 7,3 Гц, 1H), 8,17 (d, J = 7,0 Гц, 1H), 9,73 (s, 1H)

103	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,84$ хв.; маса/заряд = 935,4 [M+Na ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,84 (s, 3H), 1,15 (d, J = 7,3 Гц, 3H), 1,25 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,48 (s, 3H), 1,51 (d, J = 7,3 Гц, 4H), 1,67 (d, J = 14,2 Гц, 2H), 2,02 (d, J = 13,7 Гц, 1H), 2,13 – 2,34 (m, 2H), 2,38 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 2,65 (s, 1H), 3,59 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 4,08 (d, J = 7,1 Гц, 1H), 4,12 – 4,24 (m, 2H), 4,32 (t, J = 7,2 Гц, 1H), 4,48 (dd, J = 19,6, 6,3 Гц, 1H), 4,92 (d, J = 4,8 Гц, 1H), 5,07 (t, J = 5,8 Гц, 1H), 5,72-5,54 (m, 1H), 5,41 (s, 1H), 5,49 (s, 1H), 6,11 (s, 1H), 6,28 (d, J = 9,9 Гц, 1H), 6,88 – 6,95 (m, 1H), 6,97 (s, 2H), 7,17 (t, J = 7,9 Гц, 1H), 7,25 (d, J = 8,1 Гц, 3H), 7,33 (d, J = 7,9 Гц, 2H), 7,45 (d, J = 12,0 Гц, 2H), 8,03 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 8,16 (d, J = 6,9 Гц, 1H), 9,71 (s, 1H)
104	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,84$ хв.; маса/заряд = 935,4 [M+Na ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,85 (s, 3H), 1,16 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,26 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,49 (s, 3H), 1,52 (d, J = 7,3 Гц, 3H), 1,69 (t, J = 12,7 Гц, 3H), 2,04 (d, J = 13,9 Гц, 1H), 2,18 – 2,33 (m, 2H), 2,33 – 2,42 (m, 2H), 2,56 – 2,74 (m, 1H), 3,60 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 4,09 (q, J = 7,2 Гц, 1H), 4,20 (tq, J = 13,0, 6,3, 5,6 Гц, 3H), 4,32 (p, J = 7,1 Гц, 1H), 4,49 (dd, J = 19,5, 6,3 Гц, 1H), 4,93 (d, J = 5,1 Гц, 1H), 5,08 (t, J = 6,0 Гц, 1H), 5,42 (s, 1H), 5,51 (d, J = 4,2 Гц, 1H), 5,64 (dt, J = 48,9, 8,9 Гц, 1H), 6,12 (s, 1H), 6,29 (dd, J = 10,0, 1,9 Гц, 1H), 6,93 (d, J = 7,6 Гц, 1H), 6,97 (s, 2H), 7,18 (t, J = 7,9 Гц, 1H), 7,23 – 7,29 (m, 3H), 7,34 (d, J = 8,2 Гц, 2H), 7,44 (d, J = 2,1 Гц, 1H), 7,44 – 7,49 (m, 1H), 8,03 (d, J = 7,3 Гц, 1H), 8,17 (d, J = 7,1 Гц, 1H), 9,72 (s, 1H)
105	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,80$ хв.; маса/заряд = 913,75 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,84 (s, 3H), 1,15 (d, J = 7,2 Гц, 3H), 1,26 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,44 – 1,58 (m, 7H), 1,67 (d, J = 13,8 Гц, 2H), 2,03 (d, J = 14,0 Гц, 1H), 2,18 – 2,34 (m, 2H), 2,38 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 2,50 – 2,72 (m, 1H), 3,58 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 4,07 (p, J = 7,3 Гц, 1H), 4,11 – 4,26 (m, 2H), 4,33 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 4,48 (d, J = 19,3 Гц, 1H), 4,92 (d, J = 4,8 Гц, 1H), 5,41 (s, 1H), 5,45 – 5,53 (m, 1H), 5,62 (dd, J = 48,5, 9,8 Гц, 1H), 6,11 (s, 1H), 6,28 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 6,97 (s, 2H), 7,11 – 7,20 (m, 2H), 7,20 – 7,29 (m, 3H), 7,32 (d, J = 8,0 Гц, 2H), 7,47 (d, J = 8,3 Гц, 2H), 8,03 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 8,16 (d, J = 7,0 Гц, 1H), 9,71 (s, 1H)
106	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,84$ хв.; маса/заряд = 913,46 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,84 (s, 3H), 1,15 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,26 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,48 (s, 3H), 1,48 – 1,54 (m, 4H), 1,60 – 1,75 (m, 2H), 2,03 (dt, J = 13,8, 3,6 Гц, 1H), 2,08 – 2,18 (m, 1H), 2,18 – 2,25 (m, 1H), 2,25 – 2,32 (m, 1H), 2,38 (dd, J = 8,1, 6,4 Гц, 2H), 2,54 – 2,72 (m, 1H), 3,59 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 4,06 (dq, J = 14,9, 7,0 Гц, 1H), 4,11 – 4,28 (m, 3H), 4,33 (p, J = 7,1 Гц, 1H), 4,48 (d, J = 19,6 Гц, 1H), 4,92 (d, J = 5,0 Гц, 1H), 5,42 (s, 1H), 5,45 – 5,54 (m, 1H), 5,54 – 5,73 (m, 1H), 6,12 (d, J = 2,2 Гц, 1H), 6,26 – 6,33 (m, 1H), 6,97 (d, J = 1,3 Гц, 2H), 7,10 – 7,18 (m, 3H), 7,20 – 7,28 (m, 3H), 7,29 – 7,36 (m, 2H), 7,47 (dd, J = 8,6, 4,4 Гц, 2H), 8,04 (d, J = 7,3 Гц, 1H), 8,17 (d, J = 7,1 Гц, 1H), 9,71 (d, J = 2,9 Гц, 1H)
107	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,88$ хв.; маса/заряд = 895,30 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,84 (s, 3H), 0,94 – 1,11 (m, 2H), 1,16 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,27 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,37 (s, 3H), 1,51 – 1,82 (m, 5H), 1,94 – 2,03 (m, 1H), 2,08 (d, J = 19,3 Гц, 1H), 2,30 (t, J = 8,2 Гц, 1H), 2,38 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 2,48 – 2,59 (m, 1H), 3,60 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 4,11 – 4,25 (m, 4H), 4,27 (d, J = 3,6 Гц, 1H), 4,32 (p, J = 7,2 Гц, 1H), 4,48 (d, J = 19,5 Гц, 1H), 4,90 (d, J = 5,0 Гц, 1H), 5,38 (s, 1H), 5,91 (d, J = 1,6 Гц, 1H), 6,14 (dd, J = 10,1, 1,8 Гц, 1H), 6,97 (s, 2H), 6,94 – 7,01 (m, 1H), 7,19 (t, J = 8,0 Гц, 1H), 7,25 – 7,37 (m, 2H), 7,37 (s, 4H), 7,66 (t, J = 1,9 Гц, 1H), 8,10 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 8,20 (d, J = 6,9 Гц, 1H), 9,80 (s, 1H)
108	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,83$ хв.; маса/заряд = 913,0 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,85 (s, 3H), 1,16 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,27 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,37 (qd, J = 12,8, 5,2 Гц, 1H), 1,48 (s, 3H), 1,57 – 1,71 (m, 3H), 1,83 (dt, J = 11,7, 5,4 Гц, 1H), 2,03 (dt, J = 13,8, 3,6 Гц, 1H), 2,14 (td, J = 12,1, 6,8 Гц, 1H), 2,30 – 2,36 (m, 1H), 2,38 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 2,42 – 2,57 (m, 1H), 2,63 (td, J = 13,3, 5,8 Гц, 1H), 3,59 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 4,13 – 4,26 (m, 5H), 4,32 (p, J = 7,2 Гц, 1H), 4,49 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,91 (d, J = 4,7 Гц, 1H), 5,42 (s, 2H), 6,02 (s, 1H), 6,21 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,98 (dd, J = 7,9, 1,8 Гц, 1H), 7,19 (t, J = 8,0 Гц, 1H), 7,27 (d, J = 10,2 Гц, 1H), 7,29 – 7,44 (m, 5H), 7,61 – 7,70 (m, 1H), 8,07 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 8,18 (d, J = 7,0 Гц, 1H), 9,79 (s, 1H)

109	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,80$ хв.; маса/заряд = 915,54 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,85 (s, 3H), 1,19 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,28 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,49 (s, 4H), 1,61 – 1,78 (m, 3H), 2,04 (d, J = 13,7 Гц, 1H), 2,22 (dd, J = 12,3, 6,3 Гц, 1H), 2,26 – 2,32 (m, 1H), 2,37 (td, J = 7,0, 2,0 Гц, 2H), 2,55 – 2,73 (m, 1H), 3,58 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 3,78 (s, 2H), 4,18 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,29 (p, J = 7,1 Гц, 1H), 4,39 (p, J = 7,1 Гц, 1H), 4,50 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,93 (d, J = 5,2 Гц, 1H), 5,43 (s, 1H), 5,51 (dd, J = 4,5, 1,7 Гц, 1H), 5,54 – 5,75 (m, 1H), 6,12 (s, 1H), 6,29 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,72 – 6,78 (m, 2H), 6,98 (s, 2H), 7,19 (d, J = 7,9 Гц, 2H), 7,25 (dd, J = 10,1, 1,5 Гц, 1H), 7,29 – 7,37 (m, 2H), 7,76 (d, J = 1,8 Гц, 1H), 8,18 (d, J = 7,5 Гц, 1H), 8,30 (d, J = 7,1 Гц, 1H), 8,92 (s, 1H), 9,72 (s, 1H)
110	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,84$ хв.; маса/заряд = 899,0 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,83 (s, 3H), 1,13 (d, J = 7,2 Гц, 3H), 1,25 (d, J = 7,2 Гц, 3H), 1,36 (qd, J = 12,7, 5,4 Гц, 1H), 1,46 (s, 3H), 1,55 – 1,72 (m, 3H), 1,75 – 1,87 (m, 1H), 1,93 – 2,05 (m, 1H), 2,05 – 2,18 (m, 1H), 2,25 – 2,40 (m, 3H), 2,47 (p, J = 1,9 Гц, 1H), 2,53 – 2,69 (m, 1H), 3,56 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 4,09 – 4,23 (m, 3H), 4,29 (p, J = 7,1 Гц, 1H), 4,49 (d, J = 19,5 Гц, 1H), 4,87 – 4,95 (m, 1H), 5,40 (s, 1H), 5,43 (s, 1H), 5,99 (d, J = 1,7 Гц, 1H), 6,19 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,95 (s, 2H), 7,00 (dt, J = 7,8, 1,3 Гц, 1H), 7,21 – 7,33 (m, 4H), 7,33 – 7,41 (m, 2H), 7,56 (ddd, J = 8,2, 2,1, 1,0 Гц, 1H), 7,67 (t, J = 2,0 Гц, 1H), 8,05 (d, J = 7,1 Гц, 1H), 8,14 (d, J = 7,0 Гц, 1H), 9,87 (s, 1H)
111	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,86$ хв.; маса/заряд = 881,38 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,84 (s, 3H), 1,04 (ddd, J = 14,7, 11,7, 4,1 Гц, 2H), 1,14 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,26 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,37 (s, 3H), 1,54 – 1,85 (m, 4H), 1,93 – 2,03 (m, 1H), 2,09 (d, J = 11,6 Гц, 1H), 2,23 – 2,33 (m, 1H), 2,36 (q, J = 6,4, 5,5 Гц, 2H), 2,50 (d, J = 9,7 Гц, 1H), 3,57 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 4,12 – 4,24 (m, 2H), 4,24 – 4,34 (m, 2H), 4,48 (d, J = 19,5 Гц, 1H), 4,76 (s, 1H), 4,90 (d, J = 5,1 Гц, 1H), 5,39 (s, 1H), 5,89 (s, 1H), 6,14 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,97 (s, 2H), 7,03 (d, J = 7,7 Гц, 1H), 7,22 – 7,35 (m, 4H), 7,42 (d, J = 8,2 Гц, 2H), 7,57 (dd, J = 8,2, 2,0 Гц, 1H), 7,71 (d, J = 2,0 Гц, 1H), 8,09 (d, J = 7,1 Гц, 1H), 8,17 (d, J = 6,9 Гц, 1H), 9,89 (s, 1H)
112	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,85$ хв.; маса/заряд = 879,30 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,84 (s, 3H), 1,02 (ddd, J = 21,5, 11,7, 4,1 Гц, 2H), 1,18 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,27 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,37 (s, 3H), 1,54 – 1,81 (m, 5H), 1,95 – 2,03 (m, 1H), 2,09 (dd, J = 11,1, 4,0 Гц, 1H), 2,29 (d, J = 12,8 Гц, 1H), 2,36 (td, J = 7,1, 2,0 Гц, 2H), 2,49 – 2,59 (m, 1H), 3,57 (d, J = 7,3 Гц, 2H), 3,77 (s, 2H), 4,15 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,23 – 4,34 (m, 2H), 4,38 (p, J = 7,1 Гц, 1H), 4,47 (d, J = 19,5 Гц, 1H), 4,74 (s, 1H), 4,89 (d, J = 5,3 Гц, 1H), 5,37 (s, 1H), 5,90 (t, J = 1,6 Гц, 1H), 6,13 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,73 (d, J = 1,8 Гц, 2H), 6,97 (s, 2H), 7,17 (d, 2H), 7,28 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,31 – 7,36 (m, 2H), 7,76 (d, J = 1,5 Гц, 1H), 8,17 (d, J = 7,6 Гц, 1H), 8,29 (d, J = 7,1 Гц, 1H), 8,90 (s, 1H), 9,72 (s, 1H)
113	Спосіб r, Таблиця 7 $R_t = 0,80$ хв.; маса/заряд = 880,26 [M+H ⁺]	¹ H ЯМР (DMSO-d ₆) δ: 0,84 (s, 3H), 1,04 (ddd, J = 34,7, 11,8, 4,1 Гц, 2H), 1,14 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,25 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,38 (s, 3H), 1,54 – 1,81 (m, 4H), 1,95 – 2,04 (m, 1H), 2,10 (tt, J = 10,9, 5,9 Гц, 1H), 2,25 – 2,33 (m, 1H), 2,37 (dd, J = 8,0, 6,5 Гц, 2H), 2,49 – 2,59 (m, 1H), 3,58 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 3,78 (s, 2H), 4,15 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,21 (p, J = 7,1 Гц, 1H), 4,25 – 4,36 (m, 2H), 4,45 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,76 (s, 1H), 4,87 (d, J = 5,3 Гц, 1H), 5,27 (s, 1H), 5,92 (t, J = 1,6 Гц, 1H), 6,14 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,77 (dd, J = 7,7, 1,6 Гц, 1H), 6,84 – 6,91 (m, 2H), 6,97 (s, 2H), 6,99 (d, J = 7,7 Гц, 1H), 7,11 – 7,17 (m, 1H), 7,30 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,39 – 7,45 (m, 2H), 8,03 (d, J = 7,3 Гц, 1H), 8,16 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 9,55 (s, 1H), 9,72 (s, 1H)

Приклад 36. Синтез N-(3-амінофеніл)-4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензаміду

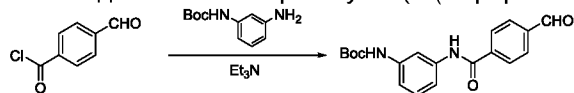
Стадія 1. Синтез 4-формілбензоїлхлориду



До розчину 4-формілбензойної кислоти (15,01 г, 100 ммоль), який має температуру 0 °С, у THF (100 мл) додавали по краплях оксалілхлорид (17,51 мл, 200 ммоль) з наступним додаванням по краплях N,N-диметилформаміду (0,387 мл, 5,00 ммоль). Забезпечували нагрівання суміші до кімнатної температури і потім перемішували додатково 2 год. Суміш концентрували in vacuo з одержанням 4-

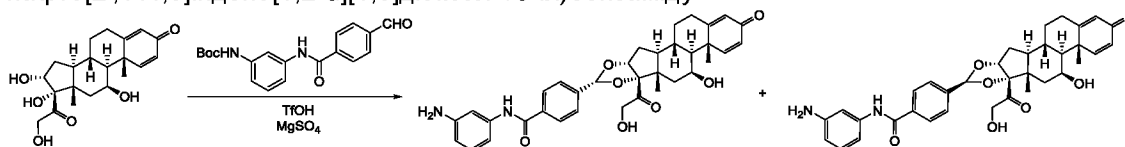
формілбензоїлхлориду (16,86 г, 100 ммоль, вихід 100%), який застосовували без додаткового очищення.

Стадія 2. Синтез трет-бутил(3-(4-формілбензамідо)феніл)карбамату



До розчину 4-формілбензоїлхлориду (16,86 г, 100 ммоль), який має температуру 0 °С, у THF (100 мл) додавали по краплях триетиламін (63,4 мл, 455 ммоль) з наступним додаванням трет-бутил(3-амінофеніл)карбамату (18,93 г, 91 ммоль). Після перемішування за кімнатної температури протягом 2 год. суміш розводили за допомогою EtOAc (200 мл), промивали водою (2 x 100 мл) і сольовим розчином (100 мл), висушували над Na₂SO₄ і концентрували in vacuo. Залишок розтирали в порошок у 20 мл EtOAc/PE (1:1) і одержаний осад збирали з одержанням трет-бутил(3-(4-формілбензамідо)феніл)карбамату (27,8 г, 82 ммоль, вихід 90%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. LCMS (Спосіб е Таблиця 7) R_t=2,00 хв.; MS маса/заряд = 285 [M-t-Bu].

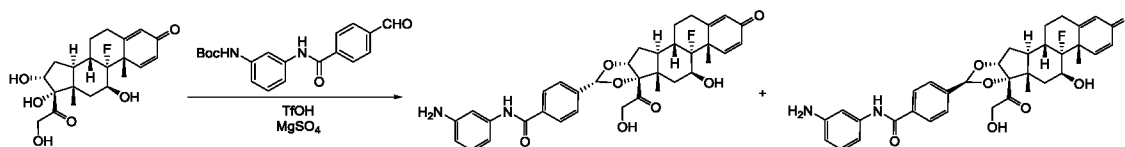
Стадія 3. Синтез N-(3-амінофеніл)-4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензаміду



До перемішаного розчину (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3H-циклопента[а]фенантрен-3-ону (9,42 г, 25,02 ммоль), трет-бутил(3-(4-формілбензамідо)феніл)карбамату (8,515 г, 25,02 ммоль), одержаного способом, аналогічним до такого з прикладу 2, стадії 5, і MgSO₄ (12,04 г, 100 ммоль) у MeCN (250 мл) додавали по краплях трифторметансульфонову кислоту (11,11 мл, 125 ммоль) за 0 °С. Суміш перемішували за 0 °С протягом 2 годин і потім нагрівали до кімнатної температури і перемішували додатково 16 год. Суміш фільтрували і промивали за допомогою THF і фільтрат концентрували in vacuo. Залишок розчиняли у THF (100 мл) і потім нейтралізували за допомогою 1 М водного розчину NaOH до pH=8. Суміш екстрагували за допомогою EtOAc (200 мл), промивали водою (2 x 100 мл) і сольовим розчином (100 мл), висушували над Na₂SO₄ і концентрували in vacuo. Очищенням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію) з елююванням 5% MeOH/DCM одержували неочищений продукт, який додатково очищували за допомогою HPLC з оберненою фазою на Sunfire C18, 10 мікронів (колонка 250 x 19 мм). Застосовували градієнт MeCN (A) та 0,05% TFA у воді (B) за витрати 30 мл/хв. (0-10,0 хв. лінійний градієнт 22-32%, утримування 5 хв.). Об'єднані фракції заморожували і ліофілізували з одержанням N-(3-амінофеніл)-4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензаміду (1,972 г, 3,29 ммоль, вихід 13%) у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб f, Таблиця 7) R_t=1,37 хв.; MS маса/заряд = 599 [M+H⁺]. ¹H ЯМР (400 МГц, Метанол-d₄) δ 8,01 – 7,92 (m, 3H), 7,64 (d, J = 8,0 Гц, 2H), 7,55 – 7,40 (m, 3H), 7,05 (d, J = 7,8 Гц, 1H), 6,27 (dd, J = 10,2, 1,8 Гц, 1H), 6,03 (s, 1H), 5,60 (s, 1H), 5,13 (d, J = 4,1 Гц, 1H), 4,68 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,45 (d, J = 3,3 Гц, 1H), 4,37 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 2,68 (dt, J = 14,5, 7,0 Гц, 1H), 2,41 (dd, J = 13,7, 10,2 Гц, 1H), 2,29 (d, J = 10,5 Гц, 1H), 2,18 (d, J = 12,8 Гц, 1H), 1,99 (dd, J = 13,8, 3,5 Гц, 1H), 1,94 – 1,80 (m, 2H), 1,82 – 1,69 (m, 2H), 1,52 (s, 3H), 1,14 (m, J = 16,8, 8,0 Гц, 2H), 1,02 (s, 3H).

Міночний ізомер ацеталу: N-(3-амінофеніл)-4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензамід (112 мг, 0,176 ммоль, вихід 0,9%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. LCMS (Спосіб е, Таблиця 7) R_t=1,53 хв.; MS маса/заряд = 599 [M+H⁺]. ¹H ЯМР (400 МГц, MeOH-d₄) δ 7,90 (d, J = 7,9 Гц, 2H), 7,48 (dd, J = 8,1, 3,5 Гц, 3H), 7,15 (d, J = 2,2 Гц, 1H), 7,09 (t, J = 8,0 Гц, 1H), 6,96 (d, J = 8,1 Гц, 1H), 6,59 – 6,51 (m, 1H), 6,28 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,25 (s, 1H), 6,05 (s, 1H), 5,51 – 5,37 (m, 1H), 4,45 (s, 1H), 4,30 (d, J = 19,2 Гц, 1H), 4,14 (d, J = 19,2 Гц, 1H), 2,70 (t, J = 13,6 Гц, 1H), 2,43 (d, J = 13,3 Гц, 1H), 2,22 (dd, J = 23,3, 12,5 Гц, 2H), 2,07 (d, J = 13,5 Гц, 1H), 1,93 (q, J = 5,1, 3,5 Гц, 2H), 1,80 (d, J = 14,0 Гц, 2H), 1,53 (d, J = 1,7 Гц, 3H), 1,21 (dd, J = 41,7, 12,1 Гц, 2H), 1,03 (s, 3H).

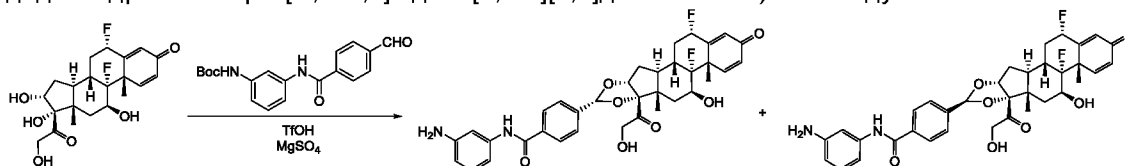
Приклад 37. Синтез N-(3-амінофеніл)-4-((6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-6b-фтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензаміду



Синтезували із застосуванням такої ж процедури, як у прикладі 36 вище. Основний ізомер ацеталю: N-(3-амінофеніл)-4-((6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-6b-фтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензамід. LCMS (Спосіб f, Таблиця 7) $R_t=1,35$ хв.; MS маса/заряд = 617 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 10,29 (d, J = 7,4 Гц, 1H), 8,00 – 7,93 (m, 2H), 7,73 (s, 1H), 7,59 (d, J = 8,1 Гц, 2H), 7,43 (s, 0H), 7,38 (s, 1H), 7,29 (dd, J = 10,0, 5,3 Гц, 2H), 6,81 (s, 1H), 6,24 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,05 (d, J = 1,6 Гц, 1H), 5,62 (s, 1H), 5,49 (s, 1H), 5,03 – 4,96 (m, 1H), 4,58 (d, J = 19,5 Гц, 1H), 4,23 (d, J = 19,6 Гц, 1H), 2,73 – 2,52 (m, 1H), 2,40 – 2,32 (m, 1H), 2,25 – 2,12 (m, 1H), 2,11 – 2,02 (m, 1H), 1,92 – 1,84 (m, 1H), 1,76 – 1,67 (m, 3H), 1,51 (s, 3H), 1,40 (tt, J = 14,3, 7,1 Гц, 1H), 0,90 (s, 3H).

Мінольний ізомер ацеталю: N-(3-амінофеніл)-4-((6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-6b-фтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензамід. LCMS (Спосіб B, Таблиця 7) $R_t=1,45$ хв.; MS маса/заряд = 617 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ ppm: 8,06 (s, 1H), 7,95 (d, J = 8,4 Гц, 2H), 7,54-7,41 (m, 5H), 7,09 (d, J = 6,8 Гц, 1H), 6,34 (d, J = 10 Гц, 1H), 6,28 (s, 1H), 6,13 (s, 1H), 5,49 (d, J = 6,4 Гц, 1H), 4,34-4,13 (m, 3H), 2,79-2,24 (m, 5H), 1,74-1,63 (m, 2H), 1,60 (s, 3H), 1,04 (s, 3H).

Приклад 38. Синтез N-(3-амінофеніл)-4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензаміду

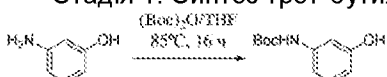


Синтезували із застосуванням такої ж процедури, як у прикладі 36 вище. Основний ізомер ацеталю: N-(3-амінофеніл)-4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензамід. LCMS (Спосіб f, Таблиця 7) $R_t=1,376$ хв., MS маса/заряд = 635 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, MeOH- d_4) δ 7,96 (d, J = 8,0 Гц, 2H), 7,88 (d, J = 2,1 Гц, 1H), 7,64 (dd, J = 8,3, 1,5 Гц, 2H), 7,48 – 7,42 (m, 1H), 7,39 (t, J = 7,9 Гц, 1H), 7,34 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 6,98 (dt, J = 7,7, 1,6 Гц, 1H), 6,41 – 6,26 (m, 2H), 5,71 – 5,45 (m, 2H), 5,14 (d, J = 4,1 Гц, 1H), 4,69 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,44 – 4,28 (m, 2H), 2,73 (dt, J = 25,9, 12,1 Гц, 1H), 2,41 (td, J = 11,7, 6,9 Гц, 2H), 2,29 (dt, J = 14,0, 3,6 Гц, 1H), 1,91 – 1,67 (m, 4H), 1,60 (s, 4H), 1,02 (s, 3H).

Мінольний ізомер ацеталю: N-(3-амінофеніл)-4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензамід. LCMS (Спосіб e, Таблиця 7) $R_t=1,506$ хв., MS маса/заряд = 635 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, MeOH- d_4) δ 7,90 (d, J = 8,0 Гц, 2H), 7,49 (d, J = 7,9 Гц, 2H), 7,35 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 7,16 (d, J = 2,2 Гц, 1H), 7,09 (t, J = 8,0 Гц, 1H), 6,96 (d, J = 8,2 Гц, 1H), 6,65 – 6,48 (m, 1H), 6,41 – 6,27 (m, 3H), 5,76 – 5,39 (m, 2H), 4,42 – 4,22 (m, 2H), 4,15 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 2,66 (dd, J = 27,8, 13,4 Гц, 1H), 2,47 – 2,24 (m, 3H), 2,08 – 1,85 (m, 2H), 1,75 (t, J = 14,9 Гц, 2H), 1,61 (s, 3H), 1,03 (s, 3H).

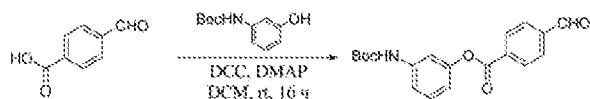
Приклад 39. Синтез 3-амінофеніл-4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензоату

Стадія 1. Синтез трет-бутил-(3-гідроксифеніл)карбамату



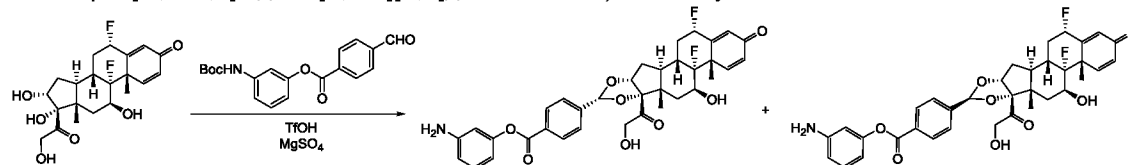
До розчину 3-амінофенолу (10 г, 92 ммоль) в THF (450 мл) додавали Вос-ангідрид (23,40 мл, 101 ммоль). Суміш нагрівали за 85 °C протягом 16 год., контролювали за допомогою LCMS. Після цього суміш концентрували з одержанням залишка, який розчиняли в EtOAc (150 мл) і промивали водою (100 мл), насиченим $NaHCO_3$ (100 мл) і сольовим розчином (100 мл), висушували над Na_2SO_4 і концентрували in vacuo. Неочищений матеріал промивали за допомогою PE (50 мл x 2) з одержанням указаної у заголовку сполуки (16,5 г, 76 ммоль, вихід 82%) у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб g, Таблиця 7) $R_t=1,66$ хв., MS маса/заряд = 232,1 $[M+Na]^+$.

Стадія 2. Синтез 3-((трет-бутоксикарбоніл)аміно)феніл-4-формілбензоату



До розчину трет-бутил(3-гідроксифеніл)карбамату (5 г, 23,90 ммоль) у DCM (60 мл) за 0 °C додавали 4-формілбензойну кислоту (3,59 г, 23,90 ммоль), N, N'-дициклогексилкарбодіїмід (7,40 г, 35,8 ммоль) і 4-диметиламінопіридин (0,584 г, 4,78 ммоль). Одержану суміш перемішували за даної температури протягом 10 хв. в атмосфері аргону. Потім суміш нагрівали до кімнатної температури і перемішування продовжували протягом 16 год. Суміш охолоджували у льодяній бані. Побічний фільтрат концентрували під вакуумом. Неочищений матеріал очищували за допомогою хроматографії на силікагелі з елюванням за допомогою DCM/EtOAc (100%~30:1) з одержанням указаної у заголовку сполуки (7,0 г, 18,54 ммоль, вихід 78%) у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) $R_t=2,17$ хв., MS маса/заряд = 364,0 $[M+Na]^+$.

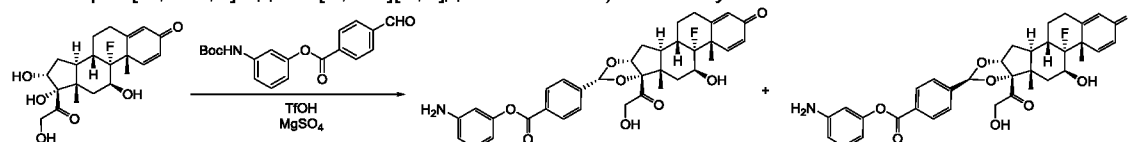
Стадія 3. Синтез 3-амінофеніл-4-((2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензоату



До перемішаного розчину (6S,8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17S)-6,9-дифтор-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3H-циклопента[а]фенантрен-3-ону (стадія 5, приклад 2) (7,248 г, 17,58 ммоль) і 3-((трет-бутоксикарбоніл)аміно)феніл-4-формілбензоату (6 г, 17,58 ммоль) у безводному MeCN (40 мл) і THF (40 мл) за 0 °C в атмосфері азоту по краплях додавали трифторметансульфонову кислоту (7,8 мл, 87,9 ммоль). Суміш перемішували за 0 °C протягом 1 год., потім виливали у льодяну воду (30 мл) і екстрагували за допомогою EtOAc (2 x 45 мл). Об'єднані органічні шари промивали охолодженою водою (2 x 30 мл), сольовим розчином (30 мл), насиченим $NaHCO_3$ (30 мл) і додатково кількістю води (30 мл), концентрували in vacuo з одержанням твердої речовини жовтого кольору. Неочищений матеріал очищували за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (200-300 меш) з елюванням за допомогою DCM/ MeOH (100%~40:1) і потім додатково очищували за допомогою препаративної HPLC з одержанням указаної у заголовку сполуки (основний ізомер ацеталю) (2,166 г, 3,32 ммоль, вихід 19%) у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) $R_t=1,54$ хв.; MS маса/заряд = 636,3 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, $DMSO-d_6$) δ 8,13 (d, J = 8,2 Гц, 2H), 7,66 (d, J = 8,2 Гц, 2H), 7,27 (dd, J = 10,1, 1,4 Гц, 1H), 7,06 (t, J = 8,0 Гц, 1H), 6,48 (dd, J = 8,3, 2,1 Гц, 1H), 6,40 (t, J = 2,2 Гц, 1H), 6,34 (dd, J = 7,8, 2,2 Гц, 1H), 6,30 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,12 (s, 1H), 5,82 – 5,47 (m, 3H), 5,31 (s, 2H), 5,15 (t, J = 5,9 Гц, 1H), 5,03 (d, J = 5,1 Гц, 1H), 4,60 (dd, J = 19,5, 6,4 Гц, 1H), 4,33 – 4,12 (m, 2H), 2,66 (ddd, J = 26,2, 13,7, 9,3 Гц, 1H), 2,31 (d, J = 10,9 Гц, 1H), 2,21 (td, J = 12,4, 6,3 Гц, 1H), 2,12 – 1,98 (m, 1H), 1,84 – 1,64 (m, 3H), 1,50 (s, 4H), 0,89 (s, 3H).

Міночний ізомер ацеталю 3-амінофеніл-4-((2S,6aS, 6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-2, 6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензоат також виділяли (1,073 г, 1,676 ммоль, вихід 10%) у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) $R_t=1,58$ мин; MS маса/заряд = 636,3 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, $DMSO-d_6$) δ 8,13 – 8,06 (m, 2H), 7,51 (d, J = 8,2 Гц, 2H), 7,28 (dd, J = 10,1, 1,4 Гц, 1H), 7,06 (t, J = 8,0 Гц, 1H), 6,52 – 6,44 (m, 1H), 6,43 – 6,28 (m, 4H), 6,14 (s, 1H), 5,80 – 5,48 (m, 2H), 5,39 (d, J = 6,8 Гц, 1H), 5,31 (s, 2H), 5,04 (t, J = 6,1 Гц, 1H), 4,26 – 4,15 (m, 2H), 4,05 (dd, J = 19,2, 5,9 Гц, 1H), 2,67 – 2,51 (m, 1H), 2,29 (d, J = 6,9 Гц, 1H), 2,27 – 2,14 (m, 1H), 2,11 (d, J = 13,5 Гц, 1H), 1,96 – 1,59 (m, 4H), 1,51 (s, 3H), 0,90 (s, 3H).

Приклад 40. Синтез 3-амінофеніл-4-((6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-6b-фтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензоату

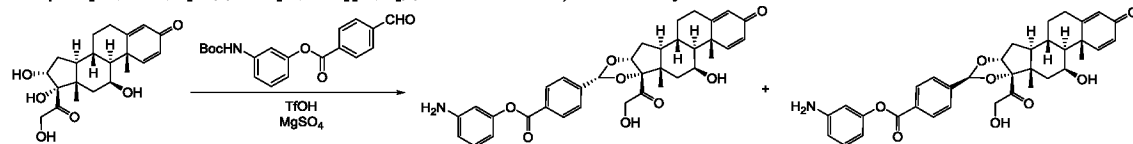


Синтезували із застосуванням такої ж процедури, як у прикладі 39 вище. Основний ізомер ацеталю: 3-амінофеніл-4-((6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-6b-фтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензоат. LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) $R_t=1,54$ хв.; MS

маса/заряд = 618,3 [M+H⁺]. ¹H ЯМР (400 МГц, MeOH-d₄) δ 8,19 (dd, J = 7,8, 1,9 Гц, 2H), 7,67 (d, J = 8,0 Гц, 2H), 7,41 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,35 (t, J = 8,0 Гц, 1H), 6,97 – 6,84 (m, 3H), 6,32 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 6,12 (s, 1H), 5,63 (s, 1H), 5,13 (d, J = 5,0 Гц, 1H), 4,69 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,43 – 4,30 (m, 2H), 2,76 (td, J = 13,6, 5,8 Гц, 1H), 2,70 – 2,54 (m, 1H), 2,43 (d, J = 13,6 Гц, 1H), 2,31 (ddd, J = 14,9, 11,6, 4,5 Гц, 2H), 2,01 – 1,92 (m, 1H), 1,89 – 1,69 (m, 3H), 1,62 (s, 4H), 1,03 (s, 3H).

Міно́рний ізомер ацеталу: 3-амінофеніл-4-((6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-6b-фтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензоат. LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) R_t=1,58 хв.; MS маса/заряд = 618,2 [M+H⁺]. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8,10 (d, J = 8,1 Гц, 2H), 7,52 (d, J = 8,1 Гц, 2H), 7,30 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,16 (dd, J = 9,8, 6,0 Гц, 1H), 6,64 (d, J = 8,2 Гц, 1H), 6,61 – 6,51 (m, 2H), 6,31 – 6,19 (m, 2H), 6,05 (s, 1H), 5,47 (s, 1H), 5,38 (d, J = 6,7 Гц, 1H), 4,19 (d, J = 18,7 Гц, 2H), 4,04 (d, J = 19,2 Гц, 1H), 2,66 (td, J = 13,9, 6,3 Гц, 1H), 2,48 – 2,33 (m, 1H), 2,17 – 2,05 (m, 2H), 1,87 (dt, J = 13,8, 7,0 Гц, 2H), 1,84 – 1,69 (m, 2H), 1,51 (s, 4H), 0,90 (s, 3H).

Приклад 41. Синтез 3-амінофеніл-4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензоату



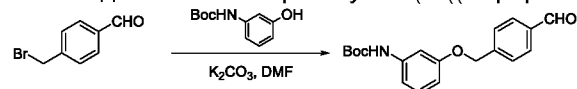
Синтезували із застосуванням такої ж процедури, як у прикладі 39 вище. Основний ізомер ацеталу:

3-амінофеніл-4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензоат. LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) R_t=1,86 хв.; MS маса/заряд = 599,8 [M+H⁺]. ¹H ЯМР (400 МГц, MeOH-d₄) δ 8,14 (d, J = 8,2 Гц, 2H), 7,64 (d, J = 8,1 Гц, 2H), 7,44 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 7,14 (t, J = 8,0 Гц, 1H), 6,63 (dd, J = 8,1, 2,2 Гц, 1H), 6,54 (q, J = 2,6 Гц, 1H), 6,48 (dd, J = 8,1, 2,2 Гц, 1H), 6,24 (dd, J = 10,0, 2,0 Гц, 1H), 6,00 (s, 1H), 5,59 (s, 1H), 5,13 (d, J = 4,4 Гц, 1H), 4,69 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,43 (q, J = 3,3 Гц, 1H), 4,37 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 2,66 (td, J = 13,4, 5,3 Гц, 1H), 2,38 (dd, J = 13,7, 4,1 Гц, 1H), 2,32 – 2,19 (m, 1H), 2,14 (d, J = 12,7 Гц, 1H), 2,06 – 1,93 (m, 1H), 1,94 – 1,85 (m, 1H), 1,89 – 1,68 (m, 3H), 1,50 (s, 3H), 1,22 – 1,01 (m, 2H), 1,02 (s, 3H).

Міно́рний ізомер ацеталу: 3-амінофеніл-4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензоат. LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) R_t=1,89 хв.; MS маса/заряд = 599,8 [M+H⁺]. ¹H ЯМР (400 МГц, MeOH-d₄) δ 8,22 – 8,11 (m, 2H), 7,53 (d, J = 8,2 Гц, 2H), 7,49 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 7,14 (t, J = 8,0 Гц, 1H), 6,63 (dd, J = 8,1, 2,1 Гц, 1H), 6,55 (t, J = 2,2 Гц, 1H), 6,53 – 6,45 (m, 1H), 6,33 – 6,24 (m, 2H), 6,05 (t, J = 1,6 Гц, 1H), 5,46 (t, J = 3,8 Гц, 1H), 4,46 (q, J = 3,3 Гц, 1H), 4,30 (d, J = 19,2 Гц, 1H), 4,15 (d, J = 19,2 Гц, 1H), 2,70 (td, J = 13,5, 5,4 Гц, 1H), 2,48 – 2,38 (m, 1H), 2,23 (ddd, J = 24,3, 12,6, 6,6 Гц, 2H), 2,12 – 2,03 (m, 1H), 2,02 – 1,89 (m, 2H), 1,89 – 1,77 (m, 2H), 1,53 (s, 3H), 1,26 (tt, J = 12,4, 6,3 Гц, 1H), 1,17 (dd, J = 11,1, 3,6 Гц, 1H), 1,03 (s, 3H).

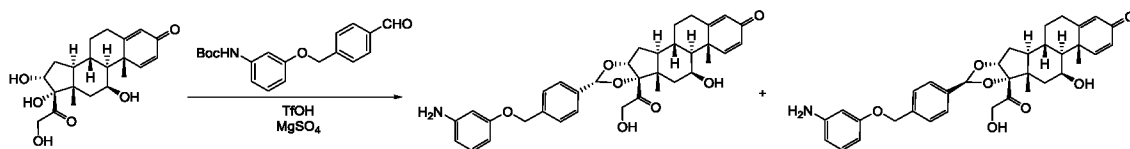
Приклад 42. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофенокси)метил)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону

Стадія 1. Синтез трет-бутил-(3-((4-формілбензил)окси)феніл)карбамату



До розчину 4-(бромметил)бензальдегіду (34,4 г, 173 ммоль) у диметилформаміді (200 мл) послідовно додавали K₂CO₃ (47,8 г, 346 ммоль) і трет-бутил-(3-гідроксифеніл)карбамат (36,2 г, 173 ммоль). Суспензію жовтого кольору потім нагрівали за 80 °C на масляній бані протягом 2 год. Реакцію гасили за допомогою води (200 мл) і екстрагували за допомогою EtOAc (2 x 200 мл). Об'єднані органічні шари промивали сольовим розчином (100 мл), висушували над Na₂SO₄ і концентрували за зниженого тиску. Одержаний залишок очищували за допомогою хроматографії (силікагель; петролейний етер до 80:20 PE/EtOAc; градієнт елюювання) з одержанням трет-бутил-(3-((4-формілбензил)окси)феніл)карбамату (47,27 г, 144 ммоль, вихід 83%) у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб h Таблиця 7) R_t=1,92 хв.; MS маса/заряд = 272 [M-t-Bu+H⁺].

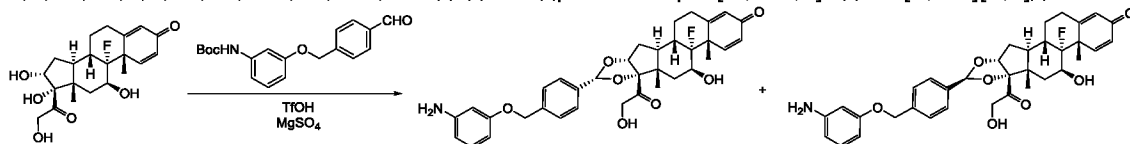
Стадія 2. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофенокси)метил)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону



Триформетансульфонову кислоту (17,76 мл, 200 ммоль) додавали по краплях до перемішаної суспензії (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3H-циклопента[а]фенантрен-3-ону (15,06 г, 40 ммоль) і трет-бутил-(3-((4-формілбензил)окси)феніл)карбамату (13,75 г, 42,0 ммоль) і MgSO_4 (19,26 г, 160 ммоль), яка має температуру 0 °C, у MeCN (400 мл). Реакційну суміш потім нагрівали до 20 °C і перемішували протягом додаткових 2 год. Суміш фільтрували і промивали за допомогою THF і фільтрат концентрували in vacuo. Залишок розчиняли у THF (100 мл), нейтралізували за допомогою 1 М водного NaOH до pH 8, розводили за допомогою EtOAc (200 мл), промивали водою (2 x 200 мл) і сольовим розчином (200 мл), висушували (Na_2SO_4) і концентрували in vacuo. Залишок очищували за допомогою колонкової флеш-хроматографії (MeOH:DCM=1:20). Одержаний матеріал додатково очищували за допомогою препаративної HPLC на Sunfire C18 10 мікронів (250 x 19 мм колонка). Застосовували градієнт MeCN (A) та 0,05% TFA у воді (B), за витрати 30 мл/хв. (0-10,0 хв. лінійний градієнт 22-32% A, утримування 5 хв.) з одержанням указаної у заголовку сполуки (7,338 г, 12,15 ммоль, вихід 30%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. LCMS (Спосіб і, Таблиця 7) $R_t=1,47$ хв.; MS маса/заряд = 586 $[\text{M}+\text{H}^+]$. ^1H ЯМР (400 МГц, MeOD-d_4) δ 7,502-7,446 (m, 5H), 7,389-7,349 (m, 1H), 7,009, 6,988 (dd, $J_1 = 2$ Гц, $J_2 = 8,4$ Гц, 1H), 6,890-6,859 (m, 2H), 6,275, 6,250 (dd, $J_1 = 1,2$ Гц, $J_2 = 8,8$ Гц, 1H), 6,027 (s, 1H), 5,501 (s, 1H), 5,147 (s, 2H), 5,107, 5,078 (dd, $J_1 = 6,8$ Гц, $J_2 = 11,6$ Гц, 1H), 4,672 (d, $J = 19,6$ Гц, 1H), 4,436 (s, 1H), 4,370 (d, $J = 19,2$ Гц, 1H), 2,706-2,671 (m, 1H), 2,652-2,265 (m, 3H), 2,002-1,700 (m, 5H), 1,512 (s, 3H), 1,151-1,112 (m, 1H), 1,054-1,009 (m, 4H).

Міно́рний ізомер ацеталю: (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофенокси)метил)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он, міно́рний ізомер ацеталю також виділяли (354 мг, 0,604 ммоль, вихід 2%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. LCMS (Спосіб і, Таблиця 7) $R_t=1,51$ хв.; MS маса/заряд = 586 $[\text{M}+\text{H}^+]$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 7,416 (d, $J = 8$ Гц, 2H), 7,332-7,276 (m, 3H), 6,879 (t, $J = 8$ Гц, 1H), 6,185-6,115 (m, 5H), 5,948 (s, 1H), 5,319 (d, $J = 6,8$ Гц, 1H), 5,041-5,014 (m, 3H), 4,980 (s, 2H), 4,791 (d, $J = 3,2$ Гц, 1H), 4,302-4,239 (m, 2H), 4,056, 4,008 (dd, $J_1 = 6$ Гц, $J_2 = 19,6$ Гц, 1H), 2,552-2,540 (m, 1H), 2,337-2,304 (m, 1H), 2,075-2,005 (m, 2H), 1,884-1,736 (m, 5H), 1,395 (s, 3H), 1,219-1,045 (m, 2H), 0,892 (s, 3H).

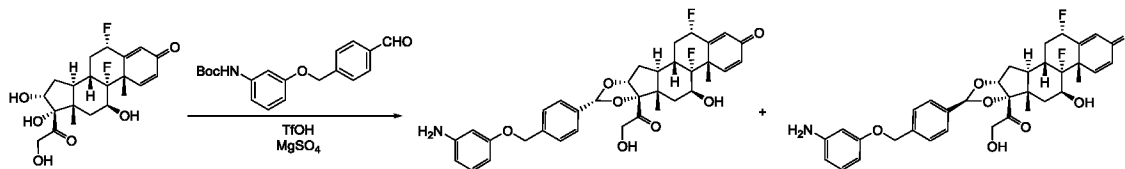
Приклад 43. Синтез (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофенокси)метил)феніл)-6b-фтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону



Синтезували із застосуванням такої ж процедури, як у прикладі 42 вище. Основний ізомер ацеталю: (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофенокси)метил)феніл)-6b-фтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он. LCMS (Спосіб і, Таблиця 7) $R_t=1,74$ хв.; MS маса/заряд = 604 $[\text{M}+\text{H}^+]$. ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 7,48 – 7,49 (m, 4H), 7,44 – 7,33 (m, 2H), 7,02 (dd, $J = 8,3$, 1,9 Гц, 1H), 6,96 – 6,84 (m, 2H), 6,32 (dd, $J = 10,1$, 1,8 Гц, 1H), 6,13 (s, 1H), 5,52 (s, 1H), 5,16 (s, 2H), 5,08 (d, $J = 4,9$ Гц, 1H), 4,65 (d, $J = 19,4$ Гц, 1H), 4,46 – 4,27 (m, 2H), 2,84 – 2,50 (m, 2H), 2,45 – 2,27 (m, 3H), 2,01 – 1,90 (m, 1H), 1,80 – 1,70 (m, 3H), 1,62 (s, 3H), 1,55 (dd, $J = 12,8$, 4,8 Гц, 1H), 1,02 (s, 3H).

Міно́рний ізомер ацеталю: (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофенокси)метил)феніл)-6b-фтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он. LCMS (Спосіб і, Таблиця 7) $R_t=1,77$ хв.; MS маса/заряд = 604 $[\text{M}+\text{H}^+]$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 7,42 (d, $J = 8,1$ Гц, 2H), 7,36 – 7,25 (m, 3H), 7,01 (t, $J = 8,1$ Гц, 1H), 6,43 – 6,30 (m, 3H), 6,24 (dd, $J = 10,1$, 1,5 Гц, 1H), 6,12 (s, 1H), 6,04 (s, 1H), 5,47 (s, 1H), 5,35 (d, $J = 7,1$ Гц, 1H), 5,02 (s, 2H), 4,31 – 4,14 (m, 2H), 4,04 (d, $J = 19,2$ Гц, 1H), 2,72 – 2,58 (m, 1H), 2,18 – 1,98 (m, 2H), 1,85 (d, $J = 6,9$ Гц, 2H), 1,77 – 1,63 (m, 2H), 1,58 – 1,40 (m, 4H), 0,90 (s, 3H).

Приклад 44. Синтез (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофенокси)метил)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону

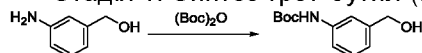


Синтезували із застосуванням такої ж процедури, як у прикладі 42 вище. Основний ізомер ацеталу: (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофенокси)метил)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он. LCMS (Спосіб f, Таблиця 7) $R_t=1,45$ хв.; MS маса/заряд = 622 [M+H⁺]. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 7,44 (s, 4H), 7,27 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 6,87 (t, J = 8,0 Гц, 1H), 6,30 (dd, J = 10,1, 1,5 Гц, 1H), 6,24 – 6,04 (m, 4H), 5,81 – 5,39 (m, 3H), 5,13 (t, J = 5,9 Гц, 1H), 5,09 – 4,91 (m, 5H), 4,55 (dd, J = 19,5, 6,4 Гц, 1H), 4,32 – 4,09 (m, 2H), 3,60 (t, J = 6,3 Гц, 2H), 2,81 – 2,55 (m, 1H), 2,40 – 2,14 (m, 2H), 2,06 (d, J = 13,6 Гц, 1H), 1,85 – 1,63 (m, 6H), 1,58 – 1,43 (m, 4H), 0,88 (s, 3H).

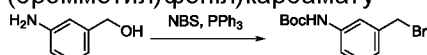
Міnorний ізомер ацеталу: (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофенокси)метил)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он. LCMS (Спосіб f, Таблиця 7) $R_t=1,49$ хв.; MS маса/заряд = 622 [M+H⁺]. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 7,41 (d, J = 8,1 Гц, 3H), 7,35 – 7,20 (m, 3H), 6,88 (t, J = 8,0 Гц, 1H), 6,31 (dd, J = 10,1, 1,6 Гц, 1H), 6,16 (dd, J = 13,9, 5,0 Гц, 6H), 5,77 – 5,45 (m, 2H), 5,36 (d, J = 7,1 Гц, 1H), 4,35 – 4,13 (m, 2H), 4,05 (dd, J = 18,9, 4,9 Гц, 1H), 2,70 – 2,53 (m, 1H), 2,29 (s, 1H), 2,24 – 2,13 (m, 1H), 2,12 – 2,04 (m, 1H), 1,96 – 1,81 (m, 1H), 1,81 – 1,63 (m, 3H), 1,50 (s, 4H), 0,89 (s, 3H).

Приклад 45. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінобензил)окси)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону

Стадія 1. Синтез трет-бутил-(3-(гідроксиметил)феніл)карбамату

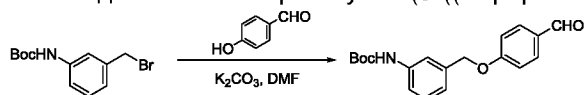


До розчину (3-амінофеніл)метанолу (88,5 г, 719 ммоль) в THF (80 мл) додавали ди-трет-бутилдикарбонат (184 мл, 790 ммоль). Суміш перемішували за 25 °C протягом ночі. Суміш потім концентрували до сухого стану і залишок очищували за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (елюювали за допомогою EtOAc/гексани=1:9, об./об.) з одержанням указаної у заголовку сполуки (161,1 г, 722 ммоль, вихід 100%) у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб j, Таблиця 7) $R_t=1,77$ хв.; MS маса/заряд = 246 [M+Na⁺]. Стадія 2. Синтез трет-бутил-(3-(бромметил)феніл)карбамату



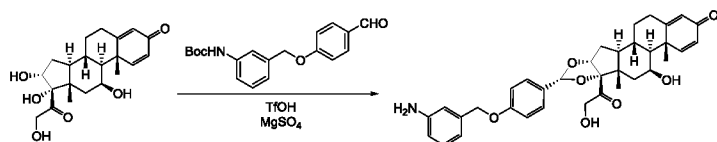
До розчину трет-бутил-(3-(гідроксиметил)феніл)карбамату (120 г, 484 ммоль) у THF (50 мл) за -20 °C додавали трифенілфосфін (254 г, 967 ммоль) після чого додавали N-бромсукцинімід (103 г, 580 ммоль). Після перемішування протягом 3 год. розчинник видаляли in vacuo і залишок очищували за допомогою хроматографії на силікагелі (елюювали за допомогою гексан:EtOAc = 100:1) з одержанням указаної у заголовку сполуки (125 г, 437 ммоль, 90% вихід) у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб j, Таблиця 7) $R_t=2,10$ хв.; MS маса/заряд = 230, 232 [M-t-Bu+H⁺].

Стадія 3. Синтез трет-бутил-(3-((4-формілфенокси)метил)феніл)карбамату



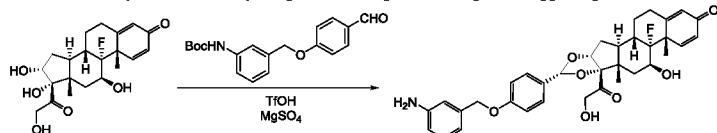
Суміш 4-гідроксибензальдегіду (25,6 г, 210 ммоль) і карбонату калію (29,0 г, 210 ммоль) у диметилформаміді (300 мл) перемішували протягом 15 хв. Потім додавали трет-бутил-(3-(бромметил)феніл)карбамат (60 г, 210 ммоль). Суміш нагрівали до 60 °C і перемішували протягом 2 годин за даної температури. Суміш виливали в 50 мл води й екстрагували за допомогою EtOAc (3 x 50 мл). Об'єднані органічні шари промивали водою (1 x 100 мл) і сольовим розчином (1 x 100 мл), концентрували у вакуумі. Неочищений матеріал очищували за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (елюювали за допомогою дихлорметан/метанол = 500:1) з одержанням указаної у заголовку сполуки (72 г, 209 ммоль, вихід 100%) у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб j, Таблиця 7) $R_t=2,08$ хв.; MS маса/заряд = 272 [M-t-Bu+H⁺].

Стадія 4. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінобензил)окси)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону



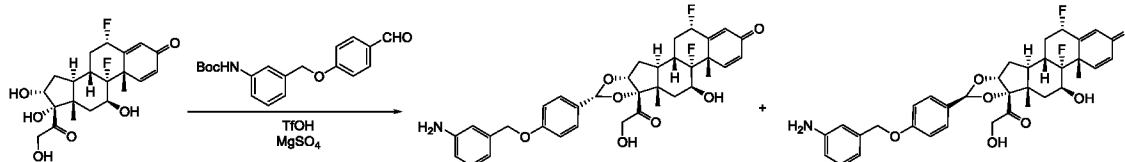
Трифторметансульфонову кислоту (12,38 мл, 139 ммоль) додавали по краплях до суміші сульфату магнію (13,43 г, 112 ммоль), трет-бутил-(3-((4-формілфенокси)метил)феніл)карбамату (10,96 г, 33,5 ммоль) і (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксіяцетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3H-циклопента[а]фенантрен-3-ону (10,5 г, 27,9 ммоль) у MeCN (150 мл) за 0 °С. Суміш нагрівали до кімнатної температури і перемішували протягом 2 годин за даної температури. Суміш фільтрували і фільтрат виливали в 500 мл насиченого розчину натрію бікарбонату, екстрагували за допомогою EtOAc (250 мл). Органічний шар промивали сольовим розчином (200 мл) і водою (200 мл), концентрували in vacuo. Неочищений матеріал очищували за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (елюювали за допомогою DCM-MeOH = 50:1, об./об.), й одержаний продукт додатково очищували за допомогою Prep-HPLC з одержанням указаної у заголовку сполуки (6,04 г, 10,31 ммоль, вихід 37%) у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб к, Таблиця 7) R_t =1,91 хв.; MS маса/заряд = 586 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,35 (dd, J = 19,6, 9,4 Гц, 3H), 7,09 – 6,89 (m, 3H), 6,61 – 6,33 (m, 3H), 6,18 (dd, J = 10,1, 1,7 Гц, 1H), 5,95 (s, 1H), 5,38 (s, 1H), 5,16 – 5,01 (m, 3H), 5,02 – 4,85 (m, 3H), 4,80 (d, J = 3,0 Гц, 1H), 4,50 (dd, J = 19,5, 6,3 Гц, 1H), 4,31 (s, 1H), 4,18 (dd, J = 19,4, 5,5 Гц, 1H), 2,33 (d, J = 10,5 Гц, 1H), 2,17 – 1,98 (m, 2H), 1,90 – 1,53 (m, 5H), 1,40 (s, 3H), 1,13 – 0,96 (m, 2H), 0,87 (s, 3H).

Приклад 46. Синтез (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінобензил)окси)феніл)-6b-фтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксіяцетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону



Синтезували із застосуванням такої ж процедури, як у прикладі 45 вище. LCMS (Спосіб к, Таблиця 7) R_t =1,89 хв.; MS маса/заряд = 604 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,32 (dd, J = 17,3, 9,4 Гц, 3H), 7,10 – 6,94 (m, 3H), 6,65 – 6,35 (m, 3H), 6,25 (dd, J = 10,1, 1,7 Гц, 1H), 6,05 (s, 1H), 5,58 – 5,32 (m, 2H), 5,22 – 5,03 (m, 3H), 5,01 – 4,86 (m, 3H), 4,52 (dd, J = 19,5, 6,4 Гц, 1H), 4,20 (dd, J = 19,4, 5,5 Гц, 2H), 2,78 – 2,56 (m, 1H), 2,44 – 2,31 (m, 1H), 2,19 (td, J = 12,0, 6,8 Гц, 1H), 2,06 (d, J = 13,7 Гц, 1H), 1,95 – 1,81 (m, 1H), 1,68 (dd, J = 15,4, 9,7 Гц, 3H), 1,57 – 1,30 (m, 4H), 0,88 (s, 3H).

Приклад 47. Синтез (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінобензил)окси)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксіяцетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону

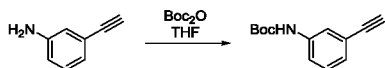


Синтезували із застосуванням такої ж процедури, як у прикладі 45 вище. LCMS (Спосіб С, Таблиця 7) R_t =1,45 хв.; MS маса/заряд = 622 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ 7,57 – 7,29 (m, 6H), 7,24 (d, J = 7,7 Гц, 1H), 7,02 (d, J = 8,6 Гц, 2H), 6,45 – 6,23 (m, 2H), 5,69 – 5,49 (m, 1H), 5,46 (s, 1H), 5,16 (s, 2H), 5,06 (d, J = 3,7 Гц, 1H), 4,64 (d, J = 19,5 Гц, 1H), 4,43 – 4,15 (m, 2H), 2,89 – 2,56 (m, 1H), 2,52 – 2,32 (m, 2H), 2,28 (d, J = 13,8 Гц, 1H), 1,87 – 1,62 (m, 4H), 1,60 (s, 3H), 1,00 (s, 3H).

Мінольний ізомер ацеталю: (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінобензил)окси)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксіяцетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он. LCMS (Спосіб С, Таблиця 7) R_t =1,48 хв.; MS маса/заряд = 622 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 7,41 – 7,13 (m, 3H), 7,08 – 6,90 (m, 3H), 6,61 (s, 1H), 6,52 (dd, J = 17,3, 7,5 Гц, 2H), 6,31 (d, J = 10,2 Гц, 1H), 6,11 (d, J = 18,4 Гц, 2H), 5,79 – 5,56 (m, 1H), 5,53 (d, J = 3,3 Гц, 1H), 5,34 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 5,18 – 5,00 (m, 3H), 4,93 (s, 2H), 4,28 (dd, J = 19,1, 6,2 Гц, 1H), 4,19 (d, J = 5,9 Гц, 1H), 4,05 (dd, J = 19,1, 5,9 Гц, 1H), 3,60 (t, J = 6,2 Гц, 3H), 2,72 – 2,51 (m, 1H), 2,29 (s, 1H), 2,22 – 2,11 (m, 1H), 2,06 (d, J = 13,4 Гц, 1H), 1,93 – 1,80 (m, 1H), 1,80 – 1,60 (m, 6H), 1,50 (s, 3H), 1,36 (s, 1H), 0,89 (s, 3H).

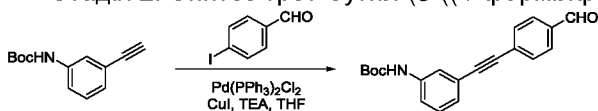
Приклад 48. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофеніл)етиніл)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксіяцетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону

Стадія 1. Синтез трет-бутил-(3-етинілфеніл)карбамату



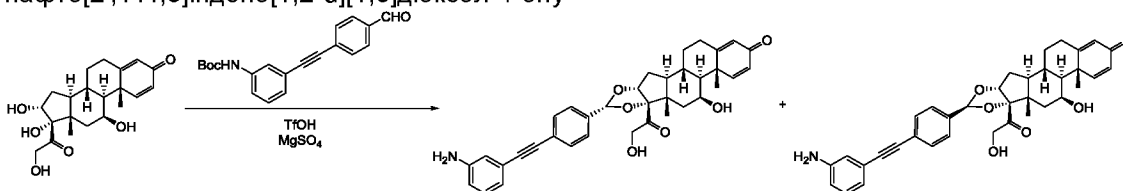
Ди-трет-бутилдикарбонат (123 мл, 531 ммоль) додавали до перемішаного розчину 3-етиніланіліну (56,6 г, 483 ммоль) у THF (300 мл). Суміш нагрівали до температури повернення флегми протягом ночі. Суміш потім охолоджували до температури навколишнього середовища і поглинали за допомогою етилацетату (500 мл) і послідовно промивали за допомогою 1 н. водної HCl (200 мл), насиченого водного Na₂CO₃ (200 мл) і сольового розчину (200 мл). Органічний шар висушували над Na₂SO₄, концентрували *in vacuo* і очищували за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (елюювали за допомогою 15% EtOAc/PE) з одержанням трет-бутил-(3-етинілфеніл)карбамату (94 г, 435 ммоль, 90% вихід). LCMS (Спосіб f, Таблиця 7) R_t=1,80 хв.; MS маса/заряд = 162 [M-t-Bu+H⁺].

Стадія 2. Синтез трет-бутил-(3-((4-формілфеніл)етиніл)феніл)карбамату



У 500-мл круглодонній колбі розчиняли 4-йодбензальдегід (30,2 г, 130 ммоль), хлорид біс(трифенілфосфін)паладію(II) (4,56 г, 6,50 ммоль), йодид міді(I) (2,476 г, 13,00 ммоль) і трифенілфосфін (3,41 г, 13,00 ммоль) у THF (200 мл) і триетиламін (181 мл, 1300 ммоль) з наступним додаванням трет-бутил-(3-етинілфеніл)карбамату (28,2 г, 130 ммоль). Суміш перемішували за 75 °C в атмосфері азоту протягом 16 год. Після завершення реакції леткі розчинники повністю видаляли. Неочищений матеріал очищували за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (елюювали за допомогою PE/CH₂Cl₂=1:3) з одержанням трет-бутил-(3-((4-формілфеніл)етиніл)феніл)карбамату (35,5 г, 111 ммоль, вихід 85%) у вигляді брудно-білої твердої речовини. LCMS (Спосіб f, Таблиця 7) R_t=2,08 хв.; MS маса/заряд = 322 [M+H⁺].

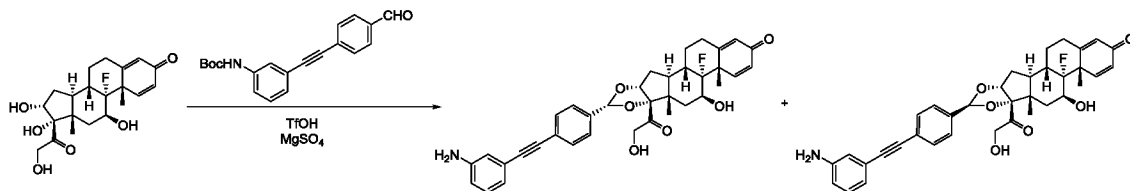
Стадія 3. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофеніл)етиніл)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідрок시아цетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону



Трифторметансульфонову кислоту (4,44 мл, 50,0 ммоль) додавали по краплях до суспензії (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксіяцетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3H-циклопента[а]фенантрен-3-ону (3,76 г, 10,00 ммоль), трет-бутил-(3-((4-формілфеніл)етиніл)феніл)карбамату (3,21 г, 10 ммоль) і MgSO₄ (4,81 г, 40,0 ммоль), яка має температуру 0 °C, у MeCN (100 мл). Суміш перемішували протягом додаткових 2 год. Суміш фільтрували і промивали за допомогою THF. Фільтрат концентрували *in vacuo*. Залишок розчиняли у THF (50 мл), нейтралізували за допомогою 1 М водного NaOH водного розчину до pH=8, екстрагували за допомогою EtOAc (200 мл), промивали водою (2 x 100 мл) і сольовим розчином (100 мл), висушували над (Na₂SO₄ і концентрували *in vacuo*. Залишок очищували за допомогою колонкової хроматографії (силікагель, елюювали за допомогою MeOH : DCM=1:40) з одержанням 2,5 г неочищеного продукту, який додатково очищували за допомогою Prep-HPLC з одержанням указаної у заголовку сполуки (1,449 г, 2,500 ммоль, вихід 25%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. LCMS (Спосіб I, Таблиця 7) R_t=1,86 хв.; MS маса/заряд = 580 [M+H⁺]. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,65 – 7,41 (m, 4H), 7,32 (d, J = 9,9 Гц, 2H), 7,05 (dd, J = 9,8, 5,7 Гц, 1H), 6,85 – 6,49 (m, 4H), 6,29 – 6,05 (m, 1H), 6,01 – 5,83 (m, 1H), 5,63 – 5,40 (m, 1H), 5,26 (s, 2H), 5,12 (t, J = 5,8 Гц, 1H), 4,96 (d, J = 4,3 Гц, 1H), 4,82 (d, J = 3,0 Гц, 1H), 4,63 – 4,41 (m, 1H), 4,37 – 4,08 (m, 2H), 2,40 – 1,91 (m, 5H), 1,87 – 1,52 (m, 6H), 1,40 (s, 4H), 1,14 – 0,95 (m, 2H), 0,88 (s, 3H).

Міно́рний ізомер ацеталю, (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофеніл)етиніл)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксіяцетил)-6a,8a-диметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-он, також виділяли (85 мг, 0,147 ммоль, вихід 1,5%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. LCMS (Спосіб i, Таблиця 7) R_t=1,93 хв. ; MS маса/заряд = 580 [M+H⁺]. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,51 (d, J = 7,6 Гц, 2H), 7,42 – 7,21 (m, 3H), 7,05 (t, J = 7,7 Гц, 1H), 6,83 – 6,45 (m, 3H), 6,29 – 6,07 (m, 2H), 5,95 (s, 1H), 5,47 – 5,14 (m, 3H), 4,82 (s, 1H), 4,38 – 4,14 (m, 2H), 4,03 (d, J = 19,3 Гц, 1H), 2,33 (d, J = 10,3 Гц, 2H), 2,15 – 1,96 (m, 1H), 1,93 – 1,68 (m, 5H), 1,40 (s, 3H), 1,33 – 0,97 (m, 3H), 0,89 (s, 3H).

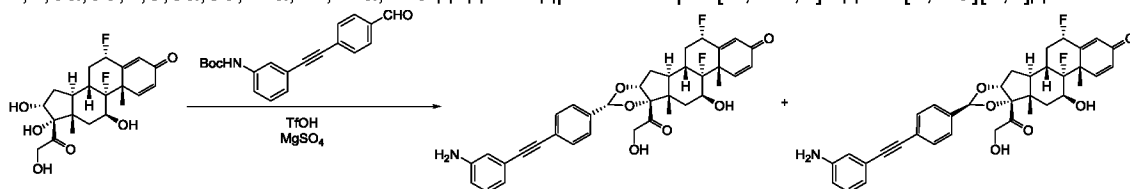
Приклад 49. Синтез (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофеніл)етиніл)феніл)-6b-фтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксіяцетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону



Синтезували із застосуванням такої ж процедури, як у прикладі 48 вище. Основний ізомер ацеталю: (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофеніл)етиніл)феніл)-6b-фтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он. LCMS (Спосіб f, Таблиця 7) $R_t=1,57$ хв.; MS маса/заряд = 598 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 7,55 (d, J = 8,1 Гц, 2H), 7,46 (d, J = 8,1 Гц, 2H), 7,30 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,05 (t, J = 7,8 Гц, 1H), 6,71 (s, 1H), 6,66 (d, J = 7,5 Гц, 1H), 6,60 (d, J = 7,8 Гц, 1H), 6,24 (d, J = 8,9 Гц, 1H), 6,04 (s, 1H), 5,51 (d, J = 15,2 Гц, 2H), 5,26 (s, 2H), 4,97 (d, J = 4,4 Гц, 1H), 4,55 (d, J = 19,5 Гц, 1H), 4,22 (d, J = 19,5 Гц, 2H), 2,74 – 2,56 (m, 1H), 2,36 (d, J = 9,7 Гц, 1H), 2,24 – 2,10 (m, 1H), 2,06 (d, J = 14,5 Гц, 1H), 1,92 – 1,78 (m, 1H), 1,78 – 1,58 (m, 3H), 1,50 (s, 3H), 1,45 – 1,31 (m, 1H), 0,88 (s, 3H).

Міно́рний ізомер ацеталю: (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофеніл)етиніл)феніл)-6b-фтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он. LCMS (Спосіб f, Таблиця 7) $R_t=1,61$ хв.; MS маса/заряд = 598 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 7,51 (d, J = 8,1 Гц, 2H), 7,39 – 7,22 (m, 3H), 7,05 (t, J = 7,8 Гц, 1H), 6,72 (s, 1H), 6,67 (d, J = 7,6 Гц, 1H), 6,60 (d, J = 8,1 Гц, 1H), 6,24 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 6,18 (s, 1H), 6,05 (s, 1H), 5,49 (s, 1H), 5,35 (d, J = 6,9 Гц, 1H), 5,26 (s, 2H), 4,19 (d, J = 18,9 Гц, 2H), 4,04 (d, J = 19,1 Гц, 1H), 2,75 – 2,55 (m, 1H), 2,37 (d, J = 10,2 Гц, 1H), 2,09 (d, J = 7,1 Гц, 2H), 1,84 (d, J = 6,5 Гц, 2H), 1,78 – 1,62 (m, 2H), 1,50 (s, 4H), 0,89 (s, 3H).

Приклад 50. Синтез (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофеніл)етиніл)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону

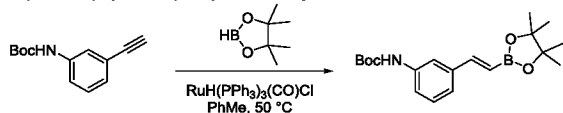


Синтезували із застосуванням такої ж процедури, як у прикладі 48 вище. Основний ізомер ацеталю: (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофеніл)етиніл)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он. LCMS (Спосіб f, Таблиця 7) $R_t=1,57$ хв.; MS маса/заряд = 616 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 7,55 (d, J = 8,1 Гц, 2H), 7,47 (d, J = 8,2 Гц, 2H), 7,27 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,05 (t, J = 7,8 Гц, 1H), 6,71 (s, 1H), 6,66 (d, J = 7,6 Гц, 1H), 6,60 (d, J = 8,1 Гц, 1H), 6,30 (dd, J = 10,1, 1,4 Гц, 1H), 6,13 (s, 1H), 5,80 – 5,58 (m, 1H), 5,55 (d, J = 7,1 Гц, 2H), 5,26 (s, 2H), 5,14 (t, J = 5,9 Гц, 1H), 4,99 (d, J = 5,1 Гц, 1H), 4,56 (dd, J = 19,5, 6,4 Гц, 1H), 4,23 (dd, J = 19,5, 5,4 Гц, 2H), 2,79 – 2,56 (m, 1H), 2,31 (s, 1H), 2,26 – 2,14 (m, 1H), 2,12 – 1,99 (m, 1H), 1,83 – 1,62 (m, 3H), 1,61 – 1,40 (m, 4H), 0,88 (s, 3H).

Міно́рний ізомер ацеталю: (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофеніл)етиніл)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он. LCMS (Спосіб f, Таблиця 7) $R_t=1,61$ хв.; MS маса/заряд = 616 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 7,52 (d, J = 8,3 Гц, 2H), 7,33 (d, J = 8,2 Гц, 2H), 7,28 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 7,05 (t, J = 7,8 Гц, 1H), 6,73 (s, 1H), 6,68 (d, J = 7,5 Гц, 1H), 6,61 (d, J = 8,1 Гц, 1H), 6,32 (dd, J = 10,1, 1,7 Гц, 1H), 6,21 (s, 1H), 6,15 (s, 1H), 5,78 – 5,58 (m, 1H), 5,55 (d, J = 2,7 Гц, 1H), 5,36 (t, J = 7,9 Гц, 1H), 5,27 (s, 2H), 5,08 (t, J = 5,8 Гц, 1H), 4,33 – 4,12 (m, 2H), 4,06 (dd, J = 19,1, 5,0 Гц, 1H), 2,72 – 2,53 (m, 1H), 2,29 (s, 1H), 2,23 – 2,02 (m, 2H), 1,92 – 1,82 (m, 1H), 1,82 – 1,61 (m, 3H), 1,51 (s, 4H), 0,90 (s, 3H).

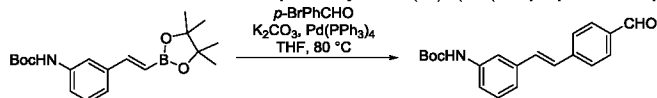
Приклад 51. Синтез (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((E)-3-аміностиріл)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону

Стадія 1. Синтез трет-бутил-(E)-(3-(2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)вініл)феніл)карбамату



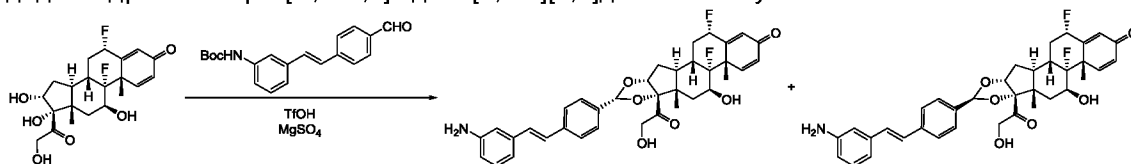
4,4,5,5-Тетраметил-1,3,2-діоксаборолан (16,70 мл, 115 ммоль) і карбонілхлоргідротрис(трифенілфосфін)рутеній(II) (2,63 г, 2,76 ммоль) додавали до продутного азотом розчину трет-бутил-(3-етинілфеніл)карбамату (10 г, 46,0 ммоль) у толуолі (150 мл). Суміш нагрівали за 50 °С протягом 16 год., після чого її концентрували за зниженого тиску. Очищенням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію) з елююванням за допомогою PE/EtOAc (100%~10:1) одержували вказану у заголовку сполуку (13,25 г, 36,8 ммоль, вихід 80%) у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб d Таблиця 7) $R_t=2,19$ хв.; MS маса/заряд = 290,1 $[M-tBu]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 1,33 (s, 12H), 1,54 (s, 9H), 6,17 (d, $J=18,4$ Гц, 1H), 6,49 (bs, 1H), 7,18 (d, $J=7,6$ Гц, 1H), 7,26-7,29 (m, 1H), 7,35-7,40 (m, 2H), 7,47 (s, 1H).

Стадія 2. Синтез трет-бутил-(Е)-(3-(4-формілстирил)феніл)карбамату



До розчину трет-бутил-(Е)-(3-(2-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)вініл)феніл)карбамату (6 г, 17,38 ммоль) і 4-бромбензальдегіду (3,38 г, 18,25 ммоль) у THF (85 мл) за 20 °С в атмосфері N_2 додавали K_2CO_3 (4,80 г, 34,8 ммоль) і $Pd(PPh_3)_4$ (1,607 г, 1,390 ммоль). Суміш перемішували за 80 °С протягом 32 год. Суміш концентрували з одержанням залишка, який розчиняли за допомогою EtOAc (50 мл) і фільтрували. Фільтрат концентрували. Залишок очищували за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі PE/EtOAc (10:1~6:1) з одержанням продукту, який додатково промивали за допомогою PE (10 мл) з одержанням указаної у заголовку сполуки (3,43 г, 10,49 ммоль, вихід 60%) у вигляді твердої речовини зеленого кольору. LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) $R_t=2,08$ хв.; MS маса/заряд = 324,1 $[M+H]^+$.

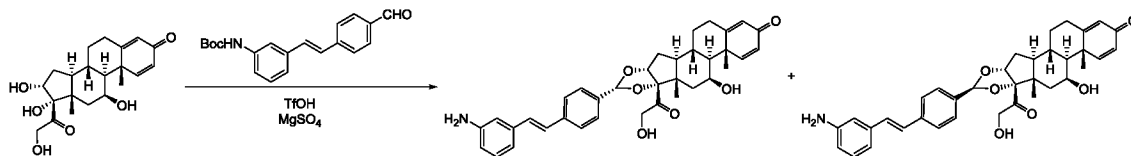
Стадія 3. Синтез (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((Е)-3-аміностирил)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-1,2,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-4Н-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону



Триформетансульфонову кислоту (5,38 мл, 60,6 ммоль) додавали по краплях до перемішаної суспензії (6S,8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17S)-6,9-дифтор-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3Н-циклопента[а]фенантрен-3-ону (приклад 2, стадія 5) (5,0 г, 12,12 ммоль) і (Е)-трет-бутил-(3-(4-формілстирил)феніл)карбамату (4,612 г, 12,12 ммоль), яка має температуру 0 °С, у безводному MeCN (30 мл) і THF (30 мл) в атмосфері азоту. Суміш перемішували за 0 °С протягом 1 год., потім виливали у льодяну воду (30 мл) і екстрагували за допомогою EtOAc (2 x 50 мл). Об'єднані органічні шари промивали охолодженою водою (30 мл), сольовим розчином (30 мл), насиченим $NaHCO_3$ (30 мл) і знов водою (30 мл) і концентрували in vacuo з одержанням твердої речовини жовтого кольору. Неочищений матеріал очищували за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (200-300 меш) з елююванням за допомогою DCM/MeOH (100%~40:1) і потім додатково очищували за допомогою Prep-HPLC з одержанням указаної у заголовку сполуки (1,45 г, 2,328 ммоль, вихід 19%). LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) $R_t=1,47$ мин; MS маса/заряд = 618,3 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, $DMSO-d_6$) δ 7,61 (d, $J=8,2$ Гц, 2H), 7,43 (d, $J=8,3$ Гц, 2H), 7,28 (d, $J=10,9$ Гц, 1H), 7,15 (d, $J=16,4$ Гц, 1H), 7,03 (dd, $J=15,5, 7,6$ Гц, 2H), 6,75 (dd, $J=8,0, 4,7$ Гц, 2H), 6,50 (dd, $J=7,9, 1,3$ Гц, 1H), 6,31 (dd, $J=10,1, 1,8$ Гц, 1H), 6,15 (s, 1H), 5,79 – 5,46 (m, 3H), 5,13 (dd, $J=14,7, 8,7$ Гц, 3H), 4,97 (d, $J=5,1$ Гц, 1H), 4,55 (dd, $J=19,5, 6,4$ Гц, 1H), 4,23 (dd, $J=19,4, 5,5$ Гц, 2H), 2,73 – 2,56 (m, 1H), 2,40 – 2,21 (m, 2H), 2,15 – 2,02 (m, 1H), 1,82 – 1,64 (m, 3H), 1,61 – 1,44 (m, 4H), 0,88 (s, 3H).

Мінорний ізомер ацеталу, (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((Е)-3-аміностирил)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-1,2,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-4Н-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он (0,30 г, 0,456 ммоль, вихід 4%), також виділяли у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) $R_t=1,51$ хв.; MS маса/заряд = 618,3 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, $DMSO-d_6$) δ 7,57 (d, $J=8,2$ Гц, 2H), 7,27 (d, $J=7,9$ Гц, 3H), 7,18 – 6,97 (m, 3H), 6,75 (d, $J=7,8$ Гц, 2H), 6,50 (d, $J=7,4$ Гц, 1H), 6,31 (dd, $J=10,2, 1,6$ Гц, 1H), 6,15 (d, $J=10,3$ Гц, 2H), 5,78 – 5,67 (m, 1H), 5,63 – 5,49 (m, 2H), 5,37 (d, $J=7,0$ Гц, 1H), 5,07 (dd, $J=12,0, 5,8$ Гц, 3H), 4,33 – 4,15 (m, 2H), 4,06 (dd, $J=19,2, 5,7$ Гц, 1H), 2,69 – 2,54 (m, 1H), 2,36 – 2,08 (m, 3H), 1,94 – 1,60 (m, 4H), 1,50 (s, 3H), 0,90 (s, 3H).

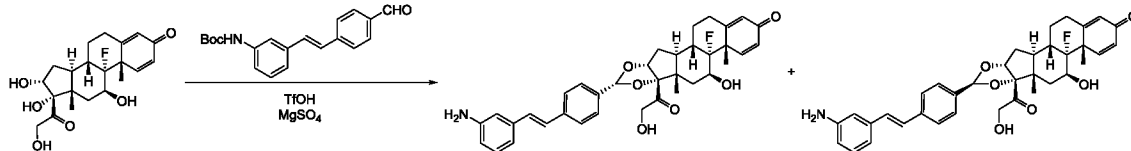
Приклад 52. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((Е)-3-аміностирил)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-1,2,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-4Н-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону



Синтезували із застосуванням такої ж процедури, як у прикладі 51 вище. Основний ізомер ацеталю: (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((E)-3-аміностирил)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он. LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) $R_t=1,48$ хв.; MS маса/заряд = 582,3 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 0,88 (s, 3H), 1,00-1,09 (m, 2H), 1,40 (s, 3H), 1,63-1,79 (m, 5H), 2,04-2,15 (m, 2H), 2,32-2,34 (m, 1H), 2,55-2,60 (m, 1H), 4,20 (dd, $J=20,2$ Гц, 5,0 Гц, 1H), 4,31 (s, 1H), 4,54 (dd, $J=19,2$ Гц, 6,0 Гц, 1H), 4,82 (s, 1H), 4,94-4,95 (m, 1H), 5,10-5,14 (m, 3H), 5,46 (s, 1H), 5,95 (s, 1H), 6,18 (d, $J=10,0$ Гц, 1H), 6,50 (d, $J=7,6$ Гц, 1H), 6,73-6,76 (m, 2H), 7,00-7,14 (m, 3H), 7,32 (d, $J=10,0$ Гц, 1H), 7,45 (d, $J=8,4$ Гц, 2H), 7,59 (d, $J=8,0$ Гц, 2H).

Міно́рний ізомер ацеталю: (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((E)-3-аміностирил)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он. LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) $R_t=1,52$ хв.; MS маса/заряд = 582,3 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 0,89 (s, 3H), 1,05-1,31 (m, 3H), 1,40 (s, 3H), 1,74-1,89 (m, 5H), 2,05-2,07 (m, 2H), 2,31-2,34 (m, 1H), 2,54-2,59 (m, 1H), 4,00-4,06 (m, 1H), 4,23-4,31 (m, 2H), 4,80 (s, 1H), 5,05-5,09 (m, 3H), 5,31-5,32 (m, 1H), 5,95 (s, 1H), 6,12 (s, 1H), 6,18 (d, $J=9,6$ Гц, 1H), 6,49-6,50 (m, 1H), 6,74-6,76 (m, 2H), 7,00-7,14 (m, 3H), 7,26 (d, $J=7,6$ Гц, 2H), 7,32 (d, $J=10,0$ Гц, 1H), 7,57 (d, $J=7,6$ Гц, 2H).

Приклад 53. Синтез (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((E)-3-аміностирил)феніл)-6b-фтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону



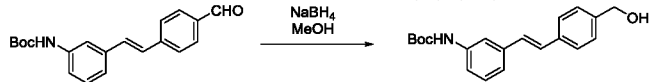
Синтезували із застосуванням такої ж процедури, як у прикладі 51 вище. Основний ізомер ацеталю: (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((E)-3-аміностирил)феніл)-6b-фтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он. LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) $R_t=1,45$ хв.; MS маса/заряд = 600,3 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 7,61 (d, $J=8,1$ Гц, 2H), 7,42 (d, $J=8,1$ Гц, 2H), 7,30 (d, $J=10,1$ Гц, 1H), 7,15 (d, $J=16,4$ Гц, 1H), 7,03 (dd, $J=15,6, 7,6$ Гц, 2H), 6,79 – 6,70 (m, 2H), 6,50 (d, $J=7,7$ Гц, 1H), 6,25 (dd, $J=10,1, 1,4$ Гц, 1H), 6,06 (s, 1H), 5,54 – 5,43 (m, 2H), 5,13 (t, $J=6,0$ Гц, 3H), 4,95 (d, $J=4,5$ Гц, 1H), 4,55 (dd, $J=19,5, 6,4$ Гц, 1H), 4,22 (dd, $J=19,3, 5,4$ Гц, 2H), 2,62 (m, 2H), 2,42 – 2,02 (m, 3H), 1,92 – 1,80 (m, 1H), 1,77 – 1,61 (m, 3H), 1,51 (s, 3H), 1,47 – 1,32 (m, 1H), 0,89 (s, 3H).

Міно́рний ізомер ацеталю: (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((E)-3-аміностирил)феніл)-6b-фтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он.

LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) $R_t=1,48$ хв.; MS маса/заряд = 600,3 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 7,57 (d, $J=8,1$ Гц, 2H), 7,28 (dd, $J=12,2, 9,3$ Гц, 3H), 7,18 – 6,97 (m, 3H), 6,75 (d, $J=7,7$ Гц, 2H), 6,50 (d, $J=7,3$ Гц, 1H), 6,25 (dd, $J=10,1, 1,2$ Гц, 1H), 6,13 (s, 1H), 6,05 (s, 1H), 5,46 (d, $J=2,8$ Гц, 1H), 5,35 (d, $J=6,9$ Гц, 1H), 5,06 (dd, $J=14,0, 7,9$ Гц, 3H), 4,24 (dd, $J=19,3, 6,3$ Гц, 2H), 4,05 (dd, $J=19,1, 5,8$ Гц, 1H), 2,73 – 2,58 (m, 1H), 2,47 – 2,30 (m, 2H), 2,09 (d, $J=10,1$ Гц, 2H), 1,85 (d, $J=6,5$ Гц, 2H), 1,78 – 1,65 (m, 2H), 1,50 (s, 4H), 0,90 (s, 3H).

Приклад 54. Синтез (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-амінофенетил)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону

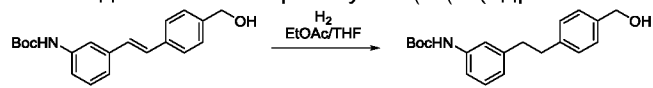
Стадія 1. Синтез трет-бутил-(E)-(3-(4-(гідроксиметил)стирил)феніл)карбамату



$NaBH_4$ (0,936 г, 24,74 ммоль) додавали до розчину (E)-трет-бутил-(3-(4-формілстирил)феніл)карбамату), який має температуру 0 °С, стадія 2, приклад 51) (4,0 г, 12,37 ммоль) у MeOH (60 мл) і THF (60 мл) і перемішували за 0 °С протягом 1 год. Суміш гасили насиченим водним NH_4Cl (20 мл), концентрували з одержанням залишка, який розділяли між EtOAc (100 мл) і водою (100 мл). Органічний шар концентрували за зниженого тиску й очищували за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі з елюванням DCM/EtOAc (10:1~5:1) з одержанням указаної у заголовку

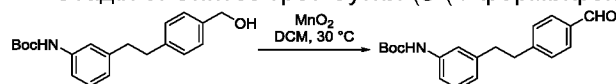
сполуки (3,23 г, 7,08 ммоль, вихід 57%) у вигляді твердої речовини червоного кольору. LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) $R_t = 1,98$ хв.; MS маса/заряд = 348,1 $[M+Na]^+$.

Стадія 2. Синтез трет-бутил-(3-(4-(гідроксиметил)фенетил)феніл)карбамату



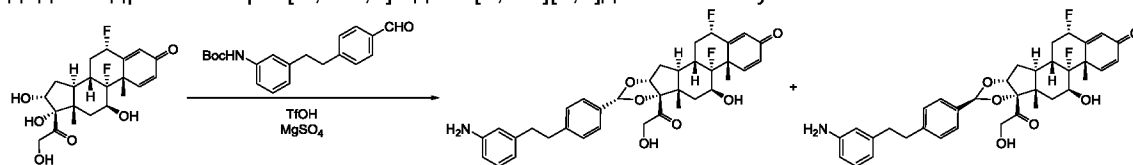
Суспензію Pd/C (0,657 г, 0,618 ммоль) і (Е)-трет-бутил-(3-(4-(гідроксиметил)стирил)феніл)карбамату (чистого) 7 (3,35 г, 10,29 ммоль) в EtOAc (50 мл) і THF (50 мл) оброблювали за допомогою атмосфери з воднем і перемішували за $0^\circ C$ протягом 1,5 год, контролювали за допомогою LCMS. Суміш фільтрували. Додаткову кількість Pd/C (0,657 г, 0,618 ммоль) додавали до фільтрату. Суміш перемішували протягом додаткової 1 год. в атмосфері водню і контролювали за допомогою LCMS. Суміш фільтрували і промивали за допомогою EtOAc (15 мл). Фільтрат концентрували з одержанням залишка, який очищували за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі з елюванням за допомогою PE/EtOAc (10:1~2:1) з одержанням указаної у заголовку сполуки (1,2 г, 3,49 ммоль, вихід 34%) у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) $R_t = 2,0$ хв.; MS маса/заряд = 350,0 $[M+Na]^+$.

Стадія 3. Синтез трет-бутил-(3-(4-формілфенетил)феніл)карбамату



Суспензію MnO_2 (9,24 г, 106 ммоль) і трет-бутил-(3-(4-(гідроксиметил)фенетил)феніл)карбамату (2,9 г, 8,86 ммоль) у DCM (40 мл) оброблювали за допомогою атмосфери з азотом і перемішували за $30^\circ C$ протягом 2 год., контролювали за допомогою LCMS. Додаткову кількість MnO_2 (0,8 г, 9,2 ммоль) додавали до вищезазначеної суміші, перемішували за $30^\circ C$ протягом додаткової 1 год. Суміш фільтрували і промивали за допомогою DCM (20 мл). Фільтрат концентрували з одержанням указаної у заголовку сполуки (2,9 г, 8,58 ммоль, вихід 97%) у вигляді твердої речовини жовтого кольору. LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) $R_t = 2,14$ хв.; MS маса/заряд = 226,0 $[M-Boc]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 9,90 (s, 1H), 7,71 (d, $J = 7,8$ Гц, 2H), 7,25 (s, 2H), 7,19 – 6,97 (m, 3H), 6,73 (d, $J = 7,3$ Гц, 1H), 6,48 (s, 1H), 2,98 – 2,87 (m, 2H), 2,86 – 2,78 (m, 2H), 1,44 (s, 9H).

Стадія 4. Синтез (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-амінофенетил)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону

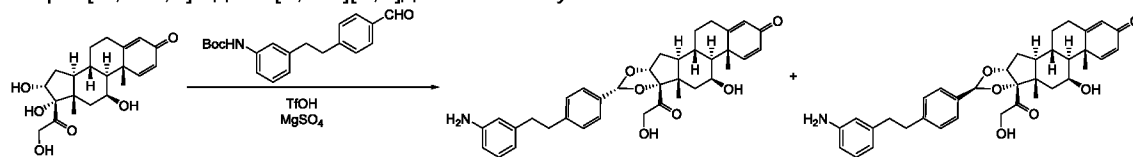


Триформетансульфонову кислоту (5,61 мл, 64,2 ммоль) додавали по краплях до перемішаної суспензії трет-бутил-(3-(4-формілфенетил)феніл)карбамату (4,18 г, 12,85 ммоль) і (6S,8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17S)-6,9-дифтор-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3H-циклопента[а]фенантрен-3-ону (5,3 г, 12,85 ммоль), яка має температуру $0^\circ C$, у безводному MeCN (30 мл) і з застосуванням THF (30 мл). Одержану суміш перемішували за $0^\circ C$ протягом 1 год., потім виливали у льодяну воду (20 мл) і екстрагували за допомогою EtOAc (2 x 25 мл). Об'єднані органічні шари промивали охолодженою водою (20 мл), сольовим розчином (10 мл), насиченим водним $NaHCO_3$ (20 мл) і водою (20 мл), концентрували in vacuo з одержанням твердої речовини жовтого кольору. Неочищений матеріал очищували за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (200-300 меш) з елюванням за допомогою дихлорметану/метанолу (100%~40:1) з одержанням продукту, який додатково очищували за допомогою Rper-HPLC з одержанням указаної у заголовку сполуки (2,21 г, 3,57 ммоль, вихід 28%) у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) $R_t = 1,75$ хв.; MS маса/заряд = 619,8 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, $DMSO-d_6$) δ 7,34 (d, $J = 8,1$ Гц, 2H), 7,27 (t, $J = 8,0$ Гц, 3H), 6,89 (t, $J = 7,7$ Гц, 1H), 6,43 (s, 1H), 6,36 (d, $J = 7,9$ Гц, 2H), 6,31 (dd, $J = 10,2, 1,8$ Гц, 1H), 6,14 (s, 1H), 5,75 – 5,56 (m, 1H), 5,54 (d, $J = 2,9$ Гц, 1H), 5,46 (s, 1H), 5,12 (t, $J = 6,0$ Гц, 1H), 4,95 (d, $J = 5,1$ Гц, 1H), 4,92 (s, 2H), 4,53 (dd, $J = 19,5, 6,4$ Гц, 1H), 4,21 (dd, $J = 19,4, 5,6$ Гц, 2H), 2,83-2,79 (m, 2H), 2,73 – 2,57 (m, 3H), 2,275-2,25 (m, 2H), 2,08-2,04 (m, 1H), 1,79 – 1,62 (m, 3H), 1,67-1,50 (m, 4H), 0,87 (s, 3H).

Мінольний ізомер ацеталю, (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-амінофенетил)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он (0,45 г, 0,667 ммоль, вихід 5%), також виділяли у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) $R_t = 1,79$ хв.; MS маса/заряд = 619,8 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, $DMSO-d_6$) δ 7,33-7,17 (m, 5H), 6,89 (t, $J = 7,7$ Гц, 1H), 6,46 – 6,27 (m, 4H), 6,12 (d, $J = 8,8$ Гц, 2H), 5,75 – 5,55 (m, 1H), 5,53 (s, 1H), 5,34 (d, $J = 7,1$ Гц, 1H), 5,06 (t, $J = 5,9$ Гц, 1H), 4,92 (s, 2H), 4,31 – 4,15 (m, 2H), 4,05 (dd, $J = 19,2, 5,6$ Гц,

1H), 2,83-2,79 (m, 2H), 2,72 - 2,54 (m, 3H), 2,29 (s, 1H), 2,21-2,13 (m, 1H), 2,09-2,05 (m, 1H), 1,93 - 1,81 (m, 1H), 1,79 - 1,60 (m, 3H), 1,50 (s, 3H), 0,88 (s, 3H).

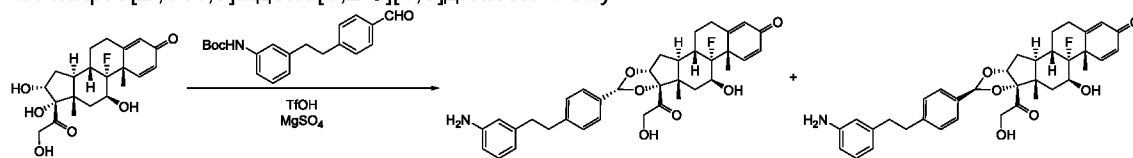
Приклад 55. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-амінофенетил)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону



Синтезували із застосуванням такої ж процедури, як у прикладі 54 вище. Основний ізомер ацеталу: LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) $R_t=1,74$ хв.; MS маса/заряд = 583,8 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 7,34 (dd, $J = 16,7, 9,1$ Гц, 3H), 7,24 (d, $J = 8,0$ Гц, 2H), 6,89 (t, $J = 7,7$ Гц, 1H), 6,42 (s, 1H), 6,36 (dd, $J = 7,7, 1,6$ Гц, 2H), 6,17 (dd, $J = 10,1, 1,7$ Гц, 1H), 5,95 (s, 1H), 5,41 (s, 1H), 5,11 (t, $J = 5,9$ Гц, 1H), 4,93 (d, $J = 5,4$ Гц, 3H), 4,81 (d, $J = 3,0$ Гц, 1H), 4,52 (dd, $J = 19,5, 6,4$ Гц, 1H), 4,30 (s, 1H), 4,19 (dd, $J = 19,5, 5,6$ Гц, 1H), 2,87 - 2,77 (m, 2H), 2,73 - 2,64 (m, 2H), 2,62 - 2,52 (m, 1H), 2,32 (d, $J = 11,0$ Гц, 1H), 2,18 - 1,98 (m, 2H), 1,83 - 1,58 (m, 5H), 1,40 (s, 3H), 1,24 - 0,97 (m, 2H), 0,87 (s, 3H).

Міно́рний ізомер ацеталу, (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-амінофенетил)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он: LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) $R_t = 1,77$ хв.; MS маса/заряд = 583,9 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 7,32 (d, $J = 10,1$ Гц, 1H), 7,19 (q, $J = 8,2$ Гц, 4H), 6,89 (t, $J = 7,7$ Гц, 1H), 6,44 - 6,29 (m, 3H), 6,17 (dd, $J = 10,1, 1,8$ Гц, 1H), 6,07 (s, 1H), 5,95 (s, 1H), 5,29 (d, $J = 6,9$ Гц, 1H), 5,03 (t, $J = 6,1$ Гц, 1H), 4,92 (s, 2H), 4,78 (d, $J = 3,1$ Гц, 1H), 4,34 - 4,19 (m, 2H), 4,02 (dd, $J = 19,2, 5,9$ Гц, 1H), 2,81 (dd, $J = 9,5, 6,1$ Гц, 2H), 2,68 (dd, $J = 9,6, 6,0$ Гц, 2H), 2,61 - 2,52 (m, 1H), 2,32 (d, $J = 10,4$ Гц, 1H), 2,03 (d, $J = 7,8$ Гц, 2H), 1,91 - 1,67 (m, 5H), 1,39 (s, 3H), 1,27 - 1,01 (m, 2H), 0,89 (s, 3H).

Приклад 56. Синтез (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-амінофенетил)феніл)-6b-фтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону

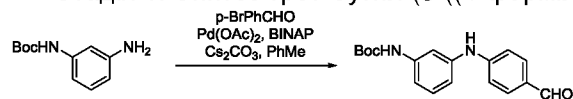


Синтезували із застосуванням такої ж процедури, як у прикладі 54 вище. Основний ізомер ацеталу: LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) $R_t=1,74$ хв.; MS маса/заряд = 601,9 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 7,32 (t, $J = 7,2$ Гц, 2H), 7,26 (t, $J = 8,0$ Гц, 2H), 6,89 (t, $J = 7,7$ Гц, 1H), 6,43 (s, 1H), 6,36 (d, $J = 7,7$ Гц, 2H), 6,24 (dd, $J = 10,1, 1,7$ Гц, 1H), 6,05 (s, 1H), 5,45 (s, 2H), 5,10 (t, $J = 5,9$ Гц, 1H), 4,97 - 4,85 (m, 3H), 4,52 (dd, $J = 19,5, 6,4$ Гц, 1H), 4,20 (dd, $J = 19,2, 5,6$ Гц, 2H), 2,85 - 2,76 (m, 2H), 2,72 - 2,54 (m, 3H), 2,36 (d, $J = 10,4$ Гц, 1H), 2,20-2,18 (m, 1H), 2,04 (s, 1H), 1,91 - 1,80 (m, 1H), 1,73 - 1,61 (m, 3H), 1,50 (s, 3H), 1,40-1,38 (m, 1H), 0,87 (s, 3H).

Міно́рний ізомер ацеталу, (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-амінофенетил)феніл)-6b-фтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он: LCMS (Спосіб d, Таблиця 7) $R_t=1,77$ хв.; MS маса/заряд = 601,9 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 7,35 - 7,13 (m, 5H), 6,89 (t, $J = 7,7$ Гц, 1H), 6,41 (s, 1H), 6,36 (d, $J = 7,6$ Гц, 2H), 6,24 (dd, $J = 10,1, 1,7$ Гц, 1H), 6,06 (d, $J = 13,8$ Гц, 2H), 5,44 (d, $J = 2,6$ Гц, 1H), 5,33 (d, $J = 7,0$ Гц, 1H), 5,04 (t, $J = 6,0$ Гц, 1H), 4,91 (s, 2H), 4,27-4,21 (m, 2H), 4,04 (dd, $J = 19,2, 5,9$ Гц, 1H), 2,85 - 2,76 (m, 2H), 2,70-2,66 (m, 3H), 2,37-2,35 (m, 2H), 2,07-2,06 (m, 2H), 1,84 (d, $J = 7,1$ Гц, 2H), 1,71 (t, $J = 10,3$ Гц, 2H), 1,50 (s, 4H), 0,90 (s, 3H).

Приклад 57. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофеніл)аміно)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону

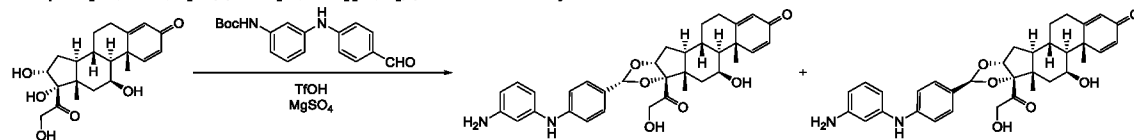
Стадія 1. Синтез трет-бутил-(3-((4-формілфеніл)аміно)феніл)карбамату



Суміш трет-бутил-(3-амінофеніл)карбамату (31,2 г, 150 ммоль), 4-бромбензальдегіду (33,3 г, 180 ммоль), Pd(OAc) $_2$ (1,684 г, 7,50 ммоль), BINAP ((RS)2,2'-біс(дифенілфосфіно)-1,1'-бінафтіл) (9,34 г, 15,00 ммоль), Cs $_2$ CO $_3$ (98 г, 300 ммоль) нагрівали зі зворотним холодильником у толуолі (300 мл) в атмосфері азоту протягом 16 год. Після охолодження до кімнатної температури суміш розділяли між водою та EtOAc. Органічний шар концентрували й очищували за допомогою колонкової хроматографії

на силікагелі з елююванням за допомогою PE:EtOAc (5:1) з одержанням указаної у заголовку сполуки (32,8 г, 105 ммоль, вихід 70%) у вигляді жовтого масла. LCMS (Спосіб j, Таблиця 7) $R_t=1,94$ хв.; MS маса/заряд = 313 $[M+H]^+$.

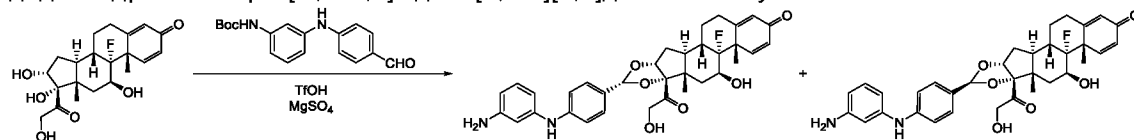
Стадія 2. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофеніл)аміно)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону



Триформетансульфонову кислоту (14,21 мл, 160 ммоль) додавали по краплях до суспензії (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3H-циклопента[а]фенантрен-3-ону (12,05 г, 32,0 ммоль) і трет-бутил-(3-((4-формілфеніл)аміно)феніл)карбамату (10 г, 32,0 ммоль), яка має температуру 0 °C, у THF (50,00 мл) і MeCN (50 мл). Реакційну суміш перемішували протягом додаткових 2 годин за такої ж температури. Суміш розводили за допомогою EtOAc (200 мл), промивали водою (100 мл), насиченим розчином NaHCO_3 (1 x 100 мл) і сольовим розчином (1 x 100 мл), висушували над Na_2SO_4 і концентрували in vacuo. Залишок очищували за допомогою колонкової хроматографії (MeOH:DCM=1:40), і одержаний матеріал очищували додатково за допомогою Prep-HPLC з одержанням указаної у заголовку сполуки (1,729 г, 3,03 ммоль, вихід 10%) у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб k, Таблиця 7) $R_t=1,50$ хв.; MS маса/заряд = 571 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 8,01 (s, 1H), 7,33 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,27 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 7,00 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 6,87 (t, J = 7,9 Гц, 1H), 6,36 (s, 1H), 5,94 (s, 1H), 5,32 (s, 1H), 5,10 (s, 1H), 5,02 – 4,87 (m, 3H), 4,80 (d, J = 2,8 Гц, 1H), 4,51 (d, J = 16,4 Гц, 1H), 4,31 (s, 1H), 4,20 (d, J = 17,8 Гц, 1H), 2,62 – 2,52 (m, 1H), 2,32 (d, J = 11,0 Гц, 1H), 2,20 – 1,98 (m, 2H), 1,86 – 1,69 (m, 4H), 1,69 – 1,55 (m, 1H), 1,41 (s, 3H), 1,18 – 0,97 (m, 2H), 0,87 (s, 3H).

Міnorний ізомер ацеталю (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофеніл)аміно)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он (78 мг, 0,137 ммоль, вихід 0,4%) у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб k, Таблиця 7) $R_t=1,53$ хв.; MS маса/заряд = 571 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 8,00 (s, 1H), 7,32 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,07 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 6,96 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 6,87 (t, J = 7,9 Гц, 1H), 6,35 (s, 1H), 6,24 (d, J = 7,9 Гц, 1H), 6,17 (d, J = 10,0 Гц, 1H), 6,10 (d, J = 7,9 Гц, 1H), 6,00 (s, 1H), 5,95 (s, 1H), 5,27 (d, J = 7,0 Гц, 1H), 5,02 (t, J = 5,9 Гц, 1H), 4,97 (s, 2H), 4,78 (d, J = 2,7 Гц, 1H), 4,30 (s, 2H), 4,03 (dd, J = 19,1, 5,8 Гц, 1H), 2,65 – 2,52 (m, 1H), 2,32 (d, J = 10,2 Гц, 1H), 2,14 – 1,95 (m, 2H), 1,89 – 1,63 (m, 5H), 1,39 (s, 3H), 1,28 – 1,11 (m, 1H), 1,05 (d, J = 10,7 Гц, 1H), 0,89 (s, 3H).

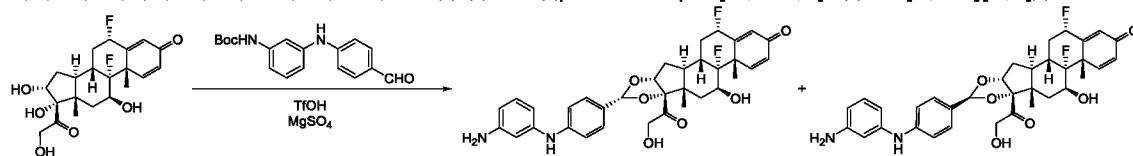
Приклад 58. Синтез (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофеніл)аміно)феніл)-6b-фтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону



Синтезували із застосуванням такої ж процедури, як у прикладі 57 вище. Основний ізомер ацеталю: LCMS (Спосіб k, Таблиця 7) $R_t=1,49$ хв.; MS маса/заряд = 589 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 8,02 (s, 1H), 7,30 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,23 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 6,99 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 6,87 (t, J = 7,9 Гц, 1H), 6,36 (s, 1H), 6,31 – 6,16 (m, 2H), 6,10 (d, J = 7,8 Гц, 1H), 6,04 (s, 1H), 5,45 (d, J = 2,6 Гц, 1H), 5,35 (s, 1H), 5,11 (t, J = 5,9 Гц, 1H), 4,97 (s, 2H), 4,91 (d, J = 4,6 Гц, 1H), 4,51 (dd, J = 19,5, 6,3 Гц, 1H), 4,20 (dd, J = 19,2, 5,5 Гц, 2H), 2,74 – 2,58 (m, 1H), 2,36 (d, J = 10,2 Гц, 1H), 2,27 – 2,13 (m, 1H), 2,06 (d, J = 9,5 Гц, 2H), 1,93 – 1,78 (m, 1H), 1,78 – 1,57 (m, 3H), 1,51 (s, 3H), 1,42 (dd, J = 12,4, 4,5 Гц, 1H), 0,87 (s, 3H).

Міnorний ізомер ацеталю, (6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофеніл)аміно)феніл)-6b-фтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он: LCMS (Спосіб k, Таблиця 7) $R_t=1,50$ хв.; MS маса/заряд = 589 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 8,01 (s, 1H), 7,29 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,08 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 6,97 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 6,87 (t, J = 7,9 Гц, 1H), 6,35 (s, 1H), 6,24 (d, J = 8,6 Гц, 2H), 6,10 (d, J = 7,7 Гц, 1H), 6,02 (d, J = 18,4 Гц, 2H), 5,44 (s, 1H), 5,30 (d, J = 7,1 Гц, 1H), 4,97 (s, 3H), 4,30 (d, J = 19,1 Гц, 1H), 4,19 (d, J = 9,2 Гц, 1H), 4,05 (d, J = 19,1 Гц, 1H), 2,78 – 2,56 (m, 1H), 2,36 (d, J = 13,3 Гц, 1H), 2,06 (d, J = 10,7 Гц, 2H), 1,83 (dd, J = 16,3, 10,0 Гц, 2H), 1,76 – 1,61 (m, 2H), 1,50 (s, 4H), 0,89 (s, 3H).

Приклад 59. Синтез (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофеніл)аміно)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону

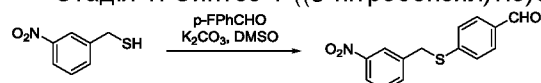


Синтезували із застосуванням такої ж процедури, як у прикладі 57 вище. Основний ізомер ацеталю: LCMS (Спосіб I, Таблиця 7) $R_t=1,62$ хв.; MS маса/заряд = 607 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 8,02 (s, 1H), 7,25 (dd, $J = 18,2, 9,4$ Гц, 3H), 6,99 (d, $J = 8,6$ Гц, 2H), 6,87 (t, $J = 7,9$ Гц, 1H), 6,36 (t, $J = 1,9$ Гц, 1H), 6,30 (dd, $J = 10,1, 1,8$ Гц, 1H), 6,25 – 6,19 (m, 1H), 6,14 (s, 1H), 6,09 (dd, $J = 7,9, 1,3$ Гц, 1H), 5,77 – 5,55 (m, 1H), 5,53 (d, $J = 2,8$ Гц, 1H), 5,35 (s, 1H), 5,11 (t, $J = 6,0$ Гц, 1H), 4,96 (s, 2H), 4,92 (d, $J = 5,1$ Гц, 1H), 4,51 (dd, $J = 19,5, 6,4$ Гц, 1H), 4,21 (dd, $J = 19,3, 5,6$ Гц, 2H), 2,76 – 2,53 (m, 1H), 2,28 (dd, $J = 12,6, 5,9$ Гц, 2H), 2,06 (d, $J = 12,0$ Гц, 3H), 1,70 (dt, $J = 20,2, 6,0$ Гц, 3H), 1,60 – 1,40 (m, 4H), 0,86 (s, 3H).

Мінольний ізомер ацеталю, (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінофеніл)аміно)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он: LCMS (Спосіб I, Таблиця 7) $R_t=1,65$ хв.; MS маса/заряд = 607 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 8,01 (s, 1H), 7,27 (d, $J = 9,8$ Гц, 1H), 7,09 (d, $J = 7,9$ Гц, 2H), 6,97 (d, $J = 8,0$ Гц, 2H), 6,88 (t, $J = 7,7$ Гц, 1H), 6,41 – 6,19 (m, 3H), 6,20 – 6,07 (m, 2H), 6,03 (s, 1H), 5,65 (d, $J = 46,4$ Гц, 1H), 5,52 (s, 1H), 5,32 (d, $J = 6,8$ Гц, 1H), 5,06 (s, 1H), 4,97 (s, 2H), 4,32 (dd, $J = 19,1, 5,3$ Гц, 1H), 4,19 (s, 1H), 4,06 (dd, $J = 18,7, 4,8$ Гц, 1H), 2,59 (d, $J = 13,8$ Гц, 1H), 2,29 (s, 1H), 2,17 (d, $J = 7,2$ Гц, 1H), 2,07 (s, 1H), 1,87 (d, $J = 6,7$ Гц, 1H), 1,69 (dd, $J = 23,7, 12,4$ Гц, 3H), 1,50 (s, 4H), 0,89 (s, 3H).

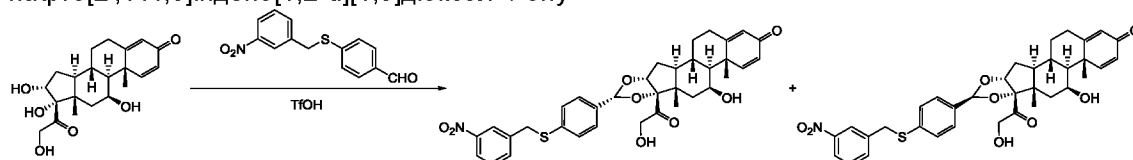
Приклад 60. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінобензил)тіо)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону

Стадія 1. Синтез 4-((3-нітробензил)тіо)бензалdehyd



До розчину (3-нітрофеніл)метантіолу (35 г, 282 ммоль) і 4-фторбензалdehyd (52,5 г, 310 ммоль) у сухому диметилсульфоксиді (220 мл) додавали карбонат калію (78 г, 564 ммоль). Реакційну суміш нагрівали до 100 °C протягом 4 годин. Готували, як описано вище, один додатковий флакон. Дві реакційні суміші об'єднували і розводили водою (2 л) і потім екстрагували за допомогою EtOAc (3 × 600 мл). Об'єднаний органічний шар висушували над Na_2SO_4 і концентрували з одержанням залишка, який очищували за допомогою колонкової хроматографії (елюювали за допомогою PE/EtOAc = від 20/1 до 5/1) з одержанням указаної у заголовку сполуки (62 г, вихід 80%) у вигляді твердої речовини світло-коричневого кольору. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 4,54 (s, 2 H) 7,51 (d, $J=8,33$ Гц, 2 H) 7,59 (s, 1 H) 7,77 (d, $J=8,33$ Гц, 2 H) 7,87 (d, $J=7,89$ Гц, 1 H) 8,05 – 8,10 (m, 1 H) 8,30 (s, 1 H) 9,87 (s, 1 H).

Стадія 2. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-10-(4-((3-нітробензил)тіо)феніл)-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону

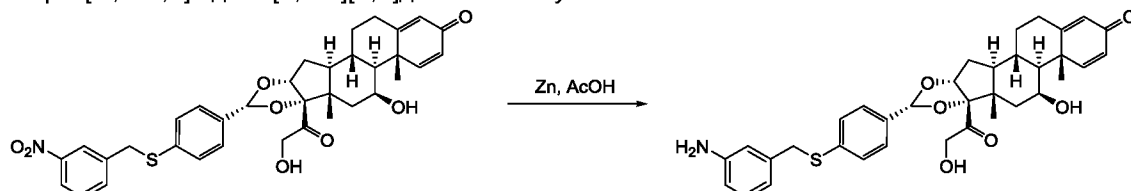


Триформетансульфонову кислоту (21,23 мл, 239 ммоль) додавали по краплях до розчину (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3H-циклопента[а]фенантрен-3-ону (9 г, 23,91 ммоль) і 4-((3-нітробензил)тіо)бензалdehyd (7,19 г, 26,3 ммоль), який має температуру 0 °C, у MeCN (500 мл). Реакційну суміш перемішували протягом 1 години за 0 °C. Готували два додаткові флакони, як описано вище. Всі три реакційні суміші об'єднували та виливали в воду (2 л). Одержану суміш екстрагували за допомогою EtOAc (3 × 500 мл). Об'єднаний органічний шар висушували над Na_2SO_4 і концентрували з одержанням залишка, який очищували за допомогою Prep-HPLC з одержанням указаної у заголовку сполуки (5,57 г, вихід 16%) у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб n Таблиця 7): $R_t=3,20$ хв.; маса/заряд = 632,0 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 0,84 (s, 3 H) 0,93 – 1,08 (m, 2 H) 1,37 (s, 3 H) 1,52 – 1,76 (m, 5 H) 1,94 – 2,15 (m, 2 H) 2,29 (br d, $J=11,91$ Гц, 1 H) 2,50 – 2,58 (m, 1 H) 4,15 (dd, $J=19,40, 5,51$ Гц, 1 H) 4,27 (br d, $J=2,87$ Гц, 1 H) 4,39 (s, 2 H) 4,48 (dd,

$J=19,40, 6,39$ Гц, 1 H) 4,77 (d, $J=3,09$ Гц, 1 H) 4,89 (d, $J=4,63$ Гц, 1 H) 5,07 (t, $J=5,95$ Гц, 1 H) 5,38 (s, 1 H) 5,91 (s, 1 H) 6,15 (dd, $J=10,14, 1,76$ Гц, 1 H) 7,25 - 7,38 (m, 5 H) 7,55 (t, $J=7,94$ Гц, 1 H) 7,79 (d, $J=7,72$ Гц, 1 H) 8,04 (dd, $J=8,16, 1,54$ Гц, 1 H) 8,19 (d, $J=1,76$ Гц, 1 H)

Міnorний ізомер ацеталю, (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10S,11aR,12aS,12bS)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-10-(4-((3-нітробензил)тіо)феніл)-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он (0,34 г, вихід 1%) також одержували у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб n, Таблиця 7): $R_t=3,28$ хв.; MS маса/заряд = 631,8 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 0,86 (s, 3 H) 0,98 - 1,05 (m, 1 H) 1,10 - 1,21 (m, 1 H) 1,37 (s, 3 H) 1,66 - 1,88 (m, 5 H) 1,94 - 2,08 (m, 2 H) 2,29 (br dd, $J=13,23, 2,87$ Гц, 1 H) 2,50 - 2,56 (m, 1 H) 3,99 (dd, $J=19,18, 5,95$ Гц, 1 H) 4,20 (dd, $J=19,07, 6,28$ Гц, 1 H) 4,27 (br s, 1 H) 4,39 (s, 2 H) 4,77 (d, $J=3,09$ Гц, 1 H) 4,99 (s, 1 H) 5,26 (d, $J=6,84$ Гц, 1 H) 5,92 (s, 1 H) 6,04 (s, 1 H) 6,15 (dd, $J=10,03, 1,87$ Гц, 1 H) 7,16 (d, $J=8,38$ Гц, 2 H) 7,26 - 7,34 (m, 3 H) 7,55 (t, $J=7,94$ Гц, 1 H) 7,75 (d, $J=7,72$ Гц, 1 H) 8,05 (dd, $J=8,16, 1,54$ Гц, 1 H) 8,21 (t, $J=1,76$ Гц, 1 H).

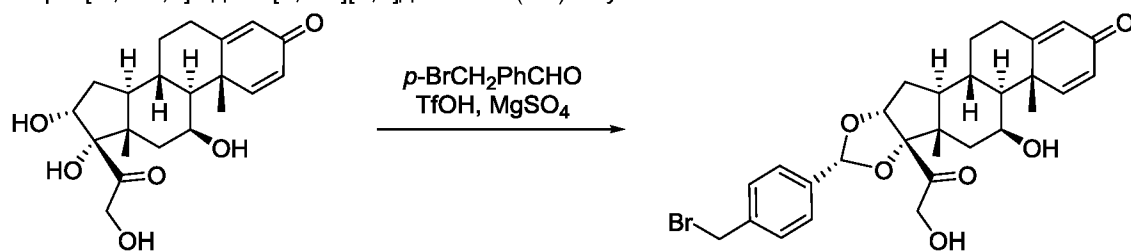
Стадія 3. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-амінобензил)тіо)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону



Суміш (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-10-(4-((3-нітробензил)тіо)феніл)-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону (138 мг, 0,22 ммоль), цинку (214 мг, 3,28 ммоль) і оцтової кислоти (0,4 мл, 6,99 ммоль) в EtOAc (2 мл) перемішували за 40 °C протягом 2 годин. LCMS показала часткове перетворення у необхідний продукт на основі аніліну. Додавали більшу кількість цинку (71 мг, 1,09 ммоль) і перемішували за 40 °C протягом додаткових 2 годин. Розчин охолоджували до кімнатної температури і розділяли між насиченим водним $NaHCO_3$ та EtOAc (3x). Об'єднані органічні шари висушували над Na_2SO_4 і очищували за допомогою хроматографії (силікагель) з елюванням 0-5% MeOH у DCM з одержанням указаної у заголовку сполуки (64 мг, 0,106 ммоль, вихід 49%). LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t=0,77$ хв.; MS маса/заряд = 601,9 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 7,35 (d, $J = 8,5$ Гц, 2H), 7,32 - 7,24 (m, 3H), 6,89 (t, $J = 7,7$ Гц, 1H), 6,56 (q, $J = 2,3$ Гц, 1H), 6,47 (d, $J = 7,4$ Гц, 1H), 6,40 (ddd, $J = 7,6, 2,6, 1,4$ Гц, 1H), 6,15 (dd, $J = 10,1, 1,8$ Гц, 1H), 5,95 - 5,89 (m, 1H), 5,38 (s, 1H), 5,03 (d, $J = 14,0$ Гц, 3H), 4,90 (d, $J = 4,8$ Гц, 1H), 4,77 (d, $J = 3,5$ Гц, 1H), 4,54 - 4,44 (m, 1H), 4,28 (s, 1H), 4,16 (d, $J = 20,6$ Гц, 1H), 4,06 (d, $J = 2,3$ Гц, 2H), 2,59 - 2,50 (m, 1H), 2,30 (d, $J = 11,5$ Гц, 1H), 2,14 - 2,03 (m, 1H), 1,97 (s, 2H), 1,88 - 1,67 (m, 4H), 1,63 (td, $J = 11,9, 10,4, 5,1$ Гц, 1H), 1,37 (d, $J = 1,9$ Гц, 3H), 1,10 - 0,92 (m, 2H), 0,84 (s, 3H).

Приклад 61. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((2-амінопіридин-4-іл)метил)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону

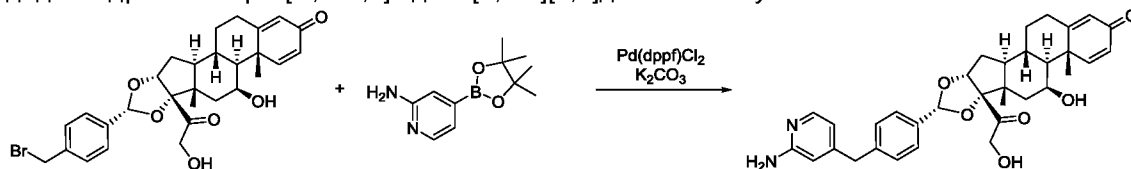
Стадія 1. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(бромметил)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-декагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону



4-(Бромметил)бензальдегід (0,539 г, 2,71 ммоль) додавали до суспензії (8S,9S,10R,11S,13S,14S,16R,17S)-11,16,17-тригідрокси-17-(2-гідроксиацетил)-10,13-диметил-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-додекагідро-3H-циклопента[а]фенантрен-3-ону (1,0738 г, 2,85 ммоль), 4-(бромметил)бензальдегіду (0,539 г, 2,71 ммоль) і $MgSO_4$ (1,33 г, 11,05 ммоль), яка має температуру 0 °C, у MeCN (18 мл). Трифторметансульфонову кислоту (2,0 г, 13,5 ммоль) додавали способом по краплях так, щоб підтримувати температуру менше 7 °C. Реакційну суміш перемішували протягом 4 хв., після чого її гасили додаванням насиченого водного $NaHCO_3$ (20 мл) і екстрагували за допомогою EtOAc (60 мл). Об'єднані органічні речовини промивали сольовим розчином (10 мл) і видаляли розчинник за зниженого тиску. Очищуванням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 40 г) із

градієнтом елюювання 0-5% MeOH/DCM одержували вказану у заголовку сполуку (1,59 г, 2,85 ммоль, вихід 100%) у вигляді піни брудно-білого кольору (9:1 суміш діастереомерів ацеталу). Визначення характеристик представлено для основного ізомеру ацеталу: LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t=1,04$ хв.; MS маса/заряд = 557,2, 559,2 [M+H]. ^1H ЯМР (501 МГц, DMSO- d_6) δ 7,44 (s, 4H), 7,30 (dd, J = 10,1, 2,2 Гц, 1H), 6,15 (ddd, J = 10,1, 4,8, 1,9 Гц, 1H), 5,91 (t, J = 1,7 Гц, 1H), 5,43 (s, 1H), 5,07 (s, 1H), 4,93 (d, J = 5,1 Гц, 1H), 4,77 (dd, J = 3,6, 0,9 Гц, 1H), 4,67 (s, 2H), 4,51 (dd, J = 19,4, 4,1 Гц, 1H), 4,31 (m, 1H), 4,17 (d, J = 19,5 Гц, 1H), 2,58 (m, 1H), 2,30 (dd, J = 12,9, 4,7 Гц, 1H), 2,16 (m, 1H), 1,99 (d, J = 23,9 Гц, 1H), 1,89 (m, 2H), 1,75 (m, 1H), 1,67 (m, 1H), 1,38 (s, 3H), 1,11 (m, 2H), 0,85 (s, 3H).

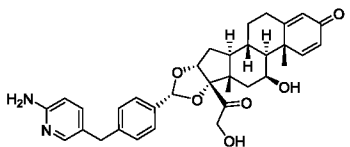
Стадія 2. Синтез (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((2-амінопіридин-4-іл)метил)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-ону

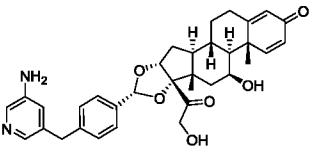
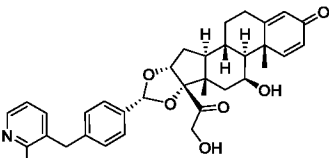
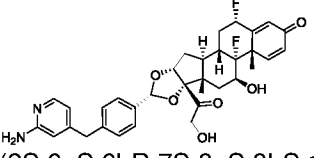
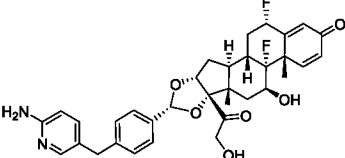


У 20-мл флакон вносили (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(бромметил)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-он (0,100 г, 0,179 ммоль), 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)піридин-2-амін (0,039 г, 0,179 ммоль) і K_2CO_3 (0,099 г, 0,718 ммоль) у дегазованому розчині діоксан (2,0 мл)/вода (0,200 мл). Суспензію вакуумували і флакон знову заповнювали сухим N_2 (3X). Додавали $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ (0,012 г, 0,016 ммоль) і флакон потім знов вакуумували і знов заповнювали сухим N_2 . Реакційну суміш нагрівали до 90 °C. Через 1,5 години вихідний матеріал витрачався. Забезпечували охолодження реакційної суміші до кімнатної температури, її розводили за допомогою EtOAc (20 мл) і промивали водою (25 мл), потім сольовим розчином (25 мл), висушували над MgSO_4 і видаляли розчинник за зниженого тиску. Очищуванням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію, 40 г) із градієнтом елюювання 0-10% MeOH/ CH_2Cl_2 з одержанням твердої речовини світло-бежевого кольору. Проводили додаткове очищування за допомогою препаративної HPLC з оберненою фазою на колонці Phenomenex C18(2), 10 мікронів (250 x 50 мм). Застосовували градієнт MeCN (A) та 0,1% TFA у воді (B) за витрати 80 мл/хв. (0-5,0 хв. 15% A, 5,0-20 хв. лінійний градієнт 15-85% A, утримування 20-25 хв). Об'єднані фракції заморожували і ліофілізували з одержанням вказаної у заголовку сполуки (27 мг, 0,047 ммоль, вихід 26%) у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t=0,90$ хв.; MS маса/заряд = 571,3 [M+H]. ^1H ЯМР (501 МГц, DMSO- d_6) δ 7,93 (s, 2H), 7,82 (d, J = 6,6 Гц, 1H), 7,44 (d, J = 8,1 Гц, 2H), 7,39 - 7,22 (m, 3H), 6,73 (d, J = 8,1 Гц, 1H), 6,69 (s, 1H), 6,24 - 6,09 (m, 1H), 5,93 (s, 1H), 5,44 (s, 1H), 4,94 (d, J = 5,1 Гц, 1H), 4,80 (s, 1H), 4,50 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,30 (s, 1H), 4,19 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 3,99 (s, 2H), 2,61 - 2,51 (m, 1H), 2,35 - 2,27 (m, 1H), 2,19 - 2,08 (m, 1H), 2,08 - 1,99 (m, 1H), 1,82 - 1,59 (m, 5H), 1,40 (s, 3H), 1,02 (ddd, J = 27,9, 11,7, 3,2 Гц, 2H), 0,87 (s, 3H).

У наступних прикладах проводили синтез із застосуванням такої ж, процедури, як у прикладі 61 (вище).

Таблиця 8

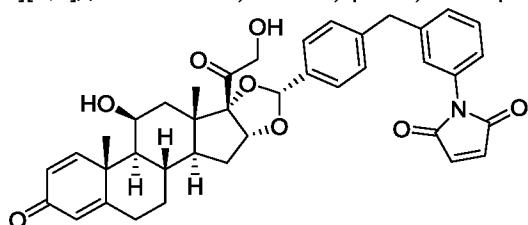
Приклад	Структура та назва	LCMS та ^1H ЯМР
62	 (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((6-амінопіридин-3-іл)метил)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-1,2,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он	LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t=0,87$ хв.; MS маса/заряд = 571,4 [M+H]. ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ 7,84 (d, J = 2,1 Гц, 2H), 7,75 (dd, J = 9,1, 2,1 Гц, 1H), 7,44 - 7,37 (m, 2H), 7,31 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,26 (d, J = 8,2 Гц, 2H), 6,90 (d, J = 9,0 Гц, 1H), 6,17 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 5,93 (t, J = 1,6 Гц, 1H), 5,42 (s, 1H), 5,10 (s, 1H), 4,92 (d, J = 4,9 Гц, 1H), 4,80 (d, J = 3,4 Гц, 1H), 4,50 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,29 (s, 1H), 4,17 (d, J = 19,5 Гц, 1H), 3,84 (s, 2H), 2,61 - 2,52 (m, 2H), 2,31 (d, J = 12,3 Гц, 1H), 2,13 (d, J = 10,9 Гц, 1H), 2,08 - 1,98 (m, 1H), 1,81 - 1,58 (m, 5H), 1,40 (s, 3H), 1,00 (ddd,

		J = 32,4, 11,7, 4,1 Гц, 2H), 0,86 (s, 3H).
63	 (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((5-амінопіридин-3-іл)метил)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-1,2,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-4Н-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он	LCMS (Спосіб r, Таблица 7) R_t=0,87 хв. ; MS маса/заряд = 571,4 [M+H]. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,88 (s, 1H), 7,81 (d, J = 2,2 Гц, 1H), 7,36 (d, J = 8,1 Гц, 2H), 7,32 - 7,18 (m, 3H), 6,10 (dd, J = 10,1, 1,8 Гц, 1H), 5,87 (s, 1H), 5,36 (s, 1H), 4,86 (d, J = 4,8 Гц, 1H), 4,74 (s, 1H), 4,43 (d, J = 19,5 Гц, 1H), 4,23 (s, 1H), 4,11 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 3,93 (s, 2H), 2,54 - 2,45 (m, 1H), 2,31 - 2,17 (m, 1H), 2,14 - 1,90 (m, 2H), 1,76 - 1,50 (m, 5H), 1,33 (s, 3H), 1,05 - 0,85 (m, 2H), 0,80 (s, 3H).
64	 (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((2-амінопіридин-3-іл)метил)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-1,2,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-4Н-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он	LCMS (Спосіб r, Таблица 7) R_t=0,86 хв. ; MS маса/заряд = 571,3 [M+H]. ¹H ЯМР (501 МГц, DMSO-d₆) δ 7,89 (s, 2H), 7,82 (d, J = 6,2 Гц, 1H), 7,58 (d, J = 6,1 Гц, 1H), 7,36 (d, J = 8,1 Гц, 2H), 7,23 (dd, J = 20,2, 9,1 Гц, 3H), 6,85 - 6,71 (m, 1H), 6,10 (d, J = 11,9 Гц, 1H), 5,86 (s, 1H), 5,36 (s, 1H), 4,87 (d, J = 5,0 Гц, 1H), 4,75 (s, 1H), 4,44 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,23 (s, 1H), 4,12 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 3,87 (s, 2H), 2,55 - 2,45 (m, 1H), 2,24 (d, J = 11,0 Гц, 1H), 2,05 (d, J = 22,0 Гц, 1H), 2,01 - 1,91 (m, 1H), 1,77 - 1,49 (m, 5H), 1,33 (s, 3H), 1,04 - 0,87 (m, 2H), 0,80 (s, 3H).
65	 (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((2-амінопіридин-4-іл)метил)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-1,2,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-4Н-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он	LCMS (Спосіб r, Таблица 7) R_t=0,85 хв. ; MS маса/заряд = 607,4 [M+H]. ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 7,80 (d, J = 6,5 Гц, 1H), 7,59 (s, 2H), 7,41 (d, J = 8,2 Гц, 2H), 7,31 (d, J = 7,9 Гц, 2H), 7,27 (d, J = 10,8 Гц, 1H), 6,69 (d, J = 6,8 Гц, 1H), 6,64 (s, 1H), 6,30 (dd, J = 10,2, 1,9 Гц, 1H), 6,13 (s, 1H), 5,55 (d, J = 5,8 Гц, 1H), 5,49 (s, 1H), 5,13 (s, 1H), 4,96 (d, J = 4,5 Гц, 1H), 4,26 - 4,13 (m, 2H), 3,95 (s, 2H), 2,62 - 2,53 (m, 1H), 2,35 - 2,28 (m, 1H), 2,28 - 2,18 (m, 1H), 2,09 - 1,99 (m, 1H), 1,77 - 1,66 (m, 3H), 1,50 (s, 4H), 0,87 (s, 3H).
66	 (2S,6aS,6bR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((6-амінопіридин-3-іл)метил)феніл)-2,6b-дифтор-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-1,2,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-4Н-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он	LCMS (Спосіб r, Таблица 7) R_t=0,85 хв. ; MS маса/заряд = 607,4 [M+H]. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,76 (s, 1H), 7,65 (d, J = 9,5 Гц, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,31 (d, J = 8,2 Гц, 2H), 7,25 - 7,15 (m, 3H), 6,79 (d, J = 9,2 Гц, 1H), 6,23 (d, J = 10,2 Гц, 1H), 6,06 (s, 1H), 5,69 - 5,49 (m, 1H), 5,46 (d, J = 4,0 Гц, 1H), 5,40 (s, 1H), 5,03 (s, 1H),

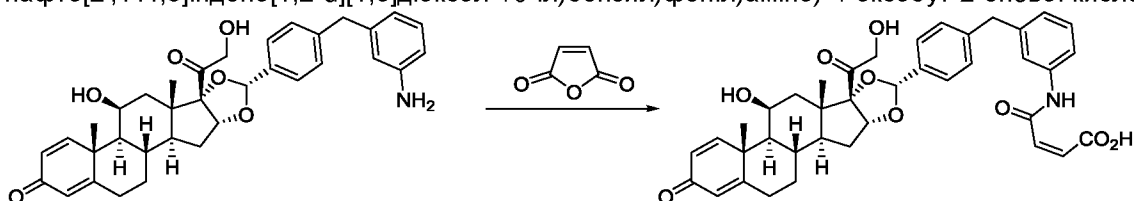
	додекагідро-4H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4-он	4,88 (d, J = 4,2 Гц, 1H), 4,44 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,21 - 4,05 (m, 2H), 3,76 (s, 2H), 2,67 - 2,51 (m, 1H), 2,32 - 2,09 (m, 2H), 1,96 (d, J = 13,1 Гц, 1H), 1,71 - 1,57 (m, 3H), 1,50 - 1,35 (m, 4H), 0,80 (s, 3H).

Приклад 67.

Синтез 1-(3-(4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)-1H-пірол-2,5-діону

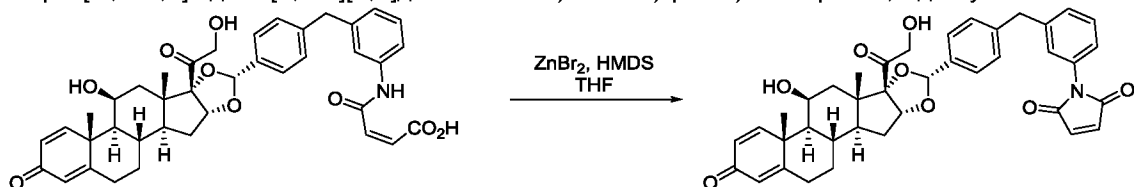


Стадія 1. Синтез (Z)-4-((3-(4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-4-оксобут-2-енової кислоти



Малеїновий ангідрид (46,5 мг, 0,474 ммоль) додавали до розчину (6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-амінобензил)феніл)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-4(2H)-ону (239 мг, 0,420 ммоль), який має кімнатну температуру, у THF (3,0 мл). Через 75 хв. розчинник видаляли за зниженого тиску з одержанням указаної у заголовку сполуки у вигляді піни брудно-білого кольору. Даний продукт застосовували без додаткового очищення на наступній стадії (досягали 100% виходу). LCMS (Спосіб о, Таблиця 7) $R_t=0,86$ хв.; MS маса/заряд = 668,5 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 12,99 (s, 1H), 10,29 (s, 1H), 7,45 7,38 (m, 2H), 7,38 7,31 (m, 2H), 7,27 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,24 7,15 (m, 3H), 6,92 (dt, J = 7,8, 1,3 Гц, 1H), 6,38 (d, J = 12,1 Гц, 1H), 6,25 (d, J = 12,0 Гц, 1H), 6,12 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 5,89 (d, J = 1,5 Гц, 1H), 5,36 (s, 1H), 5,03 (s, 1H), 4,88 (d, J = 5,1 Гц, 1H), 4,73 (d, J = 3,3 Гц, 1H), 4,46 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 4,26 (p, J = 3,2 Гц, 1H), 4,14 (d, J = 19,4 Гц, 1H), 3,87 (s, 2H), 2,52 (dd, J = 13,6, 5,3 Гц, 1H), 2,32 2,23 (m, 1H), 2,07 (tt, J = 10,8, 6,2 Гц, 1H), 2,02 1,94 (m, 1H), 1,84 1,51 (m, 5H), 1,36 (s, 3H), 1,09 0,93 (m, 2H), 0,82 (s, 3H).

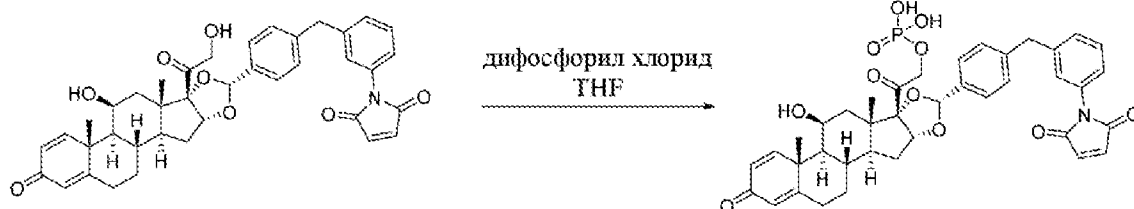
Стадія 2. Синтез 1-(3-(4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)-1H-пірол-2,5-діону



Біс(триметилсиліл)амін (HMDS) (63,4 мкл, 0,306 ммоль) додавали до розчину бромиду цинку (75,0 мг, 0,333 ммоль) і (Z)-4-((3-(4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-4-оксобут-2-енової кислоти (171 мг, 0,256 ммоль) у тетрагідрофурани (2,0 мл). Суміш нагрівали до 50 °C протягом 2,5 год. LCMS показала неповне перетворення, отже, додавали іншу аліквоту біс(триметилсиліл)аміну (HMDS) (63,4 мкл, 0,306 ммоль). Реакцію завершували після додаткових 90 хв. за 50 °C. Суміш охолоджували до кімнатної температури, розводили за допомогою EtOAc (20 мл), потім промивали послідовно 1 н. водною HCl (2 x 10 мл), насиченим водним $NaHCO_3$ (10 мл), сольовим розчином (10 мл), висушували над Na_2SO_4 і видаляли розчинник за зниженого тиску. Очищуванням за допомогою хроматографії (діоксид кремнію,

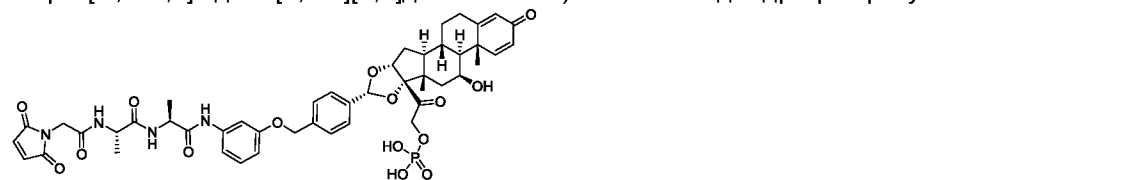
12 г) із градієнтом елюювання 0-10% MeOH/DCM одержували вказану у заголовку сполуку (82,6 мг, 0,127 ммоль, 50% вихід) у вигляді твердої речовини брудно-білого кольору. LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t=1,02$ хв.; MS маса/заряд = 650,5 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 7,27 (dt, $J = 7,8, 3,7$ Гц, 3H), 7,19 (d, $J = 10,1$ Гц, 1H), 7,17 7,06 (m, 4H), 7,06 7,01 (m, 3H), 6,04 (dd, $J = 10,1, 1,9$ Гц, 1H), 5,81 (t, $J = 1,5$ Гц, 1H), 5,64 (s, 1H), 5,29 (s, 1H), 4,95 (t, $J = 5,9$ Гц, 1H), 4,80 (d, $J = 5,1$ Гц, 1H), 4,65 (d, $J = 3,2$ Гц, 1H), 4,38 (dd, $J = 19,4, 6,4$ Гц, 1H), 4,18 (t, $J = 3,4$ Гц, 1H), 4,06 (dd, $J = 19,5, 5,7$ Гц, 1H), 3,86 (s, 2H), 2,45 (dd, $J = 13,5, 5,4$ Гц, 1H), 2,30 2,11 (m, 1H), 2,11 1,81 (m, 1H), 1,76 1,44 (m, 4H), 1,28 (s, 3H), 1,02 0,83 (m, 2H), 0,75 (s, 3H).

Приклад 68. Синтез 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)бензил)феніл)-7-гідрокси-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-8b-іл)-2-оксоетилдигідрофосфату

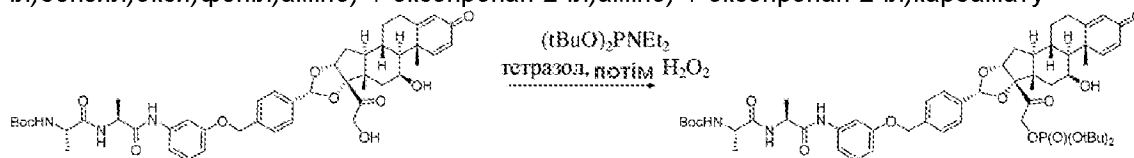


Дифосфорилхлорид (158 мг, 0,609 ммоль) додавали по краплях до розчину 1-(3-(4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)-1H-пірол-2,5-діону (82 мг, 0,126 ммоль), який має температуру $-51^\circ C$, у тетрагідрофурані (0,5 мл). Реакційну суміш повільно нагрівали до $-10^\circ C$ протягом години, потім гасили за допомогою води при $-5^\circ C$. Суміш оброблювали насиченим водним розчином $NaHCO_3$ з одержанням розчину з pH 8. За допомогою обробки з EtOAc (5 мл) одержували рідку емульсію. Доведення pH до 1 за допомогою додавання 1 н. водної HCl поліпшувало утворення емульсії. Екстрагували за допомогою EtOAc (4 x 5 мл), потім промивали об'єднані органічні речовини сольовим розчином (5 мл), висушували (Na_2SO_4) і видаляли розчинник за зниженого тиску. Даний продукт очищували за допомогою препаративної HPLC з оберненою фазою на колонці Phenomenex C18(2), 10 мікронів (250 x 50 мм). Застосовували градієнт MeCN (A) та 0,1% TFA у воді (B) за витрати 90 мл/хв. (0-5,0 хв. 15% A, 5,0-20,0 хв. лінійний градієнт 15-95% A). Об'єднані фракції заморожували і ліофілізували з одержанням вказаної у заголовку сполуки (3,6 мг, 4,93 ммоль, вихід 4%) у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t=0,95$ хв.; MS маса/заряд = 730,5 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (501 МГц, DMSO- d_6) δ 7,38 (dt, $J = 7,8, 3,7$ Гц, 3H), 7,31 (d, $J = 10,1$ Гц, 1H), 7,29 7,26 (m, 2H), 7,25 7,22 (m, 1H), 7,19 (t, $J = 1,9$ Гц, 1H), 7,17 7,12 (m, 3H), 6,16 (dd, $J = 10,1, 1,9$ Гц, 1H), 5,93 (t, $J = 1,6$ Гц, 1H), 5,48 (s, 1H), 4,96 4,86 (m, 2H), 4,84 (s, 1H), 4,56 (dd, $J = 18,1, 8,1$ Гц, 1H), 4,30 (q, $J = 3,3$ Гц, 1H), 3,97 (s, 2H), 2,59 2,52 (m, 1H), 2,31 (d, $J = 12,0$ Гц, 1H), 2,17 2,07 (m, 1H), 2,05 1,98 (m, 1H), 1,85 1,56 (m, 5H), 1,39 (s, 3H), 1,03 (ddd, $J = 18,5, 11,8, 4,1$ Гц, 2H), 0,88 (s, 3H).

Приклад 69. Синтез 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-((S)-2-((S)-2-(2-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)ацетамідо)пропанамідо)пропанамідо)фенокси)метил)феніл)-7-гідрокси-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-8b-іл)-2-оксоетилдигідрофосфату



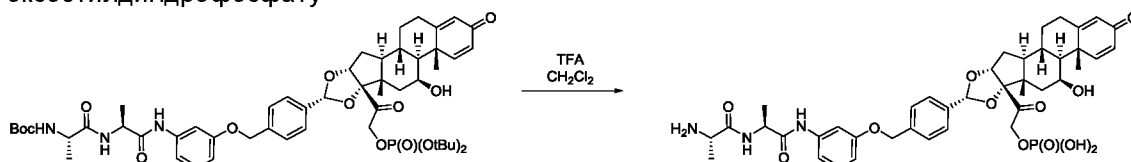
Стадія 1. Синтез трет-бутил-((S)-1-(((S)-1-((3-((4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-8b-(2-((ди-трет-бутоксифосфорил)окси)ацетил)-7-гідрокси-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)окси)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)карбамату



Ди-трет-бутил-N,N-діетилфосфорамідит (0,226 мл, 0,811 ммоль) додавали до розчину трет-бутил-((S)-1-(((S)-1-((3-((4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)окси)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)карбамату (463 мг, 0,559 ммоль) і 1H-тетразолу (0,45 M у MeCN, 4,97 мл, 2,237 ммоль), який має кімнатну

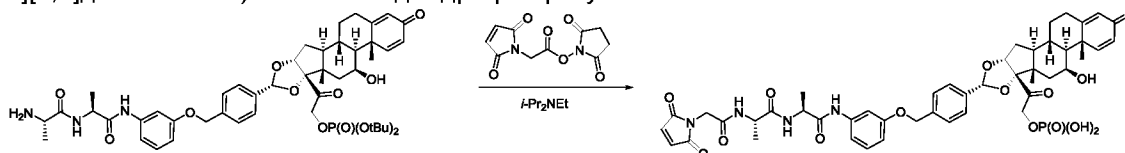
температуру, у диметилацетаміді (2 мл). Додаткову кількість ди-трет-бутил-N,N-діетилфосфорамідиту (0,2 мл) вносили через 4,5 години і перемішування продовжували протягом ночі. Реакційну суміш охолоджували до 0 °С, після чого по краплях додавали 30% розчин пероксиду водню у воді (0,17 мл, 1,67 ммоль). Окиснення до фосфату завершували протягом 1,5. Реакційну суміш охолоджували до 0 °С і реакцію гасили за допомогою додавання 1 М водн. розчину Na₂S₂O₃ (8 мл). Суміш екстрагували за допомогою EtOAc (2 x 30 мл), об'єднані органічні шари промивали сольовим розчином, висушували над Na₂SO₄ і розчинник видаляли за зниженого тиску. Очищування за допомогою хроматографії (діоксид кремнію) із застосуванням 100% EtOAc як елюенту одержували вказану у заголовку сполуку (366 мг, 0,359 ммоль, вихід 64%) у вигляді твердої речовини білого кольору. LCMS (Спосіб г, Таблиця 7) R_t=1,08 хв.; MS маса/заряд = 1020,5 [M+H⁺].

Стадія 2. Синтез 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-((S)-2-((S)-2-амінопропанамідо)пропанамідо)фенокси)метил)феніл)-7-гідрокси-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-8b-іл)-2-оксоетилдигідрофосфату



TFA (0,95 мл) додавали до розчину трет-бутил-((S)-1-(((S)-1-((3-((4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-8b-(2-((ди-трет-бутоксифосфорил)окси)ацетил)-7-гідрокси-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)окси)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)карбамату (364 мг, 0,357 ммоль), який має кімнатну температуру, у DCM (2 мл). Реакцію завершували протягом 2 год., після чого розчинник видаляли за зниженого тиску. Вказану у заголовку сполуку одержували у вигляді піноподібної твердої речовини світло-жовтого кольору і застосовували без додаткового очищення. LCMS (Спосіб г, Таблиця 7) основний ізомер ацеталю: R_t=0,77 хв.; MS маса/заряд = 808,3 [M+H⁺], мінольний ізомер ацеталю: R_t=0,79 хв.; MS маса/заряд = 808,3 [M+H⁺].

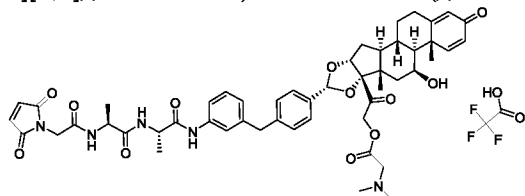
Стадія 3. Синтез 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-((S)-2-((S)-2-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)ацетамідо)пропанамідо)пропанамідо)фенокси)метил)феніл)-7-гідрокси-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-8b-іл)-2-оксоетилдигідрофосфату



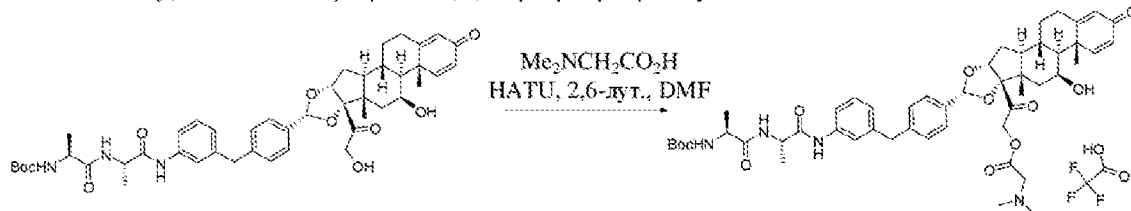
N,N-діізопропілетиламін (0,37 мл, 2,12 ммоль) і N-гідроксисукцинімідний естер малеїмідооцтової кислоти (89 мг, 0,353 ммоль) послідовно додавали до розчину 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-((3-((S)-2-((S)-2-амінопропанамідо)пропанамідо)фенокси)метил)феніл)-7-гідрокси-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-8b-іл)-2-оксоетилдигідрофосфату (285 мг, 0,353 ммоль), який має кімнатну температуру, у диметилформаміді (1,5 мл) і перемішували протягом ночі. Реакційну суміш розводили за допомогою DMSO і очищували за допомогою препаративної HPLC з оберненою фазою HPLC на колонці Phenomenex C18(2), 10 мікронів (250 x 50 мм). Застосовували градієнт MeCN (A) та 0,1% TFA у воді (B) за витрати 30 мл/хв. (0-3,0 хв. 15% A, 3,0-19,0 хв. лінійний градієнт 15-60% A, потім 19,0-23,0 хв. лінійний градієнт до 85% A). Об'єднані фракції концентрували для видалення летких розчинників за зниженого тиску й одержаний розчин заморожували і ліофілізували з одержанням вказаної у заголовку сполуки (93 мг, 0,098 ммоль, вихід 28%) у вигляді твердої речовини білого кольору. Основний ізомер ацеталю: LCMS (Спосіб г, Таблиця 7) R_t=0,83 хв.; MS маса/заряд = 945,4 [M+H⁺]. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9,78 (s, 1H), 8,39 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 8,13 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 7,49 – 7,37 (m, 4H), 7,33 (t, J = 2,2 Гц, 1H), 7,28 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,14 (t, J = 8,1 Гц, 1H), 7,10 – 7,05 (m, 1H), 7,03 (s, 2H), 6,64 (dd, J = 8,0, 2,4 Гц, 1H), 6,13 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 5,89 (d, J = 1,5 Гц, 1H), 5,50 (s, 1H), 5,04 (s, 2H), 4,96 – 4,85 (m, 2H), 4,81 (s, 1H), 4,55 (dd, J = 18,1, 8,2 Гц, 1H), 4,38 – 4,21 (m, 3H), 4,13 – 3,98 (m, 2H), 2,53 (dd, J = 13,2, 5,2 Гц, 1H), 2,28 (d, J = 16,1 Гц, 1H), 2,09 (d, J = 11,2 Гц, 1H), 2,08 – 1,95 (m, 1H), 1,70 (dddd, J = 29,9, 25,9, 14,4, 6,4 Гц, 5H), 1,36 (s, 3H), 1,26 (d, J = 7,0 Гц, 3H), 1,18 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,02 (ddd, J = 14,7, 11,6, 4,0 Гц, 2H), 0,86 (s, 3H).

Приклад 70. Синтез 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-((S)-2-((S)-2-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)ацетамідо)пропанамідо)пропанамідо)бензил)феніл)-7-гідрокси-6a,8a-

диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-8b-іл)-2-оксоетил-2-(диметиламіно)ацетат-2,2,2-трифторацетату

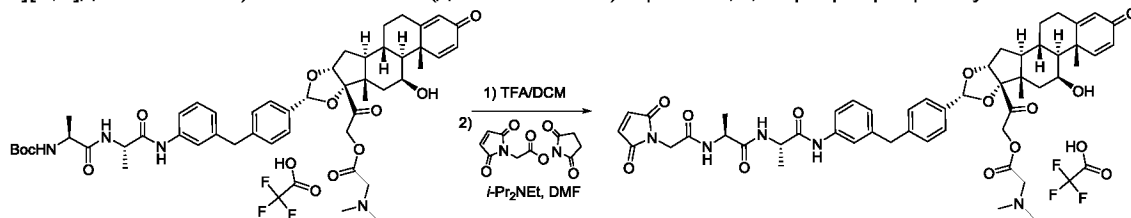


Стадія 1. Синтез 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-((S)-2-((S)-2-(трет-бутоксикарбоніл)аміно)пропанамідо)пропанамідо)бензил)феніл)-7-гідрокси-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-8b-іл)-2-оксоетил-2-(диметиламіно)ацетат-2,2,2-трифторацетату



До розчину трет-бутил-((2S)-1-(((2S)-1-((3-(4-((6aR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)карбамату (одержаного у такий же спосіб, як у прикладі 10, стадія 1) (78 мг, 0,096 ммоль), 2-(диметиламіно)оцтової кислоти (10,9 мг, 0,106 ммоль) і 2,6-диметилпіридину (0,022 мл, 0,192 ммоль) у безводному N,N-диметилформаміді (2,0 мл) додавали HATU (43,8 мг, 0,115 ммоль) і одержаний розчин перемішували за кімнатної температури протягом 45 хвилин. Неочищений продукт очищували за допомогою C18 HPLC з елююванням за допомогою градієнта розчинника 5-95% MeCN у 0,1 М водному розчині TFA. Фракції, що містять чистий продукт, концентрували за допомогою ліофілізації з одержанням указаної у заголовку сполуки (82 мг, вихід 89%). LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t=0,80$ хв., MS маса/заряд = 898,2 $[M+H]^+$.

Стадія 2. Синтез 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-((S)-2-((S)-2-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)ацетамідо)пропанамідо)пропанамідо)бензил)феніл)-7-гідрокси-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-8b-іл)-2-оксоетил-2-(диметиламіно)ацетат-2,2,2-трифторацетату



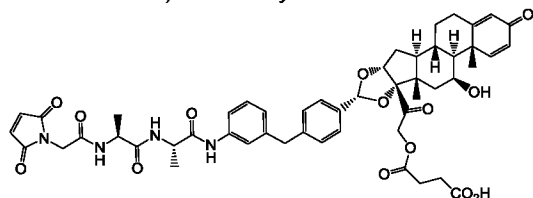
Розчин

2-((6aR,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-((S)-2-((S)-2-(трет-бутоксикарбоніл)аміно)пропанамідо)пропанамідо)бензил)феніл)-7-гідрокси-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-8b-іл)-2-оксоетил-2-(диметиламіно)ацетату (82 мг, 0,074 ммоль) у DCM (4 мл) і TFA (1 мл) перемішували за кімнатної температури протягом 20 хвилин і потім концентрували in vacuo. До розчину даної сполуки у безводному N,N-диметилформаміді (1 мл) додавали основу Хуніга (0,20 мл, 1,15 ммоль) і 2,5-діоксопіролідін-1-іл-2-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)ацетат (27,8 мг, 0,11 ммоль). Одержану суміш перемішували за кімнатної температури протягом 15 хвилин і додавали TFA (0,106 мл, 1,376 ммоль). Неочищений продукт очищували за допомогою C18 HPLC з елююванням за допомогою градієнта розчинника 5-95% MeCN у 0,1 М водному розчині TFA. Фракції, що містять чистий продукт, концентрували за допомогою ліофілізації з одержанням указаної у заголовку сполуки у вигляді безбарвної твердої речовини (46 мг, 0,0439 ммоль, вихід 59%). LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) основний ізомер ацеталу $R_t=0,82$ хв., MS маса/заряд = 934 $[M+H]^+$; міночний ізомер ацеталу $R_t=0,81$ хв., MS маса/заряд = 934 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (501 МГц, DMSO- d_6) δ 10,12 (s, 2H), 9,75 (s, 1H), 8,40 (d, J = 7,3 Гц, 1H), 8,11 (d, J = 7,1 Гц, 1H), 7,45 – 7,42 (m, 1H), 7,38 (dd, J = 8,2, 2,0 Гц, 2H), 7,31 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,22 (d, J = 8,2 Гц, 2H), 7,17 (t, J = 7,8 Гц, 1H), 7,06 (s, 1H), 6,89 (d, J = 7,7 Гц, 1H), 6,50 (s, 1H), 6,15 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 5,93 – 5,90 (m, 1H), 5,52 (s, 1H), 5,30 (d, J = 17,7 Гц, 1H), 5,00 (d, J = 17,7 Гц, 1H), 4,86 (t, J = 5,0 Гц, 2H), 4,36 – 4,25 (m, 4H), 4,12 – 4,02 (m, 2H), 3,87 (s, 1H), 2,82 (s, 3H), 2,56 – 2,51 (m, 1H), 2,50 (s, 0H), 2,50 (d, J = 1,8 Гц, 0H), 2,33 – 2,26 (m, 2H), 2,15 – 2,06 (m, 2H), 2,04 – 1,97 (m, 2H),

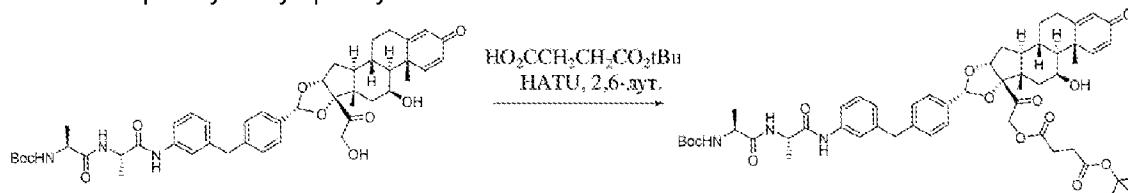
1,84 – 1,80 (m, 1H), 1,77 – 1,60 (m, 4H), 1,37 (s, 3H), 1,26 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,19 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,10 – 0,98 (m, 3H), 0,89 (s, 3H).

Приклад 71.

Синтез 4-(2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-((S)-2-((S)-2-(2-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)ацетамідо)пропанамідо)пропанамідо)бензил)феніл)-7-гідрокси-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-8b-іл)-2-оксоетокси)-4-оксобутанової кислоти

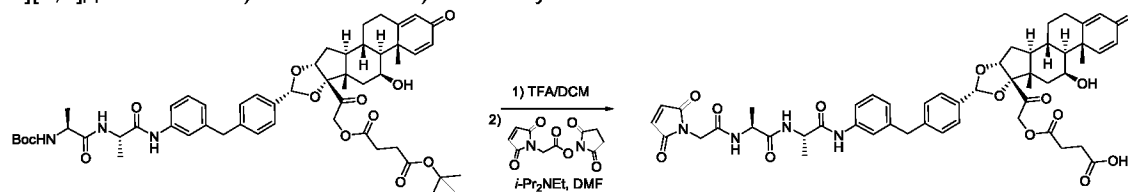


Стадія 1. Синтез 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-((S)-2-((S)-2-(трет-бутоксикарбоніл)аміно)пропанамідо)пропанамідо)бензил)феніл)-7-гідрокси-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-8b-іл)-2-оксоетил-трет-бутилсукцинату



Указану у заголовку сполуку одержували із застосуванням способу, описаного для прикладу 70, із заміною 4-(трет-бутокси)-4-оксобутанової кислоти 2-(диметиламіно)оцтовою кислотою. LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t=1,03$ хв.; MS маса/заряд = 968 $[M+H]^+$.

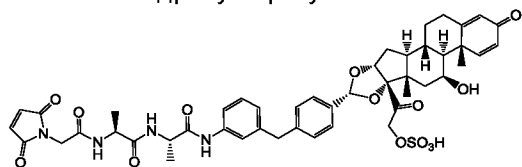
Стадія 2. Синтез 4-(2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-((S)-2-((S)-2-(2-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)ацетамідо)пропанамідо)пропанамідо)бензил)феніл)-7-гідрокси-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-8b-іл)-2-оксоетокси)-4-оксобутанової кислоти



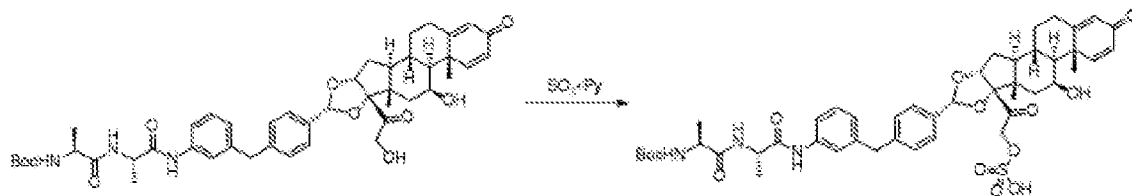
Указану у заголовку сполуку одержували із застосуванням способу, описаного на стадії 2, приклад 69. Її виділяли у вигляді безбарвної твердої речовини (49 мг, 43%). LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t=0,88$ хв.; MS маса/заряд = 948,9 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 12,23 (s, 1H), 9,74 (s, 1H), 8,37 (d, J = 7,3 Гц, 1H), 8,09 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 7,42 – 7,33 (m, 3H), 7,31 – 7,25 (m, 1H), 7,17 (dd, J = 20,7, 7,9 Гц, 3H), 6,90 – 6,84 (m, 1H), 6,15 – 6,09 (m, 1H), 5,90 – 5,87 (m, 1H), 5,48 (s, 1H), 5,07 (d, J = 17,7 Гц, 1H), 4,86 – 4,79 (m, 2H), 4,37 – 4,23 (m, 3H), 4,12 – 3,98 (m, 2H), 3,85 (s, 2H), 2,65 – 2,58 (m, 2H), 2,52 – 2,47 (m, 2H), 2,32 – 2,24 (m, 2H), 2,09 (d, J = 10,8 Гц, 2H), 2,02 – 1,94 (m, 2H), 1,85 – 1,56 (m, 6H), 1,36 (s, 3H), 1,24 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,17 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,10 – 0,95 (m, 3H), 0,85 (s, 3H).

Приклад 72.

Синтез 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-((S)-2-((S)-2-(2-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)ацетамідо)пропанамідо)пропанамідо)бензил)феніл)-7-гідрокси-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-8b-іл)-2-оксоетилгідросульфату

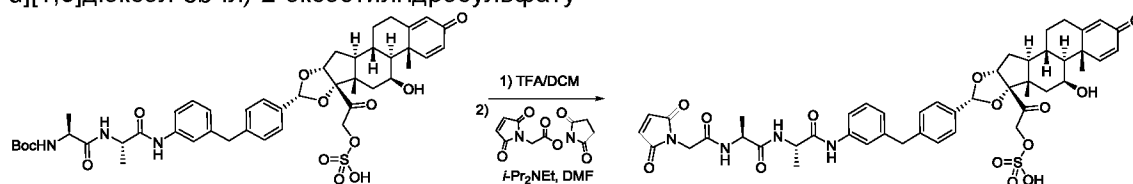


Стадія 1. Синтез 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-((S)-2-((S)-2-(трет-бутоксикарбоніл)аміно)пропанамідо)пропанамідо)бензил)феніл)-7-гідрокси-6a,8a-диметил-4-оксо-2,4,6a,6b,7,8,8a,8b,11a,12,12a,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-8b-іл)-2-оксоетилгідросульфату



До розчину трет-бутил-((S)-1-(((S)-1-((3-(4-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-7-гідрокси-8b-(2-гідроксиацетил)-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-10-іл)бензил)феніл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)аміно)-1-оксопропан-2-іл)карбамату, одержаного таким же способом, як у прикладі 10, стадія 1, (53 мг, 0,065 ммоль) у MeCN (2 мл) додавали комплекс триоксиду піридину і сірки (42 мг, 0,26 ммоль). Суміш потім перемішували за кімнатної температури протягом 2 годин. Неочищений продукт очищували за допомогою C18 HPLC з елююванням за допомогою градієнта розчинника 5-95% MeCN у 0,1 М водному розчині TFA. Фракції, що містять чистий продукт, концентрували за допомогою ліофілізації з одержанням узгадані у заголовку сполуки. LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t=0,83$ хв.; MS маса/заряд = 892,0 $[M+H]^+$.

Стадія 2. Синтез 2-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,10R,11aR,12aS,12bS)-10-(4-(3-((S)-2-((S)-2-(2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-1-іл)ацетамідо)пропанамідо)пропанамідо)бензил)феніл)-7-гідрокси-6а,8а-диметил-4-оксо-2,4,6а,6b,7,8,8а,8b,11а,12,12а,12b-додекагідро-1H-нафто[2',1':4,5]індено[1,2-d][1,3]діоксол-8b-іл)-2-оксоетилгідросульфату



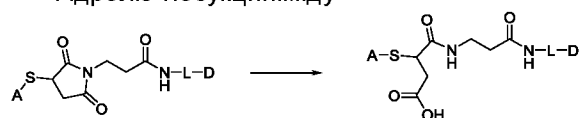
Указану у заголовку сполуку одержували із застосуванням способу, описаного на стадії 2, приклад 69. Її виділяли у вигляді безбарвної твердої речовини (27 мг, вихід 28%). LCMS (Спосіб r, Таблиця 7) $R_t=0,77$ хв.; MS маса/заряд = 928,9 $[M+H]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 9,75 (s, 1H), 8,37 (d, J = 7,3 Гц, 1H), 8,10 (d, J = 7,2 Гц, 1H), 7,44 (d, J = 8,3 Гц, 1H), 7,40 – 7,32 (m, 2H), 7,33 – 7,29 (m, 1H), 7,27 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 7,23 – 7,12 (m, 3H), 7,04 (s, 1H), 6,93 – 6,83 (m, 2H), 6,12 (dd, J = 10,1, 1,9 Гц, 1H), 5,91 – 5,86 (m, 1H), 5,42 (s, 1H), 4,87 (d, J = 5,1 Гц, 1H), 4,84 (s, 1H), 4,74 (d, J = 18,3 Гц, 1H), 4,45 (d, J = 18,3 Гц, 1H), 4,36 – 4,24 (m, 3H), 4,11 – 3,99 (m, 2H), 3,86 (s, 2H), 2,58 – 2,48 (m, 1H), 2,32 – 2,22 (m, 1H), 2,08 (d, J = 11,1 Гц, 1H), 1,98 (s, 1H), 1,77 (s, 2H), 1,75 – 1,56 (m, 4H), 1,36 (s, 3H), 1,24 (d, J = 7,1 Гц, 3H), 1,17 (d, J = 7,0 Гц, 3H), 1,10 – 0,95 (m, 2H), 0,83 (s, 3H).

Приклад 73. Протоколи кон'югації

Загальний протокол кон'югації цистеїну

Приблизно 10 мг/мл розчину необхідного антитіла одержували у PBS-буфері, pH 7,4, а також 10 mM TCEP розчині в PBS (Pierce Bond-Breaker, № за кат. 77720). Антитіла (hlgG1 до hTNF (D2E7) або mlgG2a до mTNF (8C11; McRae BL et al. J Crohns Colitis 10 (1): 69-76 (2016)) потім частково відновлювали шляхом додавання приблизно двох молярних екв. 10 mM TCEP, швидко змішували та інкубували протягом 60 хв. за 37 °C. Потім додавали DMSO до частково відновлених антитіл у достатній кількості до 15% загального DMSO. Для здійснення кон'югації потім додавали 8 молярних екв. 10 mM розчину D-L-малеїміду (де SM являє собою радикал на основі глюкокортикостероїду, і L являє собою лінкер) та інкубували протягом 30 хв. за кімнатної температури. Надлишкову кількість комбінації і DMSO потім видаляли із застосуванням знесолюючих колонок NAP-5 (GE Healthcare, № за кат. 17-0853-02), попередньо врівноважених PBS-буфером, pH 7,4. Знесолені зразки потім аналізували за допомогою ексклюзійної хроматографії (SEC), хроматографії гідрофобної взаємодії (HIC) і мас-спектрометрії зі зменшенням заряду після іонізуючого електророзпилення.

Гідроліз тіосукциніміду



Гідроліз тіосукцинімідного кільця ADC згідно з даним винаходом здійснювали за допомогою інкубування ADC за підвищеного значення pH. Коротко кажучи, одержували 0,7 М розчин аргініну, pH 9,0, і його додавали до кожного ADC у PBS буфері з доведенням загальної концентрації аргініну до 50 mM (pH ~ 8,9). Матеріал потім інкубували за 25°C протягом 72 годин. Гідроліз сукцинімідного кільця потім підтверджували за допомогою мас-спектрометрії зі зменшенням заряду після іонізуючого електророзпилення, після проведення якої гідроліз припиняли за допомогою додавання розчину 0,1 М оцтової кислоти до 12,5 mM загального вмісту оцтової кислоти (pH ~ 7,1).

Загальний протокол кон'югації з лізином

Спочатку одержували приблизно 10 мг/мл розчин необхідного антитіла в PBS буфері, pH 7,4. Вісім молярних екв. D-L-N-гідроксисуциніміду (де SM являє собою радикал глюкокортикостероїду, а L являє собою лінкер) потім додавали до антитіла та інкубували за 23 °C не більш ніж 24 годин у присутності 15% DMSO. Потім кон'юговані зразки знесолювали для видалення надлишку комбінації та DMSO з використанням знесолювальних колонок NAP-5 (GE Healthcare, № за кат. 17-0853-02), врівноважених PBS буфером, pH 7,4. Знесолені зразки потім аналізували за допомогою ексклюзійної хроматографії (SEC), хроматографії гідрофобної взаємодії (HIC) і мас-спектрометрії зі зменшенням заряду після іонізуючого електророзпилення.

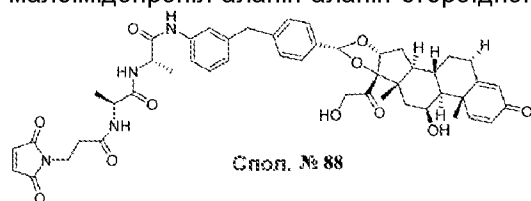
Аналітичні процедури для ADC

Хроматографія гідрофобної взаємодії. ADC профілювали за допомогою хроматографії гідрофобної взаємодії (HIC) для визначення ступеня кон'югації та для визначення приблизних співвідношень лікарського засобу та лікарського засобу на основі антитіла (DAR). Коротко кажучи, 100 мкг ADC завантажували в систему Ultimate 3000 Dual LC (Thermo Scientific), оснащену 4,6 X 35 мм колонкою бутіл-NPR (Tosoh Bioscience, № за кат. 14947). ADC завантажували в колонку, врівноважену в 100% буфері А, та елюювали з використанням лінійного градієнта від 100% буфера А до 100% буфера В за 12 хвилин за 0,8 мл/хв., при цьому буфер А являв собою 25 мМ фосфату натрію, 1,5 М сульфату амонію, pH 7,25, а буфер В являв собою 25 мМ фосфату натрію, 20% ізопропанолу, pH 7,25. DAR визначали за допомогою множення суми відносної площі кожного піку на завантаження відповідного їм лікарського засобу та ділення зваженої суми на 100.

Ексклюзійна хроматографія. Розподіли розмірів ADC профілювали за допомогою ексклюзійної хроматографії (SEC) з використанням системи Ultimate 3000 Dual LC (Thermo Scientific), оснащеної 7,8 X 300 мм колонкою TSK-gel 3000SW_{XL} (Tosoh Bioscience, № за кат. 08541). 20 мкг кожного з ADC завантажували в колонку та елюювали за 17 хв. з використанням ізократичного градієнта за 1 мл/хв. 100 мМ сульфату натрію, 100 мМ фосфату натрію, pH 6,8, за 0,8 мл/хв.

Приклад 74. Одержання адаліумабу, кон'югованого з глюкокортикостероїдом з одержанням ADC

Одержували ADC адаліумаб MP-ala-ala стероїд, що має середнє DAR 3,5, шляхом двостадійного хімічного процесу: дисульфідне відновлення адаліумабу з наступним алкілуванням (кон'югацією) з maleimido-propyl-alanine-alanine-steroidною спол. № 88.



На першій стадії обмежене число міжланцюгових дисульфідних зв'язків адаліумабу відновлювалося за допомогою трис(2-карбоксиетил)фосфіну ("TCEP") ($\geq 1,8$ еквів.). Частково відновлений адаліумаб потім кон'югували зі спол. № 88 (≥ 5 еквів.) у DMSO.

На фігурі 5, яка демонструє хроматографічну роздільну здатність одержаного в результаті препарату ADC, при цьому ADC являє собою гетерогенну суміш, що містить антитіла, які мають нуль приєднаних молекул лінкера лікарського засобу (пік "E0"), дві приєднані молекули лінкера лікарського засобу (пік "E2"), чотири приєднані молекули лінкера лікарського засобу (пік "E4"), шість приєднаних молекул лінкера лікарського засобу (пік "E6") та вісім приєднаних молекул лінкера лікарського засобу (пік "E8"), залежно від числа відновлених міжланцюгових дисульфідних зв'язків. Способи хроматографічного розділення та виділення гомогенних піків E2 та E4 описуються в Hamblett et al., Clin Cancer Res 2004;10:7063-7070. Умови HIC, використовувані на фігурі 5, були наступними.

Колонка являла собою TOSOH Tskgel бутіл-NPR, 4,6 мм x 3,5 см, 2,5 мікрона, а температура колонки становила 30 °C. Довжина хвилі становила 280 нм, час хроматографування становив 22 хвилини, об'єм введення становив 40 мкл, швидкість потоку становила 0,5 мл/хвилина. Рухома фаза А: 25 мМ Na₂HPO₄, pH 7,0, та 1,5 М (NH₄)₂SO₄, рухома фаза В: 25 мМ Na₂HPO₄, pH 7,0/IPA =75/25. Профіль градієнта

Час (хвилини)	Рухома фаза А	Рухома фаза В
0	90	10
2	85	15
18	5	95
18,1	90	10
22	90	10

Способи хроматографічного розділення та виділення гомогенних піків E2 та E4 описуються в Hamblett et al., Clin Cancer Res 2004;10:7063-7070. Коротко кажучи, після гідролізу та доведення до pH

<7,4 суміш із широким розподілом обробляли 3 М сульфатом амонію/50 мМ фосфатним буфером для доведення загальної концентрації розчину сульфату амонію до приблизно 0,8 М. Готували попередньо упаковану колонку для хроматографії гідрофобної взаємодії (HIC) (смола бутілсефарози HP) шляхом дезінфекції 0,5 н. розчином NaOH (4 CV), ополіскування водою для ін'єкції (WFI, 0,5 CV) та врівноваження 0,8 М сульфатом амонію/25 мМ фосфатним буфером (4 CV). Розчин із широким розподілом/забуферений сульфатом амонію розчин завантажували в колонку HIC (приблизне завантаження, 30 мг білка на мл смоли) з наступним промиванням 0,8 М сульфатом амонію/25 мМ фосфатним буфером (2,5 CV). Елювання продукту було наступним: 0,72 М сульфат амонію/25 мМ фосфатний буфер (3 CV), некон'юговане mAb; 0,56 М сульфат амонію/25 мМ фосфатний буфер (4,5 CV), DAR2 ADC; 0,32 М сульфат амонію/25 мМ фосфатний буфер (6,5 CV), DAR4 ADC. Потім фракції продукту DAR2 і DAR4 окремо концентрували до приблизно 30 мг/мл шляхом ультрафільтрації (Millipore Ultracel, порогове значення 30 кДа) з наступною діафільтрацією в WFI (8 CV).

Сукцинімід очищеного кон'югату E4 гідролізували із забезпеченням стабілізованого приєднання шляхом доведення pH розчину продукту до ≥ 9 з використанням аргінінового буфера. Розчин утримували за температури навколишнього середовища протягом ≥ 2 днів, протягом яких визначений аналізом LC-MS гідроліз був завершений на $>90\%$. Див. фігуру 6 для частини хроматограми LC-MS. Умови SEC, використовувані на фігурі 6, були наступними.

Колонка являла собою TOSOH TSK-gel G3000SW_{XL}, 5 мікронів, 250 Å, 7,8 x 300 мм, колонка мала температуру навколишнього середовища, довжина хвилі становила 214 нм, час хроматографування становив 55 хвилин, об'єм введення становив 10 мкл, швидкість потоку становила 0,25 мл/хвилину, температура автоматичного пробовідбірника становила 4 °C. Рухома фаза: 100 мМ Na₂HPO₄ та 100 мМ Na₂SO₄, pH 6,8/IPA = 90/10.

Необроблені (фігура 7) і деконволютовані (фігура 8) дані MS для адаліумабу, кон'югованого з MP-ala-ala-стероїдною спол. № 88. Чорний квадрат і коло являють собою ADC із сукцинімідом, гідролізований і негідролізований, відповідно. Відносний вміст гідролізованого та негідролізованого ADC використовують для визначення гідролізного перетворення.

Гідроліз

Гідроліз сукцинімідного кільця після кон'югації проводили з боратним буфером за pH 8,0, pH 8,5 і pH 9,0 та аргініновим буфером за pH 8,0 та pH 9,0 для дослідження швидкості гідролізу кільця. Результати показані в таблиці 9 нижче.

Гідроліз сукцинімідного кільця

Таблиця 9

Гідроліз сукцинімідного кільця

№ сполуки	Гідроліз після 1 дня/% (pH)					Гідроліз після 2 днів/% (pH)					Гідроліз після 3 днів/% (pH)				
	Борат (8,0)	Борат (8,5)	Борат (9,0)	Арг. (8,0)	Арг. (9,0)	Борат (8,0)	Борат (8,5)	Борат (9,0)	Арг. (8,0)	Арг. (9,0)	Борат (8,0)	Борат (8,5)	Борат (9,0)	Арг. (8,0)	Арг. (9,0)
121	28	37,6	49,7	24,5	63,4	42,6	55,9	71,8	33,8	84,4	56	72,1	85,4	46,5	100
122	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
123	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
124	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
125	38,2	49,8	64,5	29,8	75,7	56,4	71,5	88,6	42,2	100	73,6	86,2	100	58	100
126	30,5	37,7	50,3	23,5	59,3	44,5	57,1	72,2	33,4	82,4	58,7	74,9	90,3	45,8	100
127	32,2	40,8	53,9	24,6	63	46,4	60,1	75,1	33,7	84,7	61,2	77	90,3	48,5	100
128	28,6	35,6	48,4	20,7	56,9	40,8	53,6	69,9	30,1	82,5	54,9	71,5	88,9	42,6	100
129	39,1	49,6	65,7	30	76,6	57,5	71,9	88,4	42,1	100	73,9	100	100	58,7	100
130	84,3	100	100	74,4	100	100	100	100	94,2	100	100	100	100	100	100
131	28,6	35,2	49,5	23,9	55,4	40,9	51,4	67,7	29,8	79,2	53,4	68,1	85,6	41,7	100

Приклад 75. Активність низькомолекулярних стероїдів in vitro

Аналіз зв'язування глюкокортикоїдного рецептора

Малі молекули тестували щодо зв'язування глюкокортикоїдного рецептора (GR) з використанням набору для аналізу глюкокортикоїдного рецептора Polarscreen™, Red (ThermoFisher A 15898) відповідно до протоколу виробника. Коротко кажучи, сполуки послідовно розводили за допомогою DMSO, потім переносили в буфер з аналітичного набору за розведення 1:10. Сполуки додатково розводили 1:5 буфером з аналітичного набору та 10 мкл переносили в 384-лунковий низькооб'ємний планшет із чорними стінками (Corning 4514). 5 мкл вихідного розчину 4X Fluormone GS Red і 5 мкл повнорозмірного вихідного розчину 4x GR додавали в кожен лунку, яка містить тестовану сполуку, та планшети інкубували захищеними від світла за кімнатної температури протягом 4 годин. Вимірювали

флуоресцентну поляризацію (mP) для кожного планшета з використанням планшет-ридера EnVision Multilabel (Perkinelmer, № 2104-0010) та дані аналізували з використанням побудови чотирипараметричної кривої для одержання значень EC50. Результати показані в таблиці 10 нижче.

Клітинний аналіз мінералокортикоїдного рецептора

Малі молекули тестували щодо агоністичної активності щодо мінералокортикоїдних рецепторів (MR) з використанням клітинної лінії PathHunter® NHRPRO CHO-K1 MR (DiscoveRx, № за кат. 93-0451C2) відповідно до протоколу виробника. Коротко кажучи, 20000 клітин/лунка в культуральному середовищі висівали в 96-лунковий планшет із половинним об'ємом лунок (Costar, № за кат. 3885) протягом ночі за 37 °C. Середовище видаляли та заміняли послідовно розведеними малими молекулами в аналітичному середовищі (30 мкл; кінцевий 0,3% DMSO). Планшети інкубували протягом ночі за 37 °C. Середовище видаляли, заміняли реагентом для виявлення (DiscoveRx, № за кат. 93-0001; 12 мкл/лунка) та інкубували за кімнатної температури (RT) протягом 60 хвилин. Вимірювали люмінесценцію для кожного планшета з використанням планшет-ридера EnVision Multilabel (Perkinelmer, № 2104-0010) та дані аналізували з використанням побудови чотирипараметричної кривої для одержання значень EC50. Результати показані в таблиці 10 нижче.

Аналіз зв'язування прогестеронового рецептора

Малі молекули тестували щодо зв'язування прогестеронового рецептора (PR) з використанням модифікації аналізу LanthaScreen® TR-FRET Progesterone Receptor Coactivator Assay (Thermofisher, № за кат. A15903), при цьому мічений флуоресцеїном коактиваторний пептид заміняли Fluormone AL-Red (Thermofisher, № за кат. PV4294) для поліпшення сигналу під час аналізу. Коротко кажучи, сполуки послідовно розводили за допомогою DMSO, потім переносили в аналітичний буфер (Thermofisher, № за кат. PV4301 + 5 mM DTT) за розведення 1:10. 10 мкл сполуки переносили в 96-лунковий чорний планшет із половинною площею лунок (Corning, № за кат. 3694) у двох повторностях. Додавали 5 мкл білка PR-LBD (4 нМ вихідний розчин в аналітичному буфері; Thermofisher, № за кат. P2899) в кожен лунку. Крім того, в кожен лунку також додавали 5 мкл одержаної суміші Fluormone AL-Red (12 нМ) і міченого тербієм моноклонального антитіла (mAb) до GST (20 нМ; Thermofisher, № за кат. PV3550) в аналітичному буфері. Планшети інкубували за кімнатної температури (RT) протягом 2 годин, а потім вимірювали коефіцієнт емісії TR-FRET з використанням планшет-ридера EnVision Multilabel (Perkinelmer, № 2104-0010). Дані аналізували з використанням побудови чотирипараметричної кривої для одержання значень EC50. Результати показані в таблиці 10 нижче.

Аналіз зв'язування андрогенного рецептора

Малі молекули тестували щодо зв'язування андрогенного рецептора (AR) з використанням модифікації аналізу LanthaScreen® TR-FRET Androgen Receptor Coactivator Assay (Thermofisher, № за кат. A15878), при цьому мічений флуоресцеїном коактиваторний пептид заміняли Fluormone AL-Red (Thermofisher, № за кат. PV4294) для поліпшення сигналу під час аналізу. Коротко кажучи, сполуки послідовно розводили за допомогою DMSO, потім переносили в аналітичний буфер (Thermofisher, № за кат. PV4295 + 5 mM DTT) за розведення 1:10. 10 мкл сполуки переносили в 96-лунковий чорний планшет із половинною площею лунок (Corning, № за кат. 3694) у двох повторностях. Додавали 5 мкл білка AR-LBD (5 нМ вихідний розчин в аналітичному буфері; Thermofisher, № за кат. 3009) у кожен лунку. Крім того, в кожен лунку також додавали 5 мкл одержаного вихідного розчину Fluormone AL-Red (20 нМ) і міченого тербієм моноклонального антитіла (mAb) до GST (30 нМ; Thermofisher, № за кат. PV3550) в аналітичному буфері. Планшети інкубували за кімнатної температури (RT) протягом 6 годин, потім вимірювали коефіцієнт емісії TR-FRET з використанням планшет-ридера EnVision Multilabel (Perkinelmer, № 2104-0010). Дані аналізували з використанням побудови чотирипараметричної кривої для одержання значень EC50. Результати показані в таблиці 10 нижче.

Аналіз за репортером GRE

Вихідні клітини K562 GRE (pGL4,36[luc2P/MMTV/Hygro]), описані в прикладі 78, висівали в 96-лункові білі планшети для обробки культури тканин (Costar: 3917) за 50000 клітин на лунку в 50 мкл аналітичного середовища (RPMI, 1% CSFBS, 1% L-глутамін, 1% Na піруват і 1% MEAA). Низькомолекулярні сполуки агоніста GR послідовно розводили за вихідної концентрації 100 мкМ і послідовно розводили в 4 рази за допомогою 100% DMSO. Низькомолекулярні сполуки далі розводили аналітичним середовищем шляхом перенесення 2 мкл послідовно розведених сполук у 248 мкл аналітичного середовища в планшет для вторинного розведення (розведення 1:125). Потім клітини обробляли за допомогою 25 мкл розведеної 1:125 сполуки агоніста GR для кінцевої вихідної концентрації 266,7 нМ (1:3) або середовищем окремо та інкубували протягом 24 годин за 37 °C, 5% CO₂. Після 24-годинної інкубації клітини обробляли за допомогою 75 мкл Dual-Glo Luciferase Assay System (Promega-E2920) протягом 10 хвилин та аналізували щодо люмінесценції з використанням TopCount або MicroBeta2 (PerkinElmer).

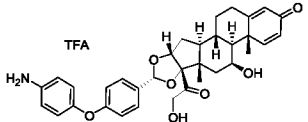
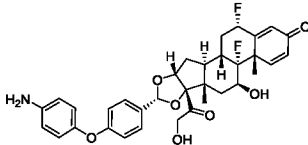
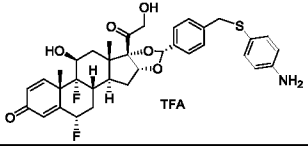
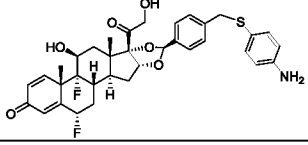
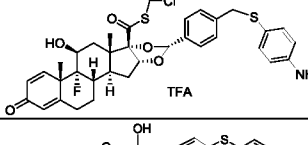
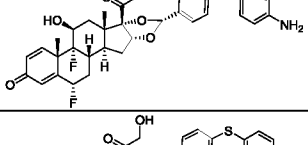
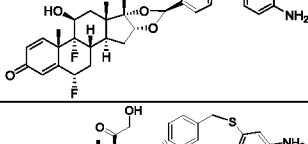
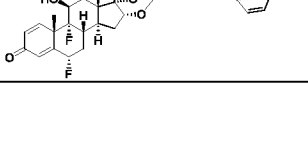
Аналіз зв'язування естрогенного рецептора

Малі молекули тестували щодо зв'язування естрогенного рецептора (ER) альфа з використанням модифікації аналізу LanthaScreen® TR-FRET Estrogen Receptor Alpha Coactivator Assay (Thermofisher, № за кат. A15885), при цьому мічений флуоресцеїном коактиваторний пептид заміняли Fluormone ES2

Green (Thermofisher, № за кат. PV6045) для поліпшення сигналу під час аналізу. Коротко кажучи, сполуки послідовно розводили за допомогою DMSO, потім переносили в аналітичний буфер (Thermofisher, № за кат. PV4295 + 5 мМ DTT) за розведення 1:10. 10 мкл сполуки переносили в 96-лунковий чорний планшет із половинною площею лунок (Corning, № за кат. 3694) у двох повторностях. Додавали 5 мкл білка ER-LBD (5 нМ вихідний розчин в аналітичному буфері; Thermofisher, № за кат. 4542) в кожну лунку. Крім того, в кожну лунку також додавали 5 мкл одержаного вихідного розчину Fluormone ES2 Green (12 нМ) та міченого тербієм моноклонального антитіла (mAb) до GST (8 нМ; Thermofisher, № за кат. PV3550) в аналітичному буфері. Планшети інкубували за кімнатної температури (RT) протягом 4 годин, а потім вимірювали коефіцієнт емісії TR-FRET з використанням планшет-ридера EnVision Multilabel (Perkinelmer, № 2104-0010). Дані аналізували з використанням побудови чотирипараметричної кривої для одержання значень EC50. Результати показані в таблиці 10 нижче.

Таблиця 10

Активність in vitro

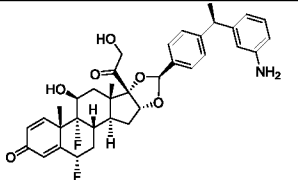
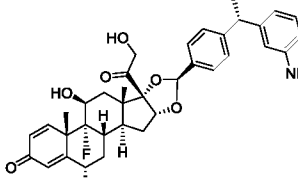
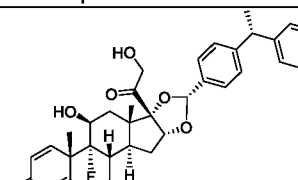
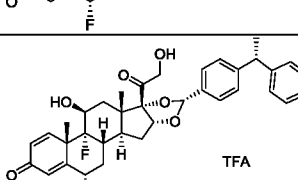
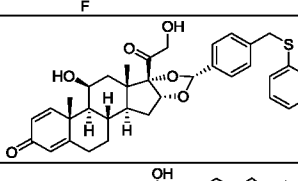
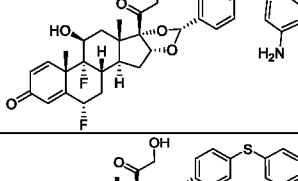
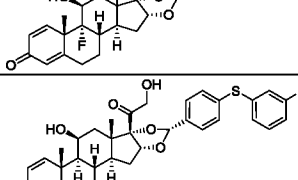
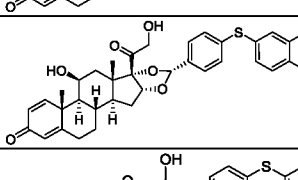
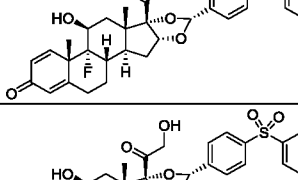
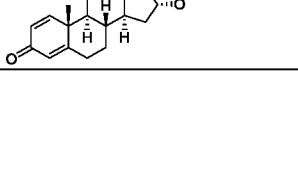
Спол. №	Хімічна структура	IC ₅₀ зв'язування GR (мкМ)	EC ₅₀ репортера GRE (мкМ)	EC ₅₀ MR (агоніст) (мкМ)	IC ₅₀ зв'язування PR (мкМ)	IC ₅₀ зв'язування ER (мкМ)	IC ₅₀ зв'язування AR (мкМ)
2(TFA)		0,0066	NT	NT	NT	NT	NT
3		0,0036	0,0002	0,0846	0,0026	30++	>30
4 (TFA)		0,0095	0,0003	0,836 0,957	0,0198	>30	3,99
5		0,0120	0,0184	NT	NT	NT	NT
6 (TFA)		0,0641	0,0396	NT	NT	NT	NT
7		0,0155	0,0005	0,515 0,300	0,0157	>30	>30
8		0,0201	0,0151	NT	NT	NT	NT
9		0,0094	0,0001	2,61	0,0116	30++	>30

10		0,0156	0,0001	0,305	0,0105	5,13	>30
11		0,0139	0,0185	NT	NT	NT	NT
12		0,0247	0,0161	NT	NT	NT	NT
13		0,0157	0,0009	10,1 >30	0,0154	>30	>30
14		0,0255	0,0001	0,119	0,0222	2,71	>30
15		0,0149	0,0006	0,141	0,0165	3,77	>30
16		0,0537	0,0188	NT	NT	NT	NT
17		0,0278	0,0656	NT	NT	NT	NT
18		0,0437	0,0299	NT	NT	NT	NT
19 (TFA)		0,0101	0,0152	NT	NT	NT	NT
20		0,0194	0,0002	0,521	0,0186	0,814	>30
20 (TFA)		0,0086	0,0003	1,64 1,64	0,0171	30++	>30

21		0,0094	0,0002	0,149 4,42	0,0073	>30	>30
22		0,0283	0,0075	NT	NT	NT	NT
22 (TFA)		0,0082	0,0233	NT	NT	NT	NT
23		0,0108	0,0051	NT	NT	NT	NT
24 (TFA)		0,0138	0,0023	1,06	0,0089	30++	>30
25		0,0216	0,0002	3,09	0,0133	30++	>30
26		0,0256	0,0167	NT	NT	NT	NT
27		0,0102	NT	NT	NT	NT	NT
28		0,0146	0,0419	NT	NT	NT	NT
29		0,0132	0,0011	NT	NT	NT	NT
30		0,0177	0,0078	NT	NT	NT	NT

31		0,0107	0,0003	NT	NT	NT	NT
32		0,0074	0,0001	3,56	0,013	30++	>30
33		0,0169	0,0306	NT	NT	NT	NT
34		0,0122	0,0034	NT	NT	NT	NT
35		0,0034	0,0214	NT	NT	NT	NT
35 (TFA)		0,0067	0,0178	0,407 0,407+	0,256	30++	>30
36 (TFA)		0,0034	0,0002	0,129 >30	0,052	>30	>30
37		0,0131	0,1320	2,12 5,05	1,09	>30	>30
38		0,0128	0,266++	0,876 1,47	1,19	>30	9,28
39		0,0156	0,0322	0,422	0,137	30++	>30

40		0,0111	0,0007	>30 >30	0,106	>30	>30
41		0,0028	0,0014	30++	0,076	30++	>30
42		0,0124	0,0004	10,1	0,0873	9,75	>30
45 (TFA)		0,0661	0,0013	30++ >10	0,08	6,48	>14,42
46 (TFA)		0,0267	0,0541	30++	2,13	30++	>30
47		0,0065	0,0042	3,86	0,171	>30	NT
48		0,0118	0,0871	>30	0,108	>30	NT
49		0,0056	0,0183	>30	2,7	>30	NT
50		0,0080	0,0009	10,1 0,751	0,0345	30++	>30
51 (TFA)		0,0042	0,0006	4,98	0,0136	30++	>30

52		NT	NT	NT	NT	NT	NT
53		0,0065	0,0009	NT	NT	NT	NT
54		0,0095	0,0003	0,269 6,23	0,0527	>30	>30
55 (TFA)		0,0114	0,0004	10,5 >30	0,0933	>30	>30
57		0,0063	0,0015	10,1	0,0914	30++	>30
58		0,0078	0,0013	0,830	0,0341	5,98	NT
59		0,0127	0,0004	0,179	0,0134	>30	NT
60		0,0121	0,0017	>30	0,0699	>30	NT
61		0,0302	0,0191	>30	0,839	>30	NT
62		0,0210	0,0030	0,475	0,0248	>30	NT
63		0,0038	0,0067	>30	0,447	>30	NT

64		0,0116	0,0214	30++	0,121	>30	NT
65		NT	NT	NT	NT	NT	NT
66		NT	NT	NT	NT	NT	NT
67		0,00749	0,00313	30++	0,181	30++	NT
68		NT	NT	NT	NT	NT	NT
69		0,012	0,00244	30++	0,0096	30++	NT
70		0,0198	0,00932	NT	NT	NT	NT

++ вказує на те, що повідомлені дані являють собою середнє значення декількох точок даних, і повідомлені дані слід розуміти як "більші за" повідомлені дані.
"NT" означає "не тестували".

Приклад 76. Стабільність імунокон'югатів до TNF-альфа Матрична стабільність

Стероїдні ADC до TNF α тестували щодо їхньої сприйнятливості до передчасного вивільнення навантаження малої молекули за фізіологічних умов. У даних експериментах ADC розводили в плазмі крові (людини, мавпи, миші або щура) або в буфері у двох повторностях та інкубували протягом 6 днів за 37 °C, 5% CO₂. Кожний зразок блокували в момент часу 0 хвилин і в різні моменти часу протягом 6-денного періоду. Потім зразки аналізували з використанням LC/MS/MS та порівнювали зі стандартними кривими щодо відповідної малої молекули. Розраховували % максимального вивільнення навантаження малої молекули з плином часу. Результати наведені в таблиці 11 нижче.

Таблиця 11

Стабільність стероїдних ADC до TNF α

Матрична стабільність (% максимального вивільнення SM)				
Спол. №	PBS буфер	Плазма крові людини	Плазма крові яванської макаки	Плазма крові миші
136	0,00864	8,34E-04	0,0165	0,0327
137	0	0	0	0
138	0,00954	0,00471	0,00444	0,0215

139	0	0	0	0
142	0,00306	0	0,00766	0,0564
144	0	0	0	0
145	0,00451	0	0	0
146	0,031	0,016	0,0306	0,0744
147	0	0	0	0,00565
148	4,51E-04	0,0032	0,0188	0,0162
149	0	0	0	0,00648
150	0,00809	0	0,0153	0,074
152	0,00513	0	5,42E-04	0,0392
153	0	4,01E-04	0	0,132
154	0,00E+00	0	0	0
155	0	0	0	0
156	0	0	0	0,152
157	0,0134	0,00559	0	0,026

Ці результати показують, що стероїдні ADC до TNF α є стабільними в буфері та плазмі крові декількох видів і що спостерігається мінімальне вивільнення малої молекули.

Протеолітична стабільність

Сприйнятливості стероїдних ADC до вивільнення їхнього навантаження за допомогою обробки протеазою порівнювали з ADC, створеним із використанням лінкера лікарського засобу vscMMAE, кон'югованого з антитілом до мишачого CD-19. ADC (середнє DAR 4) інкубували або з катепсином В, або з протеїназою К і вивільнення навантаження аналізували за допомогою LC-MS у різні моменти часу (0, 1, 4, 7 та 24 години).

Результати показані на фігурі 1 та демонструють, що стероїдні ADC є стійкими до екзогенного опосередкованого катепсином вивільнення навантаження з ADC. Це контрастує з відомим ADC з лінкером навантаження (vscMMAE), де MMAE вивільнюється в значних кількостях після обробки катепсином. Ці дані вказують на те, що стероїдні ADC є набагато менш сприйнятливими до передчасного вивільнення навантаження, яке є результатом активності катепсину в кровотоці, ніж відомі ADC. Дійсно, вивільнення стероїду спостерігається тільки з протеїназою К, серинпротеазою, яка демонструє широку специфічність розщеплення. Це вказує на те, що частина антитіла в стероїдному ADC повинна бути значно катаболізована до розщеплення стероїдного лінкера та що вивільнення навантаження може бути обмежене середовищем, у якому може відбуватися розщеплення остова антитіла в ADC, таким як лізосома.

Розщеплення катепсином В

Одержували 0,2 мг/мл вихідний розчин катепсину В (Sigma) в буфері (25 мМ Tris, 50 мМ NaCl і 5% гліцерину). Для одержання 10 мкг/мл робочого розчину катепсину В 5 мкл вихідного розчину 0,2 мг/мл катепсину В змішували з 95 мкл активаційного буфера (50 мМ ацетат натрію, pH 5, 1 мМ EDTA та 5 мМ DTT) та інкубували за 37 °C протягом 15 хвилин. Для розщеплення ADC 20 мкл 100 мкг/мл ADC і 20 мкл робочого розчину катепсину В змішували зі 160 мкл буфера для розведення (50 мМ ацетат натрію, 1 мМ EDTA). Зразок інкубували за 37 °C зі струшуванням та видаляли 40-мкл аліквоти через 0, 1, 4, 7 та 24 години. У кожну аліквоту додавали 160 мкл блокувального розчину (0,1% мурашина кислота; 1:1 MeOH:MeCN; 100 нМ карбутамід) і вивільнену малу молекулу виявляли за допомогою LC-MS/MS, як описувалося раніше.

Розщеплення протеїназою К

Одержували 5 мг/мл вихідного розчину протеїнази К (Sigma) в деіонізованій (DI) воді. Одержували 0,25 мг/мл робочий розчин протеїнази К шляхом змішування 50 мкл 5 мг/мл протеїнази К з 950 мкл буфера для розведення (1x HBSS і 1 мМ EDTA). Для розщеплення ADC 20 мкл 100 мкг/мл ADC і 40 мкл робочого розчину протеїнази К змішували зі 140 мкл буфера для розведення. Зразок інкубували за 37 °C зі струшуванням та видаляли 40-мкл аліквоти через 0, 1, 4, 7 та 24 години. У кожну аліквоту додавали 160 мкл блокувального розчину (0,1% мурашина кислота; 1:1 MeOH:MeCN; 100 нМ карбутамід) і вивільнену малу молекулу виявляли за допомогою LC-MS/MS, як описувалося раніше.

Приклад 77. Стабільність імункон'югатів до TNF-альфа in vivo

Оцінювали сприйнятливості стероїдного ADC до втрати лінкера лікарського засобу у мишей. MP-Ala-Ala-стероїд кон'югували з людським mAb IgG1 (середнє DAR 4) та інкубували за pH 9 для каталізу гідролізу, що розкриває кільце, для тіосукцинімідного кільця. Після нейтралізації стероїдний ADC вводили ін'єкцією мишам і контролювали кінетичні показники втрати лінкера лікарського засобу протягом 7 днів за допомогою LC-MS.

У цих експериментах ADC, складений у фосфатно-сольовому буферному розчині, вводили внутрішньовенно 15 самцям мишей DBA/1 за 5 мг/кг. Трьох мишей умертвляли через 1 годину, 24

години, 72 години, 168 годин та 240 годин після введення дози. Цільну кров з EDTA збирали та одержували сироватку крові для in vivo аналізу DAR за допомогою мас-спектрометрії.

Попереднє розведення зразків сироватки крові

Зразки сироватки розводили в сироватці крові коня (Life technologies, 16050-122) на основі загальних концентрацій антитіл ADC, виміряних за допомогою аналізу зв'язування загального антитіла з лігандом. Розведення були основані на оцінках кінцевої концентрації в діапазоні 10-30 мкг/мл, що є придатним для верхньої межі зв'язувальної здатності магнітних мікроносіїв.

Імуноафінне та афінне очищення

У пробірку LoBind з білком (Eppendorf North America) додавали 350 мкл сироватки крові коня до 100 мкл кожного попередньо розведеного зразка ADC сироватки крові до загального об'єму 450 мкл, а потім додавали 4 мкг біотин-антитіло до людського Fc (2 мкл біотин-антитіло до людського Fc за 2 мкг/мл розчину). Зразки інкубували протягом 2 годин (год.) за кімнатної температури зі струшуванням за 900 об./хв. на орбітальному шейкері. Для кожного зразка сироватки крові 50 мкл зависі покритих стрептавідином магнітних мікроносіїв (Pierce, № за кат. 88817) урівноважували за допомогою 0,1% Tween у PBS буфері (PBST) у пробірці LoBind. Фосфатно-сольовий буферний розчин із буфером Tween 20 (PBST) видаляли піпеткою після відтягування магнітних мікроносіїв до стінки пробірки LoBind шляхом розміщення пробірки LoBind на магнітну підставку. Зразки сироватки крові після 2 годин інкубації з реагентом захоплення антитіла до людського антигена переносили в пробірки LoBind, що містять урівноважені магнітні мікроносії, та інкубували за кімнатної температури протягом 1 години за 900 об./хв. на орбітальному шейкері. Сироватку крові видаляли після інкубації з магнітним мікроносієм та магнітний мікроносіє ретельно промивали за допомогою 500 мкл PBST (3 рази), а потім 500 мкл 5% MeOH у воді MilliQ (3 рази). Зв'язані з магнітним мікроносієм ADC вивільняли шляхом інкубації магнітних мікроносіїв зі 100 мкл 0,5% мурашиної кислоти в 50% MeOH/вода MilliQ протягом 15 хвилин.

Відновлення очищеного ADC

Вивільнений ADC відновлювали шляхом додавання 10 мкл відновлювального реактиву (10 mM TCEP, свіжоприготовленого з порошку, придбаного у Thermo Scientific, із 10 mM EDTA в 2 M, pH 7,5, буфер Tris) у 100 мкл зразка та інкубували за 37°C протягом 30 хвилин.

LC/MS аналіз

Відновлені зразки (10 мкл) вводили в систему Agilent 6550 QToF LC/MS за допомогою автоматичного пробовідбірника з контрольованою температурою (5°C) CTC. Елювання зразків виконували на колонці Waters C-4, 3,5 мкм, 300 Å, 2,1 x 50 мм в.д. для HPLC. Рухомі фази являли собою: А: 0,1% мурашина кислота у воді, та В: 0,1% мурашина кислота в MeCN; швидкість потоку становила 0,45 мл/хв.; а комірку колонки підтримували за 40 °C.

Градiєнт HPLC був наступним:

Час (хв.)	%A	%B
0	95	5
0,6	95	5
1,1	10	90
2,2	10	90
2,4	95	5
3,5	95	5

Виконували аналіз MS високої роздільної здатності для відновленого ADC на квадрупольному часопротітному Agilent 6550 (Agilent Technology, Санта-Клара, Каліфорнія, США), оснащеному джерелом іонізації електророзпиленням Dual Agilent Jet Stream (ESI), що функціонує в режимі визначення позитивних іонів. Мас-спектрометр працював у режимі розширеного динамічного діапазону (2 ГГц) із діапазоном MS до 3200 маса/заряд. Первинне джерело ESI використовували для аналізу LC/MS, а вторинний зонд ESI використовували для введення калібрувального розчину за 922,009798 маса/заряд для досягнення калібрування MS у режимі реального часу. Мас-спектрометр щоденно відкалібровували. Типові масові помилки аналітів порівняно з теоретичними масами становили менш ніж ± 5 частин на мільйон у щоденних операціях. Дані MS обробляли з використанням MassHunter Qual Browser Build 5.0.

Спектральна деконволюція MS

Спосіб максимальної ентропії в пакеті програмного забезпечення MassHunter Bioconfirm використовували для деконволюції мас-спектрів множинних заряджених іонів для одержання нейтральних молекулярно-масових спектрів. Інтенсивність деконволютованих піків використовували для розрахунку DAR.

Виразовування значень DAR з деконволютованого спектра MS

Значення DAR розраховували з використанням деконволютованої пікової інтенсивності MS на основі наступних рівнянь.

Значення DAR із легкого ланцюга (LC): $LC\ DAR = (2 \times \text{пікова інтенсивність } LC^{\wedge}) / ((\text{пікова інтенсивність } LC + \text{пікова інтенсивність } LC^{\wedge}))$,

LC та $LC^{\wedge}$ являють собою легкі ланцюги з нуля та одним лінкером лікарського засобу відповідно.

Значення DAR із важкого ланцюга (HC):

$HC\ DAR = 2 \times (\text{пікова інтенсивність } HC^{\wedge} + 2 \times \text{пікова інтенсивність } HC^{\wedge\wedge} + 3 \times \text{пікова інтенсивність } HC^{\wedge\wedge\wedge}) / (\text{пікова інтенсивність } HC + \text{пікова інтенсивність } HC^{\wedge} + \text{пікова інтенсивність } HC^{\wedge\wedge} + \text{пікова інтенсивність } HC^{\wedge\wedge\wedge})$,

HC, $HC^{\wedge}$, $HC^{\wedge\wedge}$ та $HC^{\wedge\wedge\wedge}$ являють собою важкі ланцюги з нуля, одним, двома та трьома лінкерами лікарського засобу відповідно.

Загальне DAR = LC DAR + HC DAR.

Результати

Результати показані на фігурі 2. Даний приклад показує, що спостерігається мінімальна втрата лінкера лікарського засобу зі стероїдного ADC за 7 днів.

Приклад 78. Створення клітинних ліній "людський та мишачий трансмембранний TNF-альфа GRE репортер"

Для створення вихідної клітинної лінії клітини K562 висівали в 6-лункову чашку (Costar: 3516) із 2 мл повного поживного середовища (RPMI, 10% FBS, 1% L-глутамін, 1% Na піруват і 1% MEM NEAA) за 500000 клітин на лунку протягом 24 годин за 37 °C, 5% CO₂. Наступного дня 1,5 мкг pGL4,36[Luc2P/MMTV/Hygro] (Promega: E316), 1,5 мкг pGL4,75[hRLuc/CMV] (Promega: E639A) та 3 мкл реагенту PLUS (Invitrogen: 10964-021) розводили в 244 мкл Opti-MEM (Gibco: 31985-070) та інкубували за кімнатної температури протягом 15 хвилин. Вектор pGL4,36[luc2P/MMTV/Hygro] містить MMTV LTR (довгий кінцевий повтор мишачого вірусу пухлини молочної залози), який керує транскрипцією репортерного гена люциферази luc2P у відповідь на активацію декількох ядерних рецепторів, таких як глюкокортикоїдний рецептор і андрогенний рецептор. Вектор pGL4,75[hRLuc/CMV] кодує репортерний ген люциферази hRLuc (*Renilla reniformis*) і призначений для високого рівня експресії та зменшення аномальної транскрипції. Після інкубації розведений розчин ДНК попередньо інкубували з 1:1 розчином ліпофектаміну LTX (Invitrogen: 94756) (13,2 мкл + 256,8 мкл Opti-MEM) та інкубували за кімнатної температури протягом 25 хвилин з утворенням комплексів ДНК-ліпофектаміну LTX. Після інкубації 500 мкл комплексів ДНК-ліпофектаміну додавали безпосередньо в лунку, що містить клітини. Клітини K562 трансфікували протягом 24 годин за 37 °C, 5% CO₂. Після інкубації клітини промивали за допомогою 3 мл PBS і відбирали за допомогою повного поживного середовища, що містить 125 мкг/мл гігromіцину В (Invitrogen: 10687-010) протягом двох тижнів. Одержували клітини "K562 pGL4,36[Luc2P/MMTV/Hygro]_pGL4,75[hRLuc/CMV]".

Для створення клітинної лінії "мишачий трансмембранний TNF-альфа GRE репортер" вихідні клітини K562 pGL4,36[Luc2P/MMTV/Hygro]_pGL4,75[hRLuc/CMV] висівали в 6-лункову чашку (Costar: 3516) із 2 мл повного поживного середовища (RPMI, 10% FBS, 1% L-глутамін, 1% Na піруват і 1% MEM NEAA) за 500000 клітин на лунку протягом 24 годин за 37 °C, 5% CO₂. Наступного дня 3 мкг mFL_TNFα ДНК (Origene: MC208048), що кодує немічений мишачий TNF, та 3 мкл реагенту PLUS (Invitrogen: 10964-021) розводили в 244 мкл Opti-MEM (Gibco: 31985-070) та інкубували за кімнатної температури протягом 15 хвилин. Після інкубації розведений розчин ДНК попередньо інкубували з 1:1 розчином ліпофектаміну LTX (Invitrogen: 94756) (13,2 мкл + 256,8 мкл Opti-MEM) та інкубували за кімнатної температури протягом 25 хвилин з утворенням комплексів ДНК-ліпофектаміну LTX. Після інкубації 500 мкл комплексів ДНК-ліпофектаміну додавали безпосередньо в лунку, що містить клітини. Вихідні клітини K562 pGL4,36[Luc2P/MMTV/Hygro]_pGL4,75[hRLuc/CMV] трансфікували протягом 24 годин за 37 °C, 5% CO₂. Після інкубації клітини промивали за допомогою 3 мл PBS і відбирали за допомогою повного поживного середовища, що містить 125 мкг/мл гігromіцину В (Invitrogen: 10687-010) та 250 мкг/мл G418 (Gibco: 10131-027) протягом двох тижнів. Одержували клітини "K562 мишачий FL-TNFα GRE (pGL4,36[luc2P/MMTV/Hygro])".

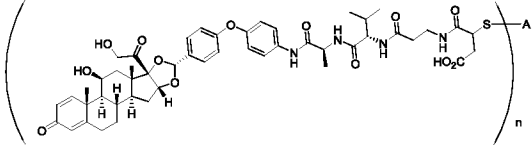
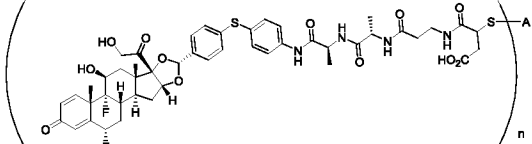
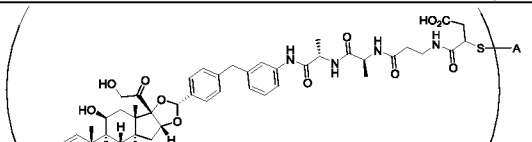
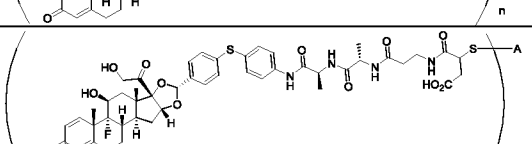
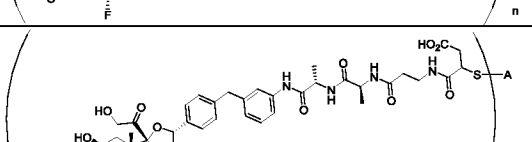
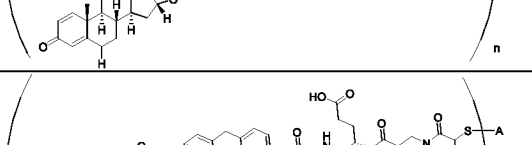
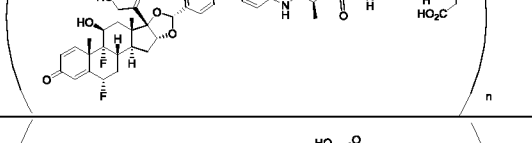
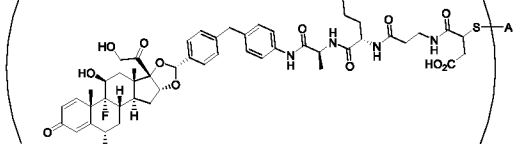
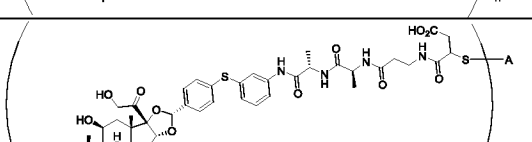
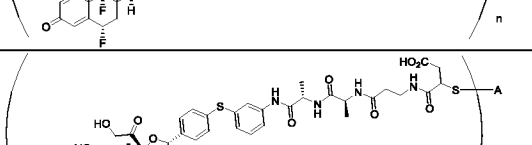
Для створення клітинної лінії "людський трансмембранний TNF-альфа GRE репортер" вихідні клітини K562 pGL4,36[Luc2P/MMTV/Hygro]_pGL4,75[hRLuc/CMV] трансфікували плазмідною конструкцією hTNF delta 1-12 C-Мус pcDNA3,1(-). Ця плазміда являє собою pcDNA 3.1 (ThermoFisher, № за кат. V79020), що кодує стійкий до TACE трансмембранний TNF (тобто SEQ ID NO:1 без амінокислот 77-88). (Див. Perez C et al. Cell 63 (2): 251-8 (1990), де обговорюється стійкий до TACE трансмембранний TNF.) Потім ці клітинні лінії використовували в аналізах за репортером TNF-альфа, що описуються в наступних прикладах.

Приклад 79. Активність імункон'югатів до TNF-альфа в аналізах щодо трансмембранного TNF-альфа з використанням репортера GRE

Вихідні клітини K562 GRE (pGL4,36[luc2P/MMTV/Hygro]) та клітини K562 mFL-TNF-α або hTNF delta 1-12 GRE (pGL4,36[luc2P/MMTV/Hygro]) висівали в 96-лункові білі планшети для обробки культури тканин (Costar: 3917) за 50000 клітин на лунку в 50 мкл аналітичного середовища (RPMI, 1% CSFBS,

1% L-глутамін, 1% Na пірват і 1% MEAA). Клітини обробляли за допомогою 25 мкл 3х послідовно розведених кон'югатів лікарського засобу з антитілом до мишачого або людського TNF-а в аналітичному середовищі, стероїдній сполуці або середовищі окремо та інкубували протягом 48 годин за 37 °C, 5% CO₂. Після 48-годинної інкубації клітини обробляли за допомогою 75 мкл Dual-Glo Luciferase Assay System (Promega-E2920) протягом 10 хвилин та аналізували щодо люмінесценції з використанням TopCount (PerkinElmer). Дані аналізували з використанням побудови чотирипараметричної кривої для одержання значень EC50. % максимальної активації нормалізували до 100 мМ дексаметазону, який вважали максимальною активацією. Результати використання клітинної лінії мишачого TNF-альфа показані в таблиці 12 нижче, а результати використання клітинної лінії людського TNF-альфа показані в таблиці 13 нижче. У таблиці 12 нижче A стосується 8C11. У таблиці 13 нижче A стосується адаліумабу (SEQ ID NO: 66 і 73). Відсоток (%) мономера визначали за допомогою SEC, як описувалося раніше (див. аналітичні процедури для ADC).

In vitro активність кон'югатів лікарського засобу з антитілом до мишачого TNF α в аналізі за репортером у мишачому трансмембранному TNF α GRE (A стосується антитіла до мишачого TNF α 8C11)

141		4	98	0,144	96	>50	43
142		2	99,1	0,0515	96	>50	57
143		2	97,7	0,0795	82	>50	24
144		4	94,25	0,0406	116	14,7	74
145		4	98	0,0393	95	24,7	36
146		2	98,5	0,0399	118	27,5	73
147		4	97,6	0,0259	113	7,89	80
148		2	97,8	0,0384	120	23,6	77
149		4	91,8	0,0314	113	10,7	78
150		2	98	0,02092	102	10,99	84

151		4	90,1	0,0098	104	2,85	87
152		2	98,3	0,0247	96	3,44	70
153		4	93,8	0,0185	75	2,77	94
154		2	96,6	2,00E-04	104	12,1	91
155		4	96	0,0171	94	2,8	79
156		2	98,2	0,039	107	15,8	73
157		4	92,5	0,0198	115	3,63	83
158		2	99,4	>50	0,05	>50	0,2
159		4	98,4	>50	0,075	>50	0,7

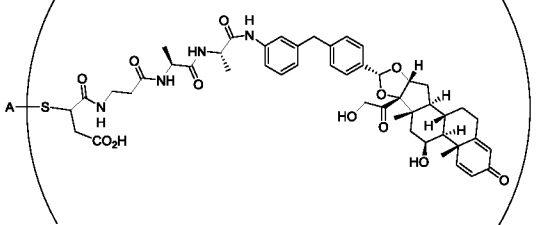
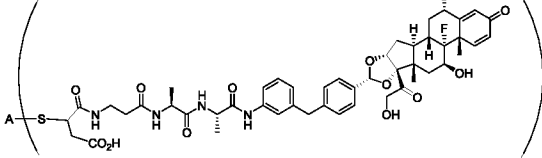
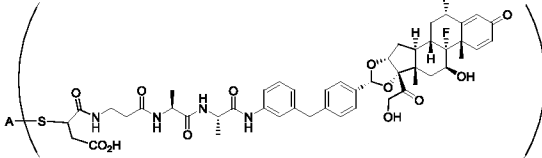
160		2	98,2	0,0242	91	>50	63
161		4	95,8	0,0203	94	16,9	77
162		4	95	0,0072	119	12,4	88
163		2	97,7	>50	6	>50	0,4
164		4	97,8	>50	24	>50	0,8
165		2	96,3	0,0179	93,6	>50	94
166		2	98	0,0136	107	14,6	75
167		4	94,4	0,0108	97	11,4	73
168		2	97,9	0,146	81	50	71
169		4	92,25	0,0551	117	18,4	88

170		2	99,5	0,463	18,4	>50	0,5
171		4	97,6	0,276	35	>50	5
172		4	94,6	0,0319	89	2,9	64
173		1,3	98	0,0959	78	>50	35
174		2	98	0,0607	143	4,23	14
175		4	93,4	0,0464	92	>50	55
176		4	97,4	0,0262	113	41,4	60
177		4	95,6	0,00998	105	7,94	66
178		4	88,3	8,00E-04	93	3,88	48
179		2	97,7	0,0249	89	11,7	84

180		4	96,8	0,0118	84	2,75	78
181		4	95,3	0,0593	83,8	50	35
182		4	97,6	>50	8	>50	4
183		4	94,7	0,0144	87	12	49
184		2	98,9	0,0525	75	46,7	36
185		4	96,6	0,0294	64	5,02	76
186		4	97,5	0,0479	143	>50	31
187		4	91,8	0,0185	103	>50	73
188		4	94	0,0107	126	>50	43
189		4	99,9	0,0215	149	>50	59

190		4	99,9	0,0112	109	>50	90
191		3,7	88,6	0,0692	122	14,4	90
192		4,1	74,4	0,0225	98	1,23	99
193		3,9	68	0,149	124	6,4	104
194		3,9	67,7	0,0517	95,3	5,01	85
195		3,5	92,2	0,123	156	23,6	75
196		3,5	92,9	0,0331	96	24,2	63
197		3,6	94,1	0,0626	143	39,3	60
198		3,6	93	0,0614	96	12,7	91

199		3,5	93	0,0654	93	23,3	73
200		3,8	90,1	0,0114	114	4,76	92
207		4					
208		4	99,3	0,0154	123	50,0	98,7
209		3,84	99,5	0,16	116	50,0	70,0
210		4	100	0,154	129	50,0	61,7
211		4	99,4	0,0341	130	18,7	91,7
212		3,99	99,2	0,00633	101	1,9	348
213		4,08	99,2	0,0267	140	27,6	146
214		3,8	99,2	0,362	248	50,0	97,1
215		3,8	99,3	0,0166	126	1,93	103

204		2	99,4	0,0767	103	>50	21
205		4	96,9	0,0035	97	17,5	103
206		2	99,4	0,0082	101	>50	97

Приклад 80. Активність різних імунокон'югатів до людського TNF-альфа в аналізах щодо трансмембранного TNF-альфа з використанням репортера GRE

Одержання імунокон'югатів до людського TNF-альфа

Усі білки були кон'юговані зі спол. № 99 із використанням умов, вказаних згідно із загальним протоколом цистеїнової кон'югації в прикладі 36. Якщо вказано в таблиці 14 нижче, додавання цистеїну (підкреслено) здійснювали в послідовності антитіла до TNF для забезпечення кон'югації.

Таблиця 14

Амінокислотні послідовності антитіл до людського TNF-альфа, використовувані в імунокон'югатах

Антитіло	Послідовність (SEQ ID NO)
Інфліксимаб HC	SEQ ID NO:67
Інфліксимаб LC	SEQ ID NO:74
Голіумаб HC	SEQ ID NO:72
Голіумаб LC	SEQ ID NO:78
Етаперцепт	LPAQVAFTPYAPEPGSTCRLREYYDQTAQMCCSKCSPGQHAKVFCTKTSDTVCDSCEDSTYTQLWN WVPECLSCGSRCSDDQVETQACTREQNRICTRPGWYCALSKQEGCRLCAPLRKCRPGFGVARPGT ETSDVVCKPCAPGTFSNTTSSDTCRPHQICNVVAIPGNASMDAVCTSTSPTRSMAPGAVHLPQPVST RSQHTQPTPEPSTAPSTSFLPMGPSPPAEGSTGDEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYCKKVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDS

	DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:79)
HC AB T- 122	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWQGGLTVTVSSGGGGSGGGGSEV QLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGSFGGYGIGWVRQAPGQGLEWMGGITPFFGFADYAKKFQGR VTITADESTTTAYMELSGLTSDDTAVYYCARDPNEFWNGYYSTHDFDSWGQGTTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:80)
LC AB T- 122	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKRGGSGGGSGGEIVLTQSPDFQSVTPKEKV TICRASQDIGSELHWYQQKPDQPPKLLIKYASHSTSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINGLEAEDAGTYYC HQTDSLPTYTFPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:81)
Це рто лізу ма б пер ол HC	SEQ ID NO:68
Це рто лізу ма б пер ол LC	SEQ ID NO:75
Це рто лізу ма б HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYVFTDYGMNWVRQAPGKGLEWMGWINTYIGEPYADSVKG RFTFSLDTSKSTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYRSYAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCAAHHHHHH (SEQ ID NO:82)
Це рто лізу ма б LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICKASQNVGTNVAWYQQKPGKAPKALIYSASFLYSGVPYRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQYNIYPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC (SEQ ID NO:83)
Ад ані му ма б Fab HC	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWQGGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCAAHHHHHH (SEQ ID NO:84)
Ад ані му ма б Fab LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC (SEQ ID NO:85)
Афі тіл о'	GVDNKFNKENIAAMTEITRLPNLNPYQRAAFIWSLSDDPQSANLLAEAKKLNDAAQAPKC (SEQ ID NO:86)

етаноламіну. Для підходу прямого сполучення з аміном приблизно 750 RU стероїдного кон'югату з озоралізумабом безпосередньо іммобілізували на чипі CM5. Приготування чипа та вимірювання кінетичних показників зв'язування виконували в аналітичному буфері HBS-EP+ (10 mM Hepes, pH 7,4, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0,05% Tween 20). Для вимірювань кінетичних показників зв'язування у форматі захоплення кожний цикл аналізу складався з наступних стадій: 1) захоплення тестованого ADC на тестованій поверхні за концентрації 0,5 мкг/мл і за швидкості потоку 5 мкл/хв. протягом 60 с; 2) введення аналіту (людського TNF α або тільки буфера) як на еталонну, так і на тестовану поверхню протягом 300 с за 50 мкл/хв., після чого контролювали дисоціацію протягом 600 секунд за 50 мкл/хв.; 3) відновлення поверхні захоплення за допомогою введення 10 mM гліцин-HCl, pH 1,5, або 100 mM HCl (для безпосередньо сполученого ADC) як на еталонну, так і на тестовану поверхню. Для вимірювань кінетичних показників зв'язування у форматі прямого сполучення з аміном виконували тільки стадію 2) та стадію 3). У ході аналізу всі вимірювання звіряли з пустою поверхнею окремо (тобто без захопленого тестованого антитіла або іммобілізованого нанотіла) та використовували введення буфера окремо для подвійного порівняння з еталоном. Введення TNF α варіювали за концентрацією від 50 нМ до 0,39 нМ за серій 2-кратних розведень відповідно. Дані обробляли та глобально підганяли до моделі зв'язування 1:1 з використанням програмного забезпечення Biacore T200 Evaluation для визначення кінетичних констант швидкості зв'язування k_a (M⁻¹s⁻¹) і k_d (s⁻¹) та рівноважної константи дисоціації K_D (M). Проводили два незалежні експерименти. Представлені дані в таблиці 16 являють собою середні значення з цих експериментів.

Таблиця 16

Значення афінності зв'язування стероїдних ADC до hTNF-альфа з людським TNF-альфа (ND = не визначали)

Спол. №	ADC до TNF	k_a (1/Mc)	k_d (1/c)	K_D (M)
233	Інфліксимаб	9,90E+05	3,10E-04	3,10E-10
234	Голіумаб	9,70E+05	2,40E-04	2,50E-10
235	Етанерцепт	6,30E+06	9,80E-05	1,60E-11
236	ABT-122	4,00E+05	6,90E-05	1,80E-10
237	Цертолізумаб пегол	2,30E+06	1,70E-04	7,30E-11
238	Цертолізумаб	2,70E+06	1,60E-04	6,00E-11
239	Адаліумаб Fab	1,50E+06	1,80E-04	1,30E-10
240	Афітіло	Не визначено	Не визначено	Не визначено
241	Озоралізумаб (нанотіло)	1,30E+06	7,00E-05	5,20E-11

Приклад 81. Активність стероїдних ADC до hTNF-альфа в аналізі стимульованого ліпополісахаридом вивільнення цитокіну в людських PBMC

Первинні людські одноядерні клітини периферичної крові (PBMC) були придбані у Biological Specialty Corporation (№ за кат. 214-00-10), промивали в 50 мл PBS, повторно суспендували в FBS з 5% DMSO, розділяли на аліквоти та кріоконсервували в рідкому азоті до застосування. PBMC розморожували, повторно суспендували в RPMI, доповненій 2% FBS та 1% пеніцилін-стрептоміцином, і висівали в планшет для клітинних аналізів (Costar, № 3799). Клітини інкубували з варіювальною концентрацією стероїдних ADC до hTNF-альфа за 37 °C і 5% CO₂ протягом 4 годин. Потім клітини стимулювали за допомогою 100 нг/мл LPS протягом ночі. Наступного дня планшет центрифугували протягом п'яти хвилин за 1000 об./хв. і 100 мкл надосадової рідини середовища безпосередньо переносили в додатковий 96-лунковий планшет та аналізували щодо концентрації IL-6 (MSD, № K151AKB) і IL-1 бета (MSD, № K151AGB). Дані відповіді на дозу наносили на сигмоїдальну криву з використанням нелінійної регресії та розраховували значення IC₅₀ за допомогою GraphPad 5.0 (GraphPad Software, Inc.). Результати, представлені в таблиці 17, показують, що стероїдні ADC до hTNF-альфа характеризуються потужною активністю в пригніченні вивільнення прозапальних цитокінів IL-6 і IL-1-бета з активованих первинних імунних клітин.

Таблиця 17

In vitro активність ADC до людського TNF-альфа в аналізі стимульованого LPS вивільнення цитокіну в людських PBMC (n=2)

Спол. №	IC ₅₀ вивільнення цитокіну (нг/мл)	
	IL-6	IL-1-бета
203	14,3 ± 3,5	3,6 ± 1,2

201	86,8 ± 69,6	25,5 ± 21,3
205	42,4 ± 27,9	22 ± 18

Приклад 82. Активність імункон'югату до TNF-альфа в аналізі TNFα-індукованої цитотоксичності в клітинах L929

L929 являє собою лінію мишачих анеуплоїдних клітин фібросаркоми, які сенсibilізували попередньою обробкою актиноміцином D. Обробка за допомогою TNFα індукує апоптоз і наступну загибель клітин. Клітини L929 у фазі логарифмічного росту збирали з використанням трипсину 0,05%, двічі промивали за допомогою D-PBS і підраховували на CEDEX. Клітини повторно суспендували за 1E6 клітин/мл в аналітичному середовищі, що містить 4 мкг/мл актиноміцину D, та додавали по 50 мкл у всі лунки. Стероїдний ADC до мишачого TNF-альфа (антитіло до мишачого TNF-альфа 8C11, кон'юговане зі спол. 71; що також називається стероїдним ADC до mTNF-альфа) та mAb до мишачого TNF (8C11) розводили до 4х концентрації в аналітичному середовищі та здійснювали послідовні розведення 1:3. Мишачий TNFα розводили до 4х концентрації 600 пг/мл. Стероїдний ADC до mTNF і mAb до mTNF (125 мкл) додавали в mTNFα (125 мкл) за схемою розведень 1:2 та забезпечували інкубацію протягом 1 години за кімнатної температури з обережним струшуванням. Суміш антитіло/mTNFα (або ADC/mTNFα) додавали в лунки за 50 мкл/лунка у трьох повторностях. Планшети інкубували протягом 20 годин за 37 °C, 5% CO₂. Для кількісного визначення життєздатності 10 мкл реагенту WST-1 (Roche, № за кат. 11644807001) додавали в лунки. Планшети інкубували в умовах аналізу протягом 3,5 години, центрифугували за 500 ×g і 75 мкл надосадової рідини переносили в планшет для ELISA (Costar, № за кат. 3369). Планшети зчитували за OD 420-600 нм із використанням планшет-ридера ELISA Spectromax 190. Дані аналізували та розраховували значення IC₅₀ з використанням критерію сигмоїдальної залежності відповіді від дози (змінюваний нахил) за GraphPad Prism 5.

Стероїдний ADC до mTNF-альфа характеризувався порівнянною нейтралізуючою ефективністю (IC₅₀ 1,9 нМ) з некон'югованим mAb до mTNF-альфа (IC₅₀ 1,5 нМ).

Імункон'югати до людського TNF-альфа тестували щодо нейтралізуючої активності в умовах, описаних вище. Результати показані в таблиці 18 та вказують на те, що тестовані імункон'югати до людського TNF-альфа демонструють ефективну нейтралізацію людського TNF-альфа.

Таблиця 18

Ефективності нейтралізації стероїдних ADC до hTNF-альфа індукованої людським TNF-альфа цитотоксичності щодо клітин L929 (ND = не визначали)

Сполука	Антитіло до TNF	SEQ ID	ADC DAR	% мономера	IC50 (нМ)
233	Інфліксимаб	67/74	3,3	99,99	Не визначено
234	Голіумаб	72/78	4,9	99	0,050
235	Етанерцепт	79	2,3	87,6	0,002
236	АВТ-122	80/81	4,1	99,98	0,074
237	Цертолізумаб пегол	68/75	2	95,9	0,046
238	Цертолізумаб	82/83	1	Не визначено	0,085
239	Адаліумаб Fab	84/85	1	Не визначено	0,6
240	Афітіло	86	1	100	Не визначено
241	Озораліумаб (нанотіло)	87	1	98	0,018

Приклад 83. Зв'язування стероїдного ADC до mTNF-альфа з мишачими рецепторами Fc-гамма

Оснований на SPR (поверхневому плазмонному резонансі) пристрій Biacore T200 (GE Healthcare) використовували для оцінки зв'язування стероїдного ADC до mTNF-альфа (8C11 до mTNF, кон'югованого зі спол. 71) і mAb до mTNF-альфа з рекомбінантними мишачими FcγR (усі від R&D Systems). FcγR безпосередньо іммобілізували на поверхні проточних кювет двох, трьох та/або чотирьох із чипів Biacore CM5 типу S для досягнення щільностей ~1000-2000 RU (резонансних одиниць). Пусту модифіковану поверхню проточної кювети, по одній із кожного чипа Biacore, використовували як еталонну поверхню. Кожний експеримент складався з фаз асоціації та дисоціації. Фаза асоціації полягала в титруванні вихідного mAb і ADC у всіх проточних кюветах за швидкості потоку 50 мкл/хв. і концентрацій 4000, 2000, 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25 та 0 нМ для FcγRIIB і FcγRIII, а також 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,13, 1,56 та 0 нМ для рецепторів I і IV. Фаза дисоціації полягала в безперервному потоці рухомого буфера (HBS-EP+, pH 7,4, GE Healthcare) за швидкості потоку 50 мкл/хв. Кожну з фаз асоціації та дисоціації контролювали протягом 5 хв. (рецептори I та IV) або 1 хв. (рецептори II та III). Поверхні чипа відновлювали за допомогою 5-с імпульсу 100 мМ HCl за швидкості потоку 100 мкл/хв. після кожного циклу зв'язування. Використовували програмне забезпечення Biacore Evaluation для підгонки необроблених даних до моделей зв'язування 1:1 (FcγRI та IV) або Steady State (рецептори IIB та III). Результати представлені в таблиці 19. k_a являє собою константу швидкості асоціації (1/Мс); k_d являє собою константу швидкості дисоціації (1/з); K_D являє собою рівноважну константу дисоціації (М).

Таблиця 19

Значення афінності зв'язування імунокон'югату до TNF-альфа з мишачими рецепторами Fc-гамма

	muFcγRI			muFcγRIIb	muFcγRIII	muFcγRIV		
	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	K_D (М)	K_D (М)	K_D (М)	k_a (1/Мс)	k_d (1/с)	K_D (М)
mAb до mTNF	7,4E+05	1,6E-02	2,1E-08	3,7E-06	3,1E-06	1,2E+05	5,3E-03	4,6E-08
ADC до mTNF	3,2E+05	8,7E-03	2,8E-08	5,9E-06	3,3E-06	8,4E+04	4,6E-03	5,5E-08

Приклад 84. Активність стероїдних ADC до mTNF-альфа на моделі контактної гіперчутливості

Стероїдні ADC до mTNF-альфа оцінювали на моделі гострої контактної гіперчутливості, при цьому спричиняли гостре запалення шкіри з використанням відповіді гіперчутливості сповільненого типу (DTH) (за допомогою Т-клітин) шляхом нанесення сенсibilізувального засобу (флуоресцеїн ізотіоціанату (FITC)). Ефективність стероїдних ADC до mTNF-альфа вимірювали за допомогою здатності зменшувати набряк вуха. Стероїдні біомаркери кортикостерон і N-термінальний пропептид проколагену 1 типу (P1NP) включали як зчитування для оцінки передбачуваного впливу обробки стероїдним ADC до mTNF-альфа на гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникову (HPA) вісь та ремоделювання кістки відповідно.

Набряк вуха

У день 0 мишей піддавали загальній анестезії та їм брили животи. Із використанням піпеткового мікродозатора мишей сенсibiliзували шляхом нашкірного нанесення 400 мкл розчину FITC (1,5% розчин у 1:1 ацетон:DBP) на живіт. Через 6 днів мишам вводили дозу середовища-носія або терапевтичного засобу за 1 годину до вушної провокаційної проби з FITC. Для вушної провокаційної проби мишей піддавали загальній анестезії та проводили провокаційну пробу з 20 мкл FITC, що наноситься на праве вухо. Через 24 години після провокаційної проби мишей піддавали загальній анестезії та товщину їхніх вух вимірювали за допомогою кронциркуля. Розраховували різницю між вухами з провокаційної пробою та без провокаційної проби. Через 72 години після вушної провокаційної проби мишам вводили ін'єкцією АСТН за 1 мг/кг ваги тіла ІР та остаточно спускали кров через 30 хв. після АСТН. Плазму крові збирали та аналізували Р1NP, кортикостерон, вільний стероїд і рівні великих молекул.

Кількісна оцінка вивільненого вільного стероїду та ендogenous кортикостерону

Одержували калібрувальну криву для стероїду в плазмі крові миші з кінцевими концентраціями від 0,03 нМ до 0,1 мкМ за 8 різних рівнів концентрації. Одержували калібрувальну криву для кортикостерону за варіювальними від 0,3 нМ до 1 мкМ концентраціями кінцевого кортикостерону в 70 мг/мл розчині альбуміну в сироватці крові великої рогатої худоби в PBS буфері. Додавали розчин 160 мкл MeCN з 0,1% мурашиної кислоти в 40 мкл досліджуваних зразків плазми крові або калібрувальних стандартів. Надосадкові рідини розводили дистильованою водою та 30 мкл розчину кінцевого зразка вводили в LC/MS аналізі.

Кількісну оцінку вивільненого вільного стероїду та кортикостерону проводили на потрібному квадрупольному мас-спектрометрі AB Sciex 5500, з'єднаному із системою Shimadzu AC20 HPLC, сполученою з джерелом іонізації електророзпиленням, що працює в позитивному режимі. Колонку Waters XBridge BEH C18, 2,1 x 30 мм, 3,5 мкм використовували для хроматографічного розділення. Рухома фаза А являла собою 0,1% мурашину кислоту у воді Milli Q HPLC, а рухома фаза В являла собою 0,1% мурашину кислоту в MeCN. Лінійний градієнт від 2% рухомої фази В до 98% рухомої фази В застосовували від 0,6 до 1,2 хвилини. Загальний час хроматографування становив 2,6 хв. за швидкості потоку 0,8 мл/хв. Мас-спектрометр працював у позитивному MRM режимі за температури джерела 700°C.

Кількісна оцінка Р1NP в плазмі крові

Кількісну оцінку Р1NP у плазмі крові проводили на платформі LC/MS на основі розщеплення білка трипсином. Зразки плазми крові частково осаджували та повністю відновлювали шляхом додавання суміші MeCN/0,1 М бікарбонат амонію/DTT. Надосадову рідину збирали та алкілювали шляхом додавання йодоцтової кислоти. Алкіловані білки розщеплювали трипсином та одержані в результаті триптичні пептиди аналізували за допомогою LC/MS. Створювали калібрувальну криву з використанням синтетичного триптичного пептиду, доданого в сироватку крові коня (неінтерферувальну сурогатну матрицю). Стабільний ізотопний мічений фланкувальний пептид (подовження з 3-6 амінокислот на обох кінцях триптичного пептиду) використовували як внутрішній стандарт, доданий у суміш для осадження білка MeCN/DTT для нормалізації як ефективності розщеплення, так і введення LC/MS.

Колонку Columnex Chromenta BB-C18, 2,1 x 150 мм, 5 мкм використовували для хроматографічного розділення. Рухома фаза А являла собою 0,1% мурашину кислоту у воді Milli Q HPLC, а рухома фаза В являла собою 0,1% мурашину кислоту в MeCN. Лінійний градієнт від 2% рухомої фази В до 65% рухомої фази В застосовували від 0,6 до 3 хв. Загальний час хроматографування становив 8 хв. за швидкості потоку 0,45 мл/хв. Використовували мас-спектрометр AB Sciex 4000Qtrap у позитивному MRM режимі для кількісного визначення пептидів Р1NP за температури джерела 700°C.

Кількісна оцінка загального ADC у плазмі крові

Концентрації загального антитіла (ADC і остова mAb) вимірювали за допомогою аналізу зв'язування з лігандом із використанням платформи Mesoscale Discovery (MSD). Мічений біотином мишачий TNF використовували як реагент захоплення для стероїдних ADC до mTNF-альфа, а кон'юговане із Sulfo-TAG детекторне антитіло кози до мишачого антигена використовували для виявлення. Калібрувальну криву створювали за допомогою послідовного розведення молекули ADC у матриці сумісності та QC зразки використовували для оцінки аналізу.

Результати

Результати показані в таблиці 20 нижче.

Таблиця 20

Порівняння активності стероїдного ADC до mTNF-альфа щодо набряку вуха та стероїдних біомаркерів на моделі CHS запалення

ADC	Набряк вуха (% пригнічення за 10 мг/кг ваги тіла)	SEM	P1NP (% пригнічення за 10 мг/кг ваги тіла)	SEM	Кортикостерон (% пригнічення за 10 мг/кг ваги тіла)	SEM
№ сполуки 151	87,8	3,5	32,3	3,9	71,5	5,6
№ сполуки 145	87,8	3,4	19,2	6,3	15,1	9,9
№ сполуки 169	90,2	2,2	38,3	2,8	60,1	4,7
№ сполуки 167	86,1	2,4	26,1	6,9	48,3	5,1
№ сполуки 162	76,3	2,7	25,9	6,5	50,4	5,5
№ сполуки 161	64,4	4,6	1,4	7,2	37,1	4,1
№ сполуки 172	79,8	3,9	14,6	4,9	6,3	6,8
№ сполуки 176	81,4	3,9	20,0	7,9	15,0	9,4
№ сполуки 177	94,3	1,2	27,0	6,0	17,1	9,0
№ сполуки 180	80,8	2,1	45,7	6,0	39,9	3,8
№ сполуки 149	92,4	2,3	52,8	2,8	74,4	3,7
№ сполуки 175	66,5	4,7	12,1	4,5	49,3	3,5
№ сполуки 207	87,3	3,6	44,0	5,4	54,6	5,2
№ сполуки 178	94,4	1,8	58,0	2,4	73,8	4,7
№ сполуки 181	78,8	4,6	-13,2	7,2	29,4	8,0
№ сполуки 182	60,1	5,6	-15,1	11,5	3,4	4,8
№ сполуки 185	85,0	4,0	51,6	7,0	43,9	9,6
№ сполуки 186	70,5	3,9	1,5	9,4	19,1	3,9

Ці результати демонструють, що стероїдні ADC до mTNF-альфа можуть забезпечувати ефективну відповідь, еквівалентну обробці низькомолекулярним стероїдом із позбавленням від небажаних ефектів щодо кортикостерону та P1NP.

Проводили додаткове дослідження контактної гіперчутливості (CHS) для визначення того, чи необхідна кон'югація стероїдного навантаження з mAb до TNF для підвищення ефективності Мишам один раз вводили дозу і.р. відповідно до протоколу, що описується вище, або із середовищем-носієм, mAb до mTNF-альфа (10 мг/кг ваги тіла), стероїдним ADC до mTNF-альфа (10 мг/кг ваги тіла) (спол. № 139), або із сумішшю mAb до mTNF-альфа, що спільно вводиться дозою (яка конкурентно доставляється в одній ін'єкції і.р.) з еквівалентною кількістю низькомолекулярного стероїду згідно зі стехіометрією ADC. Для дози 10 мг/кг ваги тіла стероїдного ADC до mTNF-альфа з DAR 4 це розраховували як 4 мкг низькомолекулярного стероїду (спол. № 42). Результати, показані на фігурі 9, демонструють, що обробка стероїдним ADC до mTNF-альфа характеризується істотно підвищеною ефективністю щодо зниження запалення вуха порівняно з комбінацією mAb до mTNF-альфа та низькомолекулярним стероїдом або з mAb до mTNF-альфа окремо.

Приклад 85. Активність стероїдних ADC до mTNF-альфа під час індукованого колагеном артриту

Здатність стероїдного ADC до mTNF-альфа (спол. № 137) полегшувати захворювання оцінювали на моделі індукованого колагеном артриту (CIA).

У даних експериментах самців мишей DBA/1J одержували з Jackson Labs (Бар Харбор, Мен, США). Використовували мишей віком 6-12 тижнів. Усіх тварин утримували за постійної температури та вологості за 12-годинного циклу світло/темрява та годували Rodent Chow (Lab Diet 5010 PharmaServ, Фремінгем, Массачусетс, США) і давали воду ad libitum. AbbVie має акредитацію AAALAC (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care), всі процедури були схвалені Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) та контролювалися обслуговувальним ветеринаром. Контролювали вагу тіла та стан і тварин умертвляли, якщо спостерігалася втрата ваги >20%.

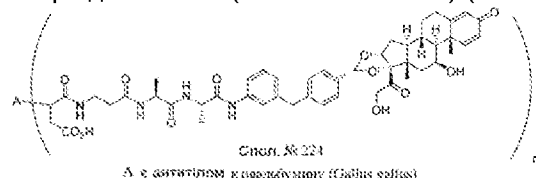
Самців мишей DBA/J імунізували внутрішньошкірно (i.d.) в основу хвоста за допомогою 100 мкл емульсії, що містить 100 мкг бичачого колагену II типу (MD Biosciences), розчиненого в 0,1 н. оцтовій кислоті, та 200 мкг інактивованої нагріванням Mycobacterium tuberculosis H37Ra (повний ад'ювант Фрейнда, Difco, Лоренс, Канзас, США). Через двадцять один день після імунізації колагеном мишей стимулювали IP за допомогою 1 мг зимозану А (Sigma, Сент-Луїс, Міссурі, США) в PBS. Після стимулювання мишей обстежували 3-5 разів на тиждень щодо артриту. Сідничні частини задніх лап оцінювали щодо набряку лапи з використанням пружинних кронциркулів Dyer (Dyer 310-115)

Мишей реєстрували від дня 24 до дня 28 за першими клінічними ознаками захворювання та розподіляли на групи з артритом еквівалентної тяжкості. Ранню терапевтичну обробку починали на момент реєстрації.

Тваринам вводили одну дозу перорально (р. о.) зі стероїдом (спол. № 3) (10 мг/кг ваги тіла) у середовищі-носії 0,5% HPMC/0,02% Tween 80 [об./] або інтраперитонеально (і.р.) з mAb до mTNF-альфа (10 мг/кг ваги тіла) (8C11) або стероїдним ADC до mTNF-альфа (10 мг/кг ваги тіла) (спол. № 137) у 0,9% сольовому розчині. Кров збирали для впливу на антитіла шляхом розрізання хвоста через 24 та 72 години після введення дози. Лапи збирали в кінцевий момент часу для гістопатології. Кров збирали в кінцевий момент часу шляхом пункції серця для загального аналізу крові (Sysmex XT-2000iV). Статистичну значущість визначали за допомогою ANOVA.

Результати показані на фігурі 3 та демонструють, що однократна доза стероїдного ADC до mTNF-альфа може виявляти довготривалу тривалість дії шляхом полегшення набряку лапи протягом ~6 тижнів порівняно з mAb до mTNF-альфа або низькомолекулярним стероїдом окремо.

В окремому дослідженні, призначеному для дослідження націленої на TNF функціональної групи стероїдного ADC до mTNF-альфа, тваринам вводили одну дозу і.р. з mAb до mTNF-альфа (10 мг/кг ваги тіла) або стероїдним ADC до mTNF-альфа (10 мг/кг ваги тіла) (спол. № 145) або з ізотипом стероїдного ADC (10 мг/кг ваги тіла) (спол. № 224),



що розпізнає овальбумін яєчного білка курки, антиген, який не експресується у мишей. Обидва ADC мали еквівалентне навантаження лікарського засобу. Низькомолекулярний стероїд (3 мг/кг ваги тіла) вводили дозою перорально один раз на добу (q.d). Результати показані на фігурі 10 та демонструють, що однократна доза стероїдного ADC до mTNF-альфа характеризується ефективністю, еквівалентною такій низькомолекулярного стероїду, що вводиться дозою щодобово протягом періоду 21 доба. Однократна доза нецільового ізотипу стероїду ADC характеризується лише частковою ефективністю, подібно до mAb до mTNF окремо, у тій самій часовій рамці. Відсоткові співвідношення означають % пригнічення порівняно із середовищем-носієм. Оцінка ваги тіла тварин протягом усього цього дослідження (фігура 11) показала втрату ваги в усіх групах з обробкою, за винятком групи з обробкою стероїдним ADC до mTNF-альфа. Навпаки, миші, оброблені стероїдним ADC до mTNF-альфа, демонстрували нормальне збільшення ваги протягом 21-добового дослідження.

Приклад 86. Активність різних стероїдних ADC до mTNF-альфа під час індукованого колагеном артриту

Декілька стероїдних ADC до mTNF-альфа з різними стероїдними навантаженнями або відношеннями лікарський засіб:антитіло (DAR) тестували щодо ефективності на мишачій моделі артриту. Дослідження проводили відповідно до процедури, описаної в прикладі 85. Результати показані в таблиці 21 нижче.

Таблиця 21

Ефективність стероїдних ADC до mTNF-альфа на моделі артриту

№ сполуки	DAR (n)	% пригнічення набряку лапи порівняно із середовищем-носієм (AUC _{0-21d}) (за 10 мг/кг ваги тіла)	SEM
136	2	75	3,7
137	4	91	6,5
139	4	93	2,9
143	2	96	3,3
145	4	95	4
151	4	101	2,5
172	4	74	9,3
176	4	85	8,3
177	4	99	4,2

Приклад 87. Активність імункон'югатів до hTNF-альфа на моделі індукованого антитілом до колагену артриту у трансгенних мишей Tg1278TNF із нокаутом людського TNF

Ефективність ADC до людського TNF-альфа оцінювали на моделі артриту у миші з трансгеном людського TNFα.

Модель індукованого антитілом до колагену артрит (CAIA) (Moore, AR J Transl Med 12:285 (2014)) одержували з використанням трансгенних мишей Tg1278TNF із нокаутом людського TNF, як описувалося раніше (Moore A et al. J Transl Med 12 (1): 285 (2014)). Вісім мкг коктейлю моноклональних антитіл, які націлені на різні епітопи колагену II типу (ArthritoMab™), вводили мишам інтраперитонеально (i.p.) у день 0. У день 3 мишам вводили ін'єкцією i.p. 10 мкг LPS для стимулювання патології захворювання. У тварин оцінювали артритний показник щоденно з дня 3 до дня 14 дослідження. Використовували по вісім самців мишей на групу та тестовані вироби або середовище-носії PBS вводили i.p. двічі на тиждень протягом двох тижнів.

Результати показані на фігурі 4 та демонструють, що ADC до людського TNF-альфа можуть істотно знижувати показник захворювання порівняно з mAb до людського TNF-альфа (адаліумабом).

Приклад 88. Активність стероїдних ADC до mTNF-альфа щодо пікового запалення

Експеримент із CIA миші проводили для встановлення ефективності стероїдного ADC до mTNF-альфа на тваринах із піковим запаленням. Для пізнього введення терапевтичної дози мишей включали в дослідження за перших клінічних ознак захворювання та вводили дозу через 6 днів після включення. Групу тварин умертвляли в день 7 захворювання для забезпечення вихідного рівня для артритних змін за допомогою комп'ютерної мікротомографії (μCT) та гістологічного аналізу на момент введення дози всім іншим групам. Всім тваринам вводили дозу один раз на день 6 або з носієм (0,9% сольовий розчин), з mAb до mTNF-альфа (10 мг/кг ваги тіла) (8C11), або зі стероїдним ADC до mTNF-альфа (10 мг/кг ваги тіла) (спол. № 145) та умертвляли в день 21. Збирали задні лапи з артритом і здійснювали аналіз μCT. Ті самі лапи потім використовували для гістологічної оцінки. У кінці експерименту збирали цільну кров шляхом пункції серця для виконання загального аналізу крові (CBC).

Комп'ютерна мікротомографія (μCT)

Сідничні частини задніх лап залишали інтактними за великогомілковою кісткою/малогомілковою кісткою та фіксували в 10% формаліні. Лапи сканували за допомогою μCT (Scanco Medical AG, Micro-CT40) за 55 кВп за 145 мкА зі встановленням високої роздільної здатності (1000 проєкцій/180° за 2048×2048 піксельного перетворення) з використанням Isotropic Voxel і часу інтеграції 300 мілісекунд. Циліндричний контур був вручну намальований навколо ділянки, що становить інтерес, від великогомілково-таранного суглоба та поширювався на таранну кістку на 100 зрізів (1,8 мм). Оцінку виконували за допомогою програмного забезпечення Scanco з використанням 0,8 сигма-гаусу з верхнім порогом 1000 та нижнім порогом 320.

Гістологічне оцінювання

Сідничні частини задніх лап від оброблених мишей фіксували зануренням у 10% нейтральний забуферений формалін і частково декальцифікували в розчині Calrite протягом 48 годин для забезпечення підрізання латерального та внутрішнього країв кістки передплесни. Потім лапи поміщали назад у Calrite на ~48 годин для повної декальцифікації. Зразки рутинно обробляли, заливали парафіном у сагітальній площині, нарізали зрізи по 5 мікронів та фарбували гематоксиліном та еозином. Зрізи оцінювали за допомогою мікроскопії щодо наявності запалення/утворення панусу, інфільтрації нейтрофілів, ерозії кістки та ураження хряща з використанням шкали 0-4: 0 = відсутнє, 1 = слабе, 2 = помірне, 3 = помітне, 4 = тяжке.

Результати, представлені на фігурі 12, демонструють, що однократна доза стероїдного ADC до mTNF-альфа може звертати встановлене захворювання та знижувати набряк лапи майже до вихідного рівня. Навпаки, однократна доза mAb до mTNF-альфа характеризувалася мінімальним ефектом щодо запалення.

Ефект обробки щодо втрати кістки передплесни, що вимірюється за допомогою μCT, показаний на фігурі 13. Результати демонструють, що однократна доза стероїдного ADC до mTNF-альфа, що вводиться за піку запалення, здатна істотно пригнічувати опосередковану захворюванням ерозію кістки суглобу порівняно з mAb до mTNF-альфа окремо.

Результати гістологічного оцінювання суглобів оброблених CIA мишей показані на фігурах 14-17. Вони демонструють, що однократна доза стероїдного ADC до mTNF-альфа, що вводиться за пікового захворювання, приводила в результаті до істотного зниження запалення, утворення панусу, ерозії кістки та ураження хряща на день 21 щодо контролів, що збігаються за віком, оброблених середовищем-носієм ($p < 0,001$), і рівні захворювання були еквівалентні рівням, які спостерігаються у контролів на вихідному рівні (середовище-носії db). У двох із шести оцінених лап не виявляли захворювання в кістці передплесни/міжфалангових суглобах, оброблених стероїдним ADC до mTNF-альфа тварин у день 21, порівняно зі 100% захворюваністю у мишей у день 6 - вихідний рівень (до обробки) та день 21 в оброблених середовищем-носієм мишей.

Навпаки, однократна доза mAb до mTNF-альфа за пікового захворювання не пригнічувала запалення, ерозію кістки, утворення панусу або руйнування хряща щодо контролів, що збігаються за віком, оброблених середовищем-носієм, у d21. Рівні захворювання були більш тяжкими, ніж у контролів на вихідному рівні, та спостерігалася слабка тенденція до полегшення запалення.

Аналізували цільну кров для оцінки змін у підгрупах клітин периферичної крові під час обробки. Результати, показані на фігурах 18-23, демонструють, що збільшення деяких популяцій клітин периферичної крові, що спостерігається у хворих тварин, може бути усунене однократною дозою стероїдного ADC до mTNF-альфа. Статистично значущі відновлення загальних білих клітин крові, нейтрофілів і моноцитів спостерігали під час обробки стероїдним ADC до mTNF-альфа.

Приклад 89. Порівняння стероїдних ADC до mTNF-альфа та ADC до CD163

Для демонстрації посиленої терапевтичної ефективності імунокон'югату до TNF під час лікування запального захворювання порівнювали його активність з активністю ADC, націленого на гемоглобіновий скевенджер-рецептор CD163, підходом із глюкокортикоїдним імунокон'югатом, що описується в літературі, спрямованим на протизапальну функціональність (міжнародна заявка згідно з PCT WO2011039510A2, Graversen NJH, et al.; Graversen JH et al., Mol. Ther. 20 (8): 1550-8 (2012)).

Створення клітинної лінії "мишачий CD163 GRE репортер"

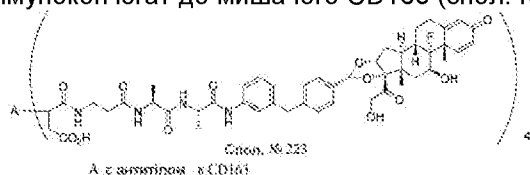
Створювали вихідну клітинну лінію, подібну до описаної в прикладі 78, але з клітинами CHO-K1 замість клітин K562. Потім одержану в результаті вихідну клітинну лінію CHO pGL4,36[Luc2P/MMTV/Hygro]_PGL4,75[hRLuc/CMV] трансфікували плазмідом, яка кодує мишачий CD163 (Origene, № за кат. MR216798), в умовах, що описуються в прикладі 78. Одержану в результаті клітинну лінію CHO mCD163 GRE (pGL4,36[Luc2P/MMTV/Hygro]) використовували для тестування in vitro активності як імунокон'югатів до mTNF-альфа, так і імунокон'югатів до мишачого CD163 (які також називаються імунокон'югатами до mCD163 або стероїдним ADC до mCD163).

Одержання імунокон'югату до мишачого CD163

Створювали химерне щуряче антитіло до мишачого CD163 mIgG2a/k з послідовностей VH та VL для клону 3E10B10, як описувалося (SEQ ID NO: 87/88 з міжнародної заявки згідно з PCT WO 2011/039510A2). Дане антитіло кон'югували зі спол. № 99 з використанням умов, указаних під загальним протоколом кон'югації з цистеїном у прикладі 36, з одержанням співвідношення лікарський засіб:антитіло (DAR) 4.

Активність імунокон'югату до мишачого CD163 в аналізі за репортером у мишачому CD163 GRE

Імунокон'югат до мишачого CD163 тестували щодо активності щодо клітинної лінії CHO mCD163 GRE (pGL4,36[Luc2P/MMTV/Hygro]) в умовах, описаних у прикладі 79. Стероїдний ADC до mTNF-альфа (спол. № 145) включали як негативний контроль. Результати в таблиці 22 демонструють, що імунокон'югат до мишачого CD163 (спол. № 223)



демонструє антиген-залежну активність, що відрізняється від такої стероїдного ADC до mTNF-альфа щодо клітинної лінії "мишачий CD163 GRE".

Таблиця 22

№ сполуки	DAR	% мономерів	EC50 mCD163 GRE (мкг/мл)	mCD163 GRE (% макс.)	EC50 CHO GRE (мкг/мл)	CHO GRE (% макс.)
223	4	93	0,2	92	>50	55
145	4	97	>20	70	>50	39

Активність імунокон'югату до мишачого CD163 щодо індукованого колагеном артрити у миші

Здатність стероїдного імунокон'югату до мишачого CD163 впливати на набряк лапи оцінювали на моделі індукованого колагеном артрити (CIA) RA. Контрольний стероїдний ADC до mTNF-альфа (спол. 139) із тим самим лікарським засобом-лінкером і DAR, що й у стероїдного ADC до mCD163, також оцінювали в тому самому дослідженні, та вихідні mAb для обох ADC також включали як групи з обробкою. Експеримент проводили відповідно до процедури, описаної в прикладі 85. Результати показані на фігурі 24 та демонструють, що, хоча стероїдний ADC до mCD163 спочатку знижує набряк лапи в перші декілька днів після обробки однократною дозою, цей ефект є тимчасовим. Для порівняння: однократна доза стероїдного ADC до mTNF-альфа є достатньою для повного пригнічення запалення протягом дослідження

Слід брати до уваги, що розділ "Докладний опис", а не розділи "Стислий опис" і "Реферат", призначений для використання для інтерпретації формули винаходу. У розділах "Стислий опис" і "Реферат" викладені один або декілька, але не всі, ілюстративні варіанти здійснення даного винаходу, передбачені автором(-ами) даного винаходу, та, таким чином, вони не призначені для обмеження даного розкриття та доданої формули винаходу будь-яким чином.

Даний винахід описаний вище за допомогою функціональних структурних елементів, що ілюструють реалізацію вказаних функцій та їхні взаємозв'язки. Межі цих функціональних структурних елементів були довільно визначені у даному документі для зручності опису. Можуть бути визначені альтернативні межі за умови, що вказані функції та їхні взаємозв'язки будуть належним чином виконані.

Вищенаведений опис конкретних варіантів здійснення повністю розкриває загальний характер даного винаходу так, що фахівці зможуть, застосовуючи інформацію з рівня техніки, легко модифікувати та/або адаптувати для різних застосувань такі конкретні варіанти здійснення без невиправданих експериментів без відхилення від загальної концепції даного винаходу. Відповідно, такі адаптації та модифікації призначені для того, щоб бути в межах значень і діапазону еквівалентів розкритих варіантів здійснення на основі представлених у даному документі ідей і вказівок. Слід враховувати, що фразеологія або термінологія у даному документі призначена для опису, а не обмеження, так що термінологія або фразеологія даного опису повинна інтерпретуватися кваліфікованим фахівцем у світлі ідей і вказівок.

Широта та обсяг даного розкриття не повинні обмежуватися будь-яким із вищеописаних ілюстративних варіантів здійснення, але повинні визначатися тільки згідно з наступними пунктами формули винаходу та їхніми еквівалентами.

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> AbbVie Inc.
McPherson, Michael J.
Hobson, Adrian D.
Hayes, Martin E.
Marvin, Christopher C.
Schmidt, Diana
Waegell, Wendy
Goess, Christian
Oh, Jason Z.
Hernandez Jr, Axel
Randolph, John T.

<120> АГОНІСТ ГЛЮКОКОРТИКОЇДНОГО РЕЦЕПТОРА ТА ЙОГО ІМУНОКОН'ЮГАТИ

<130> 3685.0100002/EKS/CLD/MIG

<150> 62/344,948
<151> 2016-06-02

<150> 62/371,134
<151> 2016-08-04

<160> 94

<170> PatentIn версія 3.5

<210> 1
<211> 233
<212> Білок
<213> homo sapiens

<400> 1

Met Ser Thr Glu Ser Met Ile Arg Asp Val Glu Leu Ala Glu Glu Ala
1 5 10 15

Leu Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Gln Gly Ser Arg Arg Cys Leu Phe
20 25 30

Leu Ser Leu Phe Ser Phe Leu Ile Val Ala Gly Ala Thr Thr Leu Phe
35 40 45

Cys Leu Leu His Phe Gly Val Ile Gly Pro Gln Arg Glu Glu Phe Pro
50 55 60

Arg Asp Leu Ser Leu Ile Ser Pro Leu Ala Gln Ala Val Arg Ser Ser
65 70 75 80

Ser Arg Thr Pro Ser Asp Lys Pro Val Ala His Val Val Ala Asn Pro
85 90 95

Gln Ala Glu Gly Gln Leu Gln Trp Leu Asn Arg Arg Ala Asn Ala Leu
100 105 110

Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val Val Pro Ser
115 120 125

Glu Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Ser Gln Val Leu Phe Lys Gly Gln Gly
130 135 140

Cys Pro Ser Thr His Val Leu Leu Thr His Thr Ile Ser Arg Ile Ala
145 150 155 160

Val Ser Tyr Gln Thr Lys Val Asn Leu Leu Ser Ala Ile Lys Ser Pro
165 170 175

Cys Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro Trp Tyr Glu
180 185 190

Pro Ile Tyr Leu Gly Gly Val Phe Gln Leu Glu Lys Gly Asp Arg Leu
195 200 205

Ser Ala Glu Ile Asn Arg Pro Asp Tyr Leu Asp Phe Ala Glu Ser Gly
210 215 220

Gln Val Tyr Phe Gly Ile Ile Ala Leu
225 230

<210> 2
<211> 235
<212> Білок
<213> мишачий

<400> 2

Met Ser Thr Glu Ser Met Ile Arg Asp Val Glu Leu Ala Glu Glu Ala
1 5 10 15

Leu Pro Gln Lys Met Gly Gly Phe Gln Asn Ser Arg Arg Cys Leu Cys
20 25 30

Leu Ser Leu Phe Ser Phe Leu Leu Val Ala Gly Ala Thr Thr Leu Phe
35 40 45

Cys Leu Leu Asn Phe Gly Val Ile Gly Pro Gln Arg Asp Glu Lys Phe
50 55 60

Pro Asn Gly Leu Pro Leu Ile Ser Ser Met Ala Gln Thr Leu Thr Leu
65 70 75 80

Arg Ser Ser Ser Gln Asn Ser Ser Asp Lys Pro Val Ala His Val Val
85 90 95

Ala Asn His Gln Val Glu Glu Gln Leu Glu Trp Leu Ser Gln Arg Ala
100 105 110

Asn Ala Leu Leu Ala Asn Gly Met Asp Leu Lys Asp Asn Gln Leu Val
115 120 125

Val Pro Ala Asp Gly Leu Tyr Leu Val Tyr Ser Gln Val Leu Phe Lys
130 135 140

Gly Gln Gly Cys Pro Asp Tyr Val Leu Leu Thr His Thr Val Ser Arg
145 150 155 160

Phe Ala Ile Ser Tyr Gln Glu Lys Val Asn Leu Leu Ser Ala Val Lys
165 170 175

Ser Pro Cys Pro Lys Asp Thr Pro Glu Gly Ala Glu Leu Lys Pro Trp
180 185 190

Tyr Glu Pro Ile Tyr Leu Gly Gly Val Phe Gln Leu Glu Lys Gly Asp
195 200 205

Gln Leu Ser Ala Glu Val Asn Leu Pro Lys Tyr Leu Asp Phe Ala Glu
210 215 220

Ser Gly Gln Val Tyr Phe Gly Val Ile Ala Leu

225

230

235

<210> 3
<211> 5
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> адаліумаб, VH-CDR1

<400> 3

Asp Tyr Ala Met His
1 5

<210> 4
<211> 17
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> адаліумаб, VH-CDR2

<400> 4

Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val Glu
1 5 10 15

Gly

<210> 5
<211> 9
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> адаліумаб, VH-CDR3

<400> 5

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser
1 5

<210> 6
<211> 10
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> адаліумаб, VH-CDR1

<400> 6

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Met His
1 5 10

<210> 7
<211> 10
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> інфліксимаб, VH-CDR1

<400> 7

Gly Phe Ile Phe Ser Asn His Trp Met Asn
1 5 10

<210> 8
<211> 19
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> інфліксимаб, VH-CDR2

<400> 8

Glu Ile Arg Ser Lys Ser Ile Asn Ser Ala Thr His Tyr Ala Glu Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 9
<211> 9
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> інфліксимаб, VH-CDR3

<400> 9

Asn Tyr Tyr Gly Ser Thr Tyr Asp Tyr
1 5

<210> 10
<211> 5
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> цертолізумаб, VH-CDR1

<400> 10

Asp Tyr Gly Met Asn
1 5

<210> 11
<211> 17
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> цертолізумаб, VH-CDR2

<400> 11

Trp Ile Asn Thr Tyr Ile Gly Glu Pro Ile Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 12
<211> 9
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> цертолізумаб, VH-CDR3

<400> 12

Gly Tyr Arg Ser Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5

<210> 13
<211> 10
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> цертолізумаб, VH-CDR1

<400> 13

Gly Tyr Val Phe Thr Asp Tyr Gly Met Asn
1 5 10

<210> 14
<211> 5
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> афелімомаб, VH-CDR1

<400> 14

Asp Tyr Gly Val Asn
1 5

<210> 15

<211> 16

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> афелімомаб, VH-CDR2

<400> 15

Met Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asp Tyr Asp Ser Thr Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 16

<211> 9

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> афелімомаб, VH-CDR3

<400> 16

Glu Trp His His Gly Pro Val Ala Tyr
1 5

<210> 17

<211> 5

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> нерелімомаб, VH-CDR1

<400> 17

Asp Tyr Asn Val Asp
1 5

<210> 18

<211> 17

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> нерелімомаб, VH-CDR2

<400> 18

Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 19
<211> 12
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> нерелімомаб, VH-CDR3

<400> 19

Ser Ala Phe Tyr Asn Asn Tyr Glu Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 20
<211> 5
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> озоралізумаб, VH-CDR1

<400> 20

Asp Tyr Trp Met Tyr
1 5

<210> 21
<211> 17
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> озоралізумаб, VH-CDR2

<400> 21

Glu Ile Asn Thr Asn Gly Leu Ile Thr Lys Tyr Pro Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 22
<211> 7
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>

<223> озоралізумаб, VH-CDR3

<400> 22

Ser Pro Ser Gly Phe Asn Arg
1 5

<210> 23

<211> 5

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> озоралізумаб, VH-CDR1

<400> 23

Ser Phe Gly Met Ser
1 5

<210> 24

<211> 17

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> озоралізумаб, VH-CDR2

<400> 24

Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 25

<211> 8

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> озоралізумаб, VH-CDR3

<400> 25

Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
1 5

<210> 26

<211> 5

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>
<223> озоралізумаб, VH-CDR1

<400> 26

Asp Tyr Trp Met Tyr
1 5

<210> 27
<211> 17
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> озоралізумаб, VH-CDR2

<400> 27

Glu Ile Asn Thr Asn Gly Leu Ile Thr Lys Tyr Pro Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 28
<211> 7
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> озоралізумаб, VH-CDR3

<400> 28

Ser Pro Ser Gly Phe Asn Arg
1 5

<210> 29
<211> 10
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> голіумаб, VH-CDR1

<400> 29

Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr Ala Met His
1 5 10

<210> 30
<211> 17
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> голімумаб, VH-CDR2

<400> 30

Phe	Met	Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Lys	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys
1				5				10						15	

Gly

<210> 31
<211> 17
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> голімумаб, VH-CDR3

<400> 31

Asp	Arg	Gly	Ile	Ala	Ala	Gly	Gly	Asn	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp
1				5				10						15	

Val

<210> 32
<211> 11
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> адалімумаб, VL-CDR1

<400> 32

Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Arg	Asn	Tyr	Leu	Ala
1				5				10		

<210> 33
<211> 7
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> адалімумаб, VL-CDR2

<400> 33

Ala	Ala	Ser	Thr	Leu	Gln	Ser
1				5		

<210> 34
<211> 9
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> адаліумаб, VL-CDR3

<400> 34

Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Thr
1 5

<210> 35
<211> 11
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> інфліксимаб, VL-CDR1

<400> 35

Arg Ala Ser Gln Phe Val Gly Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 36
<211> 7
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> інфліксимаб, VL-CDR2

<400> 36

Tyr Ala Ser Glu Ser Met Ser
1 5

<210> 37
<211> 9
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> інфліксимаб, VL-CDR3

<400> 37

Gln Gln Ser His Ser Trp Pro Phe Thr
1 5

<210> 38
<211> 11

<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> цертолізумаб, VL-CDR1

<400> 38

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn Val Ala
1 5 10

<210> 39
<211> 7
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> цертолізумаб, VL-CDR2

<400> 39

Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser
1 5

<210> 40
<211> 9
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> цертолізумаб, VL-CDR3

<400> 40

Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 41
<211> 11
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> афелімомаб, VL-CDR1

<400> 41

Lys Ala Ser Gln Ala Val Ser Ser Ala Val Ala
1 5 10

<210> 42
<211> 7
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> афелімомаб, VL-CDR2

<400> 42

Trp Ala Ser Thr Arg His Thr
1 5

<210> 43
<211> 9
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> афелімомаб, VL-CDR3

<400> 43

Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Phe Thr
1 5

<210> 44
<211> 17
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> нерелімомаб, VL-CDR1

<400> 44

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Asn Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 45
<211> 7
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> нерелімомаб, VL-CDR2

<400> 45

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 46
<211> 9
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> нерелімомаб, VL-CDR3

<400> 46

Gln Gln Tyr Tyr Asp Tyr Pro Trp Thr
1 5

<210> 47
<211> 11
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> голімумаб, VL-CDR1

<400> 47

Arg Ala Ser Gln Ser Val Tyr Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 48
<211> 7
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> голімумаб, VL-CDR2

<400> 48

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 49
<211> 10
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> голімумаб, VL-CDR3

<400> 49

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Phe Thr
1 5 10

<210> 50
<211> 121
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> адалімумаб, VH

<400> 50

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 51

<211> 119

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> інфліксимаб, VH

<400> 51

Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Asn His
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Glu Ile Arg Ser Lys Ser Ile Asn Ser Ala Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ala
65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Thr Glu Asp Thr Gly Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ser Arg Asn Tyr Tyr Gly Ser Thr Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser
115

<210> 52

<211> 118

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> цертолізумаб, VH

<400> 52

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Val Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ile Gly Glu Pro Ile Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Arg Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 53
<211> 117
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> афелімомаб, VH

<400> 53

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
20 25 30

Gly Val Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Met Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asp Tyr Asp Ser Thr Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Ile Phe Leu
65 70 75 80

Lys Asn Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Arg Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Trp His His Gly Pro Val Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 54
<211> 121
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> нерелімомаб, VH

<400> 54

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Val Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Val Asp Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Gln Trp Ile
35 40 45

Gly Asn Ile Asn Pro Asn Asn Gly Gly Thr Ile Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Gly Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Ala Phe Tyr Asn Asn Tyr Glu Tyr Phe Asp Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 55

<211> 115

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> озоралізумаб, VH V1

<400> 55

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Glu Ile Asn Thr Asn Gly Leu Ile Thr Lys Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Pro Ser Gly Phe Asn Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 56
<211> 115
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> озоралізумаб, VH V2

<400> 56

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 57
<211> 115
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> озоралізумаб, VH V3

<400> 57

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Glu Ile Asn Thr Asn Gly Leu Ile Thr Lys Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Pro Ser Gly Phe Asn Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 58

<211> 126

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> голімуаб, VH

<400> 58

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Asn Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Phe Met Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Lys Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Arg Gly Ile Ala Ala Gly Gly Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 59

<211> 107

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> адаліумаб, VL

<400> 59

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 60

<211> 107

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> інфліксимаб, VL

<400> 60

Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Phe Val Gly Ser Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Met Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Thr Val Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His Ser Trp Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Asn Leu Glu Val Lys
100 105

<210> 61

<211> 107

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> цертолізумаб, VL

<400> 61

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 62

<211> 107

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> афелімомаб, VL

<400> 62

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Thr Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ala Val Ser Ser Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Val Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile His Asn Leu Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 63

<211> 114

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> нерелімомаб, VL

<400> 63

Asp Ile Met Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Asn Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Ser Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Ser Arg Phe Ile Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Tyr Tyr Asp Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys Arg

<210> 64

<211> 107

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> плакулумаб, VL

<400> 64

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ala Ile Asp Ser Tyr
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Leu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Val Val Trp Arg Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 65

<211> 108

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> голімумаб, VL

<400> 65

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Tyr Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85 90 95

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 66

<211> 451

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> адалімумаб (D2E7), повнорозмірний важкий ланцюг

<400> 66

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

[illegible]

<210> 67
<211> 450
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> інфліксимаб, повнорозмірний важкий ланцюг

<400> 67

Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Asn His
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Glu Ile Arg Ser Lys Ser Ile Asn Ser Ala Thr His Tyr Ala Glu
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ala
65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Thr Asp Leu Arg Thr Glu Asp Thr Gly Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ser Arg Asn Tyr Tyr Gly Ser Thr Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195

200

205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 68
<211> 229
<212> Білок
<213> штучна послідовність

<220>
<223> цертолізумаб, повнорозмірний важкий ланцюг

<400> 68

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Val Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ile Gly Glu Pro Ile Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Arg Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

165

170

175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220

His Thr Cys Ala Ala
 225

<210> 69

<211> 447

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> афелімомаб, повнорозмірний важкий ланцюг

<400> 69

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln
 1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asp Tyr
 20 25 30

Gly Val Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
 35 40 45

Gly Met Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr Asp Tyr Asp Ser Thr Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Ile Phe Leu
 65 70 75 80

Lys Asn Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Arg Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Glu Trp His His Gly Pro Val Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ala Ala Thr Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu
 115 120 125

Val	Pro	Gly	Cys	Ser	Asp	Thr	Ser	Gly	Ser	Ser	Val	Thr	Leu	Gly	Cys
130						135					140				
Leu	Val	Lys	Gly	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Lys	Trp	Asn	Tyr
145					150					155					160
Gly	Ala	Leu	Ser	Ser	Gly	Val	Arg	Thr	Val	Ser	Ser	Val	Leu	Gln	Ser
				165					170					175	
Gly	Phe	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Leu	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Thr	Trp
			180					185					190		
Pro	Ser	Gln	Thr	Val	Ile	Cys	Asn	Val	Ala	His	Pro	Ala	Ser	Lys	Thr
		195					200					205			
Glu	Leu	Ile	Lys	Arg	Ile	Glu	Pro	Arg	Ile	Pro	Lys	Pro	Ser	Thr	Pro
	210					215					220				
Pro	Gly	Ser	Ser	Cys	Pro	Pro	Gly	Asn	Ile	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val
225					230					235					240
Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Ala	Leu	Met	Ile	Ser	Leu	Thr
				245					250					255	
Pro	Lys	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Glu	Asp	Asp	Pro	Asp
			260					265					270		
Val	His	Val	Ser	Trp	Phe	Val	Asp	Asn	Lys	Glu	Val	His	Thr	Ala	Trp
		275					280					285			
Thr	Gln	Pro	Arg	Glu	Ala	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser
	290					295					300				
Ala	Leu	Pro	Ile	Gln	His	Gln	Asp	Trp	Met	Arg	Gly	Lys	Glu	Phe	Lys
305					310					315					320
Cys	Lys	Val	Asn	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Arg	Thr	Ile
				325					330					335	
Ser	Lys	Pro	Lys	Gly	Arg	Ala	Gln	Thr	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Ile	Pro
			340					345					350		
Pro	Pro	Arg	Glu	Gln	Met	Ser	Lys	Lys	Lys	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu

355

360

365

Val Thr Asn Phe Phe Ser Glu Ala Ile Ser Val Glu Trp Glu Arg Asn
 370 375 380

Gly Glu Leu Glu Gln Asp Tyr Lys Asn Thr Pro Pro Ile Leu Asp Ser
 385 390 395 400

Asp Gly Thr Tyr Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Thr Asp Ser
 405 410 415

Trp Leu Gln Gly Glu Ile Phe Thr Cys Ser Val Val His Glu Ala Leu
 420 425 430

His Asn His His Thr Gln Lys Asn Leu Ser Arg Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 70

<211> 363

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> озоралізумаб, повнорозмірний важкий ланцюг

<400> 70

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30

Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Glu Ile Asn Thr Asn Gly Leu Ile Thr Lys Tyr Pro Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Ser Pro Ser Gly Phe Asn Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
115 120 125

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu
130 135 140

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp
145 150 155 160

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser
165 170 175

Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
180 185 190

Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn
195 200 205

Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly
210 215 220

Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
225 230 235 240

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
245 250 255

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
260 265 270

Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala
275 280 285

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Glu Ile Asn Thr Asn Gly Leu
290 295 300

Ile Thr Lys Tyr Pro Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
305 310 315 320

Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro
325 330 335

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Pro Ser Gly Phe Asn

340

345

350

Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 355 360

<210> 71

<211> 234

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> плакулумаб, повнорозмірний важкий ланцюг

<400> 71

Arg Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 1 5 10 15

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 20 25 30

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 35 40 45

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 50 55 60

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 65 70 75 80

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 85 90 95

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 100 105 110

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 115 120 125

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 130 135 140

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 145 150 155 160

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 165 170 175

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
180 185 190

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
195 200 205

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
210 215 220

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
225 230

<210> 72

<211> 456

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> голімуаб, повнорозмірний важкий ланцюг

<400> 72

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Asn Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Phe Met Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Lys Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Arg Gly Ile Ala Ala Gly Gly Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120 125

Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	130	135	140
Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	145	150	155
Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	165	170	175
His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	180	185	190
Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	195	200	205
Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	210	215	220
Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	225	230	235
Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	245	250	255
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	260	265	270
Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	275	280	285
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	290	295	300
Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	305	310	315
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	325	330	335
Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	340	345	350
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	355	360	365

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
370 375 380

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
385 390 395 400

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
405 410 415

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
420 425 430

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
435 440 445

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 73

<211> 214

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> адаліумаб (D2E7), повнорозмірний легкий ланцюг

<400> 73

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
85 90 95

Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	100	105	110	
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	115	120	125	
Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	130	135	140	
Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	145	150	155	160
Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	165	170	175	
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	180	185	190	
Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	195	200	205	
Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys											210			

<210> 74
 <211> 214
 <212> Білок
 <213> штучна послідовність
 <220>
 <223> інфліксимаб, повнорозмірний легкий ланцюг
 <400> 74

Asp	Ile	Leu	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Ile	Leu	Ser	Val	Ser	Pro	Gly	1	5	10	15
Glu	Arg	Val	Ser	Phe	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Phe	Val	Gly	Ser	Ser	20	25	30	
Ile	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Arg	Thr	Asn	Gly	Ser	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile	35	40	45	
Lys	Tyr	Ala	Ser	Glu	Ser	Met	Ser	Gly	Ile	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	50	55	60	

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Thr Val Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His Ser Trp Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Asn Leu Glu Val Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 75

<211> 214

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> цертолізумаб, повнорозмірний легкий ланцюг

<400> 75

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ala Leu Ile

35

40

45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 76

<211> 214

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> афелімомаб, повнорозмірний легкий ланцюг

<400> 76

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Thr Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ala Val Ser Ser Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Val Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile His Asn Leu Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala
100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly
115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile
130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu
145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr
180 185 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210

<210> 77

<211> 108

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> плакуламаб, повнорозмірний легкий ланцюг

<400> 77

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ala Ile Asp Ser Tyr
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Leu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Val Val Trp Arg Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 78

<211> 215

<212> Білок

<213> штучна послідовність

<220>

<223> голімумаб, повнорозмірний легкий ланцюг

<400> 78

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Tyr Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
85 90 95

Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 79

<211> 467

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> етанерцепт

<400> 79

Leu Pro Ala Gln Val Ala Phe Thr Pro Tyr Ala Pro Glu Pro Gly Ser
1 5 10 15

Thr Cys Arg Leu Arg Glu Tyr Tyr Asp Gln Thr Ala Gln Met Cys Cys
20 25 30

Ser Lys Cys Ser Pro Gly Gln His Ala Lys Val Phe Cys Thr Lys Thr

35

40

45

Ser Asp Thr Val Cys Asp Ser Cys Glu Asp Ser Thr Tyr Thr Gln Leu
 50 55 60

Trp Asn Trp Val Pro Glu Cys Leu Ser Cys Gly Ser Arg Cys Ser Ser
 65 70 75 80

Asp Gln Val Glu Thr Gln Ala Cys Thr Arg Glu Gln Asn Arg Ile Cys
 85 90 95

Thr Cys Arg Pro Gly Trp Tyr Cys Ala Leu Ser Lys Gln Glu Gly Cys
 100 105 110

Arg Leu Cys Ala Pro Leu Arg Lys Cys Arg Pro Gly Phe Gly Val Ala
 115 120 125

Arg Pro Gly Thr Glu Thr Ser Asp Val Val Cys Lys Pro Cys Ala Pro
 130 135 140

Gly Thr Phe Ser Asn Thr Thr Ser Ser Thr Asp Ile Cys Arg Pro His
 145 150 155 160

Gln Ile Cys Asn Val Val Ala Ile Pro Gly Asn Ala Ser Met Asp Ala
 165 170 175

Val Cys Thr Ser Thr Ser Pro Thr Arg Ser Met Ala Pro Gly Ala Val
 180 185 190

His Leu Pro Gln Pro Val Ser Thr Arg Ser Gln His Thr Gln Pro Thr
 195 200 205

Pro Glu Pro Ser Thr Ala Pro Ser Thr Ser Phe Leu Leu Pro Met Gly
 210 215 220

Pro Ser Pro Pro Ala Glu Gly Ser Thr Gly Asp Glu Pro Lys Ser Cys
 225 230 235 240

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 260 265 270

Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
		275					280					285			
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
	290					295					300				
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
305					310					315					320
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
				325					330					335	
Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile
			340					345					350		
Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
		355					360					365			
Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
	370					375					380				
Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
385					390					395					400
Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
				405					410					415	
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
			420					425					430		
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
		435					440					445			
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
	450					455					460				
Pro	Gly	Lys													
465															

<210> 80
 <211> 587
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

 <220>
 <223> Важкий ланцюг АВТ-122

<400> 80

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
130 135 140

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Ser Phe
145 150 155 160

Gly Gly Tyr Gly Ile Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
165 170 175

Glu Trp Met Gly Gly Ile Thr Pro Phe Phe Gly Phe Ala Asp Tyr Ala
180 185 190

Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Thr
195 200 205

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Gly Leu Thr Ser Asp Asp Thr Ala Val
210 215 220

Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Asp	Pro	Asn	Glu	Phe	Trp	Asn	Gly	Tyr	Tyr	Ser	225	230	235				240				
Thr	His	Asp	Phe	Asp	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser		245	250				255				
Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser		260	265				270				
Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp		275					285				
Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr		290					300				
Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	305		310				315				320
Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln		325					330				335
Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp		340					345				350
Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro		355					360				365
Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro		370					375				380
Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	385		390				395				400
Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn		405					410				415
Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg		420					425				430
Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val		435					440				445
Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser		450					455				460

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
465 470 475 480

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
485 490 495

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
500 505 510

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
515 520 525

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
530 535 540

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
545 550 555 560

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
565 570 575

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
580 585

<210> 81

<211> 331

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> Легкий ланцюг АВТ-122

<400> 81

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	65	70	75	80
Glu	Asp	Val	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Arg	Tyr	Asn	Arg	Ala	Pro	Tyr	85	90	95	
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Gly	Gly	Ser	Gly	100	105	110	
Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Asp	Phe	Gln	115	120	125	
Ser	Val	Thr	Pro	Lys	Glu	Lys	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	130	135	140	
Asp	Ile	Gly	Ser	Glu	Leu	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Asp	Gln	Pro	145	150	155	160
Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Lys	Tyr	Ala	Ser	His	Ser	Thr	Ser	Gly	Val	Pro	165	170	175	
Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	180	185	190	
Asn	Gly	Leu	Glu	Ala	Glu	Asp	Ala	Gly	Thr	Tyr	Tyr	Cys	His	Gln	Thr	195	200	205	
Asp	Ser	Leu	Pro	Tyr	Thr	Phe	Gly	Pro	Gly	Thr	Lys	Val	Asp	Ile	Lys	210	215	220	
Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	225	230	235	240
Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	245	250	255	
Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	260	265	270	
Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	275	280	285	
Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	290	295	300	

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 305 310 315 320

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 325 330

<210> 82
 <211> 235
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> цертолізумаб, важкий ланцюг

<400> 82

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Val Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ile Gly Glu Pro Ile Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Arg Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220

His Thr Cys Ala Ala His His His His His His
225 230 235

<210> 83

<211> 214

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> цертолізумаб, легкий ланцюг

<400> 83

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115

120

125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 84

<211> 238

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> адалімумаб, важкий ланцюг Fab

<400> 84

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
 20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Ala Ala His His His His His His
225 230 235

<210> 85

<211> 214

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> адаліумаб, легкий ланцюг Fab

<400> 85

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 86
 <211> 60
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність
 <220>
 <223> Аффітіло
 <400> 86
 Gly Val Asp Asn Lys Phe Asn Lys Glu Asn Ile Ala Ala Met Thr Glu
 1 5 10 15

Ile Thr Arg Leu Pro Asn Leu Asn Pro Tyr Gln Arg Ala Ala Phe Ile
20 25 30

Trp Ser Leu Ser Asp Asp Pro Ser Gln Ser Ala Asn Leu Leu Ala Glu
35 40 45

Ala Lys Lys Leu Asn Asp Ala Gln Ala Pro Lys Cys
50 55 60

<210> 87

<211> 382

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> озоралізумаб, нанотіло

<400> 87

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Glu Ile Asn Thr Asn Gly Leu Ile Thr Lys Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Pro Ser Gly Phe Asn Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
115 120 125

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu
130 135 140

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp

145		150		155		160									
Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ser	Ser	Ile	Ser
				165					170					175	
Gly	Ser	Gly	Ser	Asp	Thr	Leu	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe
			180					185					190		
Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Thr	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn
		195					200					205			
Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Ile	Gly	Gly
	210					215					220				
Ser	Leu	Ser	Arg	Ser	Ser	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly
225					230					235					240
Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly
				245					250					255	
Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala
			260					265					270		
Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asp	Tyr	Trp	Met	Tyr	Trp	Val	Arg	Gln	Ala
		275					280					285			
Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ser	Glu	Ile	Asn	Thr	Asn	Gly	Leu
		290				295					300				
Ile	Thr	Lys	Tyr	Pro	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg
305					310					315					320
Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Pro
				325					330					335	
Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Ser	Pro	Ser	Gly	Phe	Asn
			340					345					350		
Arg	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Ser	Glu	Gln	Lys
		355					360					365			
Leu	Ile	Ser	Glu	Glu	Asp	Leu	Cys	His	His	His	His	His	His		
	370					375					380				

<210> 88
<211> 11
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> плакулумаб, VH-CDR1

<400> 88

Arg Ala Ser Gln Ala Ile Asp Ser Tyr Leu His
1 5 10

<210> 89
<211> 7
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> плакулумаб, VH-CDR2

<400> 89

Ser Ala Ser Asn Leu Glu Thr
1 5

<210> 90
<211> 9
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> плакулумаб, VH-CDR3

<400> 90

Gln Gln Val Val Trp Arg Pro Phe Thr
1 5

<210> 91
<211> 120
<212> Білок
<213> Штучна послідовність

<220>
<223> інфліксимаб, VH

<400> 91

Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Asn His
20 25 30

Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Glu Ile Arg Ser Lys Ser Ile Asn Ser Ala Thr His Tyr Ala Glu
 50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ala
 65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Thr Asp Leu Arg Thr Glu Asp Thr Gly Val Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Ser Arg Asn Tyr Tyr Gly Ser Thr Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 92
 <211> 113
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> нереліномаб, VL

<400> 92

Asp Ile Met Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
 20 25 30

Asn Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Ser Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Ser Arg Phe Ile Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
 85 90 95

Tyr	Tyr	Asp	Tyr	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile
			100					105					110		

Lys

<210> 93
 <211> 233
 <212> Білок
 <213> Штучна послідовність

<220>
 <223> плакулумаб, повнорозмірний важкий ланцюг

<400> 93

Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro
1				5					10					15	

Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys
			20					25					30		

Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val
		35					40					45			

Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr
50						55					60				

Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu
65					70					75					80

Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His
				85					90					95	

Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys
			100					105					110		

Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln
		115					120					125			

Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu
	130					135					140				

Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro
145					150					155					160

Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 180 185 190

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 195 200 205

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 210 215 220

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 225 230

<210> 94

<211> 12

<212> Білок

<213> Штучна послідовність

<220>

<223> адаліумаб, VH-CDR3

<400> 94

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr
 1 5 10

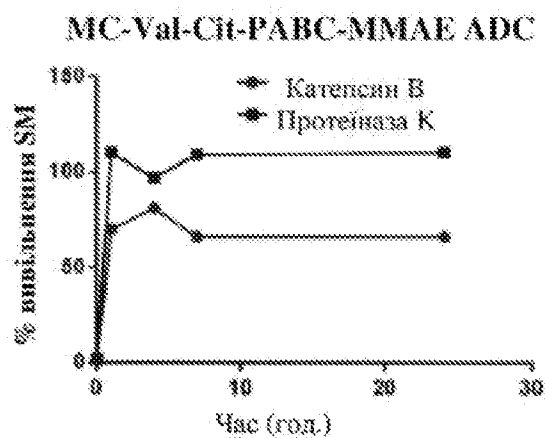
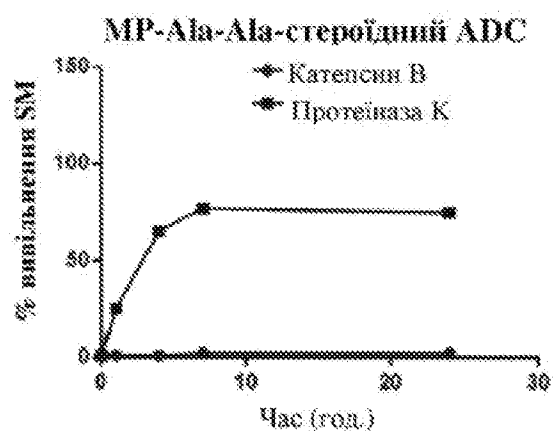
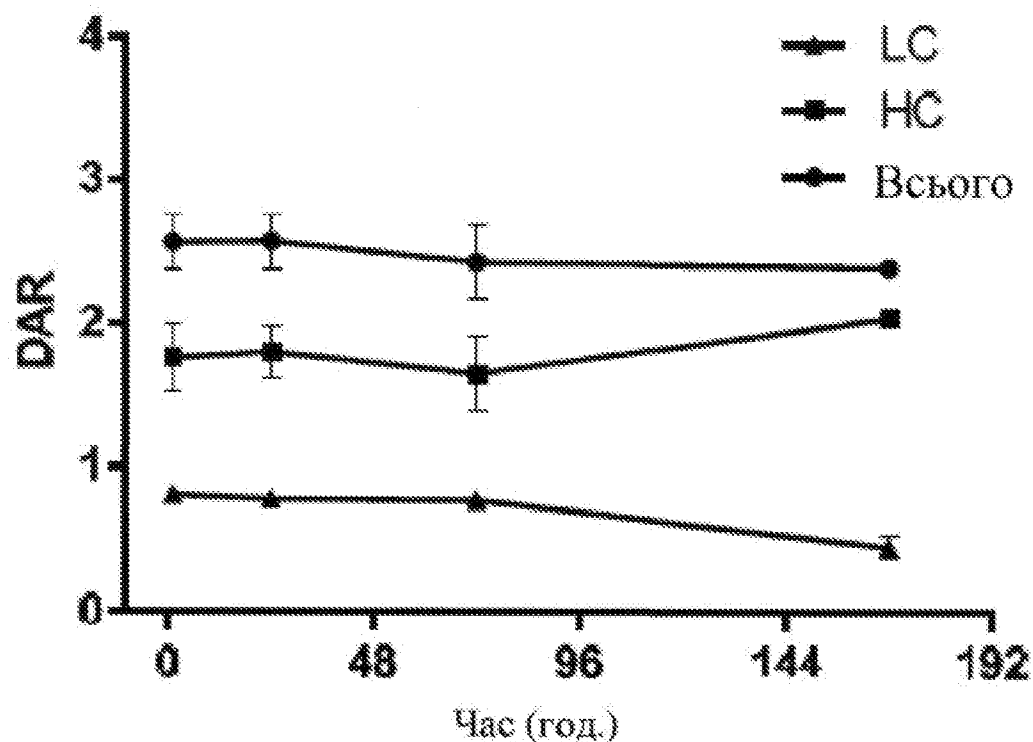
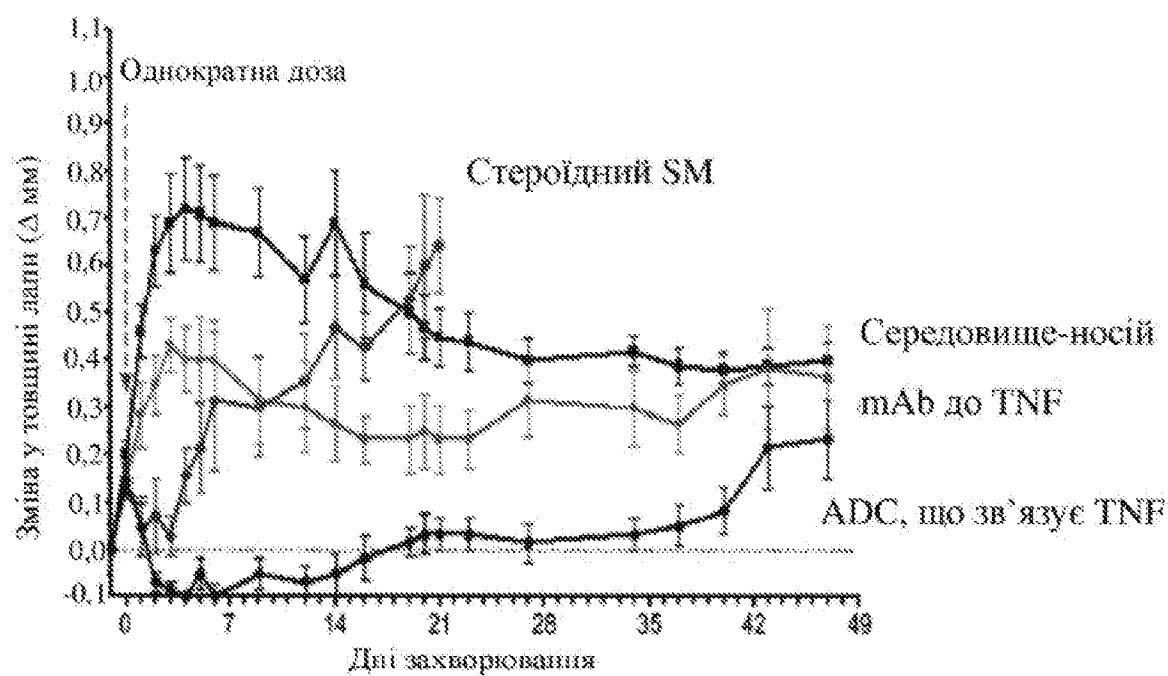


Fig. 1



Фіг. 2



Фіг. 3

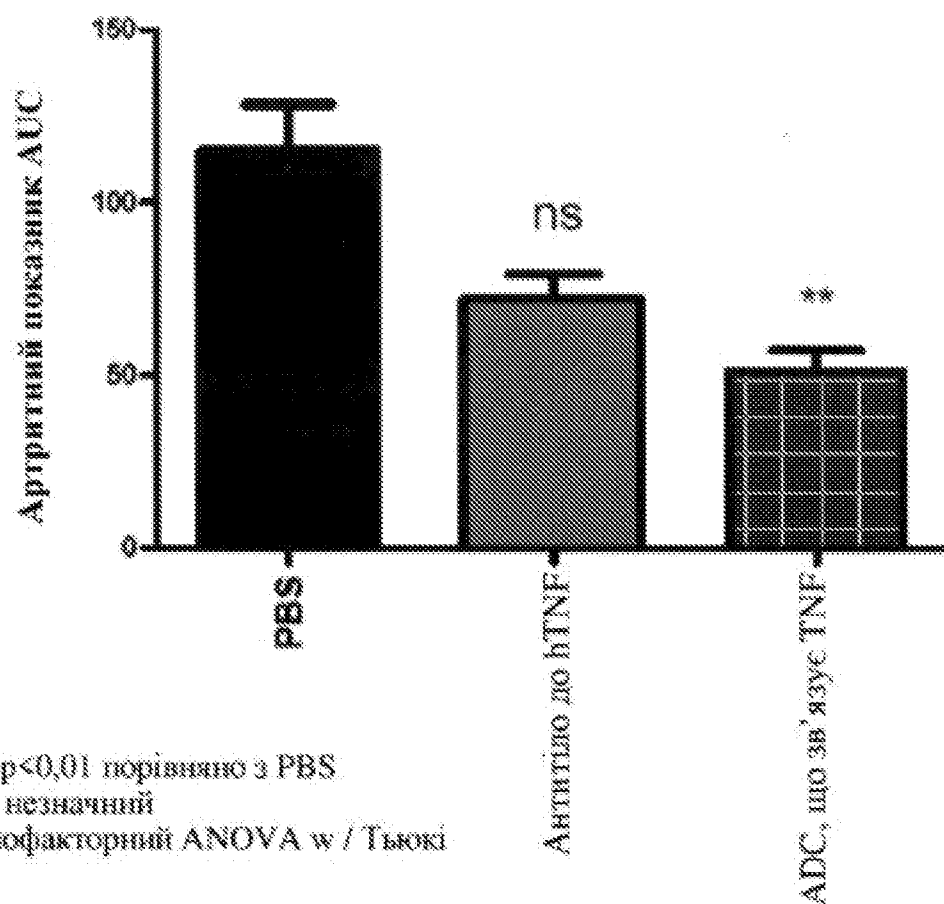


Fig. 4

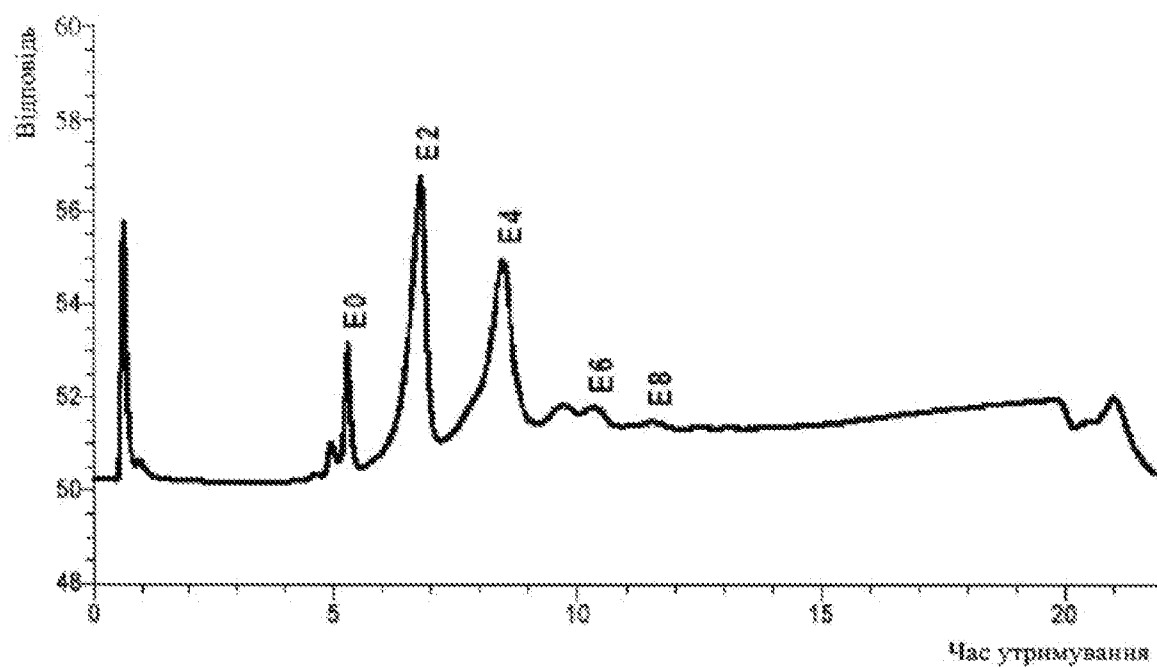


Fig. 5

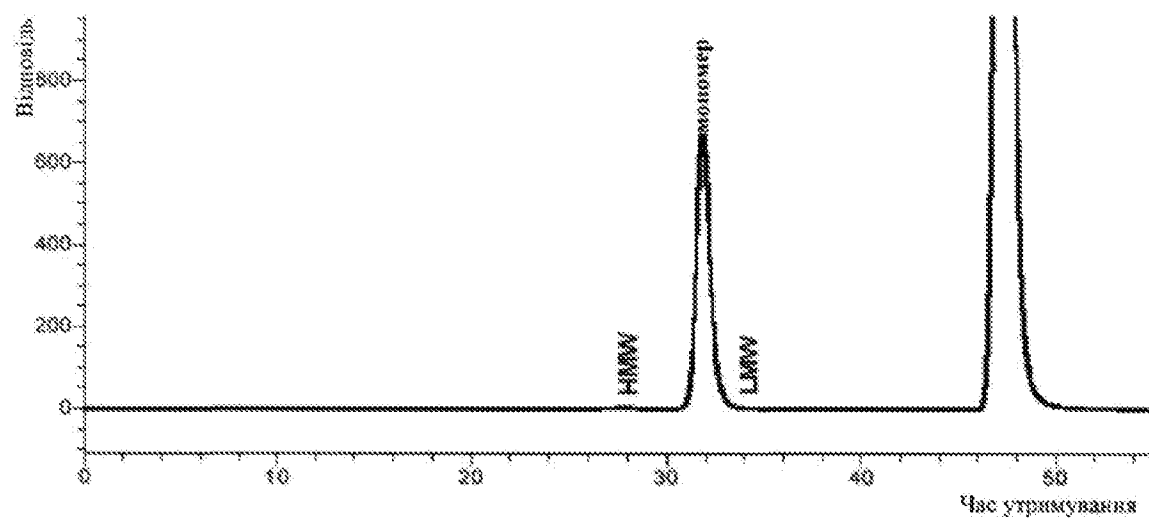


Fig. 6

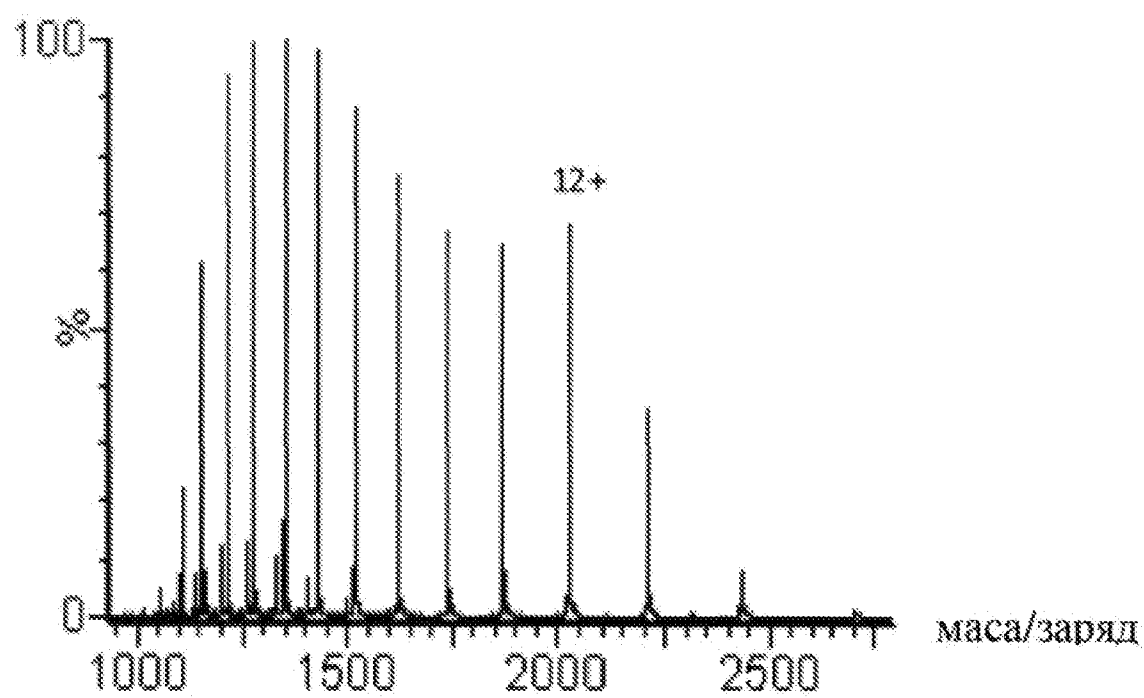


Fig. 7

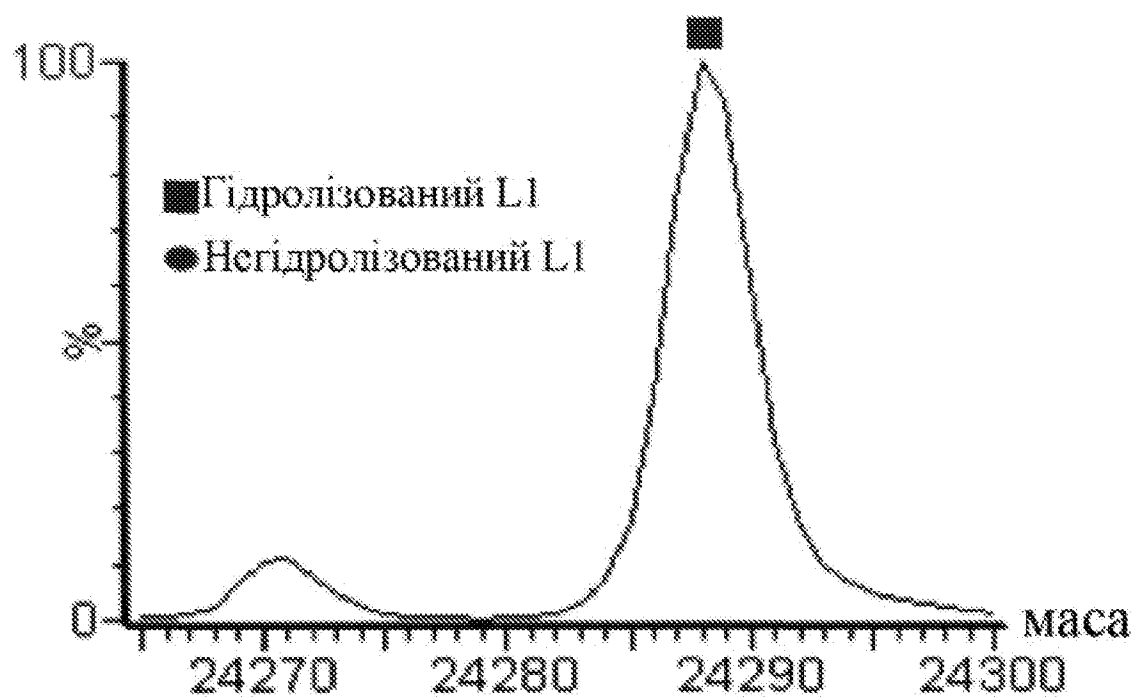
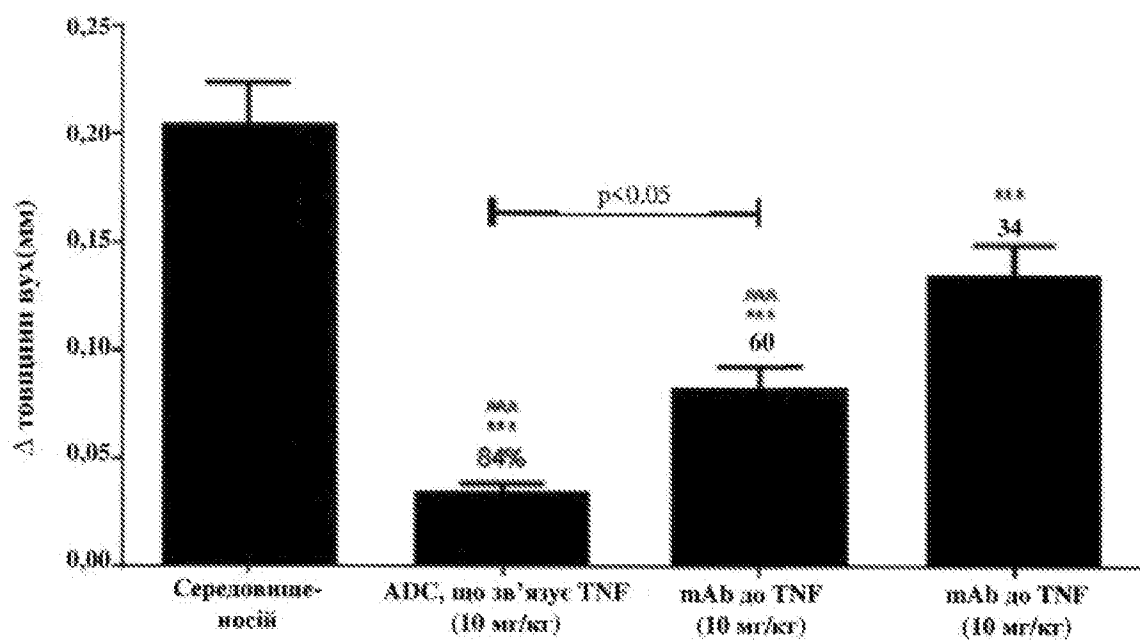
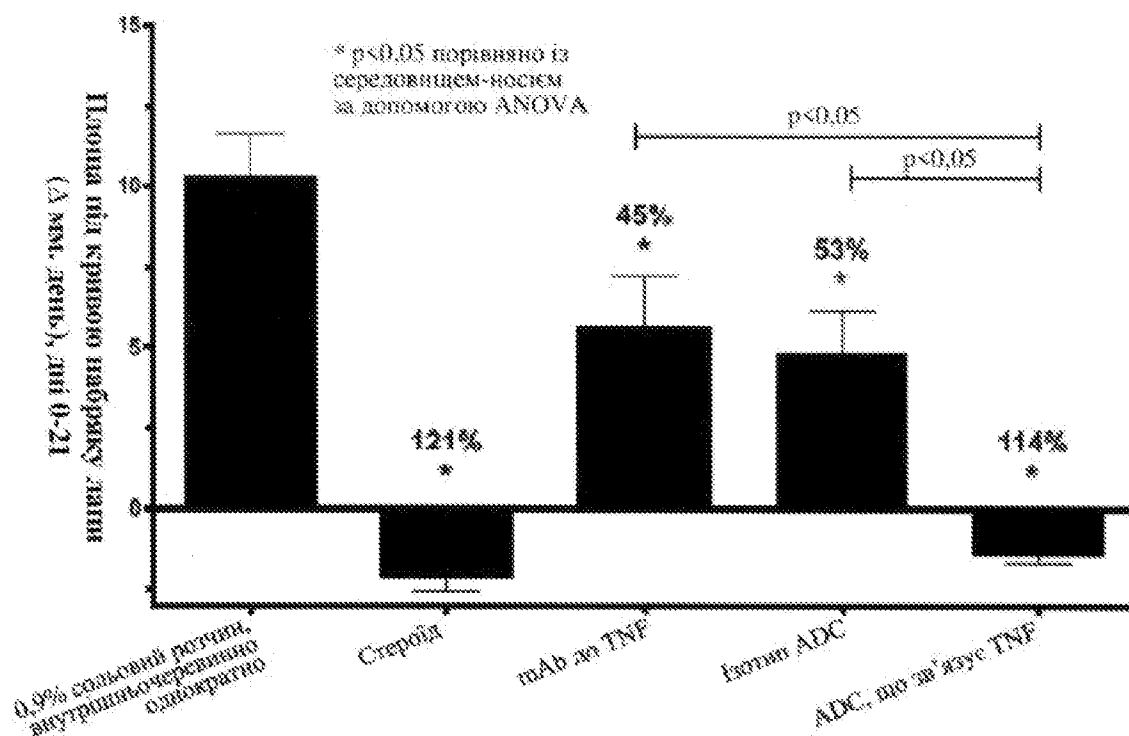


Fig. 8

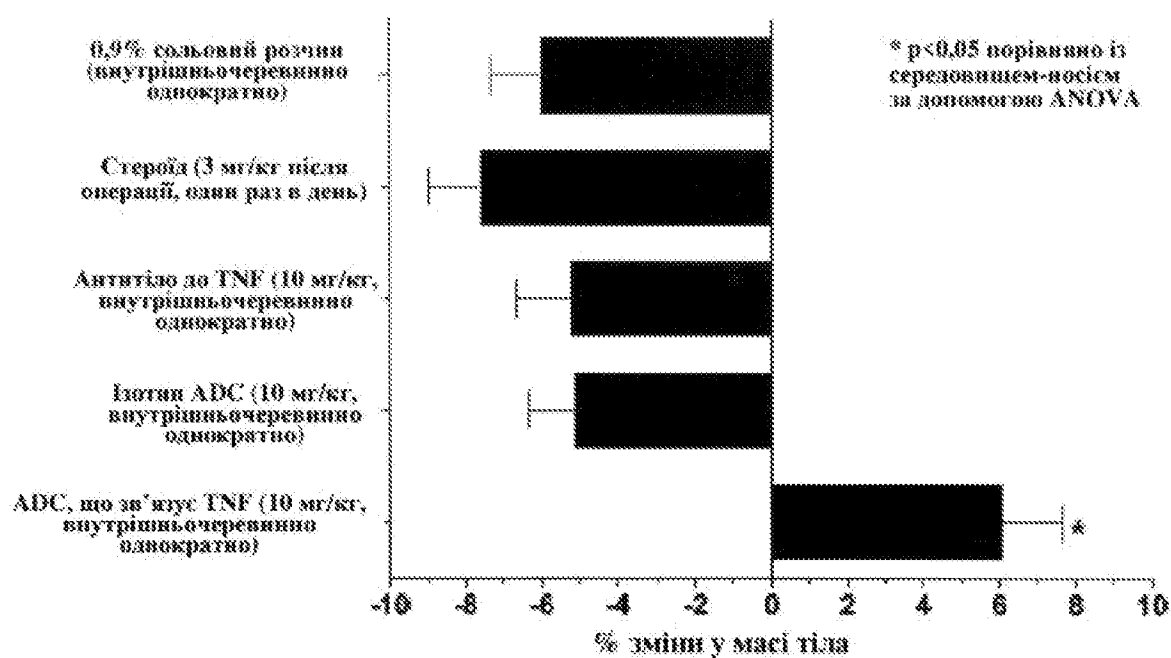


Однофакторний ANOVA з позит. тестом за
Doublet
* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ порівняно із
середовищем-носієм
~ $p < 0.05$; ~ $p < 0.01$; ~ $p < 0.001$ порівняно лише з
BC11

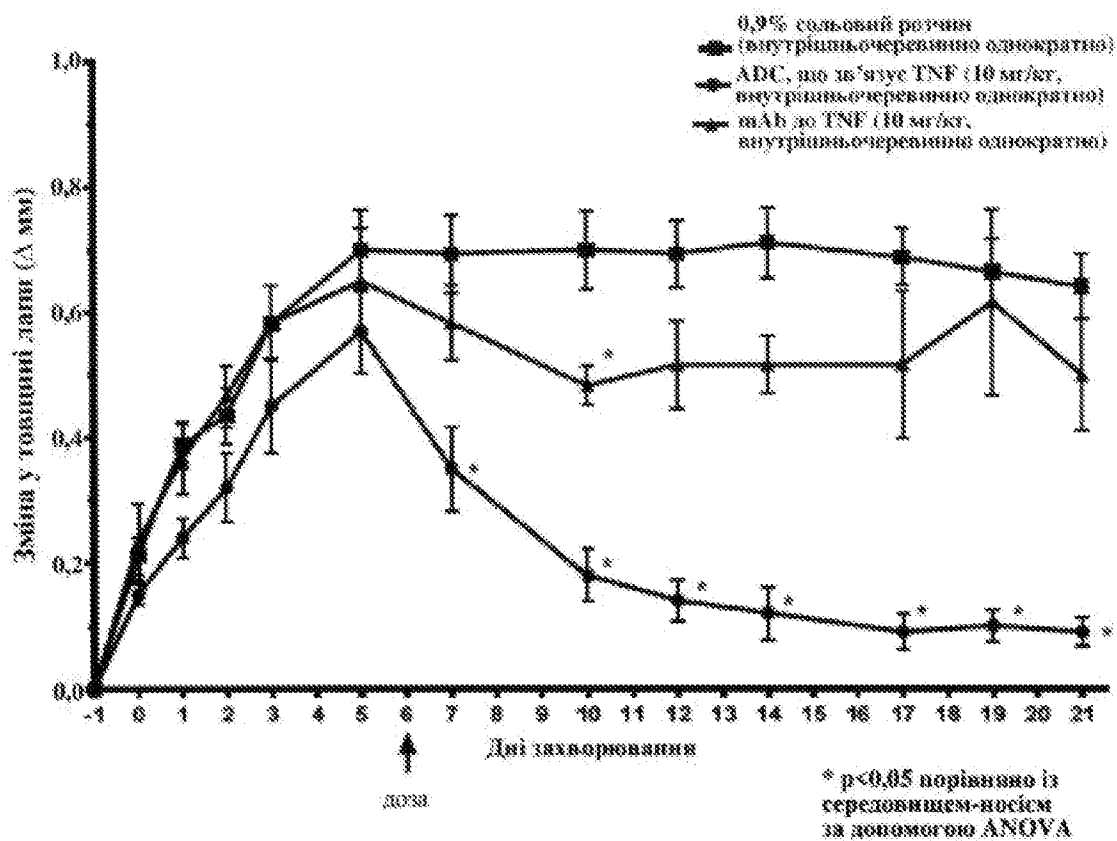
Fig. 9



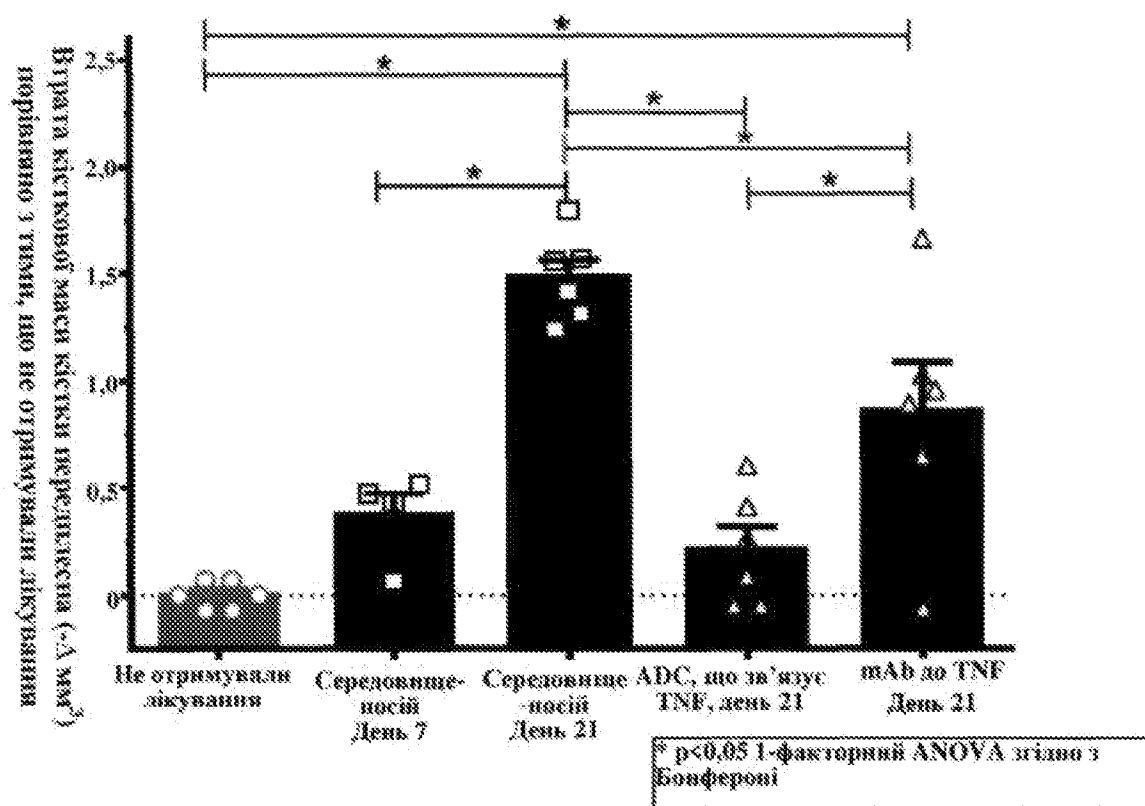
Фіг. 10



Фіг. 11



Фіг. 12



Фіг. 13

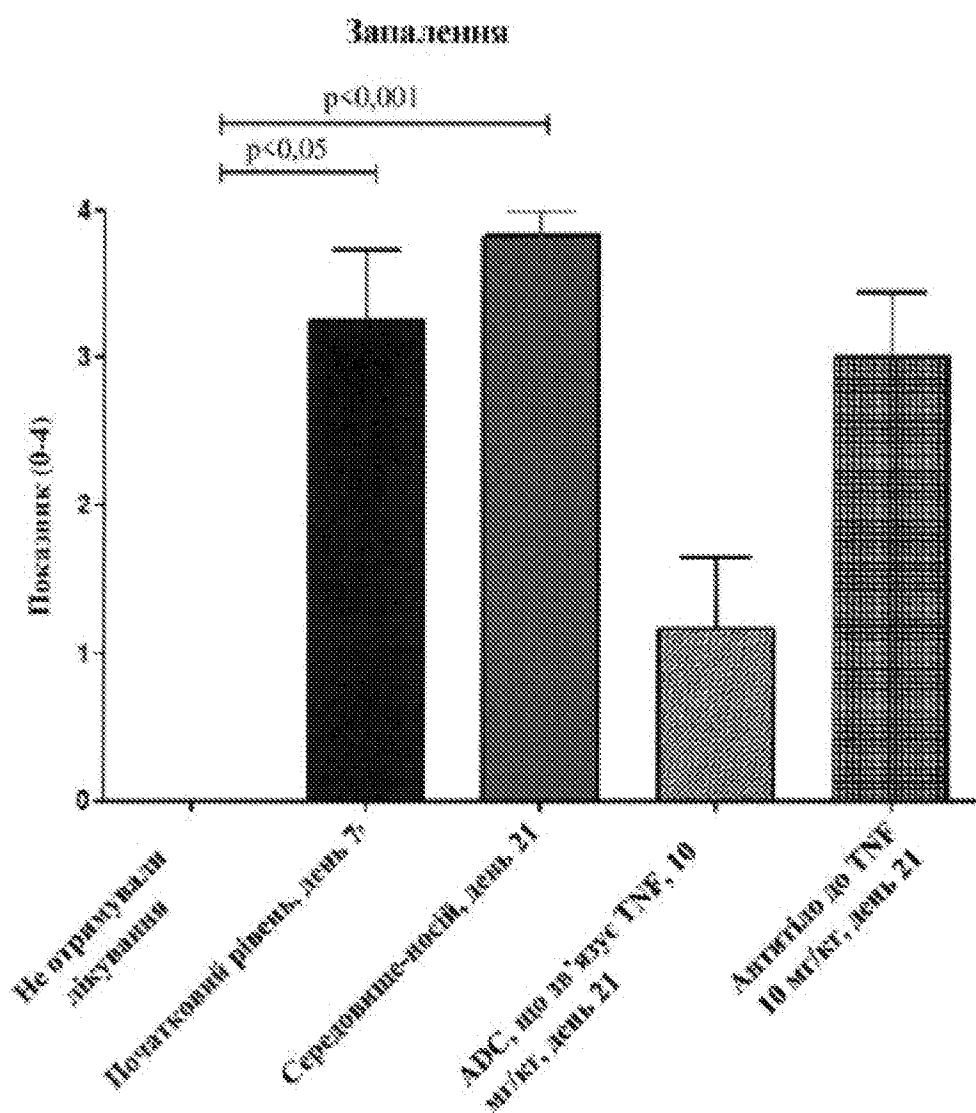


Fig. 14

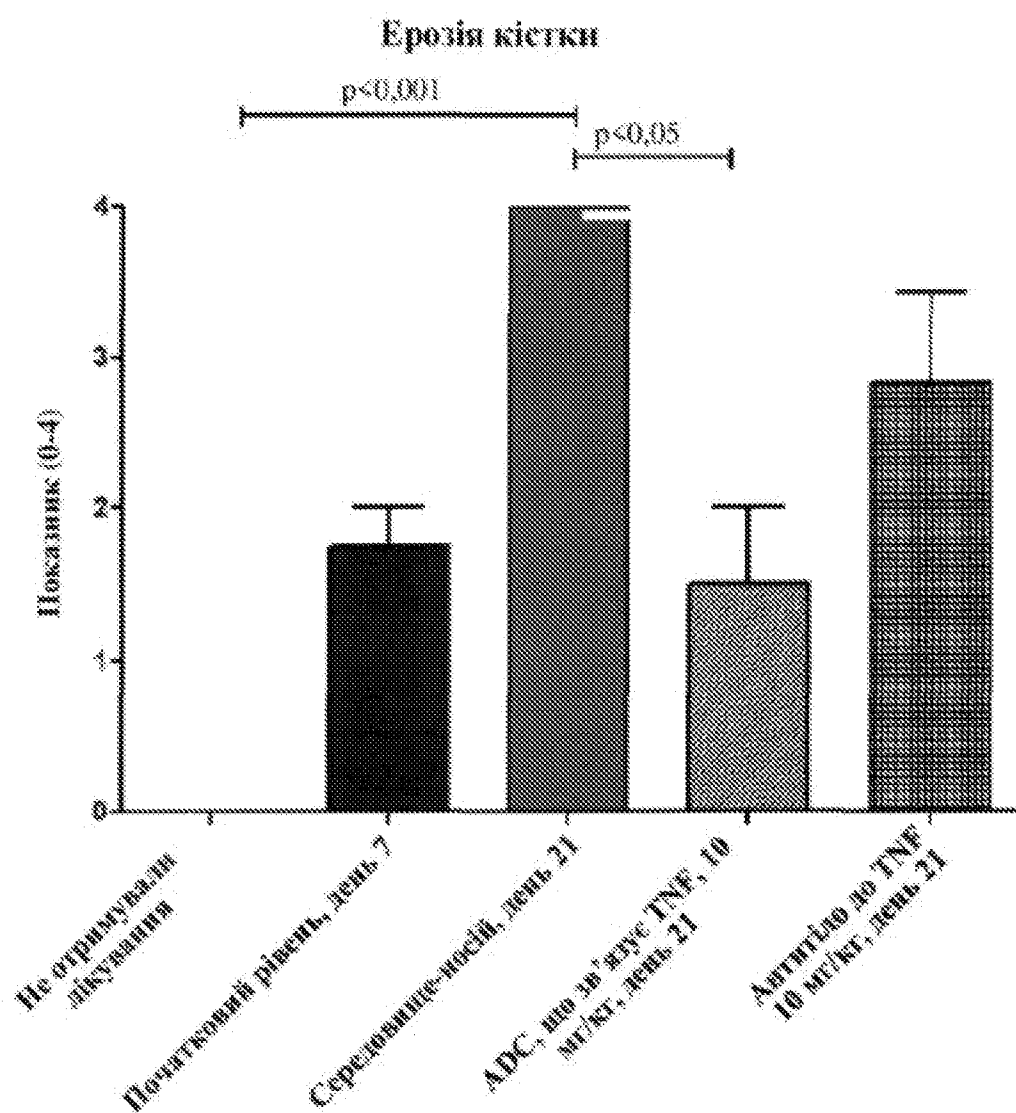


Fig. 15

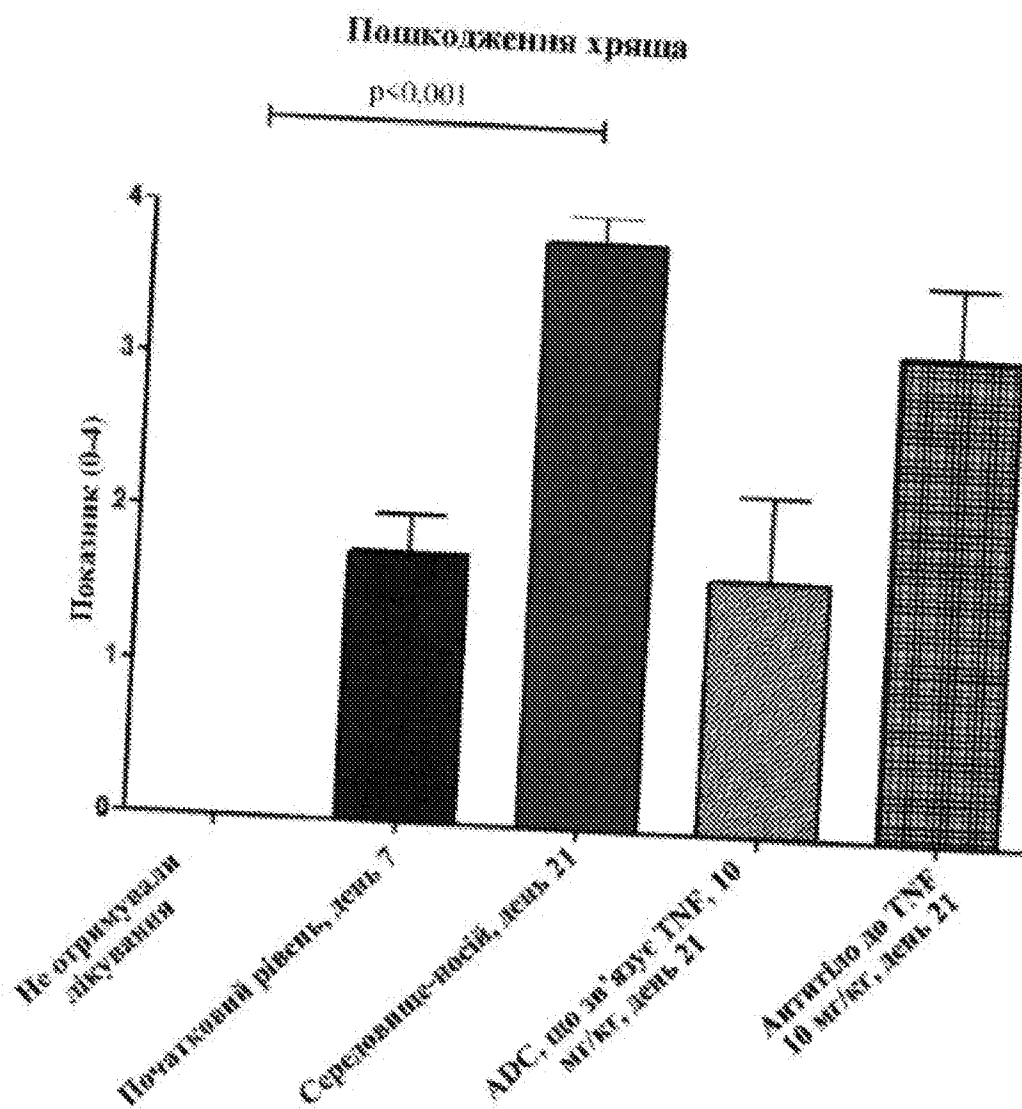


Fig. 16

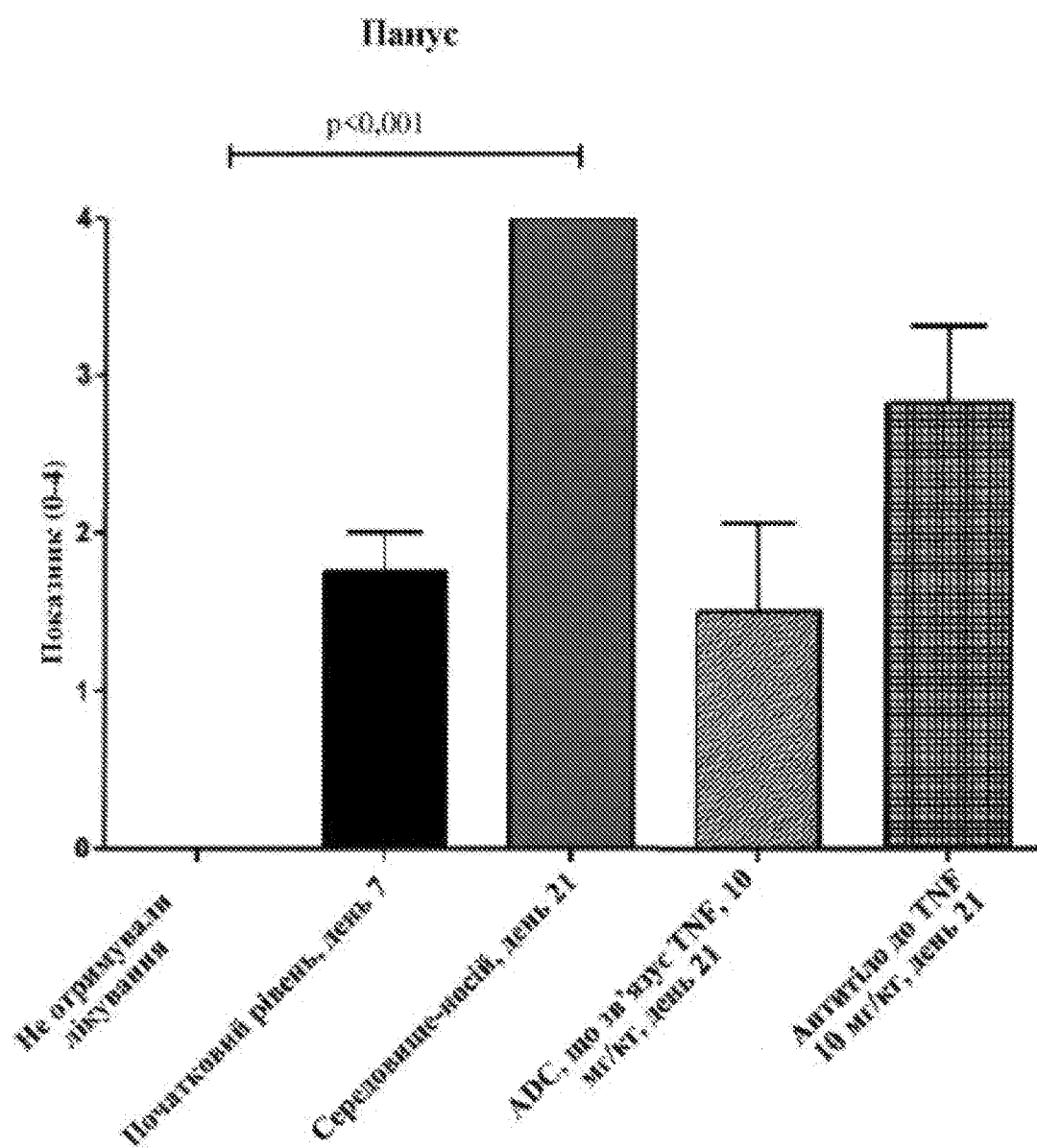


Fig. 17

Периферична кров
Білі клітини крові (10⁹/мл)

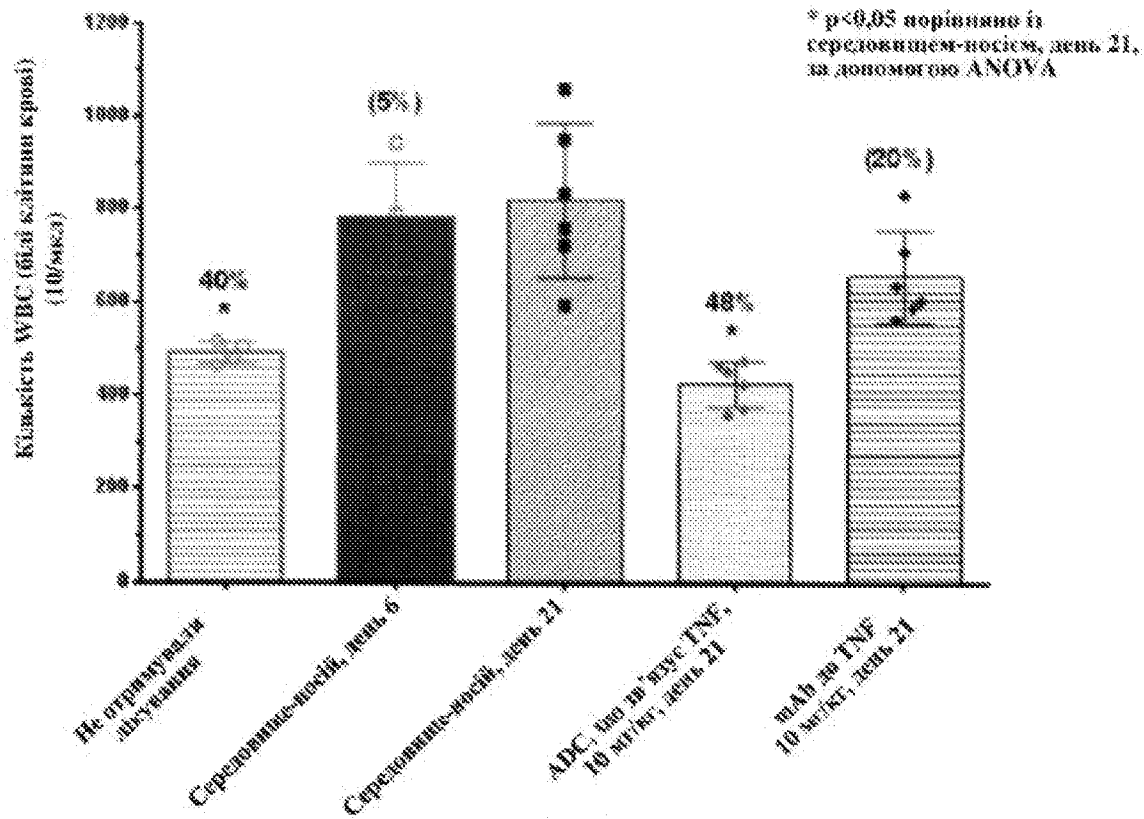
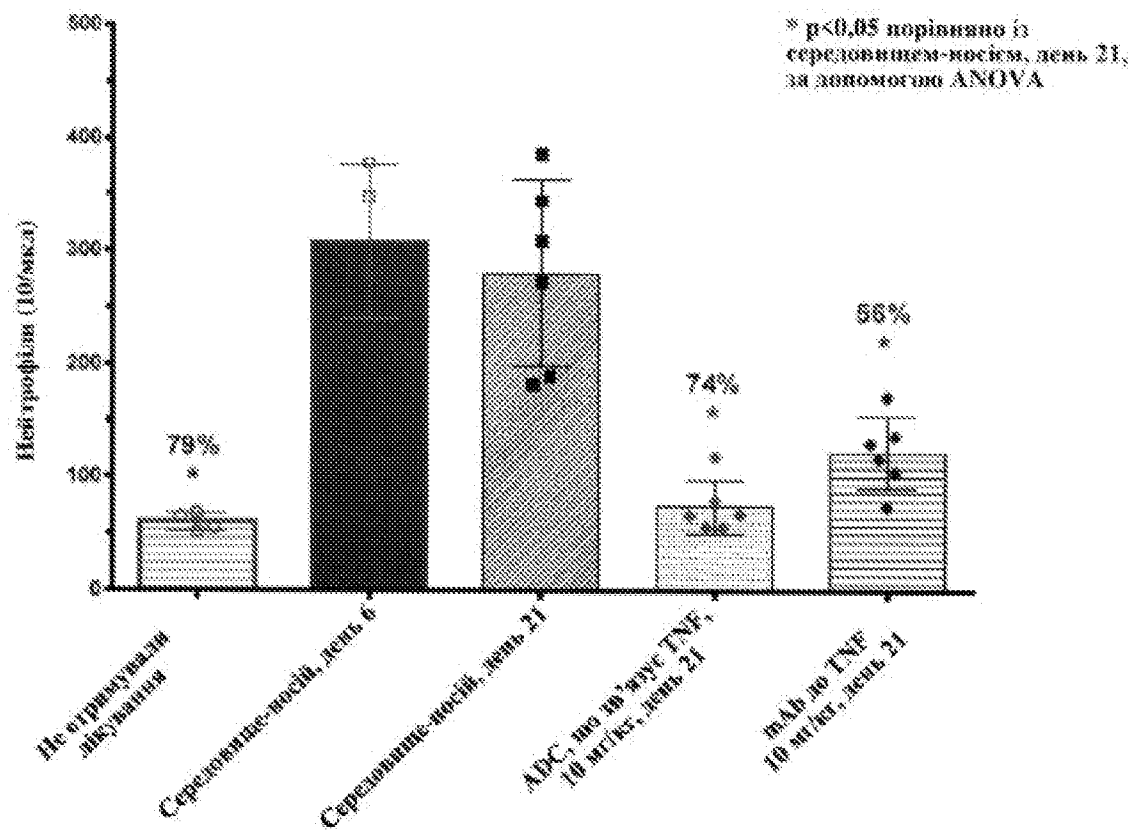
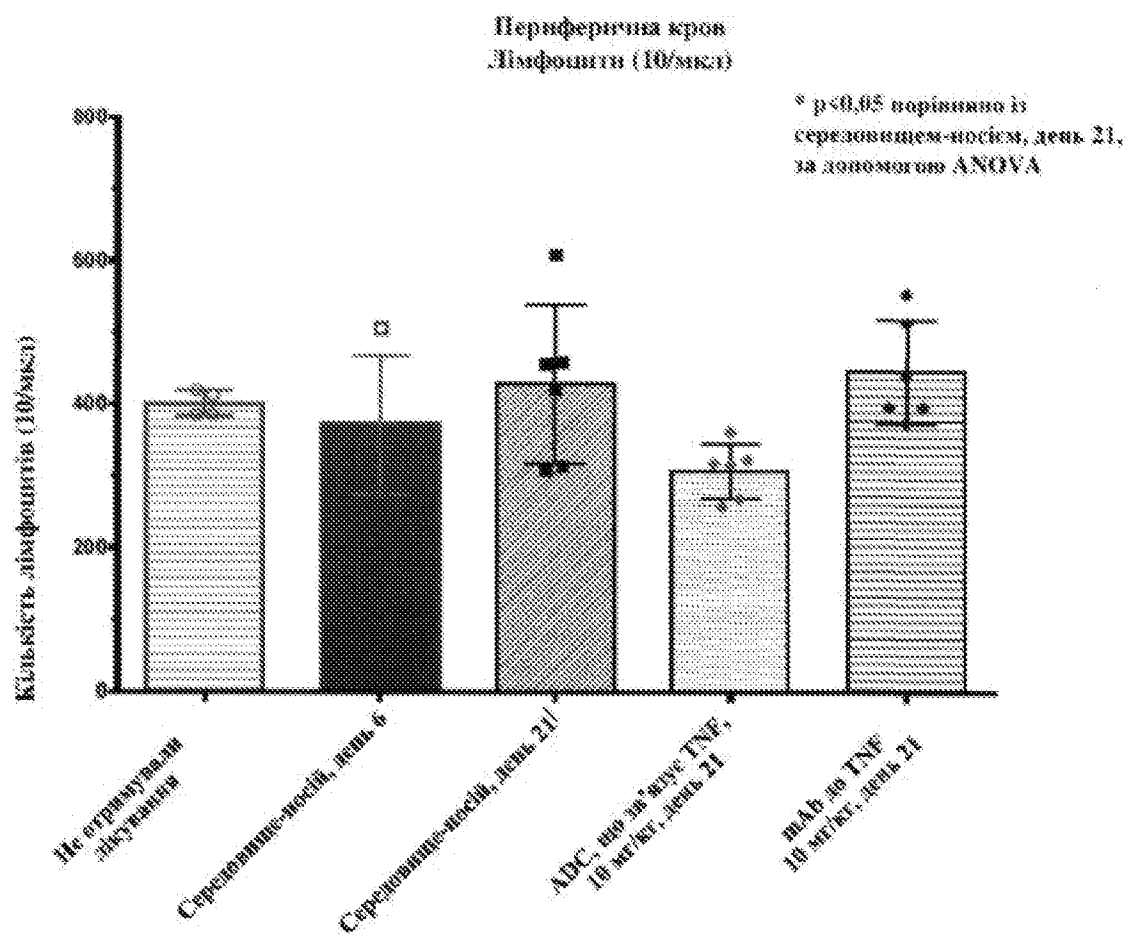


Fig. 18

Периферична кров
Нейтрофіли (10/мкл)

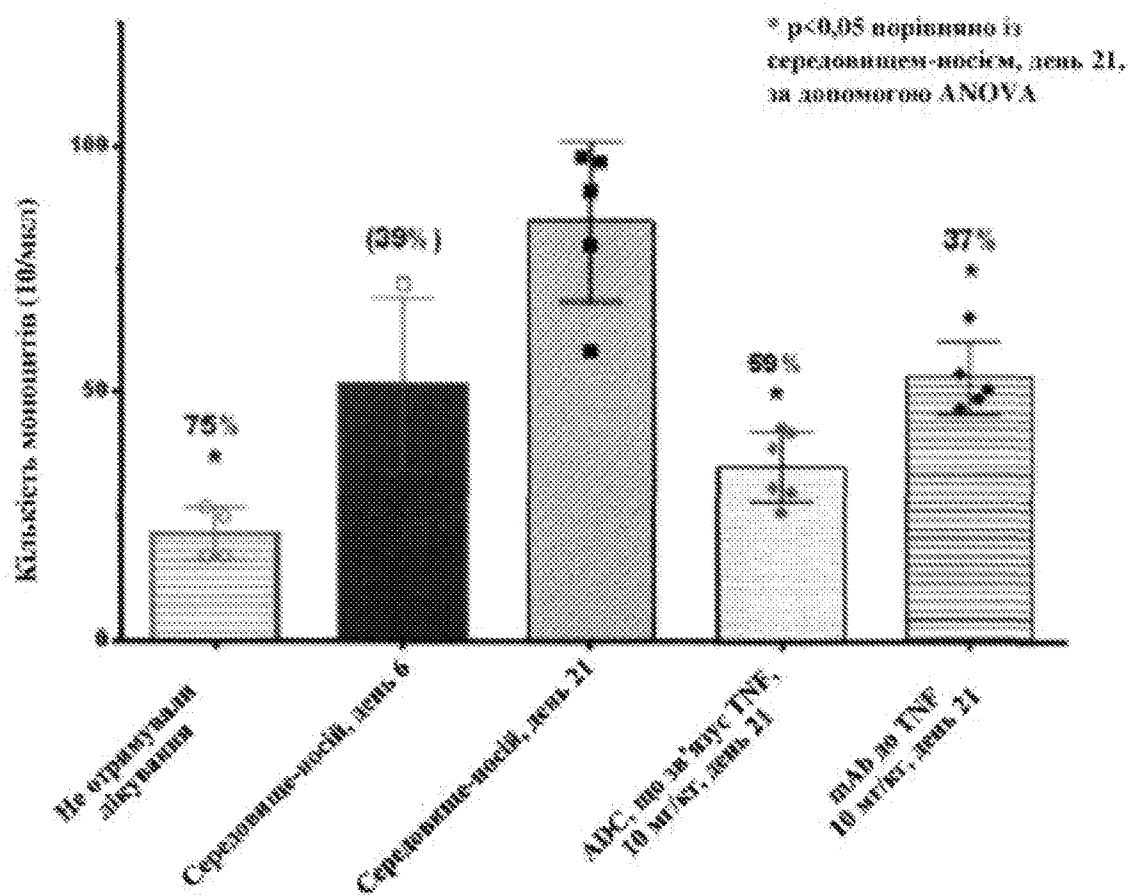


Фіг. 19



Фіг. 20

Периферична кров
Моноцити (10/мкл)



Фіг. 21

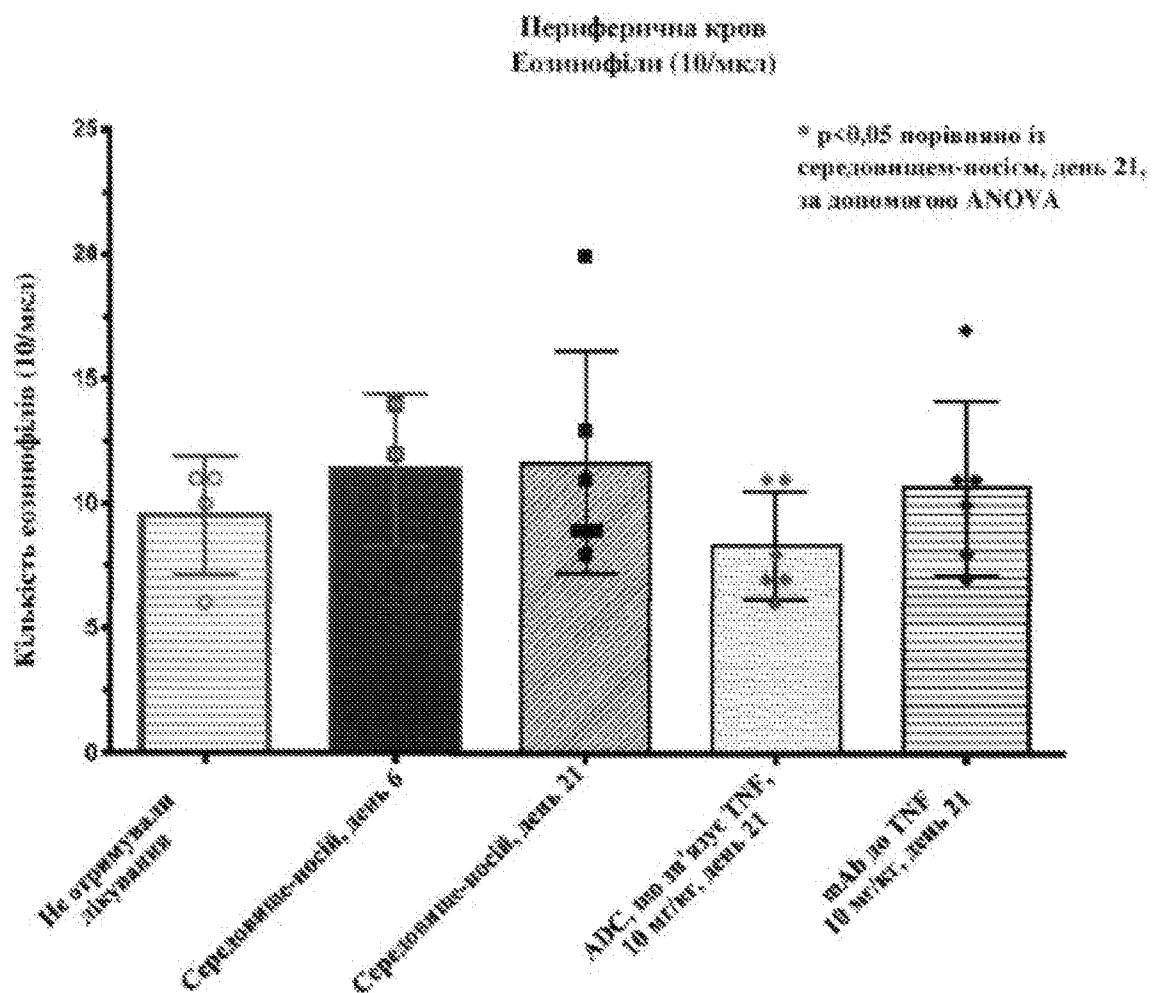
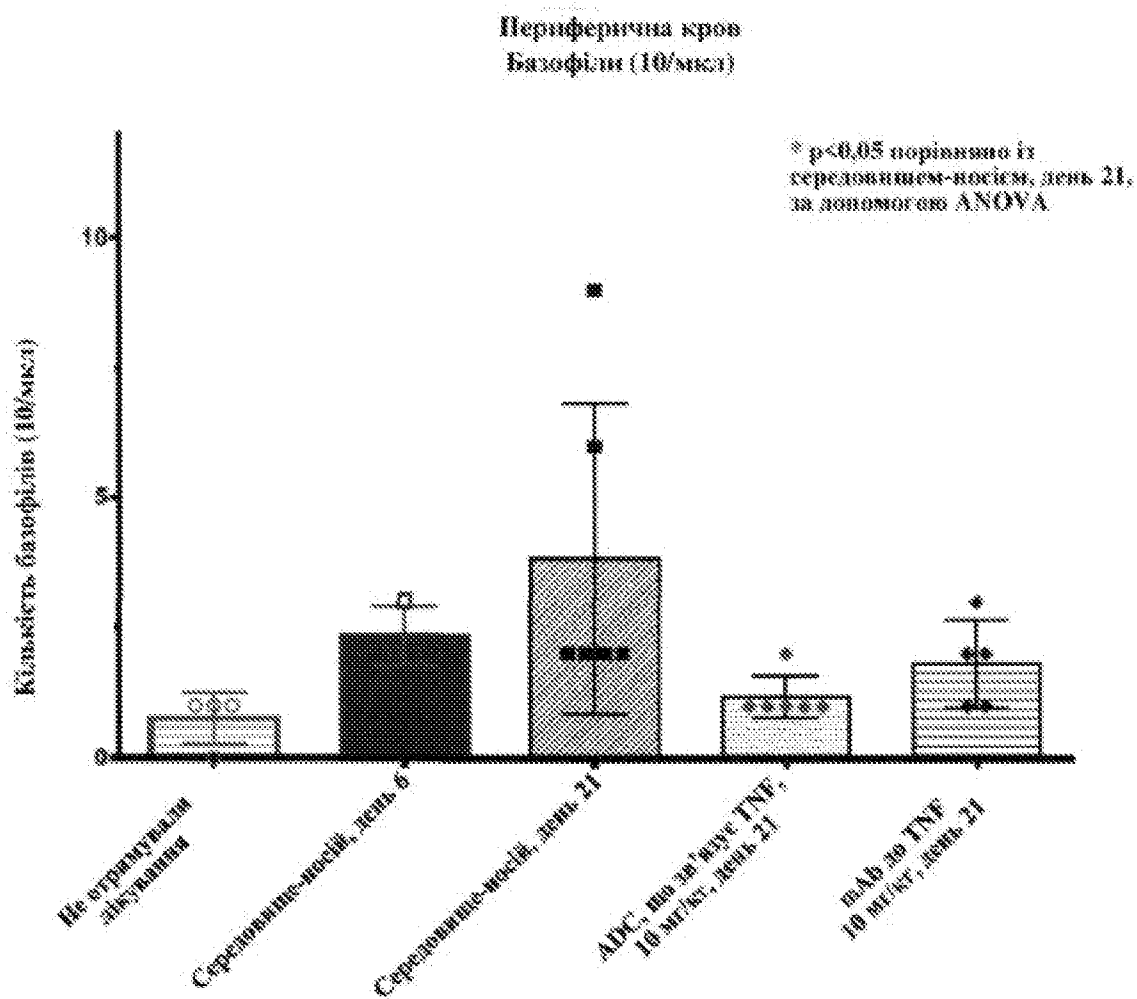
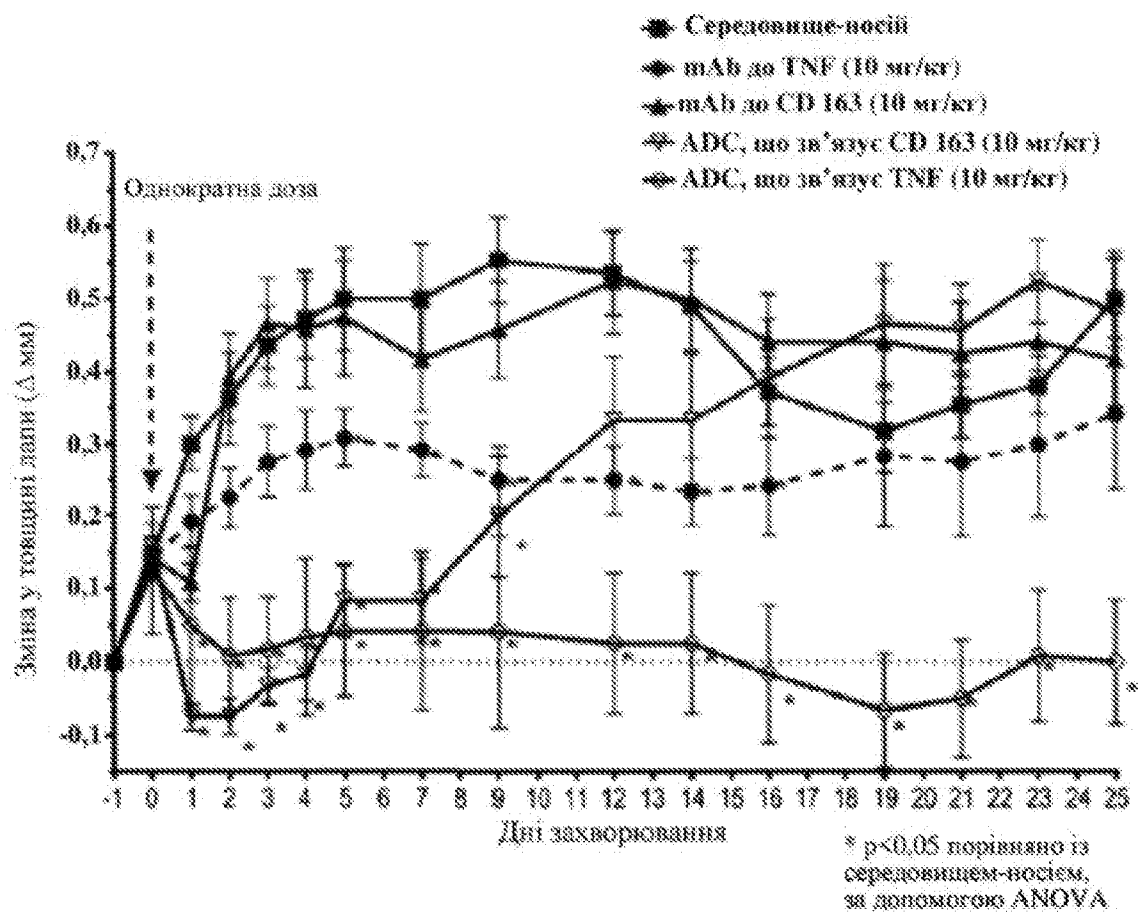


Fig. 22



Фіг. 23



Фіг. 24