Neue Binder-Wirkstoff Konjugate (ADCs) und ihre Verwendung

Die vorliegende Anmeldung betrifft neue, gegen das Target Fibroblastenwachstumsfaktorrezeptor 2 (FGFR2) gerichtete Binder-Wirkstoff-Konjugate (ADCs) von N,N-Dialkylauristatinen, wirksamer Metabolite dieser ADCs, Verfahren zur Herstellung dieser ADCs, die Verwendung dieser ADCs zur Behandlung und/oder Prävention von Krankheiten sowie die Verwendung dieser ADCs zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung und/oder Prävention von Krankheiten, insbesondere von hyperproliferativen und/oder angiogenen Erkrankungen wie beispielsweise Krebserkrankungen. Solche Behandlungen können als Monotherapie oder auch in Kombination mit anderen Arzneimitteln oder weiteren therapeutischen Maßnahmen erfolgen.

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

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

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

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

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

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

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

Die Kopplung cytotoxischer Verbindungen an Antiköper bildet eine erweiterte Möglichkeit, um die Krebstherapie weiterhin zu verbessern, da diese Konjugate eine tumorspezifische Toxophoranreicherung ermöglichen und gleichzeitig die systemische Toxizität reduzieren. Hinsichtlich der Wirksamkeit und der Vertäglichkeit wurden in klinischen Studien mit Brentuximab

vedotin im Hodgkin Lymphom sowie Trastuzumab-DM1 bei Brustkrebs vielversprechende Ergebnisse erhalten, die die Entwicklung neuer Antikörper und neuer ADCs gegen weitere Tumorantigene unterstützen.

Die antikörperbasierte Therapie erweist sich bei der Behandlung von verschiedenen Karzinomen, darunter von festen Tumoren, als sehr schlagkräftig. So zum Beispiel wurde Herceptin® erfolgreich für die Behandlung von Brustkrebs eingesetzt und Rituxan® ist bei Karzinomtypen, die mit den B-Zellen in Zusammenhang stehen, schlagkräftig. Im Mittelpunkt der Entwicklung einer erfolgreichen antikörperbasierten Therapie ist die Isolation von Antikörpern gegen Zelloberflächenproteine, die vorzugsweise auf Tumorzellen exprimiert werden.

Bei den Fibroblastenwachstumsfaktorrezeptoren handelt es sich um Tyrosinrezeptorkinasen (RTK), von denen bei Säugetieren vier bekannt sind (FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4). Als Liganden sind 22 humane Fibroblastenwachstumsfaktoren (FGF) identifiziert worden (Eswarakumar und Schlessinger, Cytokine & Growth Factor Reviews 2005, 16:139-149; Shimada et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2001, 98:6500-6505). Die FGFR bestehen aus drei extrazellulären Immunoglobulin (Ig)-ähnlichen Domänen, nämlich D1-D3, wobei die Domänen 2 und 3 für die Ligandenbindung erforderlich sind, einer einzelnen Transmembrandomäne und einer cytoplasmatischen Domäne, die das katalytische Zentrum der Proteintyrosinkinase enthält (eine schematische Darstellung findet sich in Abbildung 1).
Schematische Darstellung der Struktur von FGFR2. Alpha (SEQ ID NO:1) und beta (SEQ ID NO:2) Spleissvarianten sind einander gegenübergestellt. Die Darstellung zeigt die drei Ig-ähnlichen Domänen (D1, D2 und D3), die Transmembrandomäne (TM) und die intrazelluläre Kinasedomäne. Die Heparinbindungsstelle (HBS), die azide Box (AB), und the alternative IIIb/IIIc Domäne sind ebenfalls gekennzeichnet. Der Aminoterminus ist durch ein N, der Carboxyterminus durch ein C markiert.

Der extrazelluläre Teil birgt zusätzlich die acide Box (AB) und die Heparinbindungsstelle (HBS) (siehe Abbildung 1). Ein wichtiges Merkmal der FGFR-Familie der RTK ist, dass verschiedene alternativ gespleißte Varianten existieren. Der Volllängen-FGFR wird als FGFR alpha (SEQ ID NO:1) bezeichnet, während die Isoform, der D1 fehlt, als FGFR beta bezeichnet wird (SEQ ID NO:2) (Abbildung. 1) Eine alternative Spleißung in Domäne 3 führt zu zwei unterschiedlichen Varianten, nämlich FGFR2 IIIb, der durch die Exons 7 und 8 kodiert wird, und FGFR2 IIIc, der durch die Exons 7 und 9 kodiert wird (Abbildung 1). Die letztgenannte Spleißung beeinflusst die Ligandenbindung, was zu dem Spezifitätsmuster führt. FGFR2 IIIc wird in erster Linie von Mesenchymzellen exprimiert und FGFR2 IIIb im Wesentlichen von Epithelzellen. FGF7 ist auch als Keratinocytenwachstumsfaktor (KGF) bekannt und bindet nur an FGFR2 IIIb, der daher auch

KGFR genannt wird. Binden die FGF an ihre Rezeptoren, so finden im Anschluss daran Dimerisierung und Phosphorylierung der FGFR und ein Downstream-Signaling über den FRS-GRB2-Andockungsproteinkomplex an die RAS-MAPK-Signalleitungskaskade und die PI3K-AKT-Signalleitungskaskade statt. Die erstgenannte Signalleitungskaskade ist am Zellwachstum und an der Zelldifferenzierung beteiligt, die letztgenannte ist am Überleben der Zellen und an der Bestimmung des Zellschicksals beteiligt (Katoh und Katoh, Int. J. Oncol. 2006, 29:163-168).

Für die korrekte Organogenese während der Embryogenese ist eine orchestrierte Signalleitung von allen vier Rezeptoren (FGFR1 bis FGFR4) und ihren Spleißvarianten über die unterschiedlichen FGFs erforderlich (Ornitz et al., Genome Biol 2001, 2:3005). Beim FGFR2 führt das Fehlen von allen FGFR2-Varianten zu Defekten in der Plazenta- und Gliedmaßenknospenbildung und führt daher zu Letalität im Stadium E10.5. Ein spezifisches Knock-Out von FGFR2 IIIb in der Maus führt ebenfalls zu Letalität (in P0) in Assoziation mit Agenese der Lungen, des Vorderlappens, der Schilddrüse, der Zähne und der Gliedmaßen, während eine Störung der FGFR2-IIIc-Variante lebensfähig ist, wobei verzögerte Verknöcherung, proportionale Zwergwüchsigkeit und Synostose der Schädelbasis auftreten (Eswarakumar und Schlessinger, 2005). Aktivierende Mutationen des FGFR2 in der Keimbahn führen zu schweren Missbildungen während der Embryogenese, wie Koronalsynostose und Kraniosynostose beim Apert- oder beim Pfeiffer-Syndrom beim Menschen (Robin et al., in Gene Reviews, NCBI Bookshelf Washington, Hrsg. Pagon et al., 1993). Beim Erwachsenen ist die FGFR2-Signalleitung an der Wundheilung, der Epithelreparatur und dem Zellschutz von Haut und Schleimhaut (Braun et al., Phil. Trans. R. Soc. Lond. B 2004, 359:753-757) und an der Regeneration bei Leberschädigung (Steiling et al., Oncogene 2003, 22:4380-4388; Böhm, Doktorarbeit, Eidgenössische Technische Hochschule Zürich, 2009) beteiligt. Eine Rolle der FGFR2-Signalleitung in der Migration von EPDC (epicardial derived cells) in das Herz im Anschluss an Infarktbildung wird deshalb diskutiert, da während der Embryogenese die FGF10-FGFR2-Signalleitung für die Migration von EPDC in das kompakte Myokard erforderlich ist, ein Vorgang, der für die Entwicklung des vollständigen Herzens erforderlich ist (Vega-Hernández et al., Development 2011:3331-3340; Winter und De Groot, Cell Mol. Life Sci. 2007, 64:692-703). Alle diese Rollen des FGFR2 sind regenerativer Art und anscheinend nur unter nichtphysiologischen Bedingungen aufgrund einer Störung der Gewebehomöostase von essentieller Bedeutung. Eine verstärkte somatische Signalleitung über FGFR2 ist an unterschiedlichen pathologischen Zuständen wie Akne (Katoh, J. of Invest. Dermatol. 2009, 129:1861-1867), Schuppenflechte (Finch et al., Am. J. Pathol. 1997, 151:1619-1628; Xu et al., J. Invest. Dermatol. 2011:131:1521-1529) und Krebs (siehe unten) beteiligt.

Es sind mehrere Studien veröffentlicht worden, in denen eine starke Assoziation der FGFR2-Expression mit einem ungünstigem Ausgang bei Krebspatienten gezeigt wird:

Die Überexpression von FGFR2 und/oder KGF geht mit expansivem Wachstum von Magenkarzinom und kürzerem Überleben der Patienten einher (Matsunobu et al., Int. J. Cancer 2006, 28:307-314; Toyokawa et al., Oncol. Reports 2009, 21:875-880). Die Überexpression von FGFR2 wurde dabei bei 31-36.5% von allen geprüften Magenkarzinomproben nachgewiesen (Matsunobu et al., Int. J. Cancer 2006, 28:307-314; Toyokawa et al., Oncol. Reports 2009, 21:875-880). Das Adenokarzinom (70% aller Magenkarzinome) wird weiterhin in zwei unterschiedliche pathologische Typen eingeteilt, nämlich Magenkrebs des intestinalen Typs und des diffusen Typs. Interessanterweise geht der erste, weniger aggressive Typ mit einem aktivierten ErbB2-Signalweg einher, während bei dem letztgenannten, aggressiveren Typ Aberrationen im FGFR2/PI3K-Signalweg auftreten (Yamashita et al., Surg. Today 2011, 41:24-38). Eine FGFR2-Überexpression trat bei 53% aller Proben von Magenkrebs diffusen Typs auf (Yamashita et al., Surg. Today 2011, 41:24-38). Unter Einbeziehung aller Daten scheint die HER2-Expression und die FGFR2-Expression in zwei unterschiedlichen Patientenpopulationen aufzutreten. Möglicherweise ist die Expression von FGFR2 teilweise das Ergebnis einer Genamplifikation, da bei ungefähr 7-10% aller primären Magenkarzinome Amplifikationen von FGFR2 zu finden sind (Kunii et al. Cancer Res. 2008, 68:23-40-2348). Weiterhin wurde eine FGFR2-Expression nicht nur in Metastasen gefunden, sondern war in Metastasen sogar noch stärker als in Primärtumoren (Yamashita et al., Surg. Today 2011, 41:24-38).

Bei Brustkrebs wurde eine FGFR2-IIIb-Expression bei 57% der Tumorproben gefunden, jedoch kaum in gesundem Gewebe (Tamaru et al. 2004, 84:1460-1471). KGF (FGF7) trat in 45% der Stichproben auf und zwar im Allgemeinen gemeinsam mit FGFR2 IIIb. Die Co-Expression von FGF7 und seinem einzigen Rezeptor FGFR2 IIIb war mit einer signifikant verringerten Anzahl apoptotischer Zellen innerhalb des Primärtumors im Vergleich zu primären Brustkarzinomen, wo weder FGF7 noch FGFR2 IIIb exprimiert wurde, assoziiert (Tamaru et al. 2004, 84:1460-1471). Wie beim Magenkrebs wurde auch beim Brustkrebs eine Genamplifikation gefunden, und zwar bei 4% der dreifach negativen Brustkarzinome (TNBC) (Turner et al. Oncogene 2010, 29:2013-2023). Bei Brustkrebs wurden mehrere Veränderungen einzelner Nukleotide (Single Nucleotide Polymorphism = SNP) identifiziert, die mit einem erhöhten Brustkrebsrisiko einhergehen (Hunter et al. Nature Genetics 2007, 6:870-874). Wenn der SNP innerhalb von Intron 2 lokalisiert sind, führt dies zu einer transkriptionellen Heraufregulation von FGFR2 (Katoh Expert Reviews 2010, 10:1375-1379). Interessanterweise wird FGFR1 vorzugsweise bei Östrogenrezeptor (ER)-positiven

Brustkarzinomen heraufreguliert, während FGFR2 bei ER-negativen Brustkarzinomen heraufreguliert wird (Katoh, Expert Reviews 2010, 10:1375-1379).

Beim Pankreaskarzinom ist die Überexpression von FGFR2 IIIb und/oder FGF7 stark mit Veneninvasion korreliert (Cho et al., Am. J. Pathol. 170:1964-1974), wobei eine Co-Expression von FGFR2 und FGF7 in Tumorzellen gefunden wurde, wobei dies jedoch in den Stromazellen, die neben den Tumorzellen liegen, noch häufiger auftrat (Ishiwata et al., Am. J. Pathol. 1998, 153:213-222).
Bei epithelialem Eierstockkrebs wurde bei 80% der Fälle eine Hinaufregulation von FGFR2 verglichen mit normalem Gewebe gefunden, und bei 70% trat FGF7 in der Aszitesflüssigkeit auf (Steele et al., Oncogene 20:5878-5887).
Das FGFR2-Protein wurde bei allen getesteten invasiven Zervixkarzinomen gefunden, wobei eine starke Expression an der invasiven Front der Tumore auftrat (Kawase et al., Int. J. Oncol. 2010, 36:331-340).
Beim Lungenadenokarzinom trat eine Co-Expression von FGF7 und FGFR2 bei 51.6% der Fälle auf und korreliert mit niedrigeren Differenzierungsgraden, höherer Proliferationsrate, Lymphknotenmetastase und kürzerem 5-Jahres-Überleben (Yamayoshi et al., J. Pathol. 2004, 204:110-118).
Beim Endometriumkarzinom treten aktivierenden FGFR2-Mutationen bei ungefähr 16% der Fälle auf (Pollock et al., Oncogene 2007, 26:7158-7162).
Beim Speiseröhrenkrebs (EC) wurde eine Co-Expression von FGF7 und FGFR2 in Krebszellen bei 26% der Patienten gefunden und ging mit einem Trend zu einer kürzeren Überlebenszeit einher (Yoshino et al., Int. J. Oncol. 2007, 31:721-728).
Beim Leberzellkarzinom war die FGFR2-Expression in schlecht differenzierten Tumoren 4,7-mal stärker heraufreguliert. Diese Expression geht mit dem Auftreten von Pfortaderinvasion und niedrigeren krankheitsfreien Überlebenszeiten einher (Harimoto et al., Oncology 2010, 78:361-368).

In mehreren Publikationen mit *in-vitro-* und *in-vivo*-Versuchsdaten wird ein kausaler Zusammenhang zwischen einer veränderten FGFR2-Signalleitung und Tumorwachstum nachgewiesen.

Ein Knock-down bzw. eine Hemmung von FGFR2 in Zellen von Magenkrebs (Takeda et al., Clin. Cancer Res. 2007; 13:3051-3057; Kunii et al., Cancer Res. 2008; 68:2340-2348), Brustkrebs (Turner et al. Oncogene 2010, 29:2013-2023), Eierstockkrebs (Cole et al., Cancer Biol. Ther. 2010, 10:495-504) sowie Plattenepithelkarzinom des Kopfes und Halses (Marshall et al., Clin. Cancer Res. 2011, 17:5016-5025) führten zu einer reduzierten Proliferation bzw. erhöhten Apoptose der Tumorzellen. Auch bei Tumorxenotransplantaten wurde bei Knock-down von FGFR2 sowie

Hemmung von FGFR2 in Tumorzelllinien, die FGFR2 überexprimieren, eine Wachstumshemmung bei Magenkrebszelllinien (Takeda et al., Clin. Cancer Res. 2007; 13:3051-3057) sowie Eierstockkrebszelllinien (Cole et al., Cancer Biol. Ther. 2010, 10:495-504) beobachtet. Außerdem erhöht FGF7, der ausschließlich FGFR2 aktiviert, die Proliferation von Magenkrebszelllinien (Shin et al., J. Cancer Res. Clin. Oncol. 2002, 128:596–602), Brustkrebszelllinien (Zhang et al., Anticancer Res. 1998, 18:2541-2546) und Eierstockkrebszelllinien (Cole et al., Cancer Biol. Ther. 2010, 10:495-504) *in vitro* und *in vivo*. Weiterhin führte ein Knock-down von FGFR2 in Endometriumkrebszelllinien, die FGFR2 mit aktivierenden Mutationen aufweisen, ebenfalls zum Stillstand des Zellzyklus und zur Induktion des Zelltods (Byron et al., Cancer Res. 2008, 68:6902-6907).

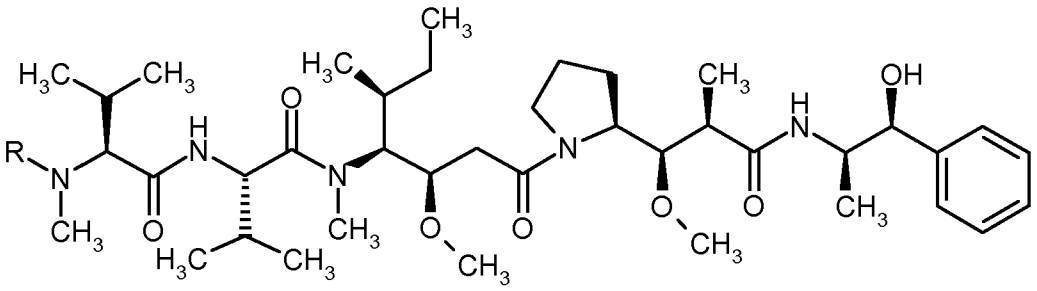
Die FGFR2-Signalleitung fördert die Migration und Invasion von Magenkrebszelllinien (Shin et al., J. Cancer Res. Clin. Oncol. 2002, 128:596–602), Brustkrebszelllinien (Zhang et al., Anticancer Res. 1998, 18:2541-2546) und Pankreaskrebszelllinien *in vitro* (Nomura et al., Br. J. Cancer 2008, 99:305-313; Niu et al., J. Biol. Chem. 2007, 282:6601-6011).

Bei Speiseröhrenkrebs ist FGFR2 das am stärksten heraufregulierte Gen in tumorassoziierten Fibroblasten. Isolierte tumorassoziierte Fibroblasten setzten einen löslichen Faktor frei, der die Proliferation von Speiseröhrenkrebszellen fördert (Zhang et al., hum. Cancer Biol. 2009, 15:4017-4022), wodurch nachgewiesen wird, dass auch von Stromazellen exprimierter FGFR2 die Tumorprogression fördern kann.

Über Anti-FGFR2-Antikörper finden sich nur wenige Berichte. Bei Fortin et al. (J. Neurosci. 2005, 25: 7470-7479) wird ein blockierender Anti-FGFR2-Antikörper beschrieben. Wei et al. (Hybridoma 2006, 25: 115-124) zeigten Antikörper mit ausschließlicher Spezifität für FGFR2 IIIb, die die KGF-induzierte Zellproliferation hemmen. In WO2007/144893 werden hemmende Antikörper, die FGFR2 und FGFR3 binden, beschrieben. In WO2010/054265 und bei Zhao et al. (Clin. Cancer Res. 2010,16:5750-5758) werden Antikörper, die die FGF-Bindung hemmen, beschrieben, unter anderem zum Beispiel GAL-FR21 und GAL-FR22. Bai et al. (Cancer Res. 2010, 70:7630-7639) beschreiben Antikörper mit Spezifität für FGFR2 IIIb. Von R&D Systems werden Anti-FGFR2-Antikörper vertrieben, die in den Assays des Herstellers aktivitätsneutralisierend wirken. In WO2005/066211 werden Antikörper beschrieben, die gegen verschiedene Zelloberflächen-FGFRs, unter anderem FGFR2, gerichtet sind. In WO2009/100105 werden isoformspezifische anti-FGFR2 Antikörper, die kovalent mit

Effektormolekülen verknüpft werden können, beschrieben. In WO2007/134210 werden Methoden beschrieben, kolorektalen Krebs unter Verwendung von anti-FGFR2 Antikörpern oder Immunkonjugaten zu behandeln. In WO2007/144893 werden FGFR2 Antikörper mit Bindungsaffinität für weitere FGFRs beschrieben, die die ligandenabhängige und die konstitutive ligandenunabhängige FGFR2-Rezeptoraktivierung blockieren.

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

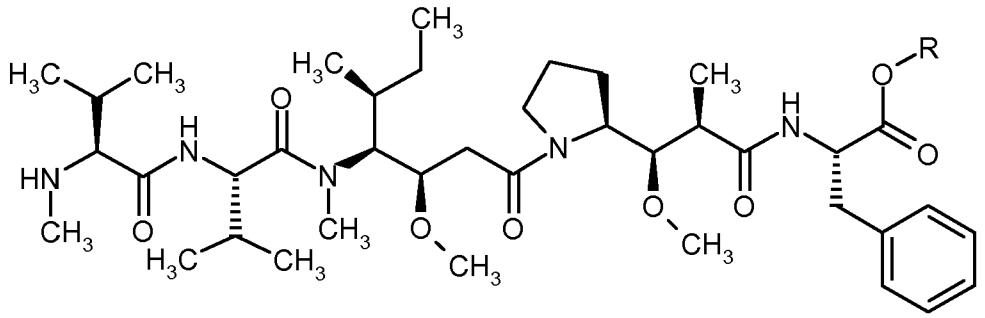


Auristatin E (AE): R = CH_3
Monomethylauristatin E (MMAE): R = H

Allerdings besitzt MMAE den Nachteil einer vergleichsweise hohen systemischen Toxizität. Zur Verbesserung der Tumorselektivität wird MMAE insbesondere in Verbindung mit enzymatisch spaltbaren Valin-Citrullin-Linkern im ADC-Setting zur gezielteren Tumortherapie eingesetzt [WO 2005/081711-A2; S. O. Doronina *et al.*, *Bioconjugate Chem.* 17, 114-124 (2006)]. Nach proteolytischer Spaltung wird MMAE vorzugsweise intrazellulär aus entsprechenden ADCs freigesetzt.

Monomethylauristatin F (MMAF) ist ein Auristatin-Derivat mit einer C-terminalen Phenylalanin-Einheit, das nur moderate anti-proliferative Wirkung im Vergleich zu MMAE aufweist. Dies ist sehr wahrscheinlich auf die freie Carboxylgruppe zurückzuführen, die aufgrund ihrer Polarität und Ladung die Zellgängigkeit dieser Verbindung negativ beeinflusst. In diesem Zusammenhang wurde der Methylester von MMAF (MMAF-OMe) als ein neutral geladenes, zellgängiges Prodrug-Derivat beschrieben, das im Vergleich zu MMAF eine um mehrere Größenordnungen erhöhte *in vitro*-Cytotoxizität gegenüber verschiedenen Karzinoma-Zelllinien zeigt [S. O. Doronina *et al.*, *Bioconjugate Chem.* 17, 114-124 (2006)]. Es ist anzunehmen, dass diese Wirkung durch MMAF selbst

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



Monomethylauristatin F (MMAF): R = H

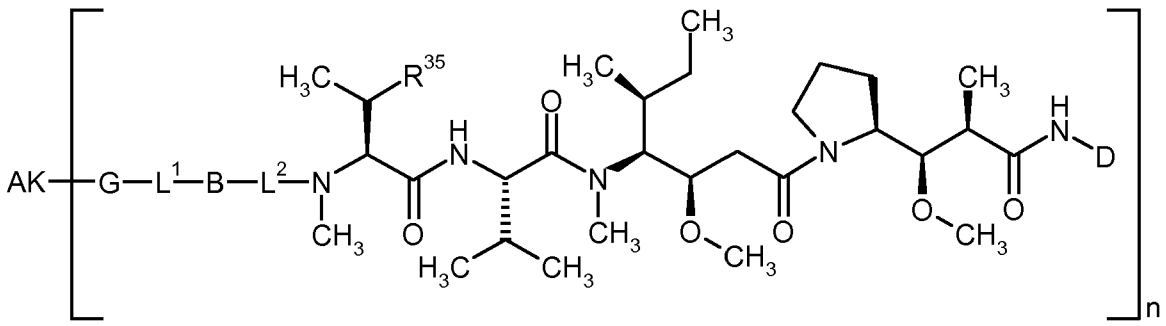
Monomethylauristatin F-methylester (MMAF-OMe): R = CH_3

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

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

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

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



(Ia),

in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 50 steht,

AK für einen Binder steht, der FGFR2 bindet,

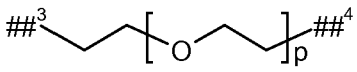
die Gruppe §-G-L^1-B-§§ für einen Linker steht,

wobei

§ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe AK kennzeichnet und

§§ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

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



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

^{3} die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

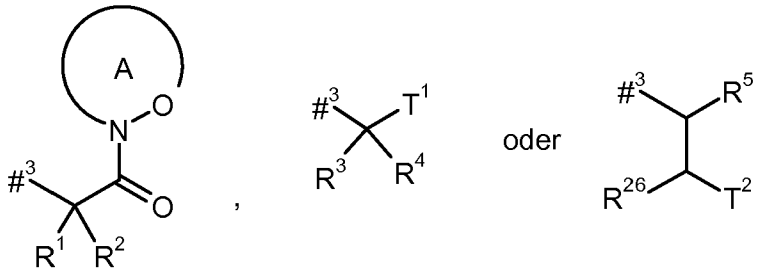
^{4} die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

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

und

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

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

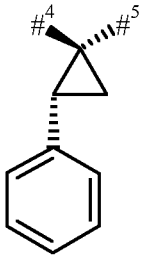
$\#^3$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^2 für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

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

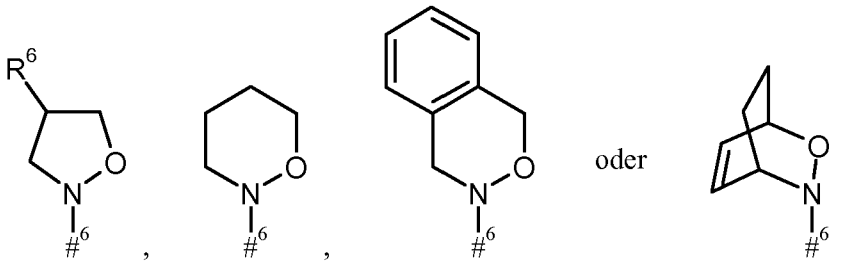


bilden, worin

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

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

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



steht, worin

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

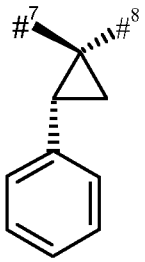
R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R^3 für Wasserstoff oder Methyl steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

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

worin

R^7 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R^8 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^9 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

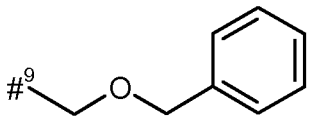
oder

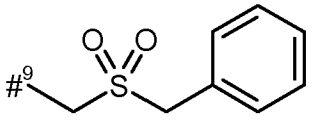
R^8 und R^9 bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R^{10} für Benzoyl steht,

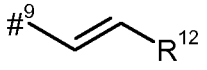
R^{11} für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

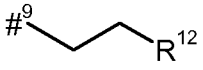
R^5 für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel

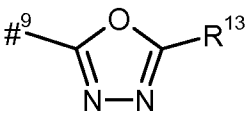


,


,



,


oder


steht, worin

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

R^{12} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel –$S(O)_2OH$ substituiert sein kann,

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

R^{26} für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

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

R^{35} für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

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

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in Abhängigkeit von ihrer Struktur in unterschiedlichen stereoisomeren Formen existieren, d.h. in Gestalt von Konfigurationsisomeren oder gegebenenfalls auch als Konformationsisomere (Enantiomere und/oder Diastereomere, einschließlich solcher bei Atropisomeren). Die vorliegende Erfindung umfasst deshalb die Enantiomeren und Diastereomeren und ihre jeweiligen Mischungen. Aus solchen Mischungen von Enantiomeren und/ oder Diastereomeren lassen sich die stereoisomer einheitlichen Bestandteile in bekannter Weise isolieren; vorzugsweise werden hierfür chromatographische Verfahren verwendet, insbesondere die HPLC-Chromatographie an achiraler bzw. chiraler Phase.

Sofern die erfindungsgemäßen Verbindungen in tautomeren Formen vorkommen können, umfasst die vorliegende Erfindung sämtlichADC-Charae tautomere Formen.

Die vorliegende Erfindung umfasst auch alle geeigneten isotopischen Varianten der erfindungsgemäßen Verbindungen. Unter einer isotopischen Variante einer erfindungsgemäßen Verbindung wird hierbei eine Verbindung verstanden, in welcher mindestens ein Atom innerhalb der erfindungsgemäßen Verbindung gegen ein anderes Atom der gleichen Ordnungszahl, jedoch mit einer anderen Atommasse als der gewöhnlich oder überwiegend in der Natur vorkommenden Atommasse ausgetauscht ist. Beispiele für Isotope, die in eine erfindungsgemäße Verbindung inkorporiert werden können, sind solche von Wasserstoff, Kohlenstoff, Stickstoff, Sauerstoff, Phosphor, Schwefel, Fluor, Chlor, Brom und Iod, wie ^{2}H (Deuterium), ^{3}H (Tritium), ^{13}C, ^{14}C, ^{15}N, ^{17}O, ^{18}O, ^{32}P, ^{33}P, ^{33}S, ^{34}S, ^{35}S, ^{36}S, ^{18}F, ^{36}Cl, ^{82}Br, ^{123}I, ^{124}I, ^{129}I und ^{131}I. Bestimmte isotopische Varianten einer erfindungsgemäßen Verbindung, wie insbesondere solche, bei denen ein oder mehrere radioaktive Isotope inkorporiert sind, können von Nutzen sein beispielsweise für die Untersuchung des Wirk-

mechanismus oder der Wirkstoff-Verteilung im Körper; aufgrund der vergleichsweise leichten Herstell- und Detektierbarkeit sind hierfür insbesondere mit ^{3}H- oder ^{14}C-Isotopen markierte Verbindungen geeignet. Darüber hinaus kann der Einbau von Isotopen, wie beispielsweise von Deuterium, zu bestimmten therapeutischen Vorteilen als Folge einer größeren metabolischen Stabilität der Verbindung führen, wie beispielsweise eine Verlängerung der Halbwertszeit im Körper oder eine Reduktion der erforderlichen Wirkdosis; solche Modifikationen der erfindungsgemäßen Verbindungen können daher gegebenenfalls auch eine bevorzugte Ausführungsform der vorliegenden Erfindung darstellen. Isotopische Varianten der erfindungsgemäßen Verbindungen können nach den dem Fachmann bekannten Verfahren hergestellt werden, so beispielsweise nach den weiter unten beschriebenen Methoden und den bei den Ausführungsbeispielen wiedergegebenen Vorschriften, indem entsprechende isotopische Modifikationen der jeweiligen Reagenzien und/oder Ausgangsverbindungen eingesetzt werden.

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

Physiologisch unbedenkliche Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen umfassen Säureadditionssalze von Mineralsäuren, Carbonsäuren und Sulfonsäuren, z.B. Salze der Chlorwasserstoffsäure, Bromwasserstoffsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Methansulfonsäure, Ethansulfonsäure, Benzolsulfonsäure, Toluolsulfonsäure, Naphthalindisulfonsäure, Essigsäure, Trifluoressigsäure, Propionsäure, Milchsäure, Weinsäure, Äpfelsäure, Zitronensäure, Fumarsäure, Maleinsäure und Benzoesäure.

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

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

Koordination mit Wasser erfolgt. Als Solvate sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung Hydrate bevorzugt.

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

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

$(C_1$-$C_4)$-Alkyl steht im Rahmen der Erfindung für einen linearen oder verzweigten Alkylrest mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen. Beispielhaft und vorzugsweise seien genannt: Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, Isopropyl, *n*-Butyl, Isobutyl, 1-Methylpropyl und *tert.*-Butyl.

Alkandiyl steht im Rahmen der Erfindung für einen linearen, α,ω-divalenten Alkylrest mit der jeweils angegebenen Zahl von Kohlenstoffatomen. Beispielhaft und vorzugsweise seien genannt: Methylen, Ethan-1,2-diyl (1,2-Ethylen), Propan-1,3-diyl (1,3-Propylen), Butan-1,4-diyl (1,4-Butylen), Pentan-1,5-diyl (1,5-Pentylen), Hexan-1,6-diyl (1,6-Hexylen), Heptan-1,7-diyl (1,7-Hexylen), Octan-1,8-diyl (1,8-Octylen), Nonan-1,9-diyl (1,9-Nonylen), Decan-1,10-diyl (1,10-Decylen).

$(C_3$-$C_7)$-Cycloalkyl bzw. 3- bis 7-gliedriger Carbocyclus steht im Rahmen der Erfindung für eine monocyclische, gesättigte Cycloalkylgruppe mit 3 bis 7 Kohlenstoffatomen. Beispielhaft und vorzugsweise seien genannt: Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl und Cycloheptyl.

Die Seitengruppe einer α-Aminosäure in der Bedeutung von R^{19} umfasst sowohl die Seitengruppen der natürlich vorkommenden α-Aminosäuren als auch die Seitengruppen von Homologen und Isomeren dieser α-Aminosäuren. Die α-Aminosäure kann hierbei sowohl in der L- als auch in der D-Konfiguration oder auch als Gemisch der L- und D-Form vorliegen. Als Seitengruppen seien beispielhaft genannt: Methyl (Alanin), Propan-2-yl (Valin), Propan-1-yl (Norvalin), 2-Methylpropan-1-yl (Leucin), 1-Methylpropan-1-yl (Isoleucin), Butan-1-yl (Norleucin), *tert.*-Butyl (2-*tert.*-Butylglycin), Phenyl (2-Phenylglycin), Benzyl (Phenylalanin), p-Hydroxybenzyl (Tyrosin), Indol-3-ylmethyl (Tryptophan), Imidazol-4-ylmethyl (Histidin), Hydroxymethyl (Serin), 2-Hydroxyethyl (Homoserin), 1-Hydroxyethyl (Threonin), Mercaptomethyl (Cystein), Methylthiomethyl (*S*-Methylcystein), 2-Mercaptoethyl (Homocystein), 2-Methylthioethyl (Methionin), Carbamoylmethyl (Asparagin), 2-Carbamoylethyl (Glutamin), Carboxymethyl (Asparaginsäure), 2-Carboxyethyl (Glutaminsäure), 4-Aminobutan-1-yl (Lysin), 4-Amino-3-hydroxybutan-1-yl (Hydroxylysin), 3-Aminopropan-1-yl (Ornithin), 2-Aminoethyl (2,4-Diaminobuttersäure), Aminomethyl (2,3-Diamino-

propionsäure), 3-Guanidinopropan-1-yl (Arginin), 3-Ureidopropan-1-yl (Citrullin). Bevorzugte α-Aminosäure-Seitengruppen in der Bedeutung von R^{19} sind Methyl (Alanin), Propan-2-yl (Valin), 2-Methylpropan-1-yl (Leucin), Benzyl (Phenylalanin), Imidazol-4-ylmethyl (Histidin), Hydroxymethyl (Serin), 1-Hydroxyethyl (Threonin), 4-Aminobutan-1-yl (Lysin), 3-Aminopropan-1-yl (Ornithin), 2-Aminoethyl (2,4-Diaminobuttersäure), Aminomethyl (2,3-Diaminopropionsäure), 3-Guanidinopropan-1-yl (Arginin). Bevorzugt ist jeweils die L-Konfiguration.

Ein 4- bis 7-gliedriger Heterocyclus steht im Rahmen der Erfindung für einen monocyclischen, gesättigten Heterocyclus mit insgesamt 4 bis 7 Ringatomen, der ein oder zwei Ring-Heteroatome aus der Reihe N, O, S, SO und/oder SO_2 enthält und über ein Ring-Kohlenstoffatom oder gegebenenfalls ein Ring-Stickstoffatom verknüpft ist. Bevorzugt ist ein 5- bis 7-gliedriger Heterocyclus mit ein oder zwei Ring-Heteroatomen aus der Reihe N, O und/oder S, besonders bevorzugt ein 5- oder 6-gliedriger Heterocyclus mit ein oder zwei Ring-Heteroatomen aus der Reihe N und/oder O. Beispielhaft seien genannt: Azetidinyl, Oxetanyl, Pyrrolidinyl, Pyrazolidinyl, Tetrahydrofuranyl, Thiolanyl, Piperidinyl, Piperazinyl, Tetrahydropyranyl, Tetrahydrothiopyranyl, Morpholinyl, Thiomorpholinyl, Hexahydroazepinyl und Hexahydro-1,4-diazepinyl. Bevorzugt sind Pyrrolidinyl, Tetrahydrofuranyl, Piperidinyl, Piperazinyl, Tetrahydropyranyl und Morpholinyl.

In der Formel der Gruppe, für die A, B, D, G, L^1, L^2, L^4, R^1, R^2, R^3, R^4 bzw. R^5 stehen kann, steht der Endpunkt der Linie, an dem das Zeichen $\#^6$, *, **, $\#^3$, $\#^1$, $\#^2$, $\#\#^1$, $\#\#^2$, $\#\#^3$, $\#\#^4$, ***, ****, $\#^4$, $\#^5$, $\#^6$, $\#^7$, $\#^8$ bzw. $\#^9$ steht, nicht für ein Kohlenstoffatom beziehungsweise eine CH_2-Gruppe, sondern ist Bestandteil der Bindung zu dem jeweils bezeichneten Atom, an das A, B, D, G, L^1, L^2, L^4, R^1, R^2, R^3, R^4 bzw. R^5 gebunden ist.

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

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

Der Begriff „Linker“ wird im breitesten Sinne als eine chemische Einheit verstanden, die eine kovalente Bindung oder eine Anreihung von Atomen umfasst, die einen Binder an einen Wirkstoff kovalent knüpft. Vorzugsweise wird der Begriff „Linker“ als eine Anreihung von Atomen im Sinne der vorliegenden Erfindung verstanden, die einen Binder an einen Wirkstoff kovalent knüpft.

Darüber hinaus können Linker beispielsweise divalente chemische Einheiten, wie Alkyldiyle, Aryldiyle, Heteroaryldiyle, Heterocyclyldiyle, Dicarbonylsäureester, Dicarbonylsäureamide darstellen.

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

Der Begriff "Epitop" wie hier verwendet, umfasst jede Determinante eines Proteins, welche spezifisch an ein Immunglobulin oder T-Zellrezeptoenr binden können. Solche Determinanten bestehen gewöhnlicherweise aus chemisch aktiven Oberflächenanordnungen von Molekülen, wie z.B. Aminosäuren, Kohlehydraten oder eine Kombination derselben, welche gewöhnlicherweise eine spezifische dreidimensionale Struktur und auch bestimmte Ladungseigenschaften aufweisen. Zwei Antikörper binden and das gleiche Epitope, wenn in einem kompetitiven Bindungsassayformat gezeigt wird, daß der erste Antikörper mit dem zweiten Antikörper kompetiert. Solche Bindungsassays sind dem Fachmann bekannt.

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

Der Begriff „extrazelluläres" Zielmolekül beschreibt ein an die Zelle gebundenes Zielmolekül, welches sich auf der Außenseite einer Zelle befindet oder den Teil eines Zielmoleküls, welcher sich

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

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

Der Binder kann über eine Bindung mit dem Linker verknüpft werden. Die Verknüpfung des Binders kann mittels eines Heteroatoms des Binders erfolgen. Erfindungsgemäße Heteroatome des Binders, die zur Verknüpfung verwendet werden können sind Schwefel (in einer Ausführungsform via einer Sulfhydrylgruppe des Binders), Sauerstoff (erfindungsgemäß mittels einer Carboxyl oder Hydroxylgruppe des Binders) und Stickstoff (in einer Ausführungsform via einer primären oder sekundären Amingruppe oder Amidgruppe des Binders). Diese Heteroatome können im natürlichen Binder vorhanden sein oder durch chemische oder molekularbiologische Methoden eingeführt werden. Erfindungsgemäß hat die Verknüpfung des Binders mit dem Toxophor nur einen geringen Einfluß auf die Bindeaktivität des Binders zum Zielmolekül. In einer bevorzugten Ausführungsform hat die Verknüpfung keinen Einfluß auf die Bindeaktivität des Binders zum Zielmolekül.

Der Begriff "Antikörper" wird gemäß der vorliegenden Erfindung in seinem breitesten Sinne verstanden und umfasst Immunglobulinmoleküle, beispielsweise intakte oder modifizierte monoklonale Antikörper, polyklonale Antikörper oder multispezifische Antikörper (z.B. bispezifische Antikörper). Ein Immunglobulinmolekül umfasst bevorzugt ein Molekül mit vier Polypeptidketten, zwei schwere Ketten (H Ketten) und zwei leichte Ketten (L Ketten), welche typischerweise durch Disulfidbrücken verknüpft sind. Jede schwere Kette umfasst eine variable Domäne der schweren Kette (abgekürzt VH) und konstante Domäne der schweren Kette. Die konstante Domäne der schweren Kette kann beispielsweise drei Domänen CH1, CH2 und CH3 umfassen. Jede leichte Kette umfasst eine variable Domäne (abgekürzt VL) und eine konstante Domäne. Die konstante Domäne der leichten Kette umfasst eine Domäne (abgekürzt CL). Die VH und VL Domänen können weiter unterteilt werden in Regionen mit Hypervariabilität, auch Komplementaritäts-bestimmende Regionen

genannt („complementarity determining region", abgekürzt CDR) und Regionen mit geringerer Sequenzvariabilität („framework region", abgekürzt FR). Jede VH und VL Region setzt sich typischerweise aus drei CDRs und bis zu vier FRs zusammen. Beispielsweise vom Aminoterminus zum Carboxyterminus in der folgenden Reihenfolge FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Ein Antikörper kann aus jeder dafür geeeigneten Spezies erhalten werden z.B. Kanninchen, Lama, Kamel, Maus, oder Ratte. In einer Ausführungsform ist der Antikörper humanen oder murinen Ursprungs. Ein Antikörper kann z.B. human, humanisiert oder chimär sein.

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

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

Der Begriff „modifizierter intakter" Antikörper bezieht sich auf intakte Antikörper, die mit einem weiteren Polypeptid oder Protein, welche nicht von einem Antikörper stammen, über ihren Aminoterminus oder Carboxyterminus mittels einer kovalenten Bindung (z.B. einer Peptidverknüpfung) fusioniert wurden. Des Weiteren können Antikörper dahingehend modifiziert werden, dass an definierten Stellen reaktive Cysteine eingeführt werden, um die Kopplung an ein Toxophor zu erleichtern (siehe Junutula et al. Nat Biotechnol. 2008 Aug;26(8):925-32).

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

Der Begriff „humanisierter" oder „chimärer" Antikörper beschreibt Antikörper, die aus einem nicht-humanen und einem humanen Sequenzanteil bestehen. Bei diesen Antikörpern wird ein Teil der Sequenzen des humanen Immunoglobulins (Rezipient) durch Sequenzanteile eines nicht-humanen Immunoglobulins (Donor) ersetzt. Der Donor ist in vielen Fällen ein murines Immunoglobulin. Bei

humanisierten Antikörpern werden Aminosäuren der CDR des Rezipienten durch Aminosäuren des Donors ersetzt. Manchmal werden auch noch Aminosäuren des Frameworks durch korrespondierende Aminosäuren des Donors ersetzt. In machen Fällen enthält der humanisierte Antikörper Aminosäuren, die weder im Rezipient noch im Donor enthalten waren und die während der Optimierung des Antikörpers eingefügt wurden. Bei chimären Antikörpern werden die variablen Domänen des Donor-Immunoglobulins mit den konstanten Regionen eines humanen Antikörpers fusioniert.

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

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

Der Begriff „funktionales Fragment“ oder „antigen-bindendes Antikörperfragment“ eines Antikörpers/Immunoglobulins ist definiert als ein Fragment eines Antikörpers/Immunoglobulins (z.B. die variable Domänen eines IgG), welches die Antigen-Bindedomänen des Antikörpers/Immunoglobulins noch umfasst. Die „Antigen-Bindedomäne“ eines Antikörpers umfasst typischerweise eine oder mehrere Hypervariable Regionen eines Antikörpers, z.B. die CDR, CDR2 und/oder CDR3 Region. Allerdings kann auch die „Framework“ oder die „Gerüst“ Region eines

Antikörpers zur Bindung des Antikörpers an das Antigen eine Rolle spielen. Die Framework Region bildet das Gerüst für die CDRs. Vorzugsweise umfasst die Antigen-Bindedomäne mindestens die Aminosäuren 4 bis 103 der variablen leichten Kette und Aminosäure 5 bis 109 der variablen schweren Kette, bevorzugter die Aminosäure 3 bis 107 der variablen leichten Kette und 4 bis 111 der variablen schweren Kette, besonders bevorzugt sind die kompletten variablen leichten und schweren Ketten , also Aminosäure 1 – 109 der VL und 1 bis 113 der VH (Nummerierung nach WO97/08320).

„Funktionale Fragmente“ oder „antigen-bindende Antikörperfragmente“ der Erfindung umfassen nicht abschliessend Fab, Fab', $F(ab')_2$ und Fv Fragmente, Diabodies, Single Domain Antibodies (DAbs), linerae Antikörper, Einzelketten Antikörper (single-chain Fv, abgekürzt scFv); und multispezifische, wie z.B. bi- und tri-spezifische, Antikörper, gebildet aus Antikörperfragmenten C. A. K Borrebaeck, editor (1995) Antibody Engineering (Breakthroughs in Molecular Biology), Oxford University Press; R. Kontermann & S. Duebel, editors (2001) Antibody Engineering (Springer Laboratory Manual), Springer Verlag). Andere Antikörper als „multi-spezifische“ oder „multi-funktionale“ sind solche mit identischen Bindestellen. Multispezifische Antikörper können spezifisch für unterschiedliche Epitope eines Antigens sein oder spezifisch für Epitope von mehr als einem Antigen sein (siehe z.B. WO93/17715; WO 92/08802; WO 91/00360; WO 92/05793; Tutt, et al., 1991, J. Immunol. 147:60 69; U. S. Pat. Nos. 4,474,893; 4,7 14,68 1 ; 4,925,648; 5,573,920; 5,601,8 19; oder Kostelny et al., 1992, J. Immunol. 148: 1547 1553). Ein $F(ab')_2$ oder Fab Molekül kann so konstruiert werden, dass die Zahl der intermolekularen Disulfid-Interaktionen, die zwischen den Ch1 und den CL Domänen stattfindet, reduziert oder oder komplett verhindert werden kann.

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

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

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

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

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

Antikörper, welche spezifisch gegen ein Krebszell-Antigen sind, können vom Durchschnittsfachmann mittels ihm bekannter Verfahren hergestellt werden (wie z.B. rekombinante Expression) oder kommerziell erworben werden (wie z.B. von Merck KGaA, Deustchland). Beispiele bekannter kommerziell erhältlicher Antikörper in der Krebstherapie sind Erbitux® (Cetuximab, Merck KGaA), Avastin® (Bevacizumab, Roche) und Herceptin® (Trastuzumab, Genentech). Trastuzumab ist ein rekombinanter humanisierter monokloaler Antikörper vom IgG1kappa Typ, welcher mit hoher

Affinität in einem Zell-basierten Assay (Kd = 5 nM) die extrazelluläre Domäne des humanen epidermalen Wachstumsrezeptors bindet. Der Antikörper wird rekombinant in CHO-Zellen hergestellt.

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

n für eine Zahl von 1 bis 50 steht,

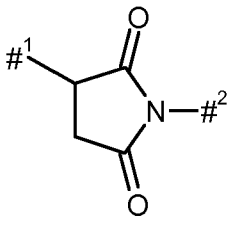
AK für AK_1 oder AK_2 steht

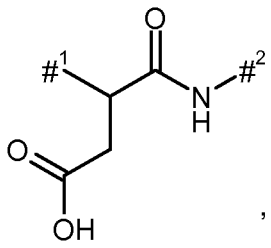
wobei

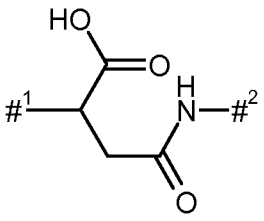
AK_1 für einen Binder steht, der FGFR2 bindet, der über ein Schwefelatom des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

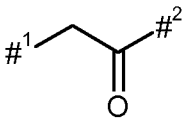
AK_2 für einen Binder steht, der FGFR2 bindet, der über ein Stickstoffatom des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

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



,


,


oder


steht, wobei

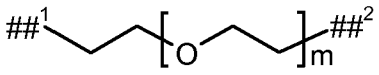
$\#^1$ die Verknüpfungsstelle mit dem Schwefelatom des Binders kennzeichnet,

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

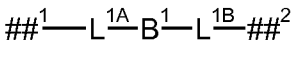
oder

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

L^1 für eine Bindung, lineares (C_1-C_{10})-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel



oder



steht, wobei

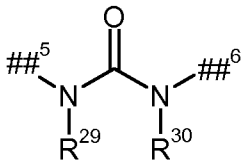
m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

^{1} die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

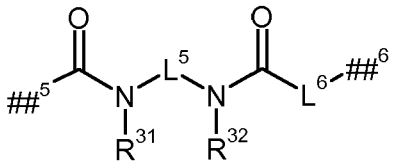
^{2} die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

L^{1A} für lineares (C_2-C_{10})-Alkandiyl steht,

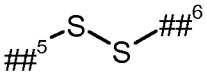
B^1 für eine Gruppe der Formel



,



oder



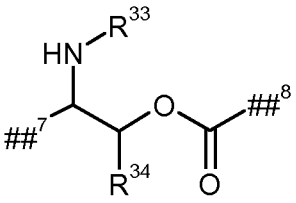
steht, worin

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

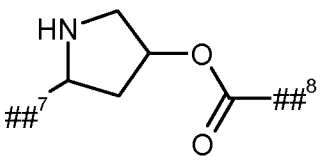
^{6} die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1B} kennzeichnet,

L^5 für eine Bindung oder (C_2-C_4)-Alkandiyl steht,

L^6 für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



oder



steht, worin

[7] die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

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

R^{33} für Wasserstoff, (C_1-C_4)-Alkylcarbonyl, tert.-Butyloxycarbonyl oder Benzyloxycarbonyl steht,

R^{34} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{29} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{30} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

R^{29} und R^{30} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R^{31} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{32} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

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

L^{1B} für lineares (C_2-C_{10})-Alkandiyl steht,

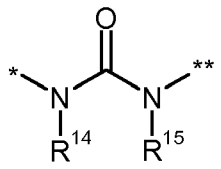
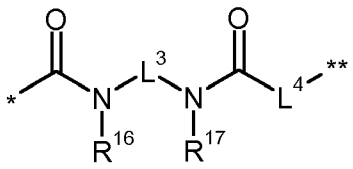
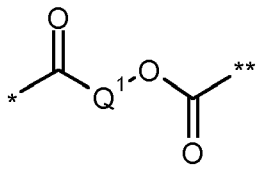
und

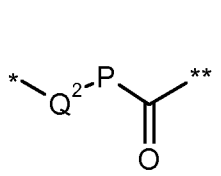
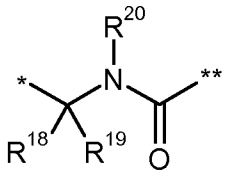
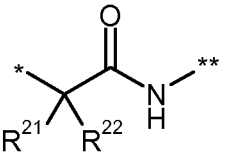
wobei (C_1-C_{10})-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substiuiert sein kann,

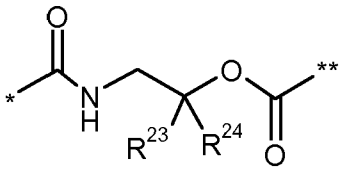
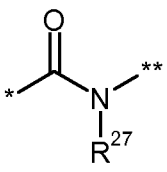
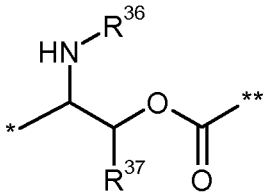
und

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

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel


,

,

,


,

,

,


,

oder


steht, wobei

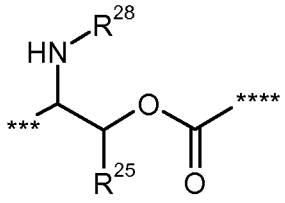
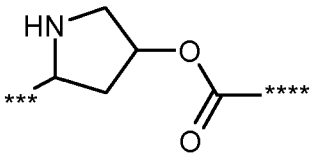
* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

P für O oder NH steht,

L^3 für eine Bindung oder $(C_2\text{-}C_4)$-Alkandiyl steht,

L^4 für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel


oder


steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

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

R^{25} für Wasserstoff oder Methyl steht,

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

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

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

R^{14} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{15} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

R^{14} und R^{15} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R^{16} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{17} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

R^{16} und R^{17} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R^{18} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{19} für Wasserstoff oder die Seitengruppe einer natürlichen α-Aminosäure oder ihrer Homologe oder Isomere steht,

R^{20} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

R^{19} und R^{20} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinylring bilden,

R^{21} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{22} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

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

R^{23} für (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{24} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

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

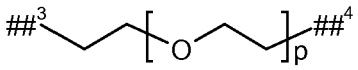
R^{36} für Wasserstoff, (C_1-C_4)-Alkylcarbonyl, tert.-Butyloxycarbonyl oder Benzyloxy carbonyl steht,

R^{37} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

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

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



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

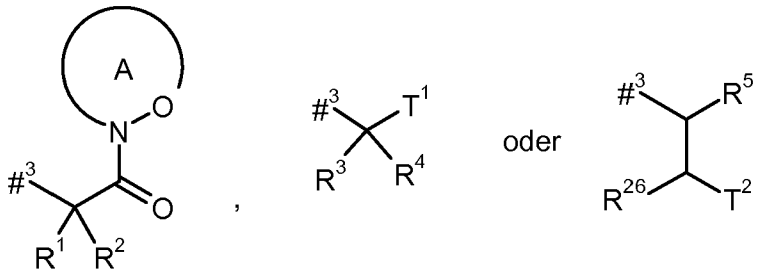
##4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

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

und

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

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

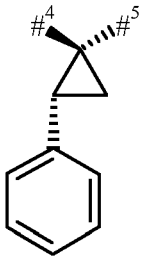
$\#^3$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^2 für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

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

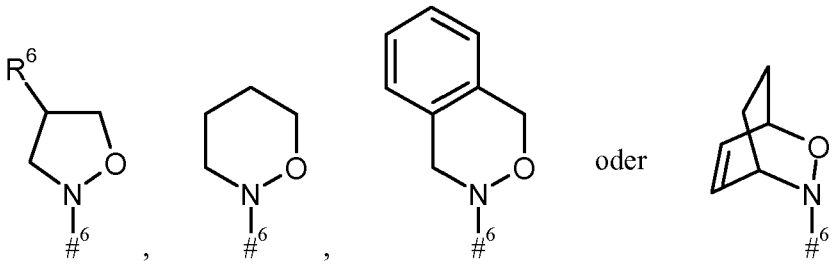


bilden, worin

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

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

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



steht, worin

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

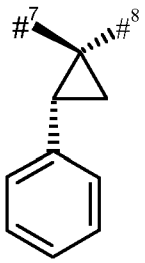
R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R^3 für Wasserstoff oder Methyl steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

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

worin

R^7 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R^8 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^9 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

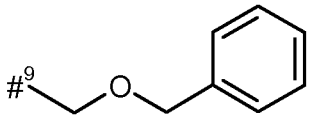
oder

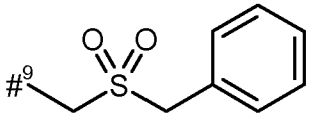
R^8 und R^9 bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R^{10} für Benzoyl steht,

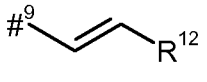
R^{11} für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

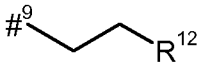
R^5 für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel

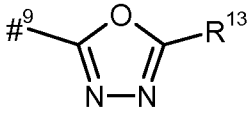


,


,



,


oder


steht, worin

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

R^{12} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-S(O)_2OH$ substituiert sein kann,

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

R^{26} für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

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

R^{35} für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

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

n für eine Zahl von 1 bis 20 steht,

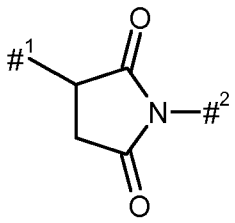
AK für AK_1 oder AK_2 steht

wobei

AK_1 für einen Binder steht, der FGFR2 bindet und über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

AK_2 für einen Binder steht, der FGFR2 bindet und über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

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



steht, wobei

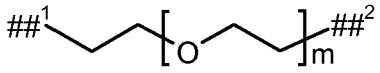
$\#^1$ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

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

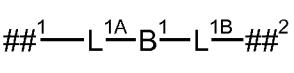
oder

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

L^1 für eine Bindung, lineares (C_2-C_6)-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel



oder



steht, wobei

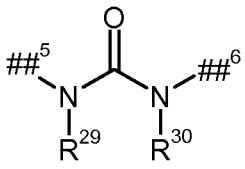
m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

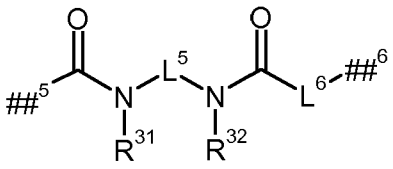
[1] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

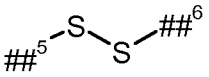
##[2] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

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

B^1 für eine Gruppe der Formel



,


oder 

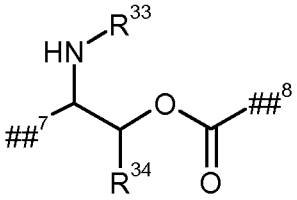
steht, worin

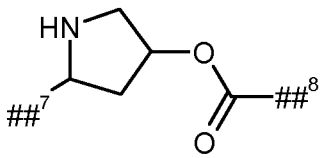
[5] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1A} kennzeichnet,

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

L^5 für eine Bindung steht,

L^6 für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



oder


steht, worin

[7] die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

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

R^{33} für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

R^{34} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{29} für Wasserstoff steht,

R^{30} für Wasserstoff steht,

R^{31} für Wasserstoff oder Methyl steht,

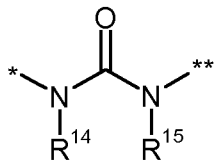
R^{32} für Wasserstoff oder Methyl steht,

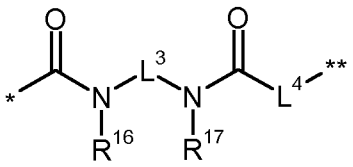
L^{1B} für lineares (C_2-C_6)-Alkandiyl steht,

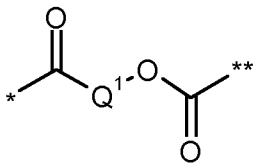
und

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

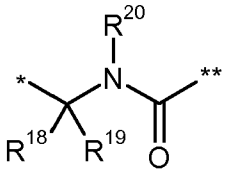
B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel

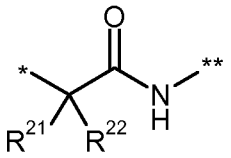


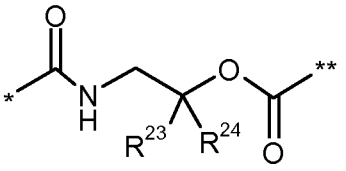
,


,


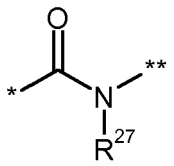
,

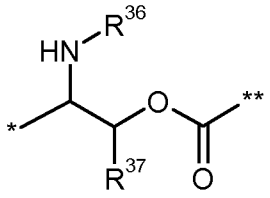


,


,


,



oder


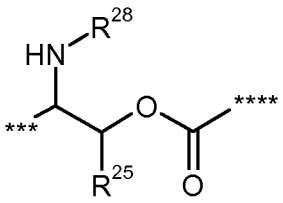
steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

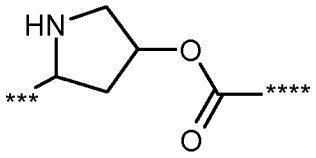
** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

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

L^4 für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



oder



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

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

R^{25} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{28} für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

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

R^{14} für Wasserstoff steht,

R^{15} für Wasserstoff steht,

R^{16} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{17} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

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

R^{18} für Wasserstoff steht,

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

R^{20} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

R^{19} und R^{20} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinylring bilden,

R^{21} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{22} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

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

R^{23} für Methyl steht,

R^{24} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{27} für Wasserstoff steht,

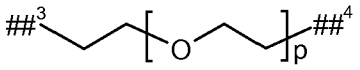
R^{36} für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

R^{37} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

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

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



steht, wobei

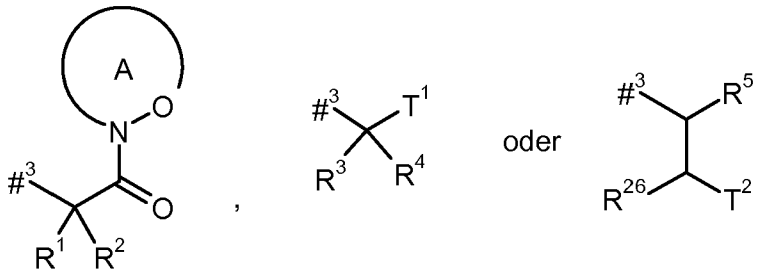
p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

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

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

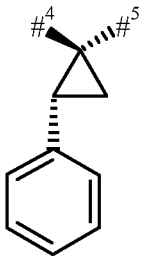
$\#^3$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff steht,

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

oder

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

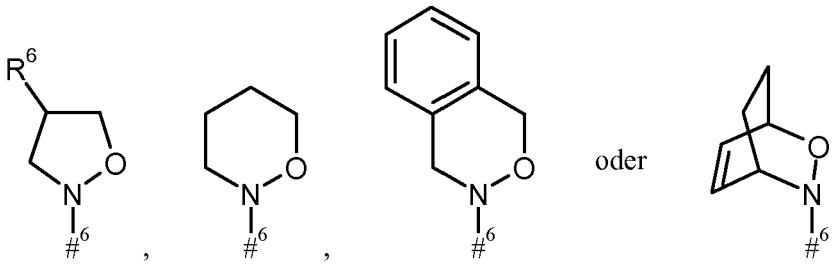


bilden, worin

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

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

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



steht, worin

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

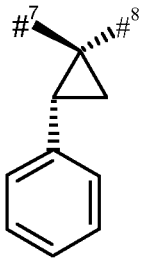
R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R^3 für Wasserstoff steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

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

worin

R^7 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R^8 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^9 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

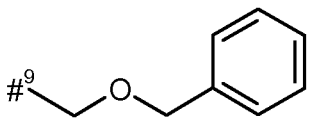
oder

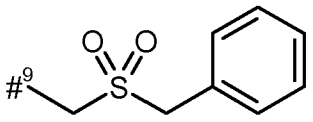
R^8 und R^9 bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R^{10} für Benzoyl steht,

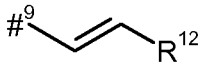
R^{11} für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

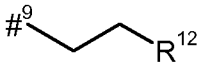
R^5 für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel

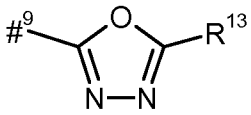


,


,



,


oder


steht, worin

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

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

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

R^{26} für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

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

R^{35} für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

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

n für eine Zahl von 1 bis 10 steht,

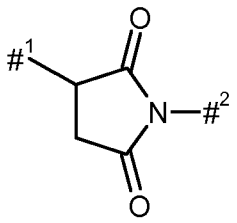
AK für AK_1 oder AK_2 steht

wobei

AK_1 für einen Binder steht, der FGFR2 bindet und der über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

AK_2 für einen Binder steht, der FGFR2 bindet und der über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

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



steht, wobei

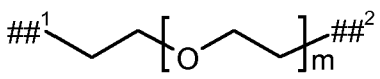
$\#^1$ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

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

oder

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

L^1 für eine Bindung, lineares (C_2-C_6)-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel



steht, wobei

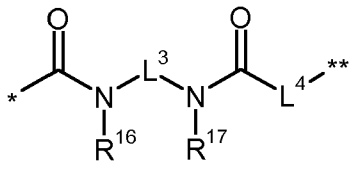
m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

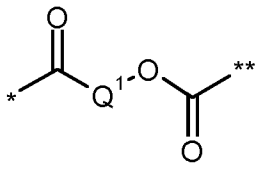
[1] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##[2] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

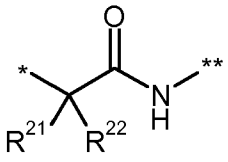
wobei (C_2-C_6)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substiuiert sein kann,

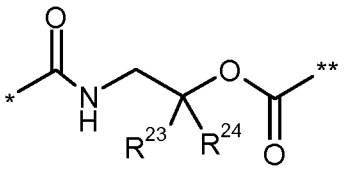
B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



,


,



oder


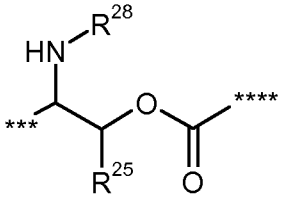
steht, wobei

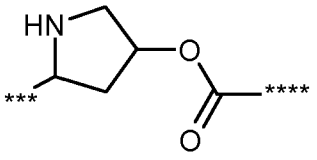
* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

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

L^4 für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



oder


steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

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

R^{25} für Methyl steht,

R^{28} für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

Q^1 für Piperidin-1,4-diyl steht,

R^{16} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{17} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

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

R^{21} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{22} für Wasserstoff oder Methyl steht,

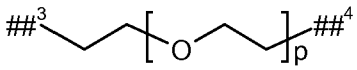
oder

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

R^{23} für Methyl steht,

R^{24} für Wasserstoff steht,

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



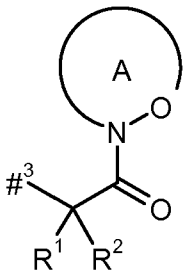
steht, wobei

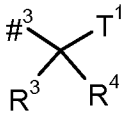
p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

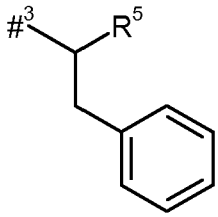
3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



,


oder


steht, wobei

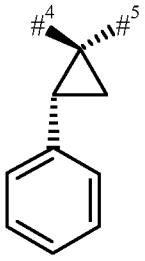
$\#^3$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff steht,

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

oder

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

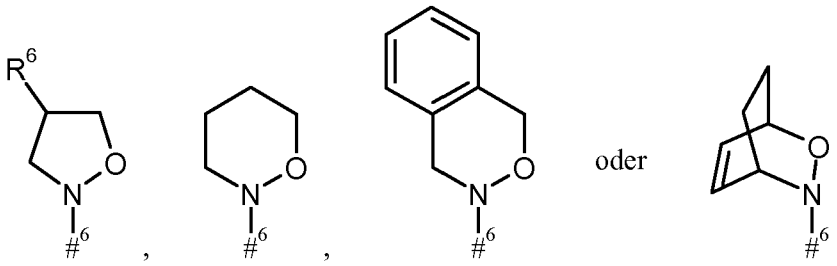


bilden, worin

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

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

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



steht, worin

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

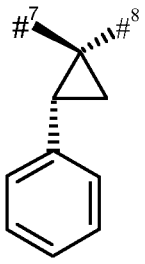
R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R^3 für Wasserstoff steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

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

worin

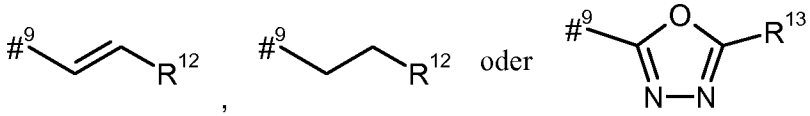
R^7 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R^8 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^9 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

R^{11} für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R^5 für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

$\#^9$ die Verknüpfungsstelle mit $-CHCH_2$Phenyl kennzeichnet,

R^{12} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-S(O)_2OH$ substituiert sein kann,

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

R^{35} für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

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

n für eine Zahl von 1 bis 10 steht,

AK für AK_2 steht

wobei

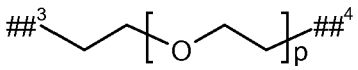
AK_2 für einen Binder steht, der FGFR2 bindet und der über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für Carbonyl steht,

L^1 für eine Bindung, steht,

B für eine Bindung steht,

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



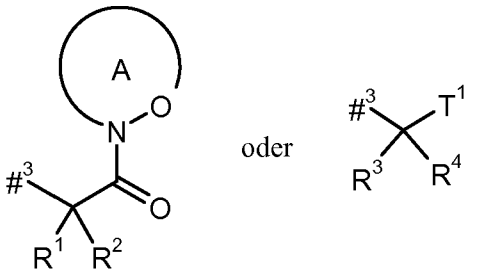
steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

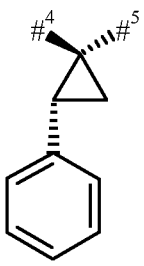
#3 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff steht,

R^2 für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl, oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

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

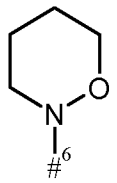


bilden, worin

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

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

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



steht, worin

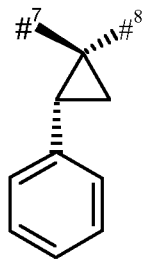
$\#^6$ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R^3 für Wasserstoff steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

T^1 für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR^7 oder -C(=O)-NR^8R^9 steht,

worin

R^7 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R^8 für Wasserstoff steht,

R^9 für Wasserstoff oder Benzyl steht,

R^{35} für Methyl steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

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

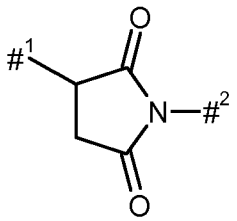
n für eine Zahl von 1 bis 10 steht,

AK für AK_1 steht

wobei

AK_1 für einen Binder steht, der FGFR2 bindet und der über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für eine Gruppe der Formel

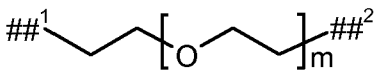


steht, wobei

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

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

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



steht, wobei

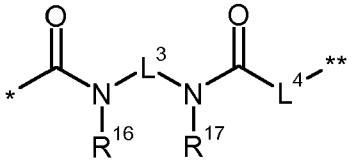
m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

1 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##2 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

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

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



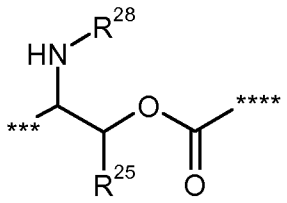
steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

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

L^4 für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

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

R^{25} für Methyl steht,

R^{28} für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

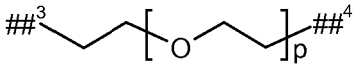
R^{16} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{17} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

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

L^2 für lineares (C_3-C_5)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



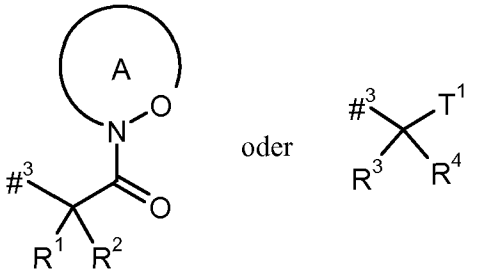
steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



oder

steht, wobei

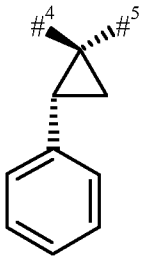
#3 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff steht,

R^2 für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

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

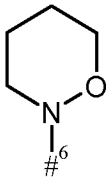


bilden, worin

#4 die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#5 die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

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



steht, worin

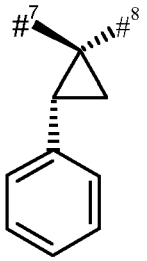
#6 die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R^3 für Wasserstoff steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

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

worin

R^7 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R^8 für Wasserstoff steht,

R^9 für Wasserstoff oder Benzyl steht,

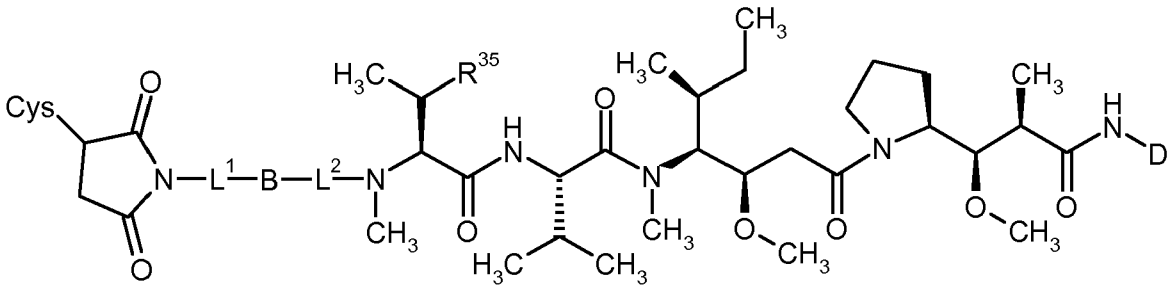
R^{35} für Methyl steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Ein weiterer bevorzugter Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Binder-Wirkstoff Konjugat wie oben beschrieben, wobei der Binder die Aminosäuresequenz der variablen leichten und schweren Ketten des Antikörpers M048-D01-hIgG1-b, wiedergegeben in SEQ ID NO:14 (Vl) und SEQ ID NO:13 (Vh),

die Aminosäuresequenz der leichten und schweren Kette des Antikörpers M048-D01-hIgG1-b wiedergegeben in SEQ ID NO: 9 (leichte Kette) und SEQ ID NO:10 (schwere Kette) umfasst.

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

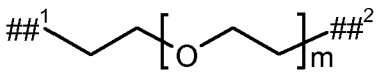
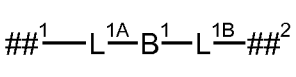


(XXXa),

in welcher

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

L^1 für eine Bindung, lineares (C_1-C_{10})-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel

 oder 

steht, wobei

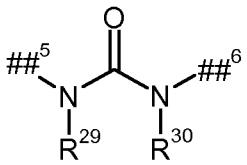
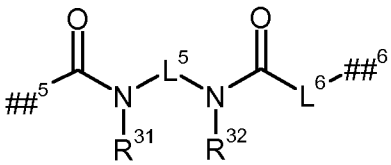
m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

^{1} die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

^{2} die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

L^{1A} für lineares (C_2-C_{10})-Alkandiyl steht,

B^1 für eine Gruppe der Formel

 oder 

steht, worin

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

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

L^5 für eine Bindung oder (C_2-C_4)-Alkandiyl steht,

L^6 für eine Bindung steht,

R^{29} für Wasserstoff oder $(C_1$-$C_4)$-Alkyl steht,

R^{30} für Wasserstoff oder $(C_1$-$C_4)$-Alkyl steht,

oder

R^{29} und R^{30} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R^{31} für Wasserstoff oder $(C_1$-$C_4)$-Alkyl steht,

R^{32} für Wasserstoff oder $(C_1$-$C_4)$-Alkyl steht,

oder

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

L^{1B} für lineares $(C_2$-$C_{10})$-Alkandiyl steht,

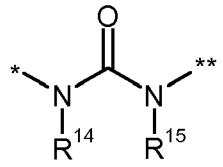
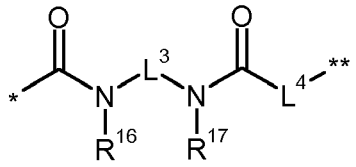
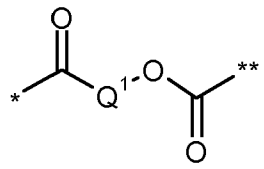
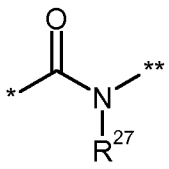
und

wobei $(C_1$-$C_{10})$-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substiuiert sein kann,

und

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

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel




oder


steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

P für O oder NH steht,

L^3 für eine Bindung oder $(C_2\text{-}C_4)$-Alkandiyl steht,

L^4 für eine Bindung steht,

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

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

R^{14} für Wasserstoff oder $(C_1\text{-}C_4)$-Alkyl steht,

R^{15} für Wasserstoff oder $(C_1\text{-}C_4)$-Alkyl steht,

oder

R^{14} und R^{15} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R^{16} für Wasserstoff oder $(C_1\text{-}C_4)$-Alkyl steht,

R^{17} für Wasserstoff oder $(C_1\text{-}C_4)$-Alkyl steht,

oder

R^{16} und R^{17} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R^{18} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{19} für Wasserstoff oder die Seitengruppe einer natürlichen α-Aminosäure oder ihrer Homologe oder Isomere steht,

R^{20} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

R^{19} und R^{20} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinylring bilden,

R^{21} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{22} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

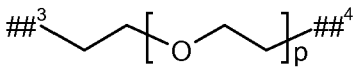
R^{21} und R^{22} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus bilden,

R^{23} für (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{24} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

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

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



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

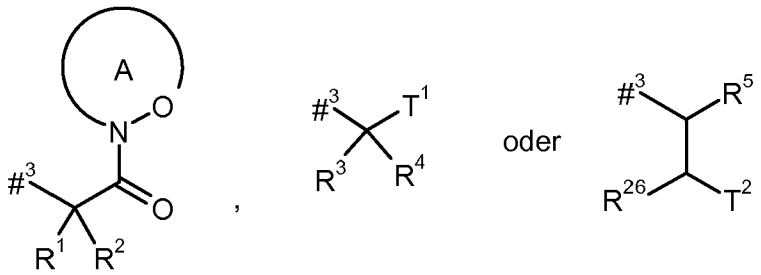
##4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

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

und

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

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

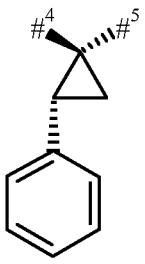
$\#^3$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^2 für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

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

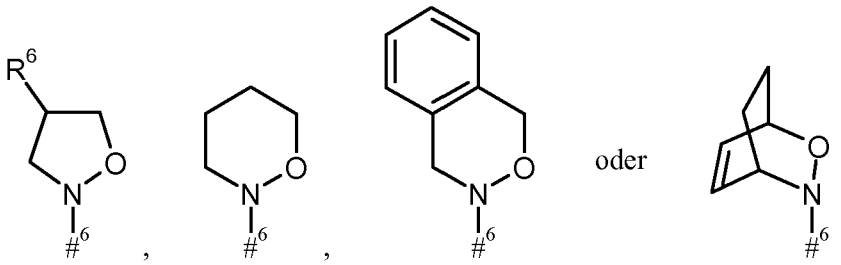


bilden, worin

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

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

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



steht, worin

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

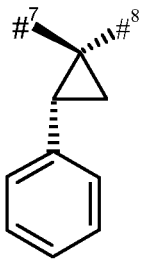
R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R^3 für Wasserstoff oder Methyl steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

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

worin

R^7 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R^8 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^9 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

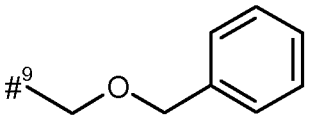
oder

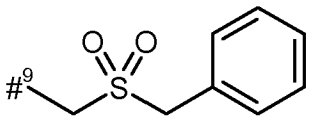
R^8 und R^9 bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R^{10} für Benzoyl steht,

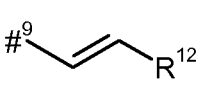
R^{11} für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

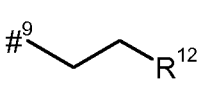
R^5 für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel

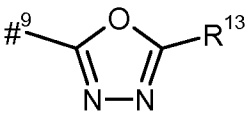


,


,



,


oder


steht, worin

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

R^{12} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-S(O)_2OH$ substituiert sein kann,

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

R^{26} für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

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

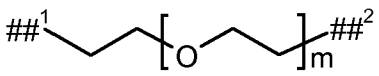
R^{35} für Methyl oder Hydroxy steht,

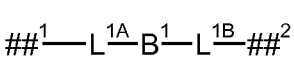
sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

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

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

L^1 für eine Bindung, lineares (C_2-C_6)-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel



oder


steht, wobei

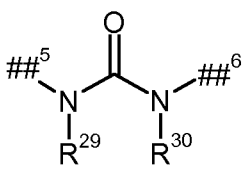
m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

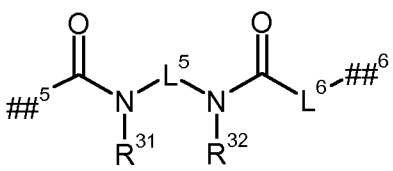
1 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##2 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

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

B^1 für eine Gruppe der Formel



oder


steht, worin

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

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

L^5 für eine Bindung steht,

L^6 für eine Bindung steht,

R^{29} für Wasserstoff steht,

R^{30} für Wasserstoff steht,

R^{31} für Wasserstoff oder Methyl steht,

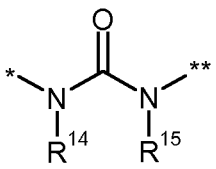
R^{32} für Wasserstoff oder Methyl steht,

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

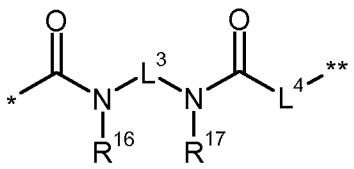
und

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

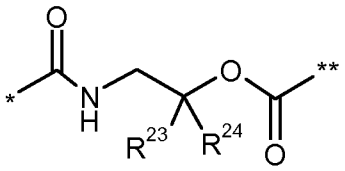
B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



,



oder



steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

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

L^4 für eine Bindung steht,

R^{14} für Wasserstoff steht,

R^{15} für Wasserstoff steht,

R^{16} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{17} für Wasserstoff oder Methyl steht,

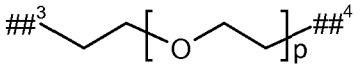
oder

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

R^{23} für Methyl steht,

R^{24} für Wasserstoff oder Methyl steht,

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



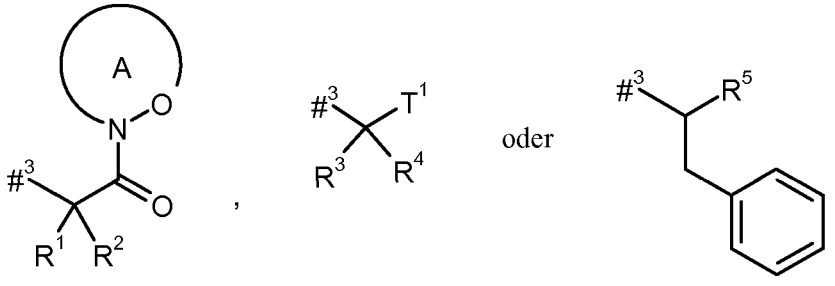
steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

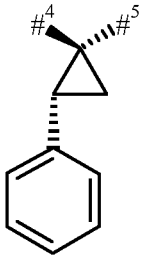
$\#^3$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff steht,

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

oder

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

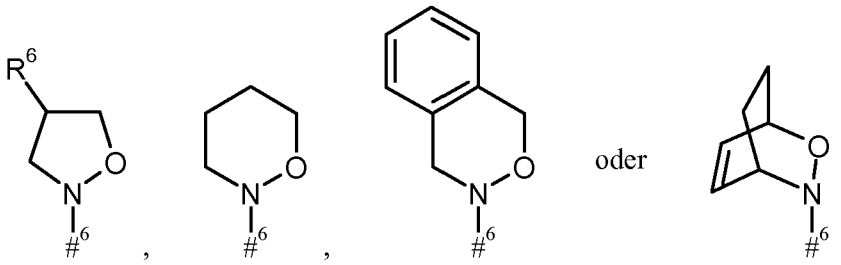


bilden, worin

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

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

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



steht, worin

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

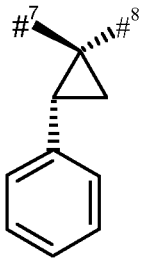
R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R^3 für Wasserstoff steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

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

worin

R^7 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R^8 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^9 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

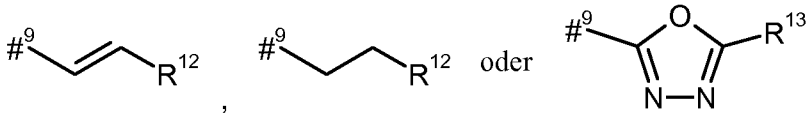
oder

R^8 und R^9 bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R^{10} für Benzoyl steht,

R^{11} für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R^5 für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

$\#^9$ die Verknüpfungsstelle mit –$CHCH_2$Phenyl kennzeichnet,

R^{12} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel –$S(O)_2OH$ substituiert sein kann,

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

R^{35} für Methyl oder Hydroxy steht,

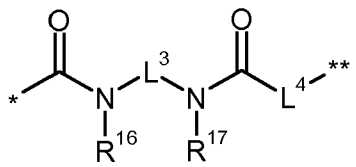
sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

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

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

L^1 für eine Bindung oder lineares (C_2-C_6)-Alkandiyl steht,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

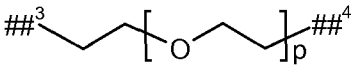
L^3 für eine Bindung steht,

L^4 für eine Bindung steht,

R^{16} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{17} für Wasserstoff oder Methyl steht,

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



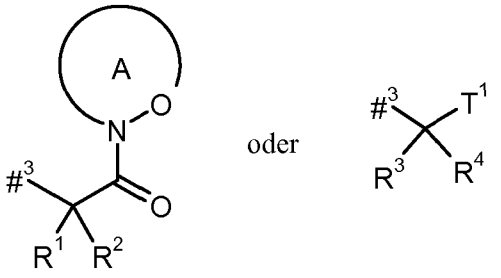
steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

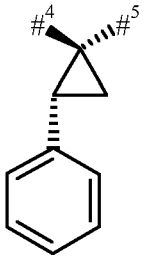
#3 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff steht,

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

oder

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

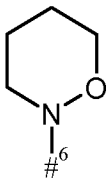


bilden, worin

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

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

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



steht, worin

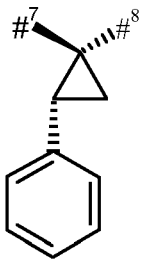
$\#^6$ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R^3 für Wasserstoff steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

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

worin

R^7 für Wasserstoff steht,

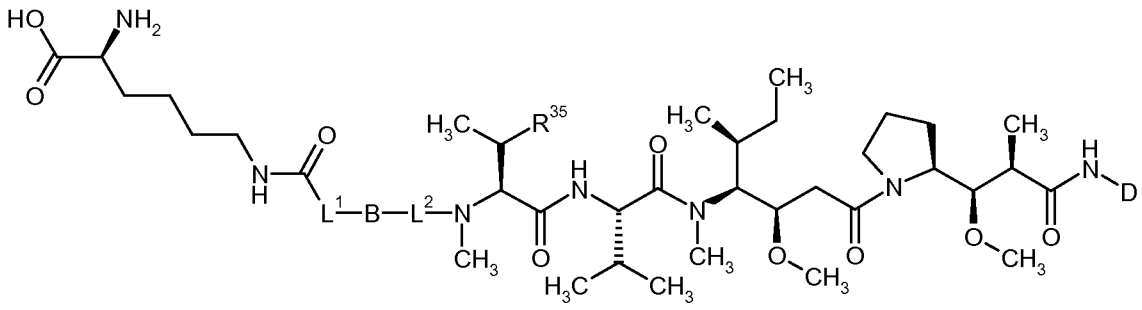
R^8 für Wasserstoff steht,

R^9 für Wasserstoff steht,

R^{35} für Methyl steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

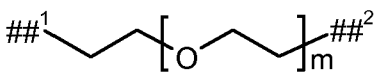
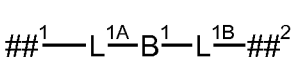
Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Verbindungen der Formel (XXXI)



(XXXI),

in welcher

L^1 für eine Bindung, lineares (C_1-C_{10})-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel

 oder 

steht, wobei

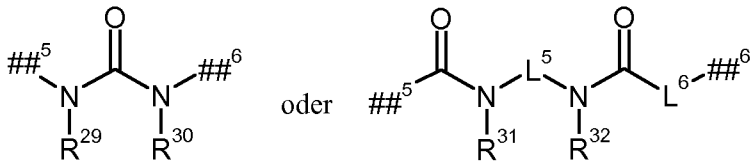
m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

[1] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

[2] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

L^{1A} für lineares (C_2-C_{10})-Alkandiyl steht,

B^1 für eine Gruppe der Formel



oder

steht, worin

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

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

L^5 für eine Bindung oder (C_2-C_4)-Alkandiyl steht,

L^6 für eine Bindung steht,

R^{29} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{30} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

R^{29} und R^{30} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R^{31} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{32} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

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

L^{1B} für lineares (C_2-C_{10})-Alkandiyl steht,

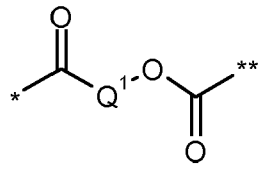
und

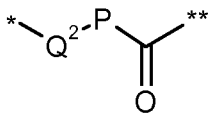
wobei (C_1-C_{10})-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substiuiert sein kann,

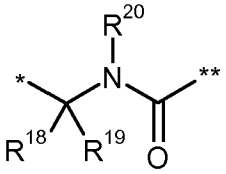
und

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

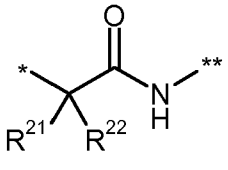
B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel

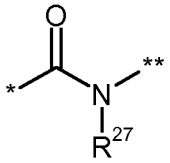


,


,


,



oder


steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

P für O oder NH steht,

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

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

R^{18} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{19} für Wasserstoff oder die Seitengruppe einer natürlichen α-Aminosäure oder ihrer Homologe oder Isomere steht,

R^{20} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

R^{19} und R^{20} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinylring bilden,

R^{21} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

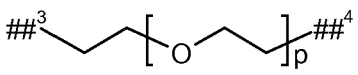
R^{22} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

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

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

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



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

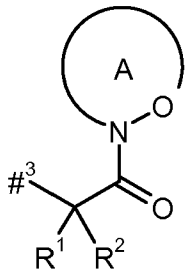
##4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

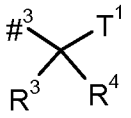
wobei (C_2-C_{10})-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substiuiert sein kann,

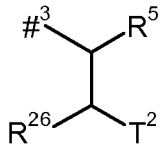
und

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

D für eine Gruppe der Formel



,


oder


steht, wobei

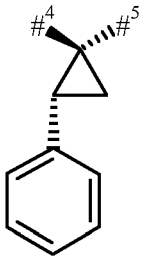
$\#^3$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^2 für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

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

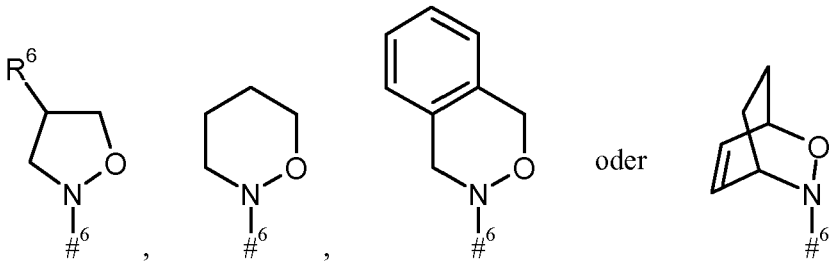


bilden, worin

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

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

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



steht, worin

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

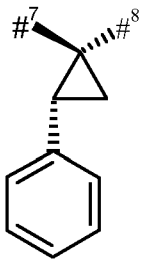
R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R^3 für Wasserstoff oder Methyl steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

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

worin

R^7 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R^8 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^9 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

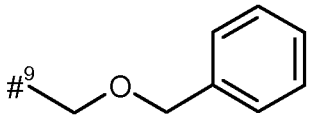
oder

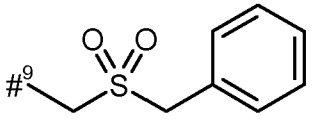
R^8 und R^9 bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R^{10} für Benzoyl steht,

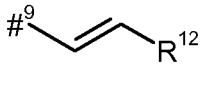
R^{11} für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

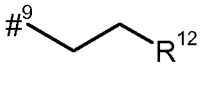
R^5 für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel

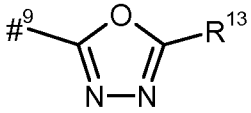


,


,



,


oder


steht, worin

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

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

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

R^{26} für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

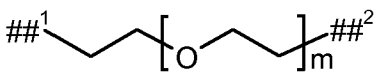
T^2 für Phenyl, Benzyl, 1*H*-Indol-3-yl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

R^{35} für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

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

L^1 für eine Bindung, lineares (C_2-C_6)-Alkandiyl oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

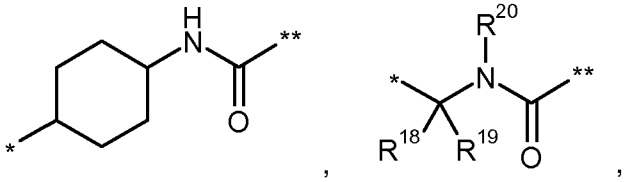
m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

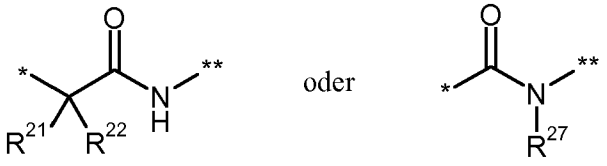
1 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##2 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

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

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel





steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

R^{18} für Wasserstoff steht,

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

R^{20} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

R^{19} und R^{20} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinylring bilden,

R^{21} für Wasserstoff oder Methyl steht,

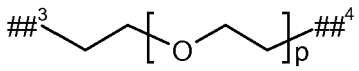
R^{22} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

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

R^{27} für Wasserstoff oder Methyl steht,

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



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

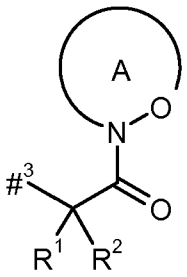
##4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

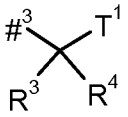
wobei (C_2-C_{10})-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substiuiert sein kann,

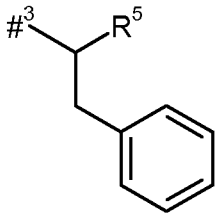
und

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

D für eine Gruppe der Formel



,


oder


steht, wobei

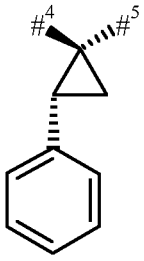
$\#^3$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff steht,

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

oder

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

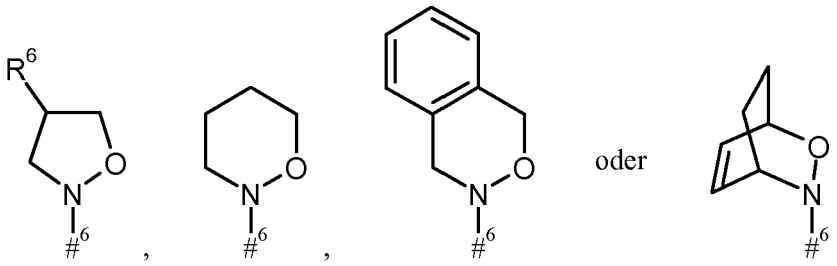


bilden, worin

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

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

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



steht, worin

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

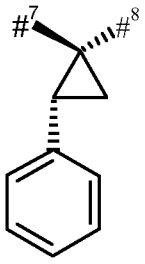
R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R^3 für Wasserstoff steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

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

worin

R^7 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R^8 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^9 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

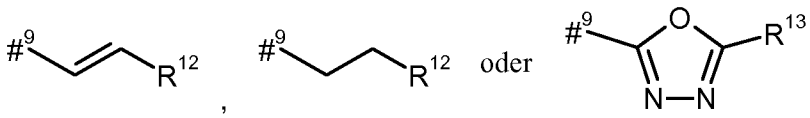
oder

R^8 und R^9 bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R^{10} für Benzoyl steht,

R^{11} für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R^5 für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

$\#^9$ die Verknüpfungsstelle mit $-CHCH_2$Phenyl kennzeichnet,

R^{12} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-S(O)_2OH$ substituiert sein kann,

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

R^{35} für Methyl oder Hydroxy steht,

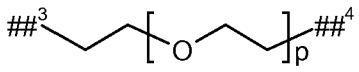
sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

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

L^1 für eine Bindung steht,

B für eine Bindung steht,

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



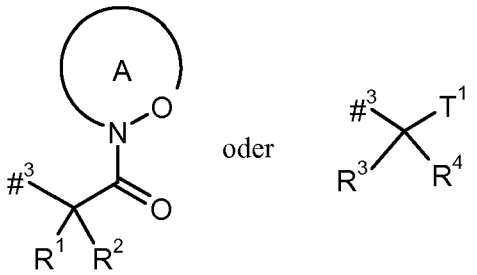
steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

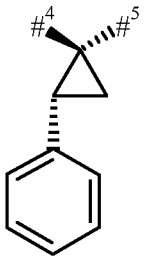
#3 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff steht,

R^2 für Benzyl, 4-Hydroxybenzyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

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

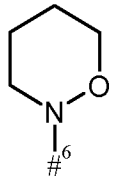


bilden, worin

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

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

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



steht, worin

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

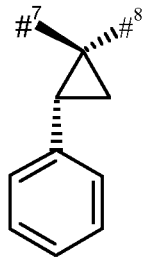
R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R^3 für Wasserstoff steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

T^1 für eine Gruppe der Formel -C(=O)-OR^7 oder -C(=O)-NR^8R^9 steht,

worin

R^7 für Wasserstoff steht,

R^8 für Wasserstoff steht,

R^9 für Wasserstoff steht,

R^{35} für Methyl steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

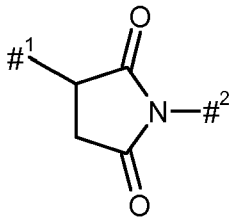
Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (Ia), in welcher

AK für AK_1 steht

wobei

AK_1 für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an FGFR2 bindet und über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

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

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

und

n, L^1, B, L^2, D und R^{35} die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

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

AK für AK_2 steht

wobei

AK_2 für einen Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment steht, der bzw. das an FGFR2 bindet und über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für Carbonyl steht,

und

n, L^1, B, L^2, D und R^{35} die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

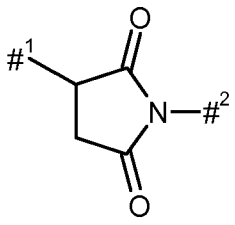
Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung sind auch Verbindungen der Formel (Ia), in welcher

AK für AK_1 steht

wobei

AK_1 für einen Binder steht, der FGFR2 bindet und der über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

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

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

und

n, L^1, B, L^2, D und R^{35} die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

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

AK für AK_2 steht

wobei

AK_2 für einen Binder steht, der FGFR2 bindet und der über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für Carbonyl steht,

und

n, L^1, B, L^2, D und R^{35} die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

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

AK für AK_2 steht

wobei

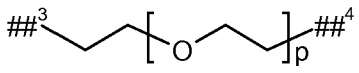
AK_2 für einen Binder steht, der FGFR2 bindet und der über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für Carbonyl steht,

L^1 für eine Bindung, steht,

B für eine Bindung steht,

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



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

[3] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

[4] die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

n, D und R^{35} die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

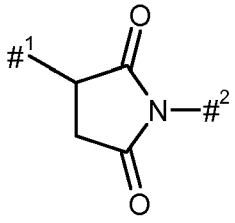
Bevorzugt sind im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Verbindungen der allgemeinen Formel (Ia), in welcher

AK für AK_1 steht

wobei

AK_1 für einen Binder steht, der FGFR2 bindet und der über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für eine Gruppe der Formel

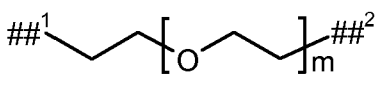


steht, wobei

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

#[2] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^1 kennzeichnet,

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



steht, wobei

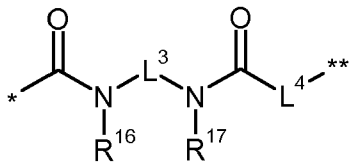
m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

[1] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##[2] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

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

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



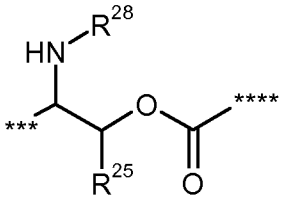
steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

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

L^4 für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

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

R^{25} für Methyl steht,

R^{28} für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

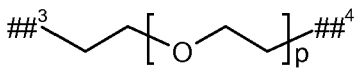
R^{16} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{17} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

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

L^2 für lineares (C_3-C_5)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

und

n, D und R^{35} die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

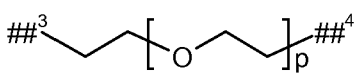
sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

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

L^1 für eine Bindung, steht,

B für eine Bindung steht,

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



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##[4] die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

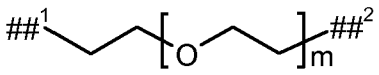
und

n, AK, Cys, G, D und R^{35} die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

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

L^1 für lineares (C_1-C_{10})-Alkandiyl oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

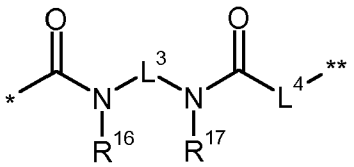
m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

[1] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

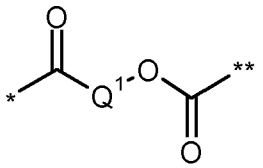
##[2] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

wobei (C_1-C_{10})-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substiuiert sein kann,

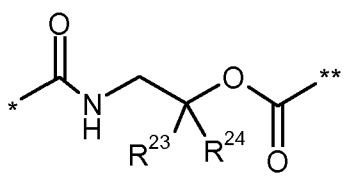
B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



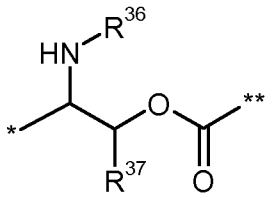
,



,



oder



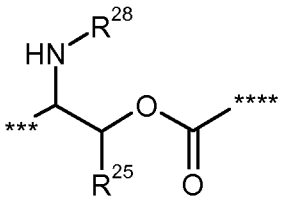
steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

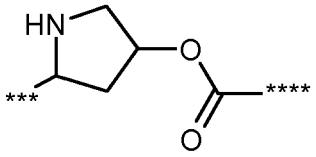
** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

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

L^4 für eine Gruppe der Formel



oder



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

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

R^{25} für Wasserstoff oder Methyl steht,

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

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

R^{16} für Wasserstoff oder $(C_1$-$C_4)$-Alkyl steht,

R^{17} für Wasserstoff oder $(C_1$-$C_4)$-Alkyl steht,

oder

R^{16} und R^{17} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R^{23} für $(C_1$-$C_4)$-Alkyl steht,

R^{24} für Wasserstoff oder $(C_1$-$C_4)$-Alkyl steht,

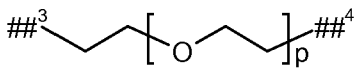
R^{36} für Wasserstoff, $(C_1$-$C_4)$-Alkylcarbonyl, tert.-Butyloxycarbonyl oder Benzyloxy carbonyl steht,

R^{37} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

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

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



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

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

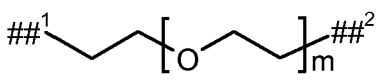
und

n, AK, G, D und R^{35} die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

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

L^1 für lineares (C_2-C_6)-Alkandiyl oder eine Gruppe der Formel



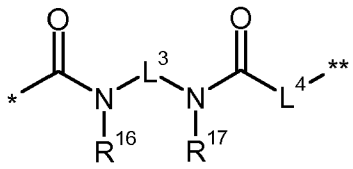
steht, wobei

m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

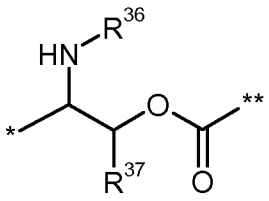
1 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##2 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



oder



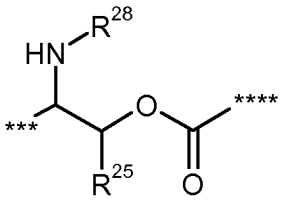
steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

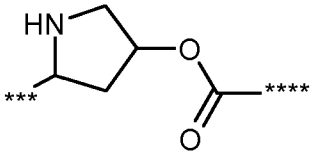
** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

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

L^4 für eine Gruppe der Formel



oder



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

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

R^{25} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{28} für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

R^{16} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{17} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

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

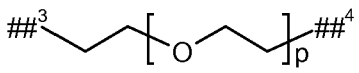
R^{36} für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

R^{37} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

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

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



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

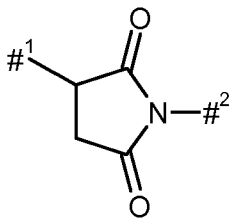
und

n, AK, G, D und R^{35} die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

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

G für eine Gruppe der Formel

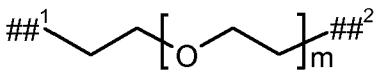


steht, wobei

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

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

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



steht, wobei

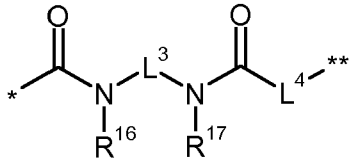
m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

1 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##2 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

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

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

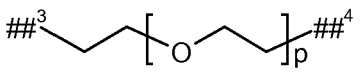
* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

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

L^4 für eine Bindung steht,

L^2 für lineares (C_3-C_5)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##[4] die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

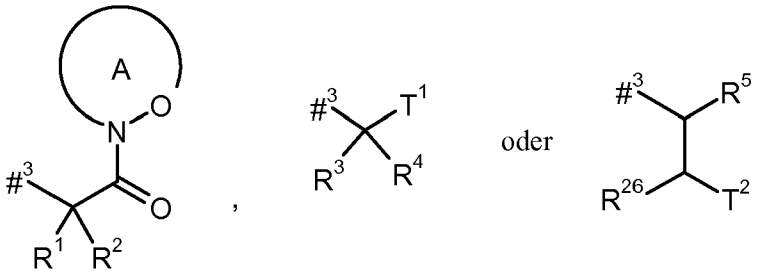
und

n, AK_1, Cys, D, R^{16} und R^{17} die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

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

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

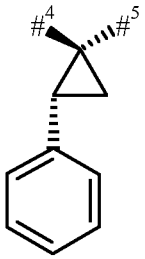
#[3] die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^2 für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

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

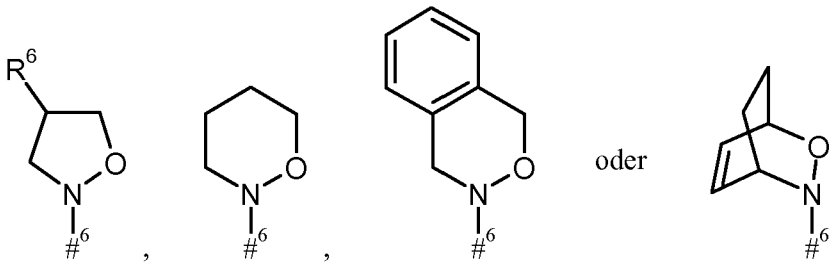


bilden, worin

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

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

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



steht, worin

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

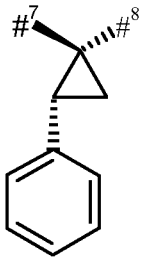
R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R^3 für Wasserstoff oder Methyl steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

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

worin

R^7 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R^8 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^9 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

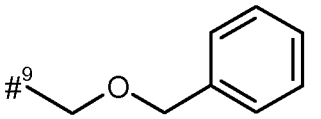
oder

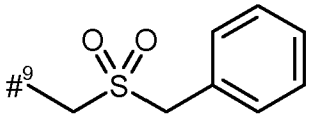
R^8 und R^9 bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R^{10} für Benzoyl steht,

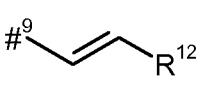
R^{11} für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

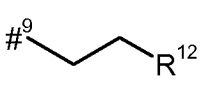
R^5 für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel

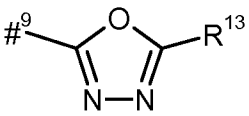


,


,



,


oder


steht, worin

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

R^{12} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-S(O)_2OH$ substituiert sein kann,

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

R^{26} für Wasserstoff steht,

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

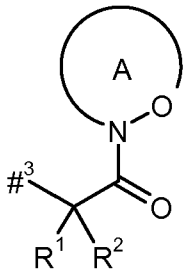
und

n, AK, Cys, G, L^1, B, L^2, D und R^{35} die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

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

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

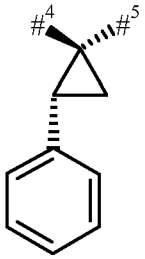
$\#^3$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^2 für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

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

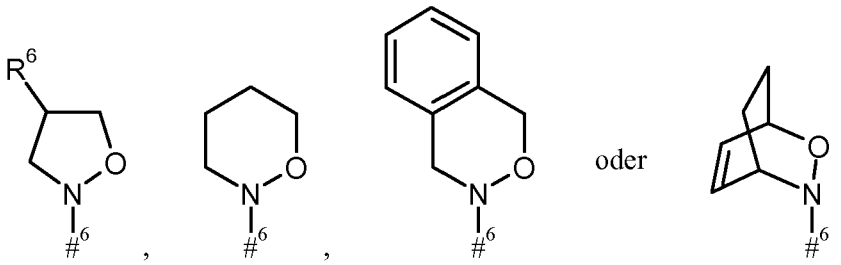


bilden, worin

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

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

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



steht, worin

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

R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

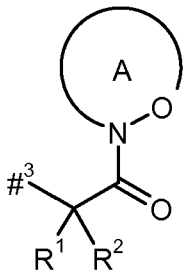
und

n, AK, Cys, G, L^1, B, L^2 und R^{35} die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

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

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

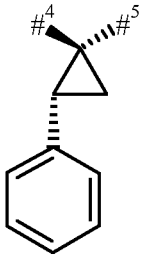
$\#^3$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff steht,

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

oder

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

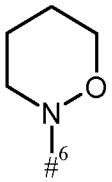


bilden, worin

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

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

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



steht, worin

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

und

n, AK, Cys, G, L^1, B, L^2 und R^{35} die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

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

R^{35} für Hydroxy steht,

und

n, AK, Cys, G, L^1, B, L^2, D und R^{35} die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

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

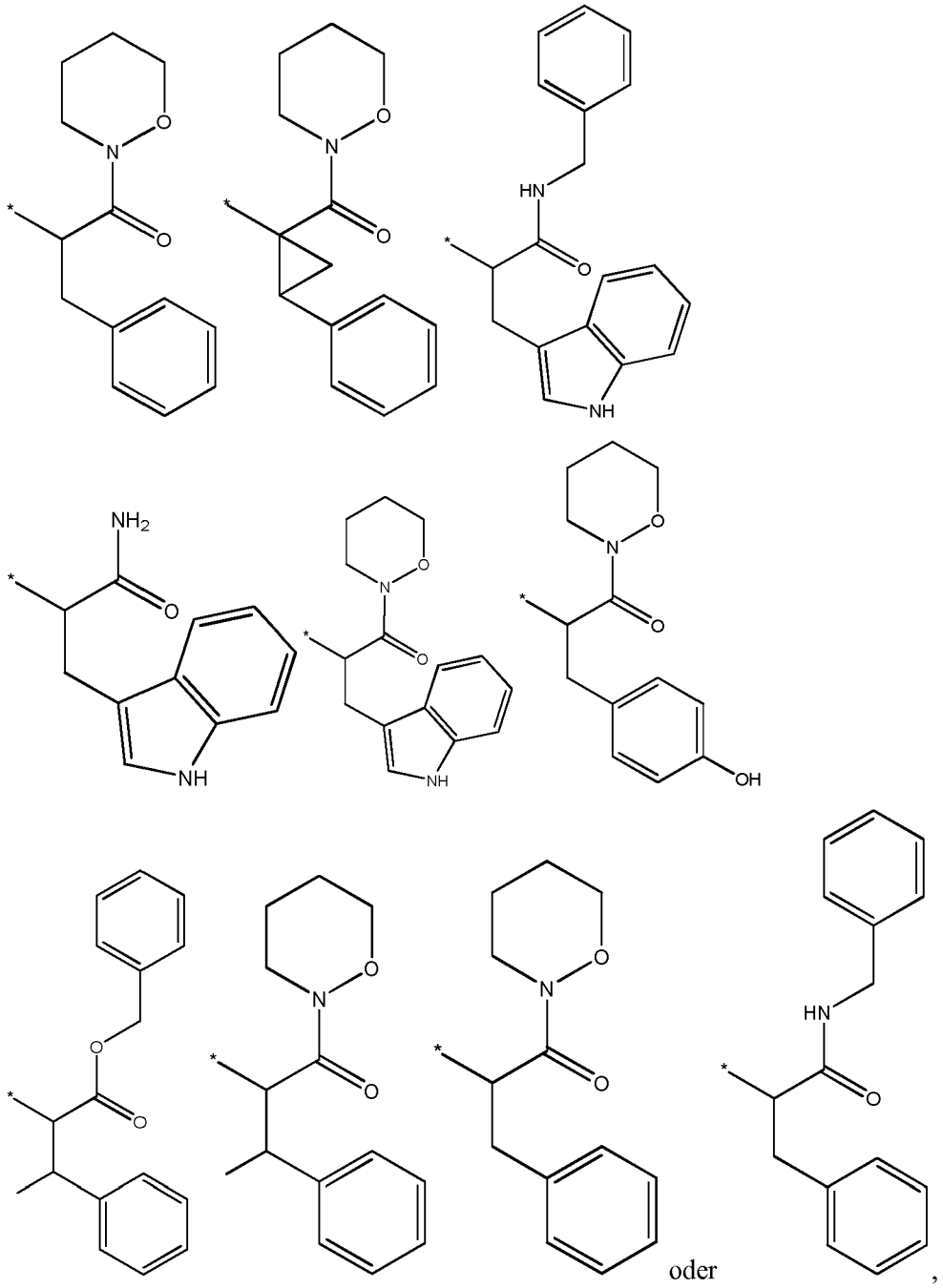
R^{35} für Methyl steht,

und

n, AK, Cys, G, L^1, B, L^2, D und R^{35} die oben angegebenen Bedeutungen aufweisen,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Ein bevorzugter Gegenstand der vorliegenden Verbindung sind Binder-Wirkstoff-Konjugate der allgemeinen Formel (Ia), in welcher D die folgenden Strukturen aufweisen kann und * für die Verknüpfungstelle mit dem Stickstoffatom steht:



oder ,

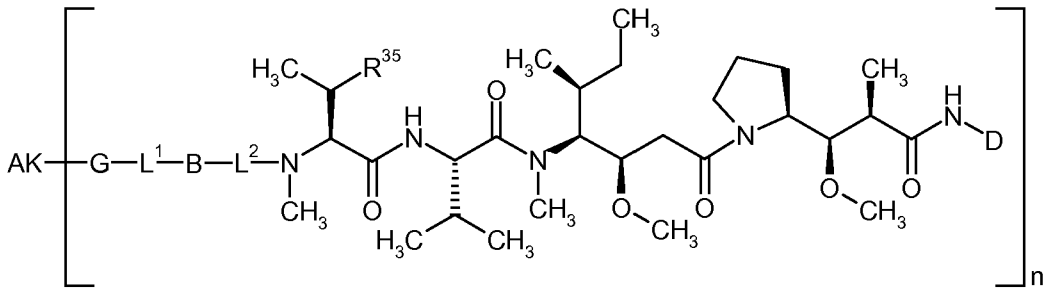
sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Ein bevorzugter Gegenstand der vorliegenden Verbindung sind Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia), in welcher D eine Struktur aufweist, die durch eines der Intermediate der vorliegenden Erfindung offenbart ist; und die Linker-Einheit §-G-L^1-B-L^2-§§ sowie alle anderen Variablen gemäß der vorliegenden Erfindung definiert sind; und deren Salze, Solvate und Solvate der Salze. AK ist vorzugsweise ein anti-FGFR2 Antikörper oder Antigen-bindendes Fragment davon.

Ein bevorzugter Gegenstand der vorliegenden Verbindung sind Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia), in welcher die Linker-Wirkstoff Einheit eine Struktur aufweist, die durch eines der Intermediate oder Beispiele der vorliegenden Erfindung offenbart ist; und deren Salze, Solvate und Solvate der Salze. AK ist vorzugsweise ein anti-FGFR2 Antikörper oder Antigen-bindendes Fragment davon.

Ein bevorzugter Gegenstand der vorliegenden Verbindung sind Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia), in welcher die Linker-Wirkstoff Einheit eine Struktur aufweist, die durch eines Beispiele der vorliegenden Erfindung offenbart ist; und deren Salze, Solvate und Solvate der Salze. AK ist vorzugsweise ein anti-FGFR2 Antikörper oder Antigen-bindendes Fragment davon.

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



(Ia),

in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 50 steht,

AK für einen Binder steht, der an FGFR2 bindet,

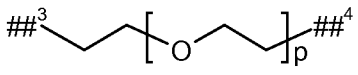
die Gruppe §-G-L^1-B-§§ für einen Linker steht,

wobei

§ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe AK kennzeichnet und

§§ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

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



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

[3] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

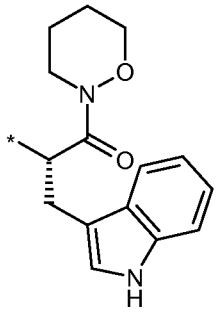
[4] die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

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

und

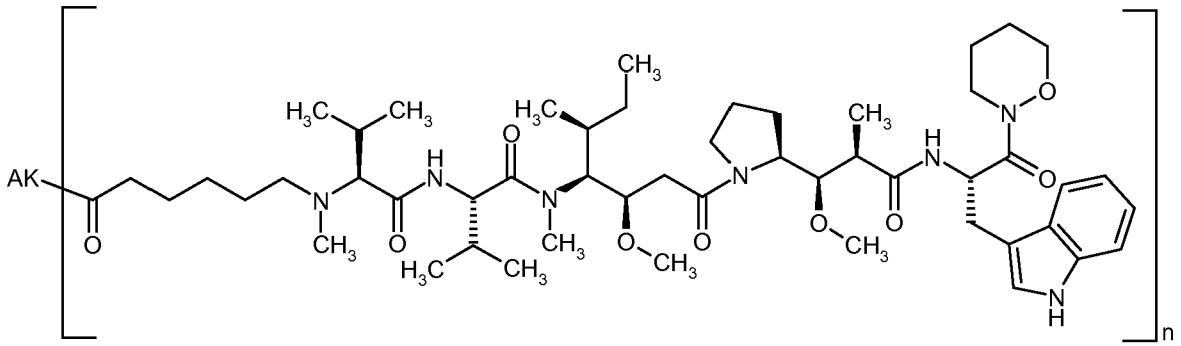
wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem (C_3-C_6)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

D für ein Gruppe der folgenden Formel steht, wobei * für die Anknüpfungsstelle an das Stickstoffatom steht



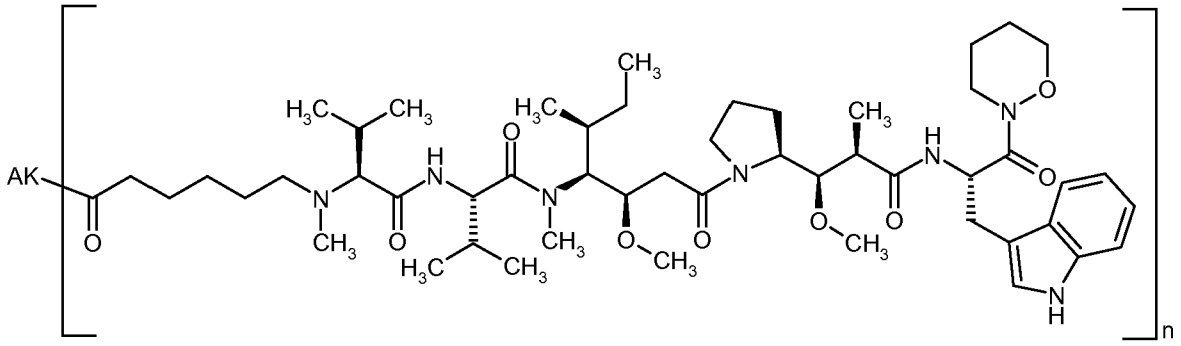
sowie deren Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Besonders bevorzugter Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Verbindungen der folgenden Formel



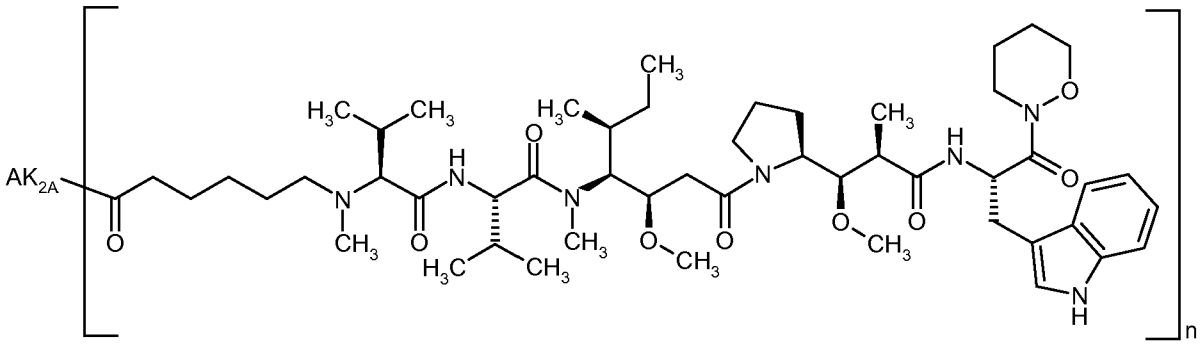
wobei AK einen Binder steht, der FGFR2 bindet und n für eine Zahl von 1 bis 10 steht, sowie deren Salze, Solvate und Solvate der Salze. Bevorzugt ist, wenn der Binder über eine NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes an die Linker-Toxophor-Einheit gebunden ist.

Besonders bevorzugter Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Verbindungen der folgenden Formel



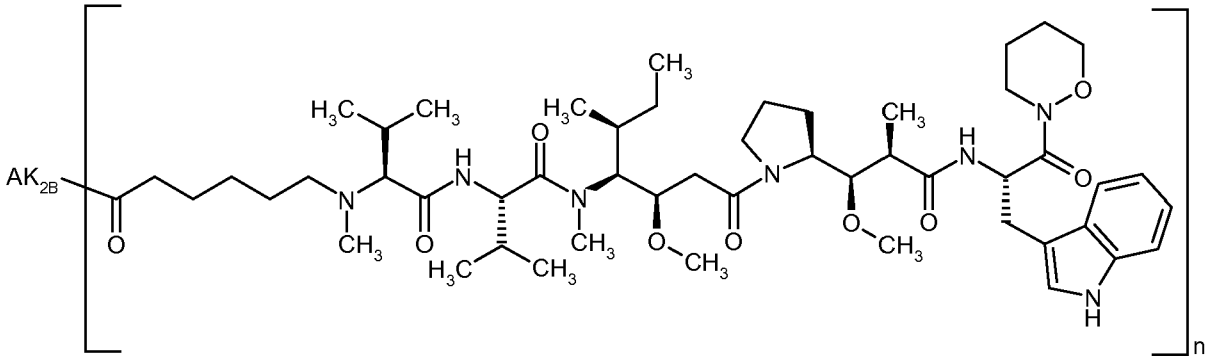
wobei AK einen Antikörper oder ein Antikörperfragment steht, der bzw. das FGFR2 bindet und n für eine Zahl von 1 bis 10 steht, sowie deren Salze, Solvate und Solvate der Salze. Bevorzugt ist, wenn der Antikörper oder das Antikörperfragment über eine NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Antikörpers oder Antikörperfragmentes an die Linker-Toxophor-Einheit gebunden ist.

Besonders bevorzugter Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verbindung der folgenden Formel



wobei AK2A für M048-D01-hIgG1 steht und n für eine Zahl von 1 bis 10 steht, sowie deren Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Ein weiterer besonders bevorzugter Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verbindung der folgenden Formel



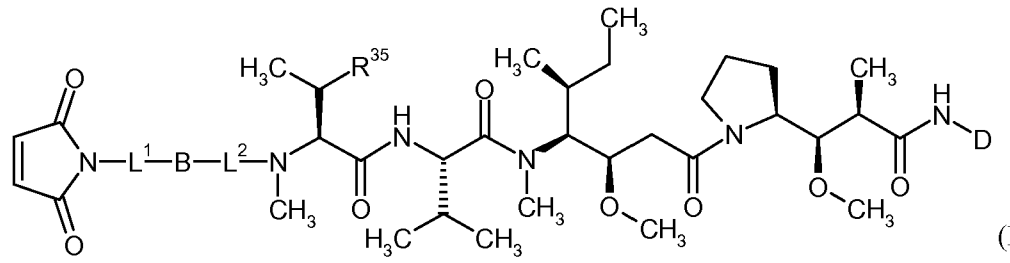
wobei AK2B für M048-D01-hIgG1-b steht und n für eine Zahl von 1 bis 10 steht, sowie deren Salze, Solvate und Solvate der Salze.

Die in den jeweiligen Kombinationen bzw. bevorzugten Kombinationen von Resten im einzelnen angegebenen Reste-Definitionen werden unabhängig von den jeweiligen angegebenen Kombinationen der Reste beliebig auch durch Reste-Definitionen anderer Kombinationen ersetzt.

Ganz besonders bevorzugt sind Kombinationen von zwei oder mehreren der oben genannten Vorbereiche.

Weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel (Ia), dadurch gekennzeichnet, dass man eine Lösung des Binders in PBS-Puffer

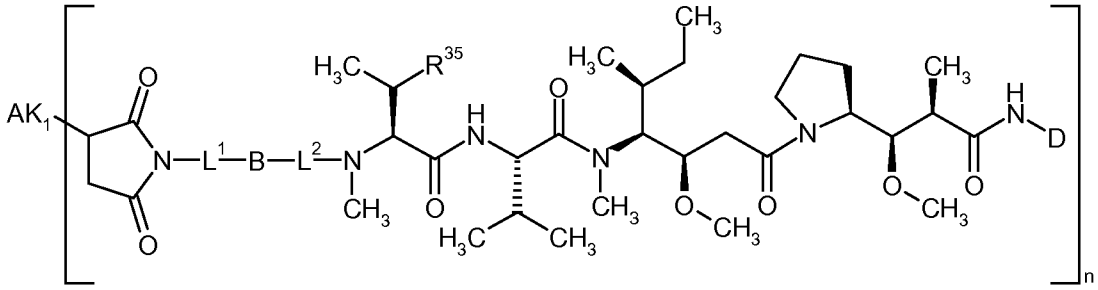
[A] mit einem geeigneten Reduktionsmittel, wie beispielsweise Dithiothreitol oder Tris(2-carboxyethyl)phosphin-Hydrochlorid, versetzt, und anschließend mit einer Verbindung der Formel (IIa)



(IIa),

in welcher D, L^1, B, L^2 und R^{35} jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

zu einer Verbindung der Formel (I-A)



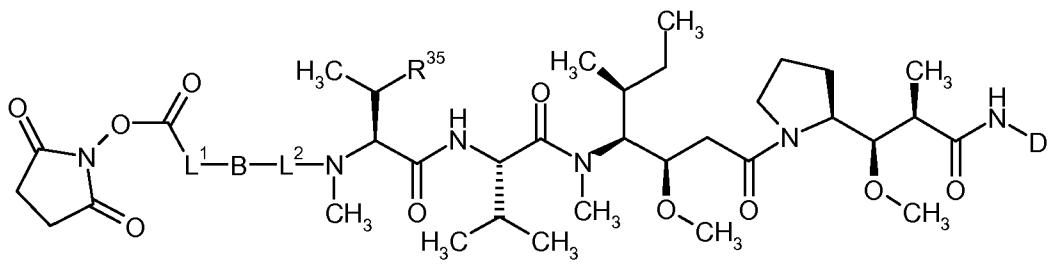
(Ia-A),

in welcher n, AK_1, D, L^1, B, L^2 und R^{35} jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt,

oder

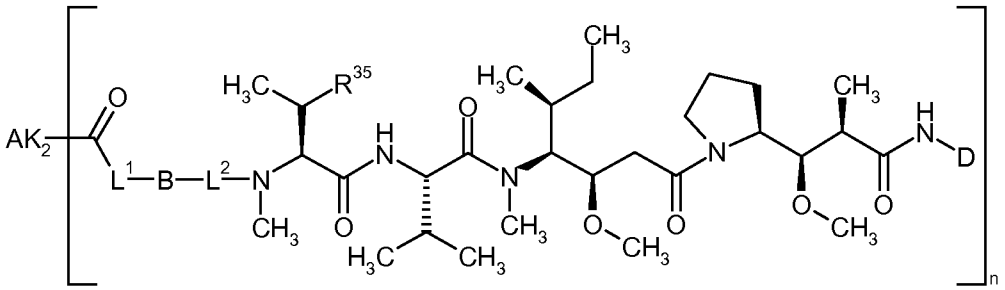
[B] mit einer Verbindung der Formel (IIIa)



(IIIa),

in welcher D, L^1, B, L^2 und R^{35} jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

zu einer Verbindung der Formel (Ia-B)



(Ia-B),

in welcher n, AK_2, D, L^1, B, L^2 und R^{35} jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt.

Cystein-Kupplung:

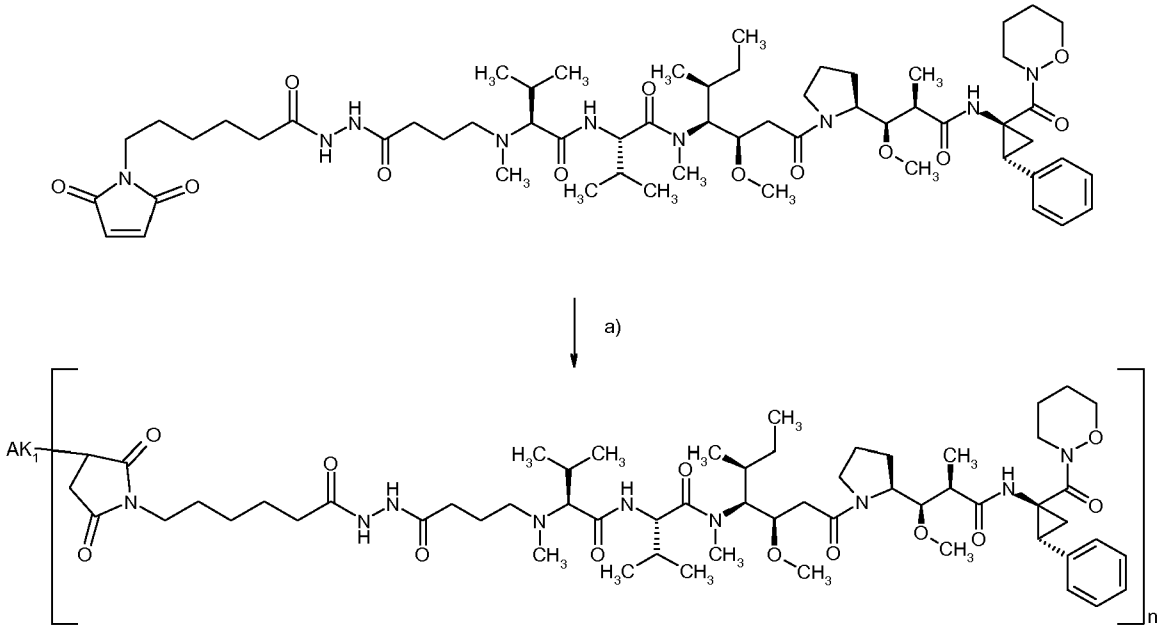
Die partielle Reduktion des Antikörpers sowie die anschließende Konjugation des (partiell) reduzierten Antikörpers mit einer Verbindung der Formel (IIa) erfolgt nach den dem Fachmann bekannten Methoden, siehe z.B. Ducry et. al., Bioconj. Chem. 2010, 21, 5 und Referenzen hierin, Klussman et.al., Bioconj. Chem. 2004, 15(4), 765-773. Bevorzugt erfolgt die milde Reduktion des Antikörpers durch Zugabe von 2-6 Equivalenten TCEP zu dem in geeigneter Pufferlösung, bevorzugt Phospatpuffer, vorliegenden Antikörpers und 30-180-minütigem Rühren bei Temperaturen zwischen 15 und 40°C, bevorzugt bei RT. Anschließend erfolgt die Konjugation durch Zugabe einer Lösung einer Verbindung der Formel (IIa) in DMSO, Acetonitril oder DMF zur Lösung des (partiell) reduzierten Antikörpers in PBS-Puffer, und anschliessender Umsetzung bei einer Temperatur von 0°C bis +40°C, insbesondere von +10°C bis +30°C, für einen Zeitraum von 30 min bis 6 Stunden, insbesondere 1 bis 2 Stunden.

Lysin-Kupplung:

Zunächst werden die Verbindungen der Formel (IIIa) oder vergleichbare aktivierte Carboxylkomponenten nach klassischen Methoden der Peptidchemie hergestellt. Diese werden dann in inerten Lösungsmitteln wie z.B. DMSO oder DMF aufgenommen und zu dem bevorzugt in Phosphatpuffer bei neutralem pH-Wert vorliegenden Antikörper zugegeben. Die Lösung wird 1-16h bei einer Temperatur zwischen 15 und 40°C, bevorzugt RT gerührt.

Die zuvor beschriebenen Herstellungsverfahren werden anhand der nachfolgenden Schemata (Schema 1 und 2) beispielhaft erläutert:

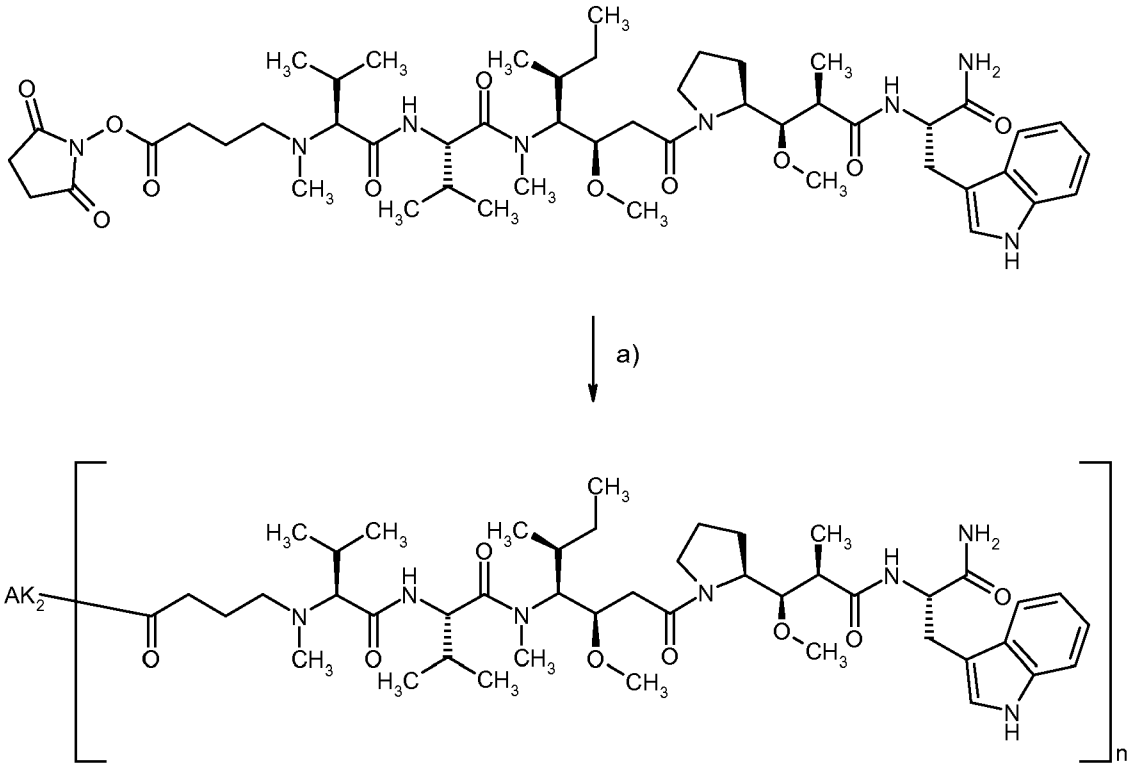
Schema 1



[a): 1. AK, TCEP, PBS-Puffer, RT; 2. Zugabe vom Maleinimid-Derivat in DMSO, RT].

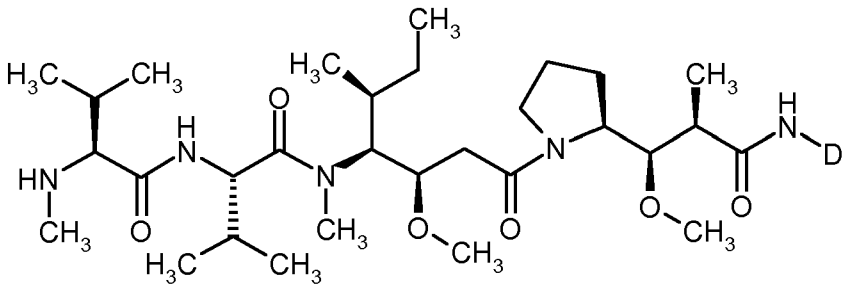
72

Schema 2



[a): AK, PBS-Puffer, RT mit aktiviertem Carboxylderivat der Linker-Wirkstoff-Komponenten versetzen].

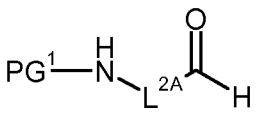
Die Verbindungen der Formel (II), in welcher L^1 und B für eine Bindung stehen, können hergestellt werden, indem man eine Verbindung der Formel (IV)



(IV),

in welcher D die oben angegebene Bedeutung hat,

in einem inerten Lösungsmittel mit einer Verbindung der Formel (V)



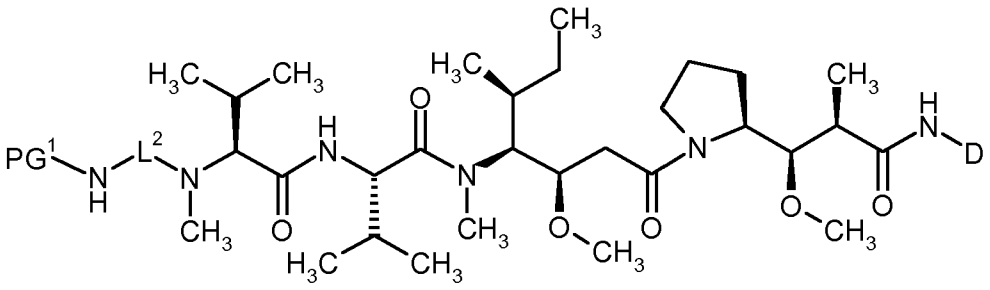
(V),

in welcher

L^{2A} die oben definierte Bedeutung von L^2 hat, jedoch in der Alkyl-Kettenlänge um ein Kohlenstoffatom verkürzt ist,

PG^1 für eine Amino-Schutzgruppe wie beispielsweise (9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl, *tert.*-Butoxycarbonyl oder Benzyloxycarbonyl steht,

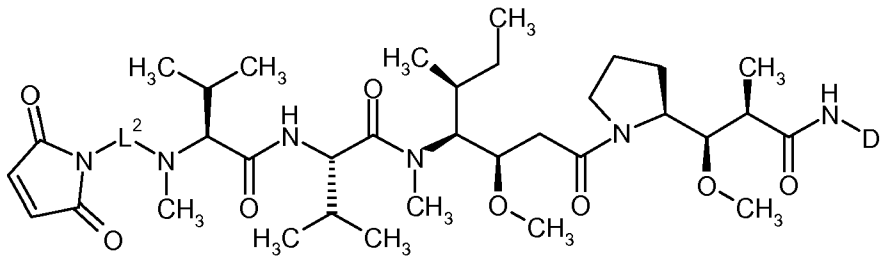
zu einer Verbindung der Formel (VI)



(VI),

in welcher D, L^2 und PG^1 die oben angegebene Bedeutung hat,

reduktiv aminiert, von dieser Verbindung nach dem Fachmann bekannten Methoden die Schutzgruppe PG^1 abspaltet, und die entschützte Verbindung in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart einer geeigneten Base mit Methyl-2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-carboxylat zu einer Verbindung der Formel (II-A)

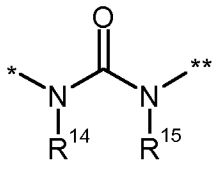


(II-A),

in welcher D und L^2 jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt.

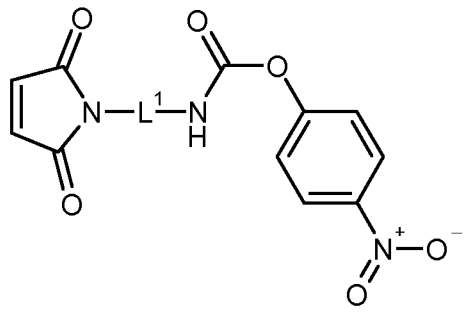
Die Verbindungen der Formel (II), in welcher B für eine Gruppe der Formel (B^1)



(B^1),

in welcher *, **, R^{14} und R^{15} jeweils die oben angegebenen Bedingungen haben,

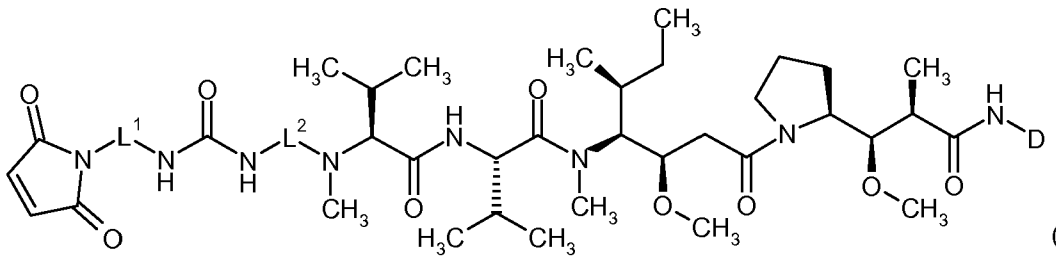
steht, können hergestellt werden, indem man von einer Verbindung der Formel (VI) nach dem Fachmann bekannten Methoden die Schutzgruppe PG^1 abspaltet, und die entschützte Verbindung in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart einer geeigneten Base mit einer Verbindung der Formel (VII)



(VII),

in welcher L^1 die oben angegebene Bedeutung hat,

zu einer Verbindung der Formel (II-B)

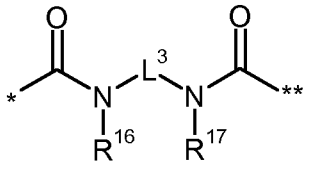


(II-B),

in welcher D, L^1 und L^2 jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt.

Die Verbindungen der Formel (II), in welcher B für eine Gruppe der Formel (B^2)

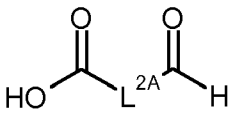


(B^2),

in welcher *, **, L^3, R^{16} und R^{17} jeweils die oben angegebenen Bedingungen haben,

steht, können hergestellt werden, indem man eine Verbindung der Formel (IV)

in einem inerten Lösungsmittel mit einer Verbindung der Formel (VIII)

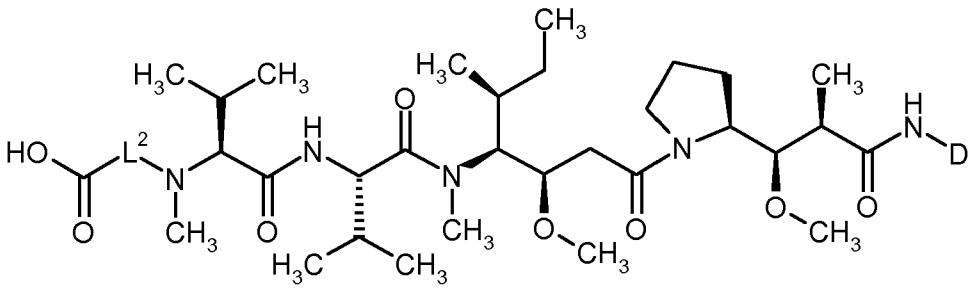


(VIII),

in welcher

L^{2A} die oben definierte Bedeutung von L^2 hat, jedoch in der Alkyl-Kettenlänge um ein Kohlenstoffatom verkürzt ist,

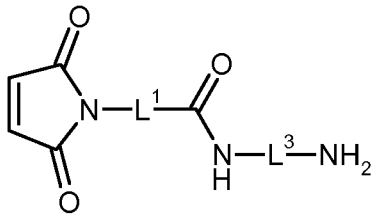
zu einer Verbindung der Formel (IX)



(IX),

in welcher D und L^2 die oben angegebenen Bedeutungen haben,

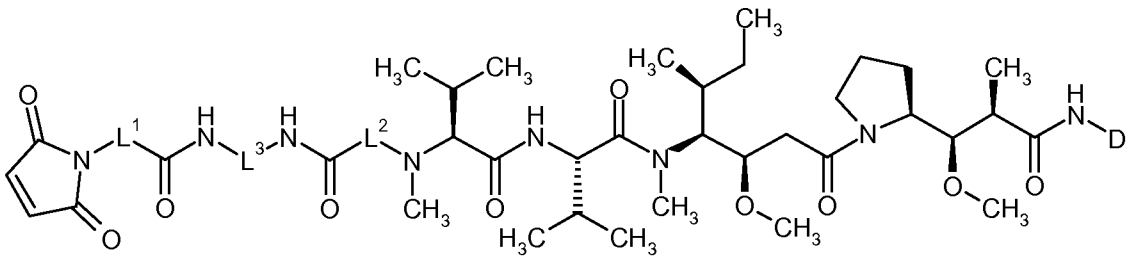
reduktiv aminiert, und diese Verbindung in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart eines geeigneten Kupplungsreagenzes und einer geeigneten Base mit einer Verbindung der Formel (X)



(X),

in welcher L^1 und L^3 jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

zu einer Verbindung der Formel (II-C)

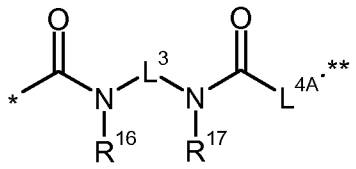


(II-C),

in welcher D, L^1, L^2 und L^3 jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt.

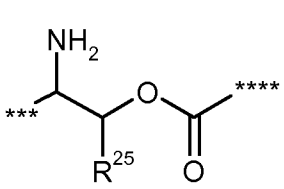
Verbindung der Formel (II), in welcher B für eine Gruppe der Formel (B^3)



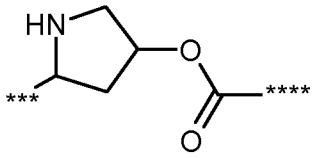
(B^3),

in welcher *, **, L^3, R^{16} und R^{17} jeweils die oben angegebenen Bedingungen haben und

L^{4A} für eine Gruppe der Formel



oder



steht, worin

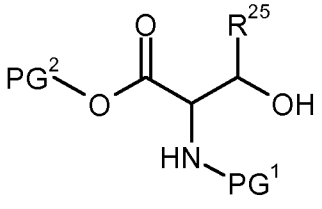
*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

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

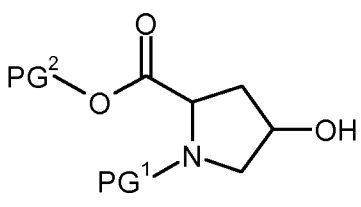
R^{25} für Wasserstoff oder Methyl steht,

steht,

können hergestellt werden, indem man eine Verbindung der Formel (IX) in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart einer geeigneten Base und eines geeigneten Kupplungsreagenzes mit einer Verbindung der Formel (XI-A) oder (XI-B)



(XI-A) oder

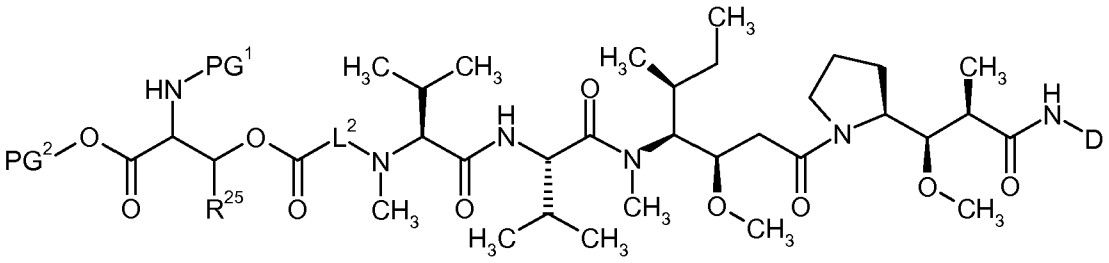


(XI-B),

in welchen R^{25} und PG^1 jeweils die zuvor angegebenen Bedeutungen haben und

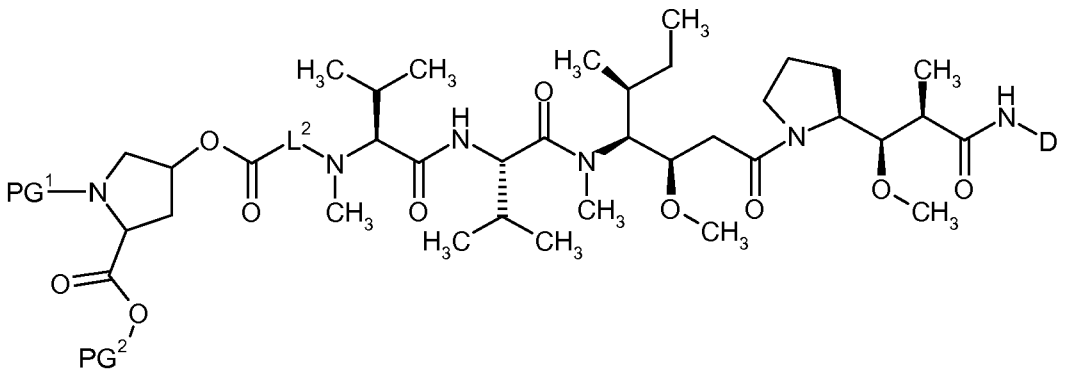
PG^2 für eine geeignete Carboxyl-Schutzgruppe, insbesondere Benzyl, steht,

zu einer Verbindung (XII-A) bzw. (XII-B)



(XII-A)

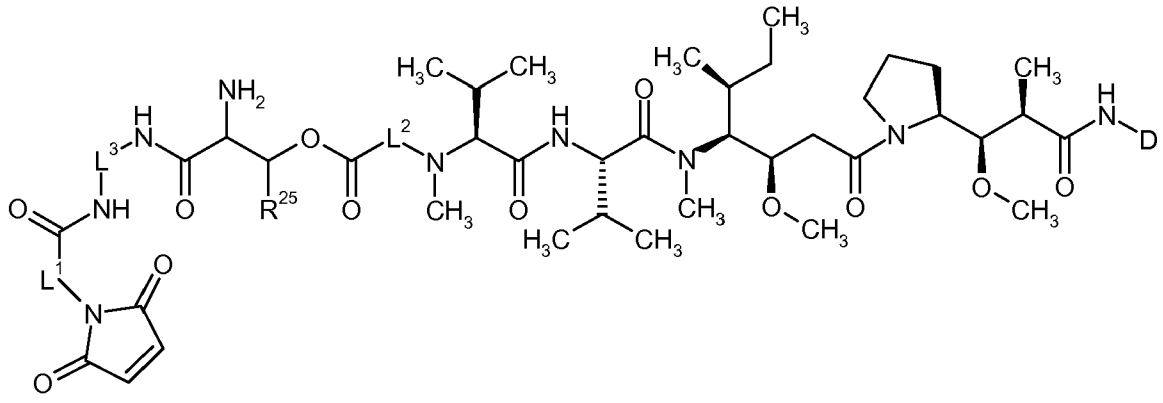
bzw.



(XII-B),

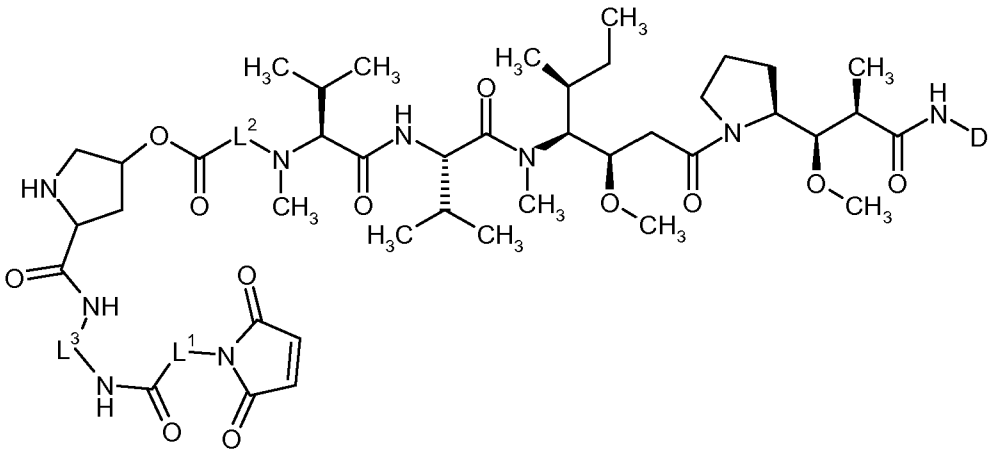
in welchen D, PG^1, PG^2 und L^2 die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt, von dieser anschliessend nach dem Fachmann bekannten Methoden die Schutzgruppe PG^2 abspaltet und die entschützte Verbindung in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart eines geeigneten Kupplungsreagenzes und einer geeigneten Base mit einer Verbindung der Formel (X) umsetzt, und von dieser schließlich nach dem Fachmann bekannten Methoden die Schutzgruppe PG1 zu einer Verbindung der Formel (II-D-A) bzw. (II-D-B)



(II-D-A),

bzw.

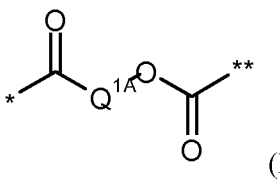


(II-D-B),

in welchen D, L^1, L^2 und L^3 die oben angegebenen Bedeutungen haben,

abspaltet.

Verbindung der Formel (II), in welcher B für eine Gruppe der Formel (B^4)

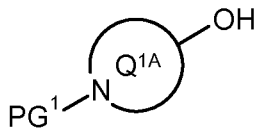


(B^4),

in welcher *, ** jeweils die oben angegebenen Bedingungen haben und

Q^{1A} für einen N-verknüpften 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht,

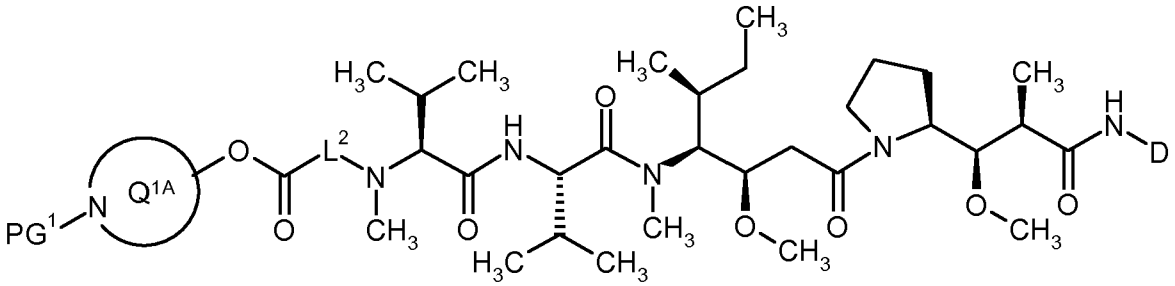
können hergestellt werden, indem man eine Verbindung der Formel (IX) in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart einer geeigneten Base und eines geeigneten Kupplungsreagenzes mit einer Verbindung der Formel (XXI)



(XXI),

in welcher PG^1 und Q^{1A} jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

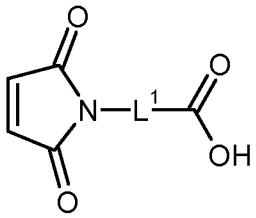
zu einer Verbindung der Formel (XXII)



(XXII),

in welcher PG^1, Q^{1A}, D und L^2 die oben angegebenen Bedeutungen haben,

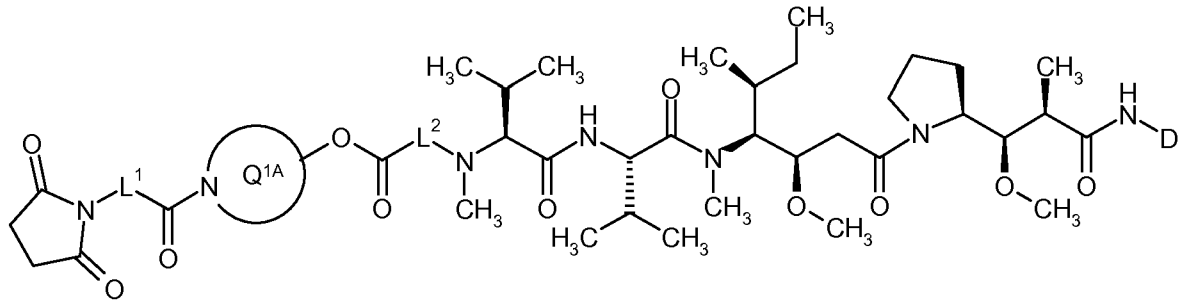
umsetzt, von dieser nach dem Fachmann bekannten Methoden die Schutzgruppe PG^1 abspaltet und die entschützte Verbindung anschliessend in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart eines geeigneten Kupplungsreagenzes und einer geeigneten Base mit einer Verbindung der Formel (XXIII)



(XXIII),

in welcher L^1 die oben angegebene Bedeutung hat,

zu einer Verbindung der Formel (II-D)

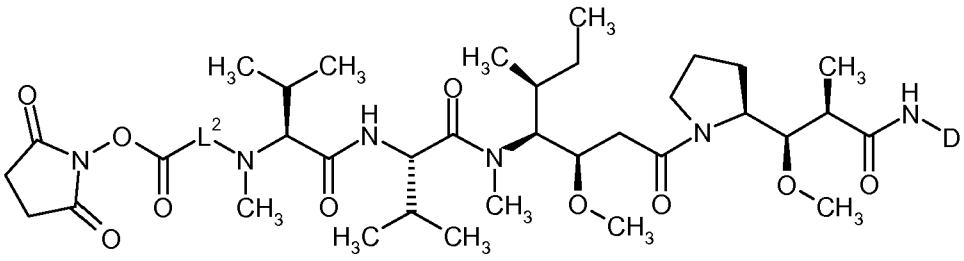


(II-D),

in welcher Q^{1A}, D, L^1 und L^2 die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt.

Die Verbindungen der Formel (III), in welcher L^1 und B für eine Bindung stehen, können hergestellt werden, indem man eine Verbindung der Formel (IX) in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart eines geeigneten Kupplungsreagenzes und einer geeigneten Base mit N-Hydroxysuccinimid zu einer Verbindung der Formel (III-A)

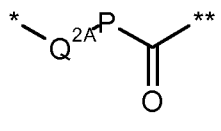


(III-A),

in welcher D und L^2 jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt.

Die Verbindungen der Formel (III), in welcher L^1 für eine Bindung und B für eine Gruppe der Formel (B^{5A})

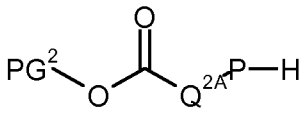


(B^{5A}),

in welcher *, ** und P jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben und

Q^{2A} für einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus steht,

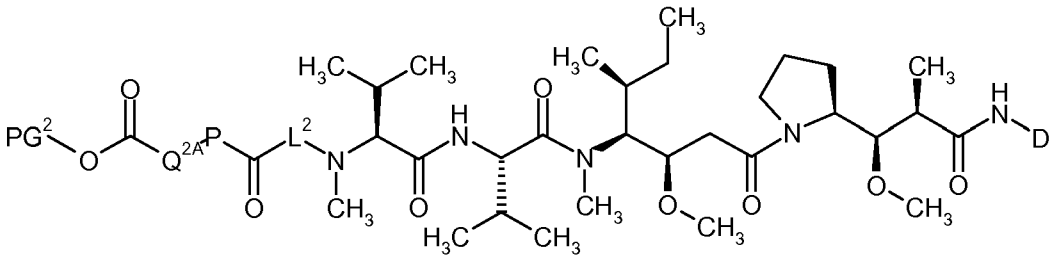
stehen, können hergestellt werden, indem man eine Verbindung der Formel (IX) in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart eines geeigneten Kupplungsreagenzes und einer geeigneten Base mit einer Verbindung der Formel (XIII)



(XIII),

in welcher P, Q^{2A} und PG^2 jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

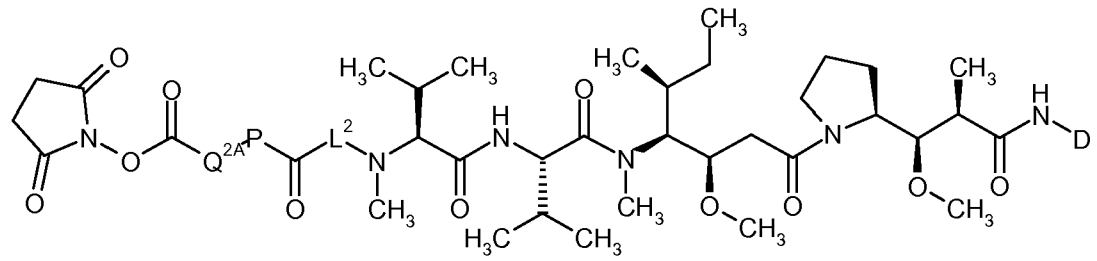
zu einer Verbindung der Formel (XIV)



(XIV),

in welcher D, P, Q^{2A}, L^2 und PG^2 jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt, von dieser nach dem Fachmann bekannten Methoden die Schutzgruppe PG^2 abspaltet und die entschützte Verbindung anschliessend in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart einer geeigneten Base mit N-Hydroxysuccinimid zu einer Verbindung der Formel (III-B)

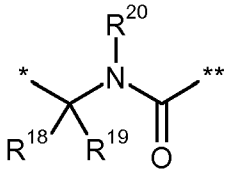


(III-B),

in welcher D, P, Q^{2A} und L^2 jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt.

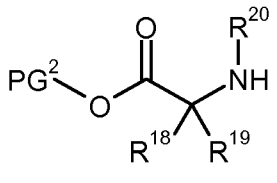
Die Verbindungen der Formel (III), in welcher L^1 für eine Bindung und B für eine Gruppe der Formel (B^6)



(B^6),

in welcher *, **, R^{18}, R^{19} und R^{20} jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

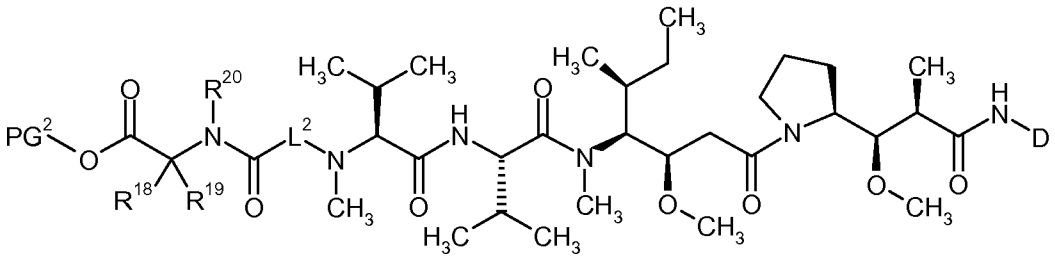
stehen, können hergestellt werden, indem man eine Verbindung der Formel (IX) in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart eines geeigneten Kupplungsreagenzes und einer geeigneten Base mit einer Verbindung der Formel (XV)



(XV),

in welcher R^{18}, R^{19}, R^{20} und PG^2 jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

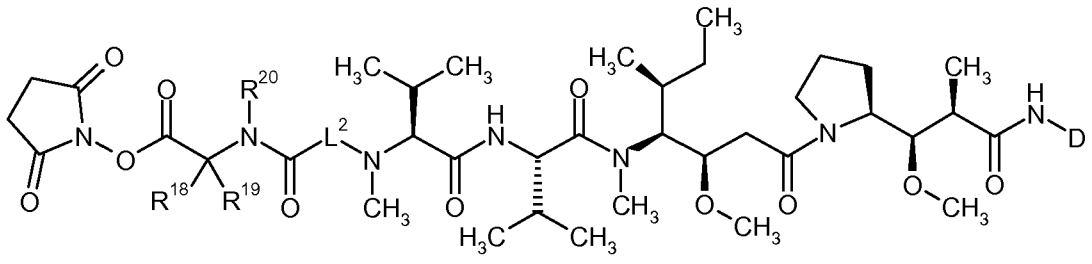
zu einer Verbindung der Formel (XVI)



(XVI),

in welcher D, R^{18}, R^{19}, R^{20}, L^2 und PG^2 jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt, von dieser nach dem Fachmann bekannten Methoden die Schutzgruppe PG^2 abspaltet und die entschützte Verbindung anschliessend in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart eines geeigneten Kupplungsreagenzes und einer geeigneten Base mit N-Hydroxysuccinimid zu einer Verbindung der Formel (III-C)

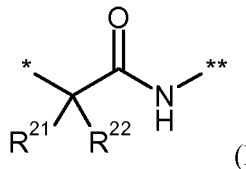


(III-C),

in welcher D, R^{18}, R^{19}, R^{20} und L^2 jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt.

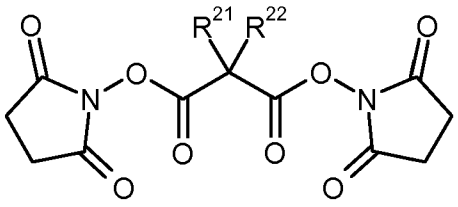
Die Verbindungen der Formel (III), in welcher L^1 für eine Bindung und B für eine Gruppe der Formel (B^7)



(B^7),

in welcher *, **, R^{21} und R^{22} jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

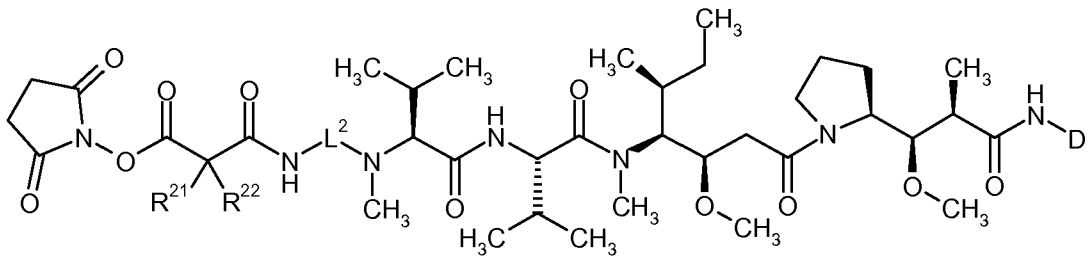
stehen, können hergestellt werden, indem man von einer Verbindung der Formel (VI) nach dem Fachmann bekannten Methoden die Schutzgruppe PG^1 abspaltet, und die resultierende entschützte Verbindung in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart einer geeigneten Base mit einer Verbindung der Formel (XVII)



(XVII),

in welcher R^{21} und R^{22} jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

zu einer Verbindung der Formel (III-D)

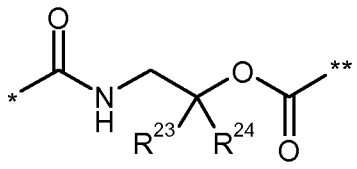


(III-D),

in welcher D, R^{21}, R^{22} und L^2 jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt.

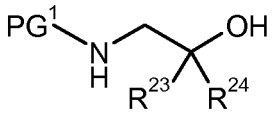
Die Verbindungen der Formel (III), in welcher B für eine Gruppe der Formel (B^8)



(B^8),

in welcher *, **, R^{23} und R^{24} jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

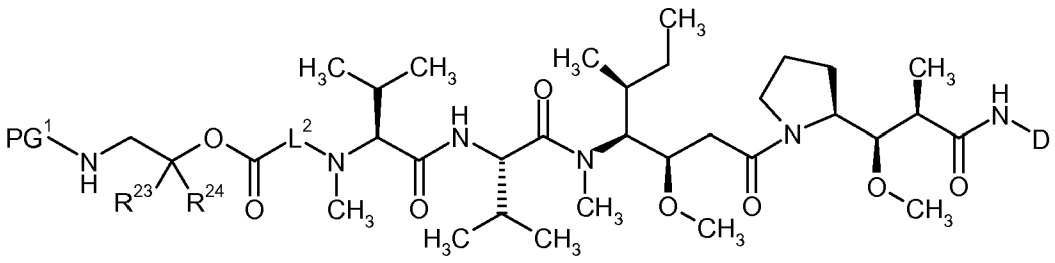
steht, können hergestellt werden, indem man eine Verbindung der Formel (IX) in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart eines geeigneten Kupplungsreagenzes und einer geeigneten Base mit einer Verbindung der Formel (XVIII)



(XVIII),

in welcher R^{23}, R^{24} und PG^1 jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

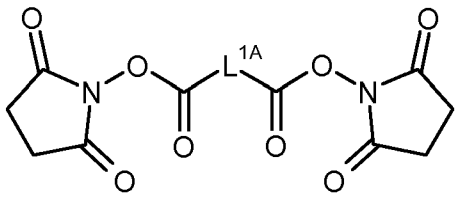
zu einer Verbindung der Formel (XIX)



(XIX),

in welcher D, R^{23}, R^{24}, L^2 und PG^1 jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

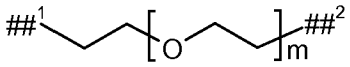
umsetzt, von dieser nach dem Fachmann bekannten Methoden die Schutzgruppe PG^1 abspaltet und die entschützte Verbindung anschliessend in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart eines geeigneten Kupplungsreagenzes und einer geeigneten Base mit einer Verbindung der Formel (XX)



(XX),

in welcher

L^{1A} für lineares (C_1-C_{10})-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

[1] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

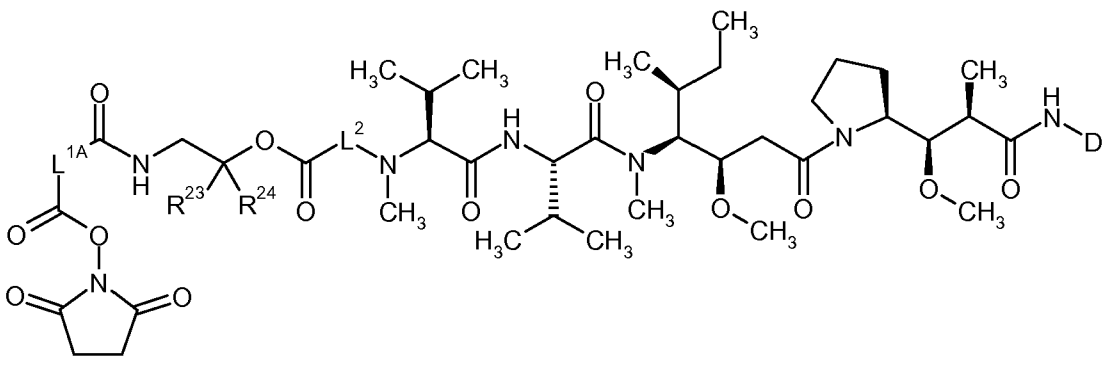
##[2] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

wobei (C_1-C_{10})-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten Methyl substiuiert sein kann,

und

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

zu einer Verbindung der Formel (III-E)

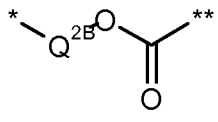


(III-E),

in welcher D, R^{23}, R^{24}, L^{1A} und L^2 jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt.

Die Verbindungen der Formel (III), in welcher B für eine Gruppe der Formel (B^{5B})

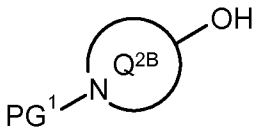


(B^{5B}),

in welcher * und ** jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben und

Q^{2B} für einen N-verknüpften 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus steht,

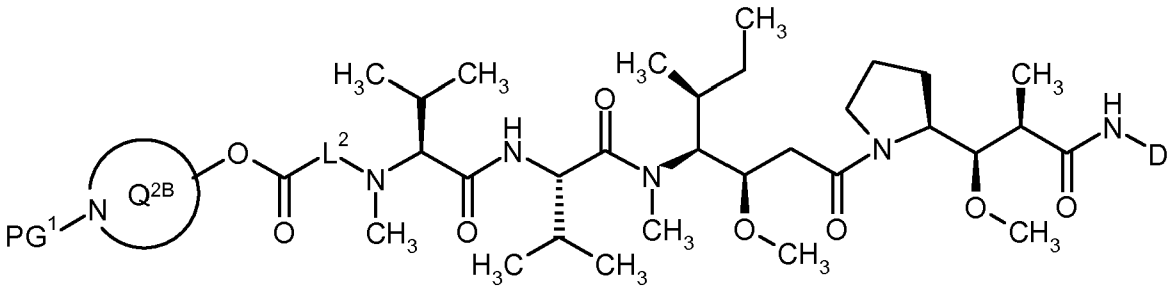
können hergestellt werden, indem man eine Verbindung der Formel (IX) in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart einer geeigneten Base und eines geeigneten Kupplungsreagenzes mit einer Verbindung der Formel (XXIV)



(XXIV),

in welcher PG^1 und Q^{2B} jeweils die oben angegebenen Bedeutungen haben,

zu einer Verbindung der Formel (XXV)

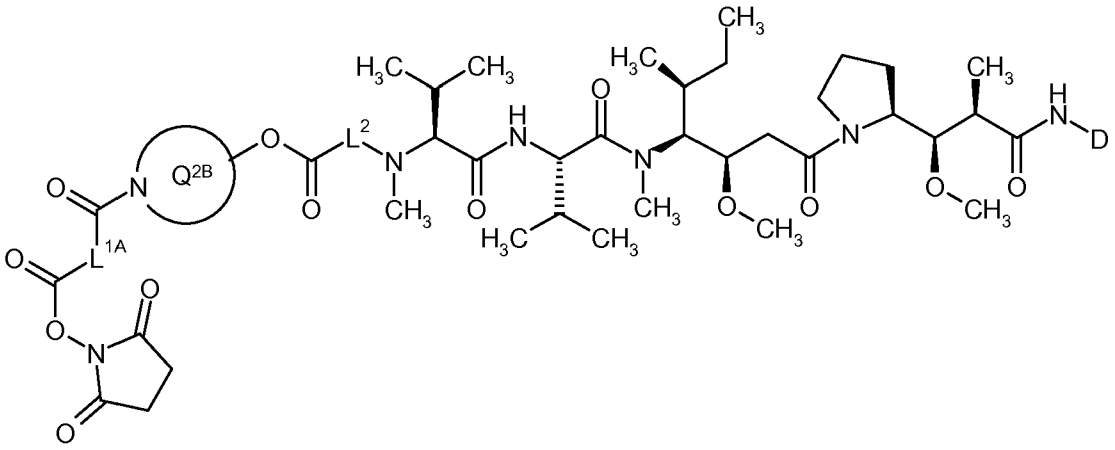


(XXV),

in welcher PG^1, Q^{2B}, D und L^2 die oben angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt, von dieser nach dem Fachmann bekannten Methoden die Schutzgruppe PG^1 abspaltet,

und die entschützte Verbindung anschliessend in einem inerten Lösungsmittel in Gegenwart einer geeigneten Base mit einer Verbindung der Formel (XX) in eine Verbindung der Formel (III-F)



(III-F),

in welcher Q^{2B}, D, L^{1A} und L^2 die oben angegebenen Bedeutungen haben,

überführt.

Die Umsetzungen (IV) + (V) → (VI) und (IV) + (VIII) → (IX) erfolgen in den für eine reduktive Aminierung üblichen, unter den Reaktionsbedingungen inerten Lösungsmitteln, gegebenenfalls in Gegenwart einer Säure und/ oder eines wasserentziehenden Mittels als Katalysator. Zu solchen Lösungsmitteln gehören beispielsweise Alkohole wie Methanol, Ethanol, *n*-Propanol, Isopropanol, *n*-Butanol oder *tert.*-Butanol, Ether wie Tetrahydrofuran, 1,4-Dioxan, 1,2-Dimethoxyethan oder Bis-(2-methoxyethyl)-ether, oder andere Solventien wie Dichlormethan, 1,2-Dichlorethan, *N,N*-Dimethylformamid oder auch Wasser. Ebenso ist es möglich, Gemische dieser Lösungsmittel einzusetzen. Bevorzugt wird als Lösungsmittel ein 1,4-Dioxan/Wasser-Gemisch verwendet unter Zusatz von Essigsäure oder verdünnter Salzsäure als Katalysator.

Als Reduktionsmittel eignen sich für diese Reaktion insbesondere komplexe Borhydride, wie beispielsweise Natriumborhydrid, Natriumcyanoborhydrid, Natriumtriacetoxyborhydrid, Tetra-*n*-butylammoniumborhydrid oder Boran-Pyridin-Komplex. Bevorzugt wird Natriumcyanoborhydrid oder Boran-Pyridin-Komplex eingesetzt.

Die Umsetzungen (IV) + (V) → (VI) und (IV) + (VIII) → (IX) erfolgen im Allgemeinen in einem Temperaturbereich von 0°C bis +120°C, bevorzugt bei +50°C bis +100°C. Die Reaktionen können bei normalem, bei erhöhtem oder bei erniedrigtem Druck durchgeführt werden (z.B. von 0.5 bis 5 bar); in der Regel arbeitet man bei Normaldruck.

Die oben beschriebenen Kupplungsreaktionen (IX) + (X) → (II-C), (XII-A) bzw. (XII-B) + (X) → (II-D-A) bzw. (II-D-B), (IX) + (XIII) → (XIV), (IX) + (XV) → (XVI) und (XXII) + (XXIII) →

(II-D) (Amid-Bildung aus jeweiliger Amin- und Carbonsäure-Komponente) werden nach allgemein üblichen Methoden der Peptidchemie durchgeführt [siehe z.B. M. Bodanszky, *Principles of Peptide Synthesis*, Springer-Verlag, Berlin, 1993; M. Bodanszky und A. Bodanszky, *The Practice of Peptide Synthesis*, Springer-Verlag, Berlin, 1984; H.-D. Jakubke und H. Jeschkeit, *Aminosäuren, Peptide, Proteine*, Verlag Chemie, Weinheim, 1982].

Inerte Lösungsmittel für diese Kupplungsreaktionen sind beispielsweise Ether wie Diethylether, Diisopropylether, *tert.*-Butylmethylether, Tetrahydrofuran, 1,4-Dioxan, 1,2-Dimethoxyethan oder Bis-(2-methoxyethyl)-ether, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Toluol, Xylol, Pentan, Hexan, Heptan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, Halogenkohlenwasserstoffe wie Dichlormethan, Trichlormethan, Tetrachlormethan, 1,2-Dichlorethan, Trichlorethylen oder Chlorbenzol, oder dipolar-aprotische Lösungsmittel wie Aceton, Methylethylketon, Acetonitril, Ethylacetat, Pyridin, Dimethylsulfoxid (DMSO), *N,N*-Dimethylformamid (DMF), *N,N*-Dimethylacetamid (DMA), *N,N'*-Dimethylpropylenharnstoff (DMPU) oder *N*-Methylpyrrolidinon (NMP). Ebenso ist es möglich, Gemische solcher Lösungsmittel zu verwenden. Bevorzugt wird *N,N*-Dimethylformamid eingesetzt.

Als Aktivierungs-/Kondensationsmittel für diese Kupplungen eignen sich beispielsweise Carbodiimide wie *N,N'*-Diethyl-, *N,N'*-Dipropyl-, *N,N'*-Diisopropyl-, *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) oder *N*-(3-Dimethylaminoisopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid (EDC), Phosgen-Derivate wie *N,N'*-Carbonyldiimidazol (CDI) oder Isobutylchlorformiat, 1,2-Oxazolium-Verbindungen wie 2-Ethyl-5-phenyl-1,2-oxazolium-3-sulfat oder 2-*tert.*-Butyl-5-methylisoxazolium-perchlorat, Acylamino-Verbindungen wie 2-Ethoxy-1-ethoxycarbonyl-1,2-dihydrochinolin, Phosphor-Verbindungen wie Propanphosphonsäureanhydrid, Cyanophosphonsäurediethylester, Bis-(2-oxo-3-oxazolidinyl)-phosphorylchlorid, Benzotriazol-1-yloxy-tris(dimethylamino)phosphonium-hexafluorophosphat oder Benzotriazol-1-yloxy-tris(pyrrolidino)phosphonium-hexafluorophosphat (PyBOP), oder Uronium-Verbindungen wie *O*-(Benzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-tetrafluoroborat (TBTU), *O*-(Benzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HBTU), 2-(2-Oxo-1-(2*H*)-pyridyl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-tetrafluoroborat (TPTU), *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) oder *O*-(1*H*-6-Chlorbenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-tetrafluoroborat (TCTU), gegebenenfalls in Kombination mit weiteren Hilfsstoffen wie 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt) oder *N*-Hydroxysuccinimid (HOSu), sowie als Basen Alkalicarbonate, z.B. Natrium- oder Kaliumcarbonat, oder tertiäre Aminbasen wie Triethylamin, *N*-Methylmorpholin, *N*-Methylpiperidin, *N,N*-Diisopropylethylamin, Pyridin oder 4-*N,N*-Dimethylaminopyridin.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wird als Aktivierungs-/Kondensationsmittel für solche Kupplungsreaktionen bevorzugt *N*-(3-Dimethylaminoisopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid

(EDC) in Kombination mit 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt) und *N,N*-Diisopropylethylamin, oder *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) gleichfalls in Verbindung mit *N,N*-Diisopropylethylamin verwendet.

Die Kupplungsreaktionen (IX) + (X) → (II-C), (XII-A) bzw. (XII-B) + (X) → (II-D-A) bzw. (II-D-B), (IX) + (XIII) → (XIV) , (IX) + (XV) → (XVI) und (XXII) + (XXIII) → (II-D) werden in der Regel in einem Temperaturbereich von -20°C bis +60°C, bevorzugt bei 0°C bis +40°C durchgeführt. Die Umsetzungen können bei normalem, bei erhöhtem oder bei erniedrigtem Druck erfolgen (z.B. von 0.5 bis 5 bar); im Allgemeinen arbeitet man bei Normaldruck.

Die Esterbildungen (IX) + (XVIII) → (XII) und (IX) + (XI-A) bzw. (XI-B) → (XII-A) bzw. (XII-B), (IX) + (XXIV) → (XXV) sowie (IX) + (XXI) → (XXII) erfolgen in Analogie zu den oben beschriebenen Amid-Kupplungsreaktionen. Bevorzugt erfolgen diese Reaktionen in Dichlormethan unter Verwendung von *N*-(3-Dimethylaminoisopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid (EDC) und 4-Dimethylaminopyridin bei einer Temperatur von +50°C bis 100°C bei Normaldruck.

Die in den Verbindungen gegebenenfalls vorhandenen funktionellen Gruppen – wie insbesondere Amino-, Hydroxy- und Carboxylgruppen – können bei den zuvor beschriebenen Verfahrensschritten, falls zweckmäßig oder erforderlich, auch in temporär geschützter Form vorliegen. Die Einführung und Entfernung solcher Schutzgruppen erfolgt hierbei nach üblichen, aus der Peptidchemie bekannten Methoden [siehe z.B. T.W. Greene und P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley, New York, 1999; M. Bodanszky und A. Bodanszky, *The Practice of Peptide Synthesis*, Springer-Verlag, Berlin, 1984]. Bei Vorhandensein mehrerer geschützter Gruppen kann deren Wiederfreisetzung gegebenenfalls simultan in einer Eintopf-Reaktion oder auch in separaten Reaktionsschritten vorgenommen werden.

Als Amino-Schutzgruppe PG^1 wird bevorzugt *tert.*-Butoxycarbonyl (Boc), Benzyloxycarbonyl (Z) oder (9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl (Fmoc) verwendet; für eine Hydroxy- oder Carboxyl-Funktion wird vorzugsweise *tert.*-Butyl oder Benzyl als Schutzgruppe PG^2 eingesetzt. Die Abspaltung einer *tert.*-Butyl- oder *tert.*-Butoxycarbonyl-Gruppe geschieht üblicherweise durch Behandlung mit einer starken Säure, wie Chlorwasserstoff, Bromwasserstoff oder Trifluoressigsäure, in einem inerten Lösungsmittel wie Diethylether, 1,4-Dioxan, Dichlormethan oder Essigsäure; gegebenenfalls kann diese Reaktion auch ohne Zusatz eines inerten Lösungsmittels durchgeführt werden. Im Falle von Benzyl oder Benzyloxycarbonyl als Schutzgruppe werden diese bevorzugt durch Hydrogenolyse in Gegenwart eines geeigneten Palladium-Katalysators, wie beispielsweise Palladium auf Aktivkohle, entfernt. Die (9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl-Gruppe wird im Allgemeinen mit Hilfe einer sekundären Aminbase wie Diethylamin oder Piperidin abgespalten.

Die Umsetzung (VI) → (II-A) erfolgt in einem unter den Reaktionsbedingungen inerten Lösungsmittel wie beispielsweise Ether wie Tetrahydrofuran, 1,4-Dioxan, 1,2-Dimethoxyethan oder Bis-(2-methoxyethyl)-ether, Alkohole wie Methanol, Ethanol, Isopropanol, n-Butanol oder *tert.*-Butanol, oder dipolar-aprotische Lösungsmittel wie Aceton, Methylethylketon, Acetonitril, Ethylacetat, Pyridin, Dimethylsulfoxid (DMSO), *N,N*-Dimethylformamid (DMF), *N,N*-Dimethylacetamid (DMA), *N,N'*-Dimethylpropylenharnstoff (DMPU) oder *N*-Methylpyrrolidinon (NMP) oder Wasser. Ebenso ist es möglich, Gemische solcher Lösungsmittel zu verwenden. Bevorzugt wird ein Gemisch von 1,4-Dioxan und Wasser eingesetzt.

Geeignete Basen für die Umsetzung (VI) → (II-A) sind beispielsweise Alkalicarbonate wie Kaliumcarbonat, Natriumcarbonat oder Lithiumcarbonat, Alkalihydrogencarbonate wie Natrium- oder Kaliumhydrogencarbonat oder Alkalialkoholate wie Natriummethanolat, Natriumethanolat oder Kalium-tert.-butylat. Bevorzugt wird Natriumhydrogencarbonat verwendet.

Die Reaktion (VI) → (II-A) erfolgt in einem Temperaturbereich von 0°C bis +50°C, bevorzugt bei +10°C bis +30°C. Die Umsetzung kann bei normalem, bei erhöhtem oder bei erniedrigtem Druck erfolgen (z.B. von 0.5 bis 5 bar); im Allgemeinen arbeitet man bei Normaldruck.

Die Umsetzung (VI) + (VII) → (II-B) erfolgt in einem unter den Reaktionsbedingungen inerten Lösungsmittel wie beispielsweise Ether wie Tetrahydrofuran, 1,4-Dioxan, 1,2-Dimethoxyethan oder Bis-(2-methoxyethyl)-ether, Alkohole wie Methanol, Ethanol, Isopropanol, n-Butanol oder *tert.*-Butanol, oder dipolar-aprotische Lösungsmittel wie Aceton, Methylethylketon, Acetonitril, Ethylacetat, Pyridin, Dimethylsulfoxid (DMSO), *N,N*-Dimethylformamid (DMF), *N,N*-Dimethylacetamid (DMA), *N,N'*-Dimethylpropylenharnstoff (DMPU) oder *N*-Methylpyrrolidinon (NMP) oder Wasser. Ebenso ist es möglich, Gemische solcher Lösungsmittel zu verwenden. Bevorzugt wird DMF eingesetzt.

Geeignete Basen für die Umsetzung (VI) + (VII) → (II-B) sind beispielsweise tertiäre Aminbasen wie Triethylamin, *N*-Methylmorpholin, *N*-Methylpiperidin, *N,N*-Diisopropylethylamin, Pyridin oder 4-*N,N*-Dimethylaminopyridin. Bevorzugt wird *N,N*-Diisopropylethylamin verwendet.

Die Reaktion (VI) + (VII) → (II-B) erfolgt in einem Temperaturbereich von 0°C bis +50°C, bevorzugt bei +10°C bis +30°C. Die Umsetzung kann bei normalem, bei erhöhtem oder bei erniedrigtem Druck erfolgen (z.B. von 0.5 bis 5 bar); im Allgemeinen arbeitet man bei Normaldruck.

Die Umsetzungen (IX) → (III-A), (XIV) → (III-B) und (XVI) → (III-C) sowie (VI) + (XVII) → (III-D), (XIX) + (XX) → (III-E) und (XXV) + (XX) → (III-F) erfolgen in einem Lösungsmittel, welches unter den Reaktionsbedingungen inert ist. Geeignete Lösungsmittel sind beispielsweise Ether

wie Diethylether, Diisopropylether, *tert.*-Butylmethylether, Tetrahydrofuran, 1,4-Dioxan, 1,2-Dimethoxyethan oder Bis-(2-methoxyethyl)-ether, Kohlenwasserstoffe wie Benzol, Toluol, Xylol, Pentan, Hexan, Heptan, Cyclohexan oder Erdölfraktionen, Halogenkohlenwasserstoffe wie Dichlormethan, Trichlormethan, Tetrachlormethan, 1,2-Dichlorethan, Trichlorethylen oder Chlorbenzol, oder dipolar-aprotische Lösungsmittel wie Aceton, Methylethylketon, Acetonitril, Ethylacetat, Pyridin, Dimethylsulfoxid (DMSO), *N,N*-Dimethylformamid (DMF), *N,N*-Dimethylacetamid (DMA), *N,N'*-Dimethylpropylenharnstoff (DMPU) oder *N*-Methylpyrrolidinon (NMP). Ebenso ist es möglich, Gemische solcher Lösungsmittel zu verwenden. Bevorzugt wird *N,N*-Dimethylformamid eingesetzt.

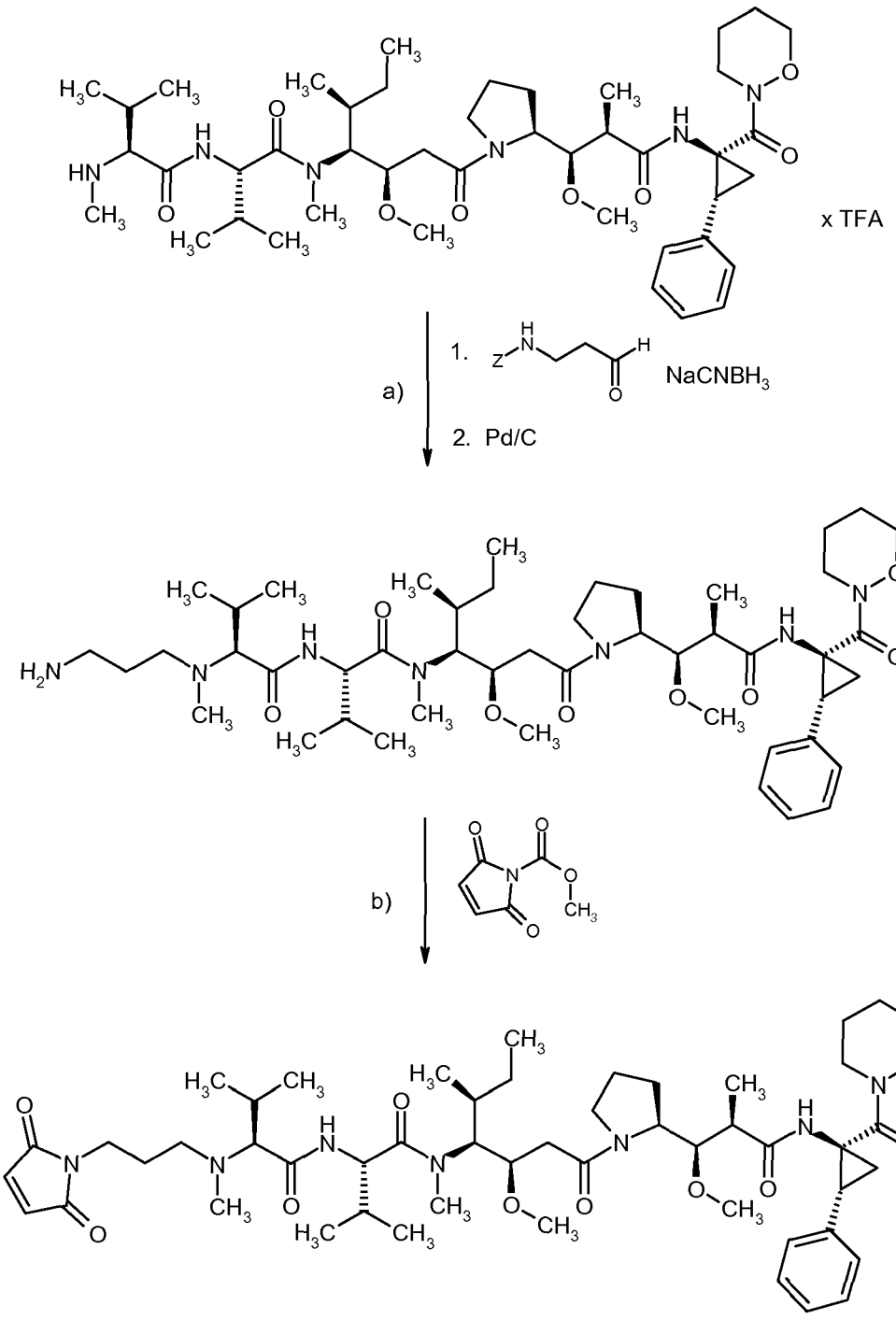
Geeignete Basen für diese Umsetzungen sind beispielsweise tertiäre Amine wie Triethylamin, *N*-Methylmorpholin, *N*-Methylpiperidin, *N,N*-Diisopropylethylamin, Pyridin oder 4-*N,N*-Dimethylaminopyridin. Bevorzugt wird *N,N*-Diisopropylethylamin, verwendet, gegebenenfalls unter Zusatz von 4-*N,N*-Dimethylaminopyridin.

Die Umsetzungen (IX) → (III-A), (XIV) → (III-B) und (XVI) → (III-C) sowie (VI) + (XVII) → (III-D) und (XIX) + (XX) → (III-E) erfolgen in einem Temperaturbereich von 0°C bis +50°C, bevorzugt bei +10°C bis +30°C. Die Umsetzung kann bei normalem, bei erhöhtem oder bei erniedrigtem Druck erfolgen (z.B. von 0.5 bis 5 bar); im Allgemeinen arbeitet man bei Normaldruck.

Die Verbindungen der Formeln (II) bzw. (III) sind Untermengen der Verbindungen der Formeln (IIa) bzw. (IIIa) , wobei R^{35} für Methyl steht. Die Herstellung der Verbindungen (IIa) und (IIIa) erfolgt in Analogie zur Herstellung der Verbindung der Formeln (II) und (III) wie zuvor beschrieben.

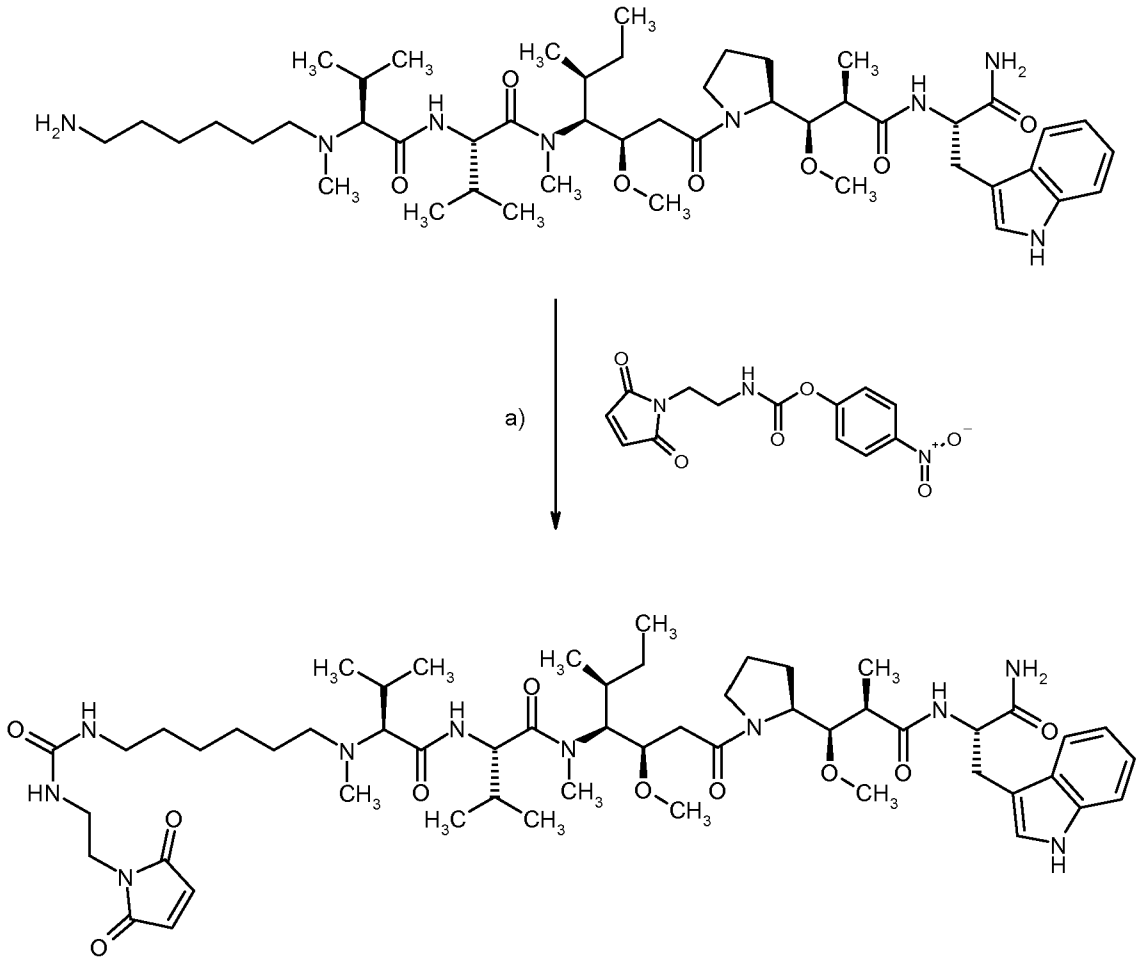
Die zuvor beschriebenen Verfahren werden durch die nachfolgenden Syntheseschemata (Schema 3 bis 13, 18) beispielhaft verdeutlicht:

Schema 3



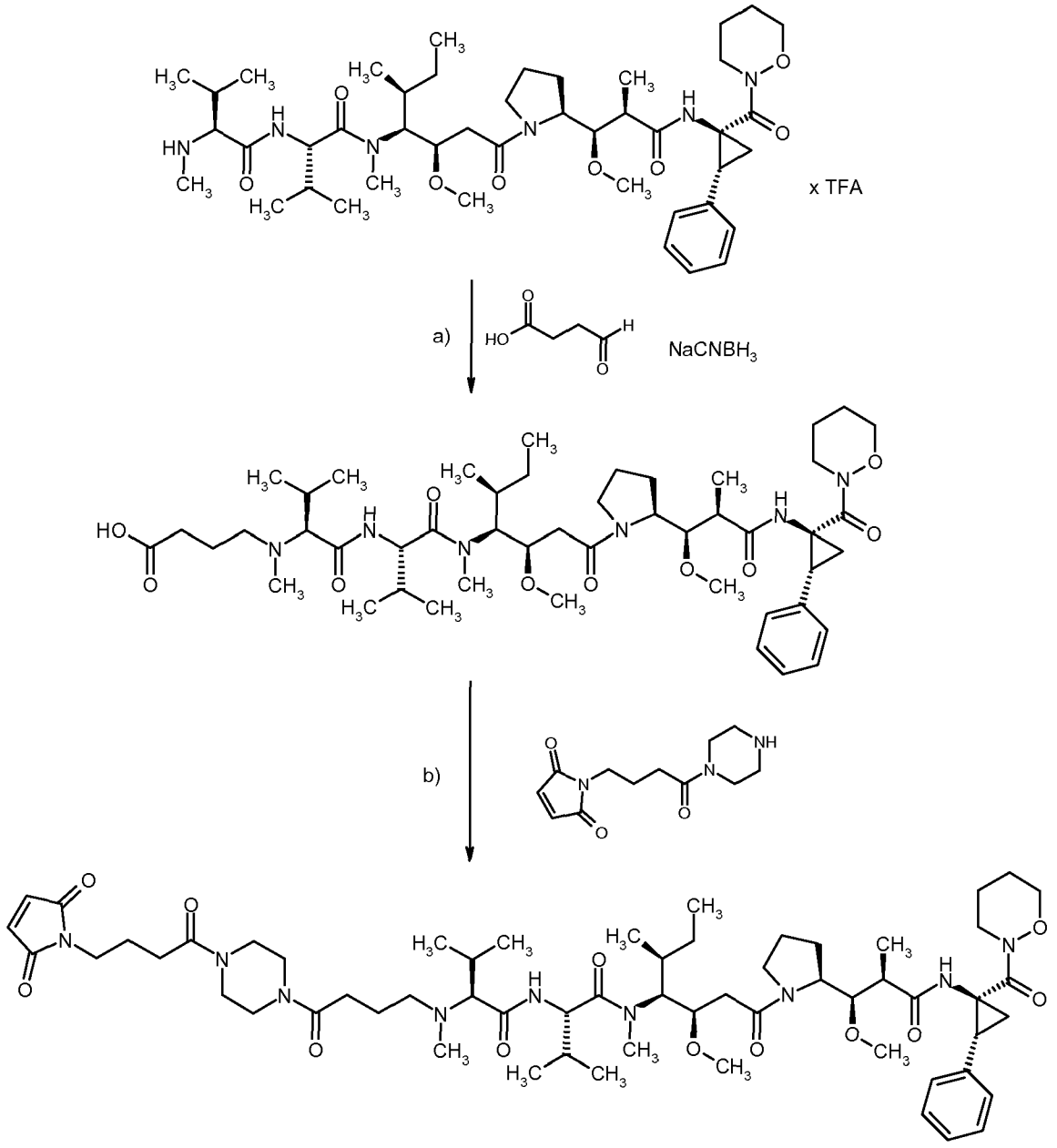
[a): 1. Wasser/Dioxan, 1N HCl, 100°C; 2. H_2, Pd/C, Methanol, RT; b): $NaHCO_3$, H_2O, Dioxan, RT].

Schema 4



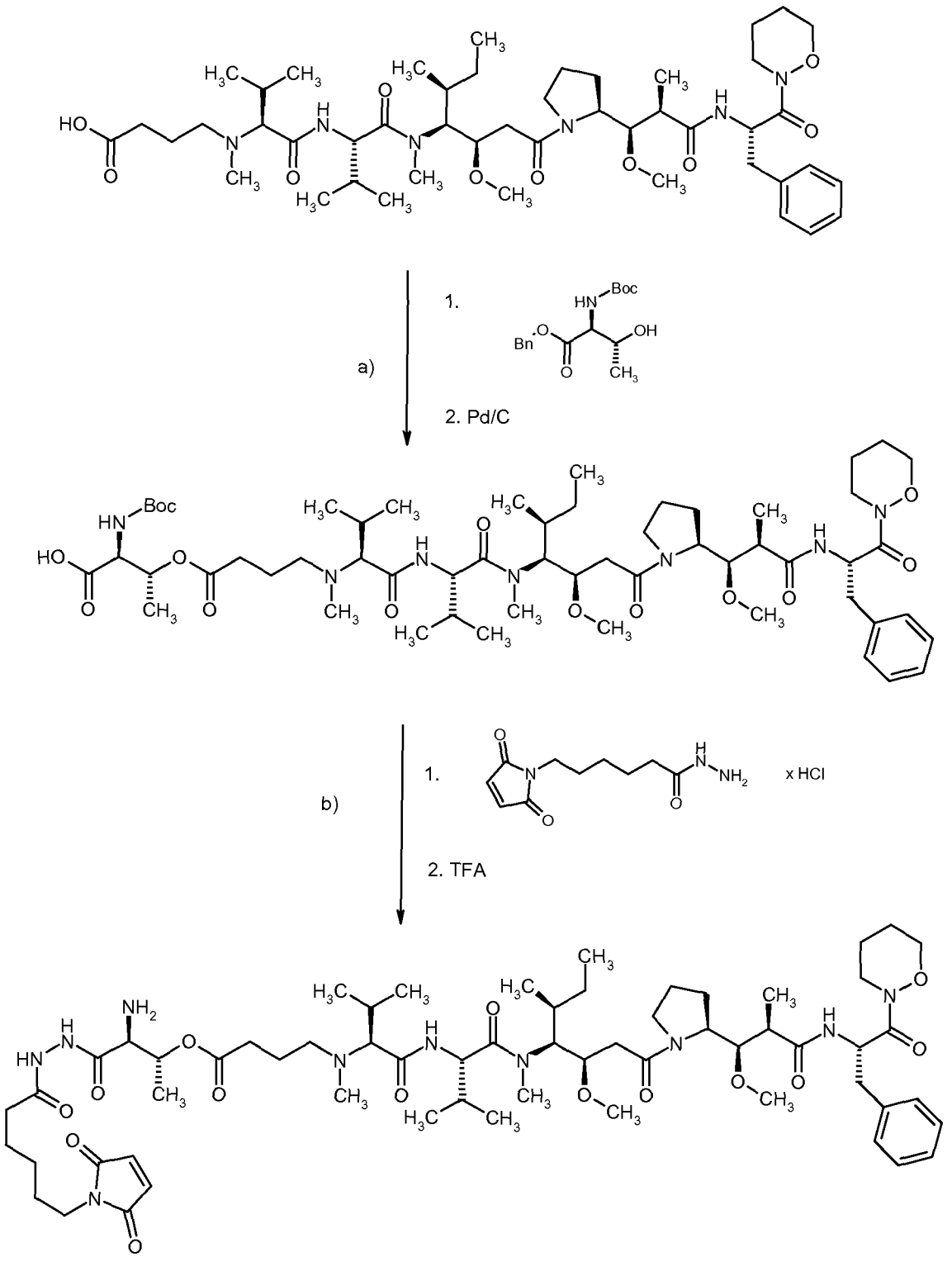
[a): Diisopropylethylamin, DMF, RT].

Schema 5



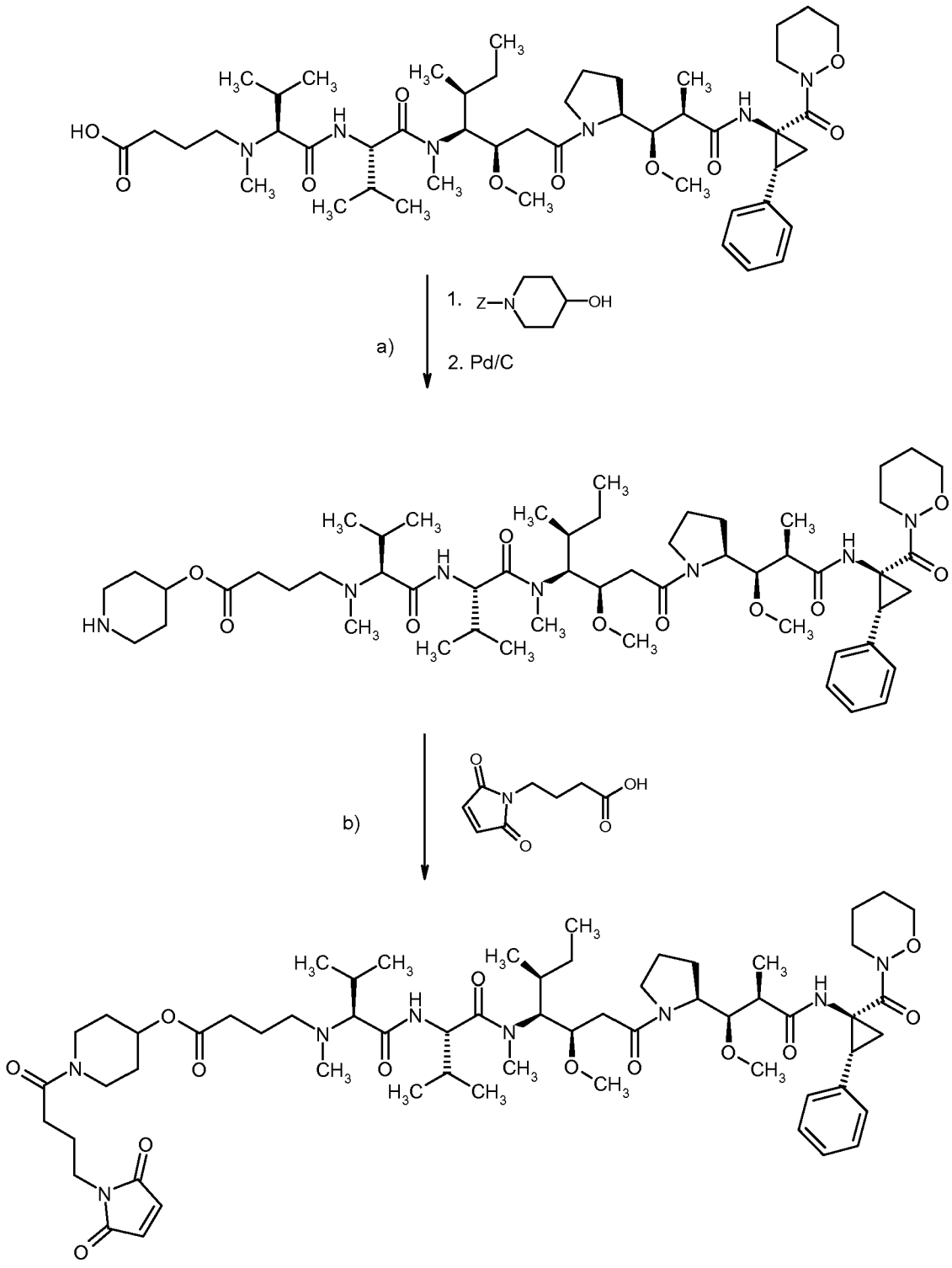
[a): Wasser/Dioxan, 1N HCl, 100°C; b): HATU, Diisopropylamin, DMF, RT].

Schema 6



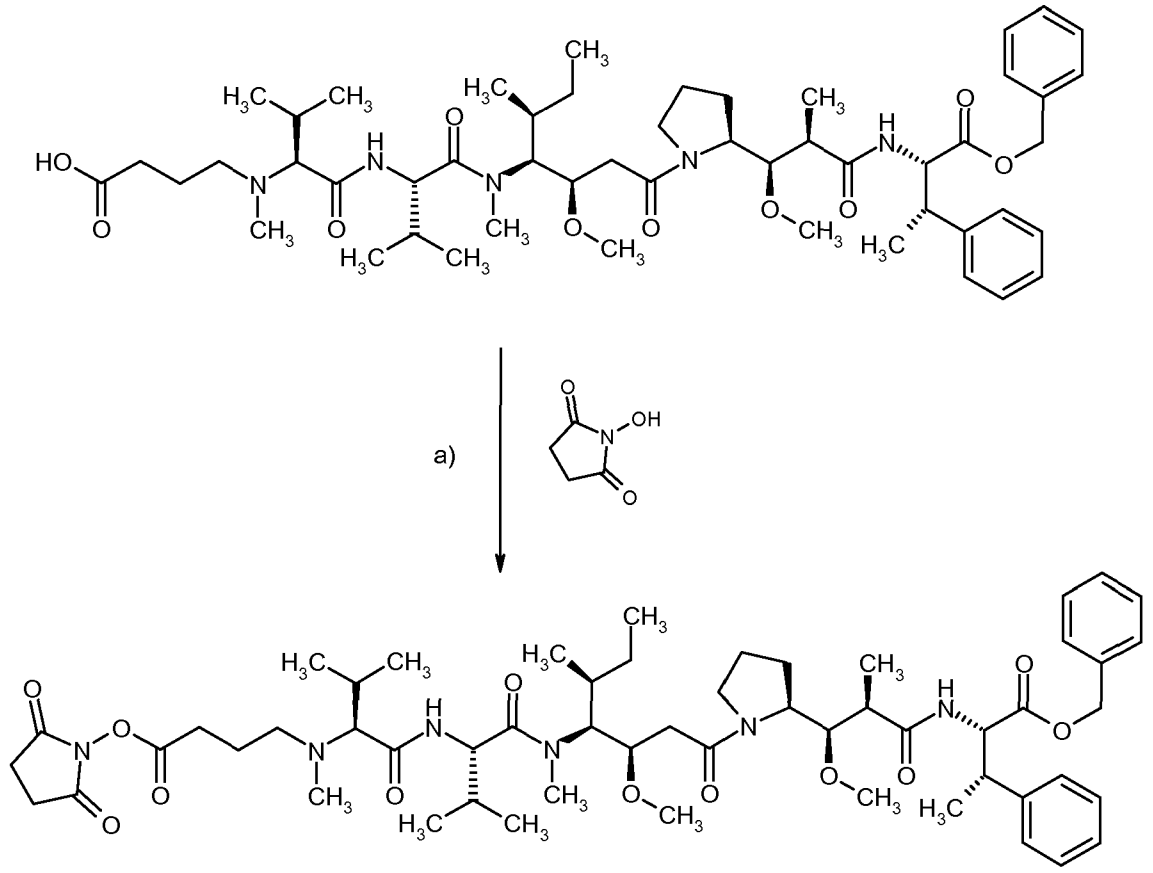
[a): 1. EDCI, DMAP, Dichlormethan, RT; 2. H_2, Methanol, RT ; b): 1. EDCI, HOBt, Diisopropyl-amin, DMF, RT; 2. Dichlormethan, RT].

Schema 7



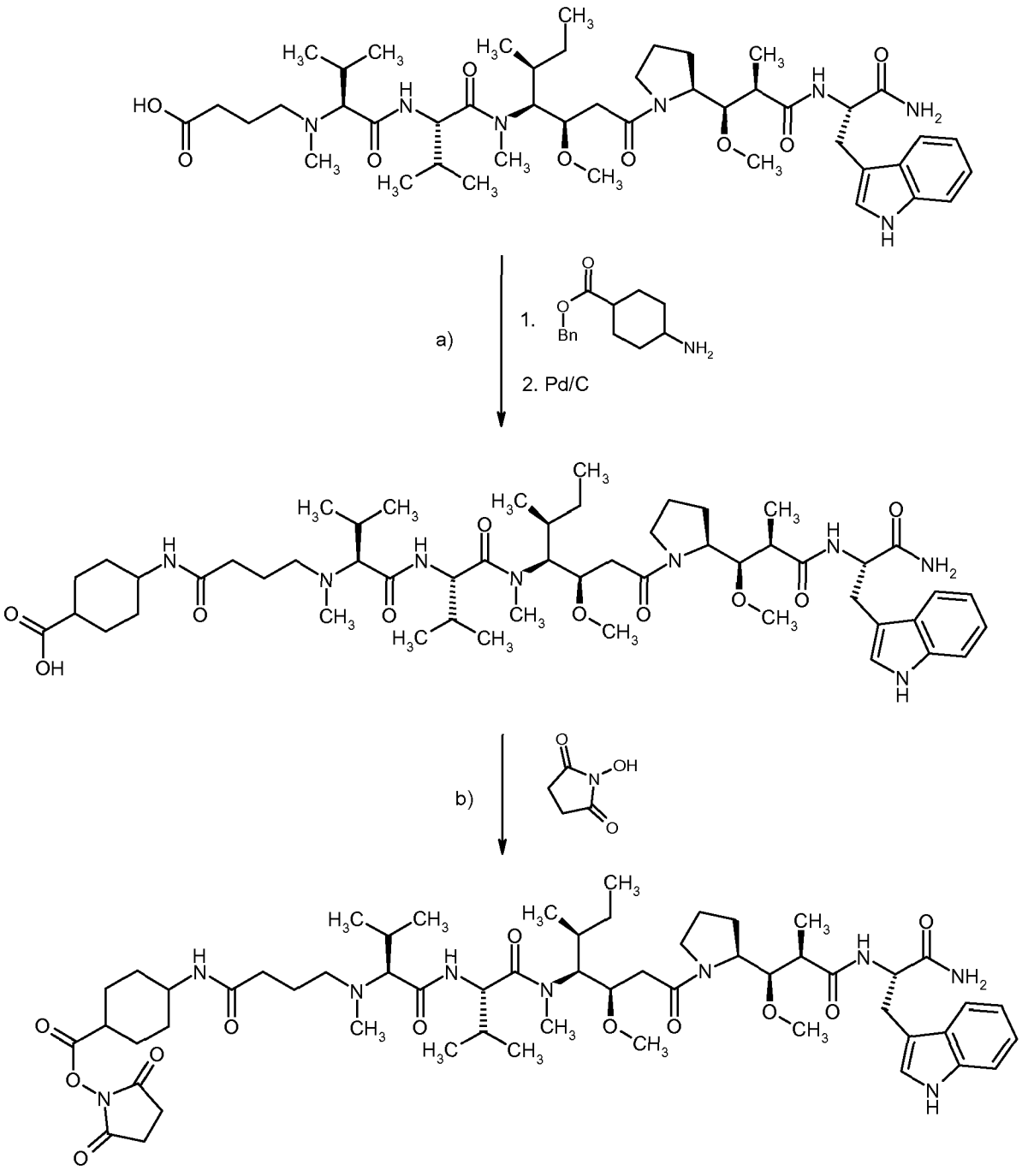
[a): 1. EDCI, DMAP, Dichlormethan, RT; 2. H_2, Methanol, RT ; b): HATU, Diisopropylamin, DMF, RT].

Schema 8



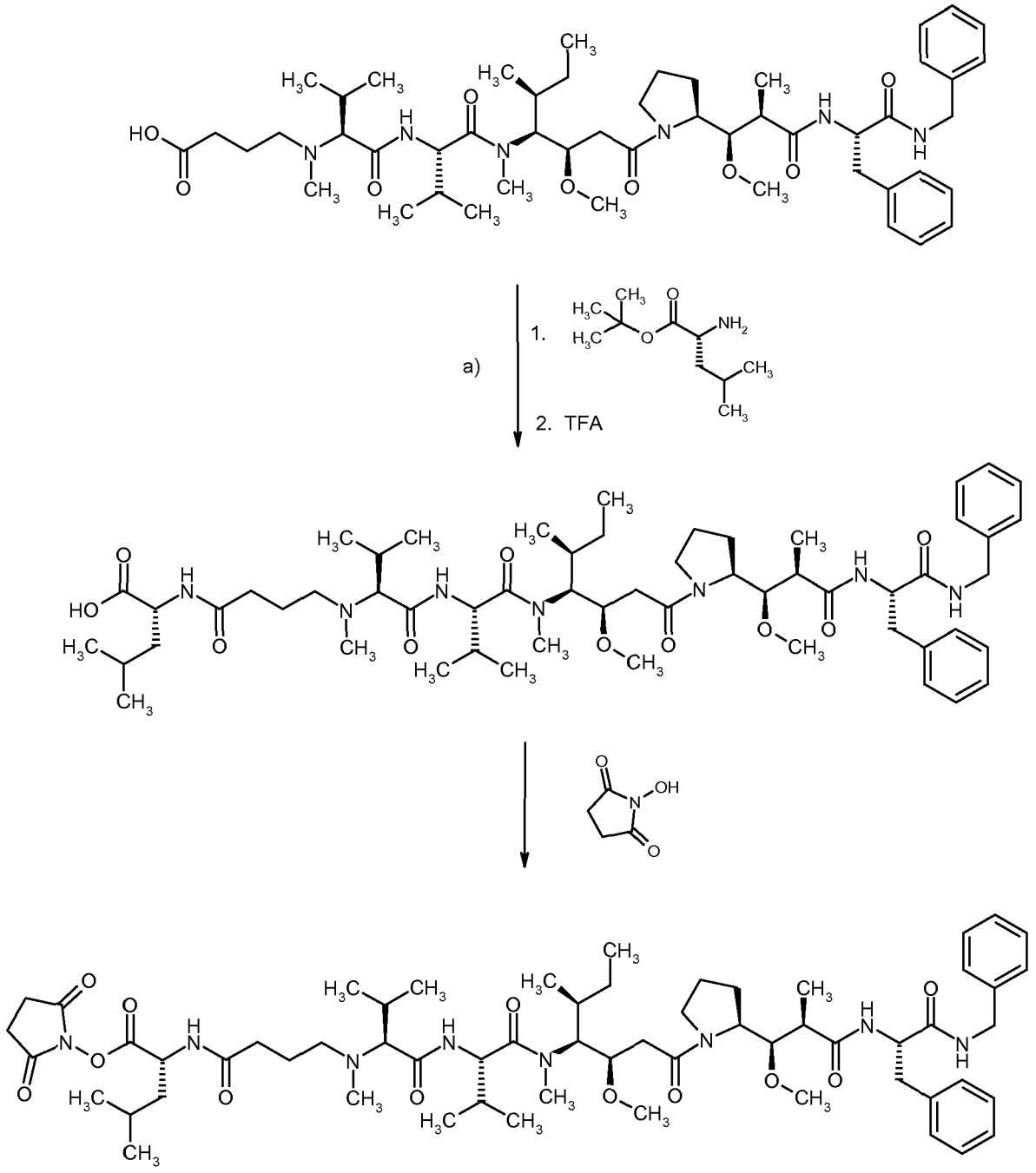
[a): EDCI, Dichlormethan, RT].

Schema 9



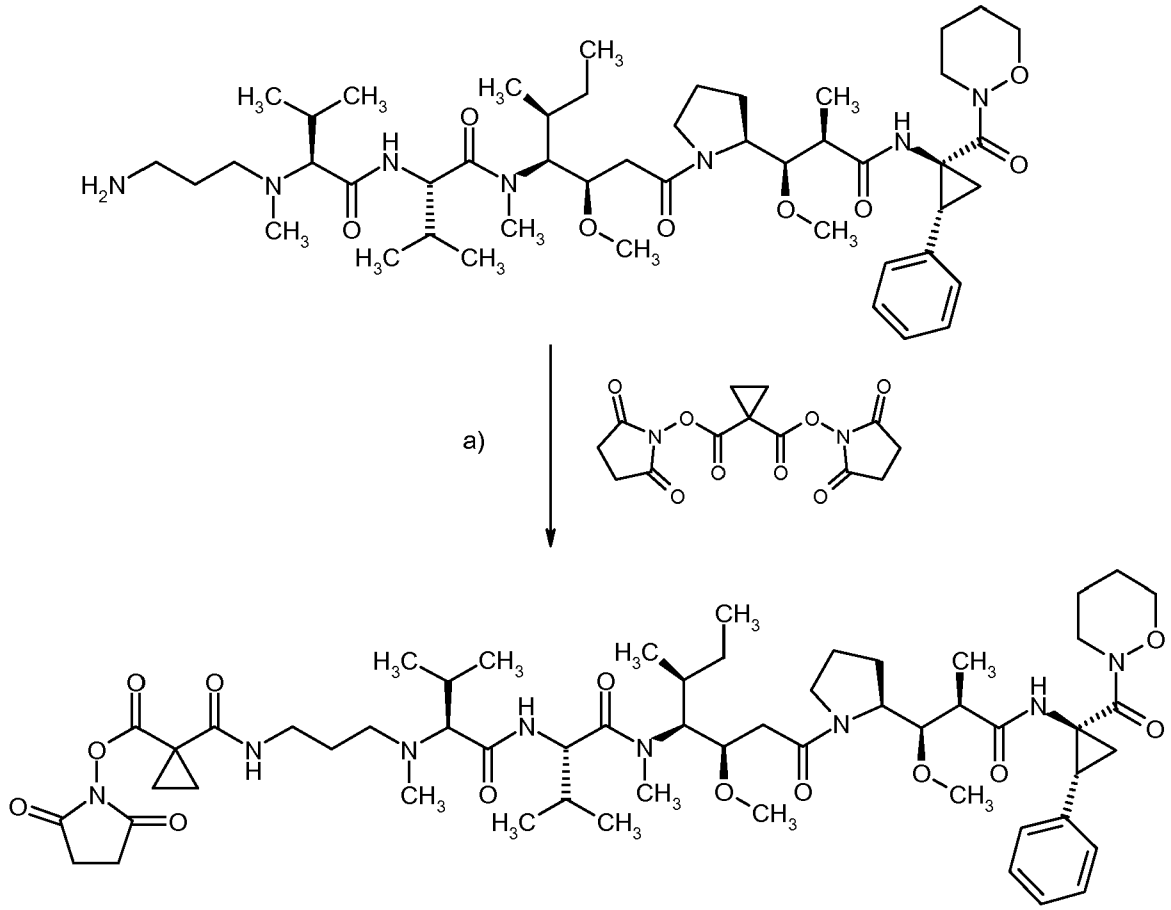
[a): HATU, Diisopropylethylamin, DMF, RT; 2. H_2, Methanol, RT; b): EDCI, DMAP, Dichlormethan, RT].

Schema 10



[a): 1. HATU, Diisopropylethylamin, DMF, RT; 2. Dichlormethan, RT; b): EDCI, DMAP, Dichlormethan, RT].

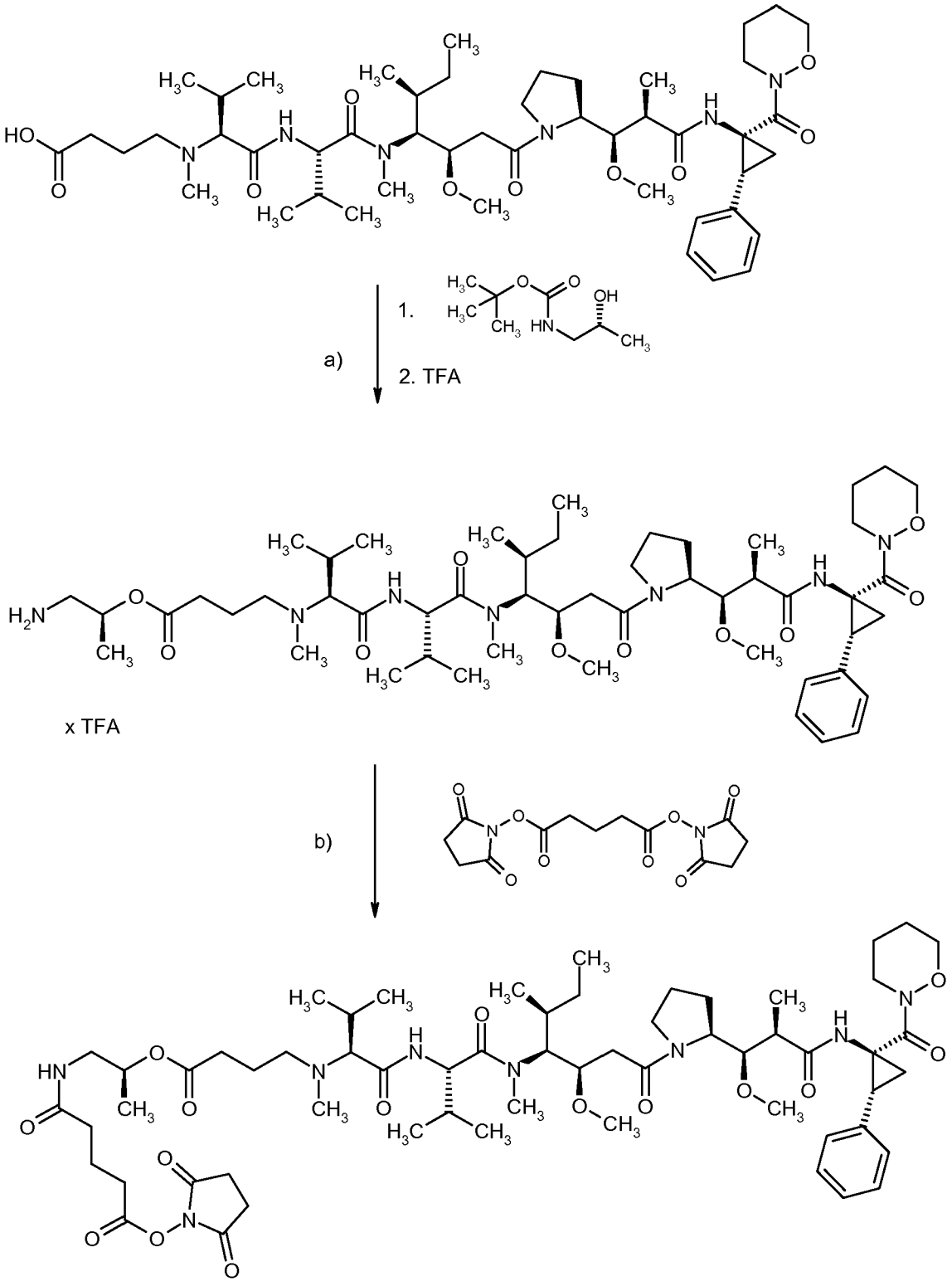
Schema 11



-

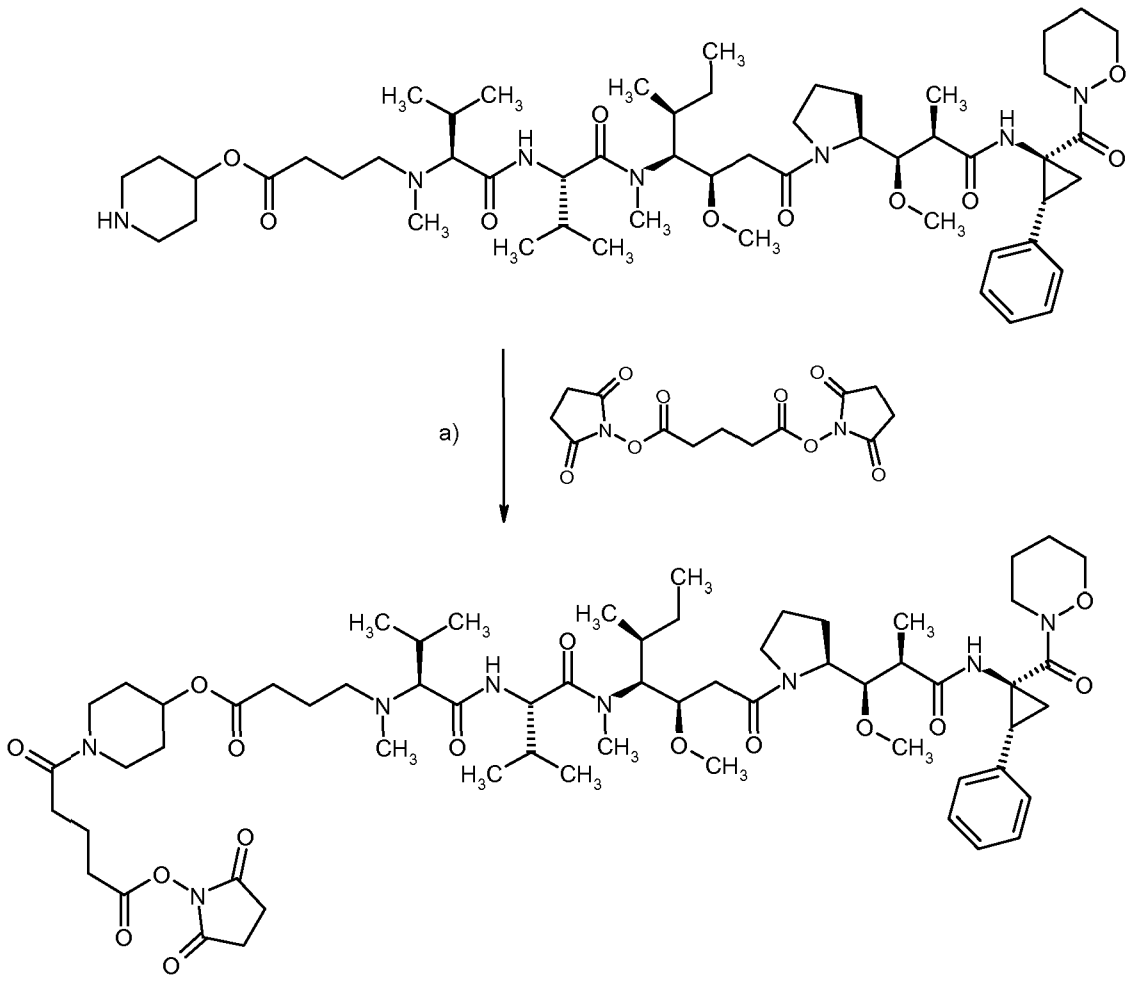
[a): Diisopropylethylamin, DMF, RT].

Schema 12



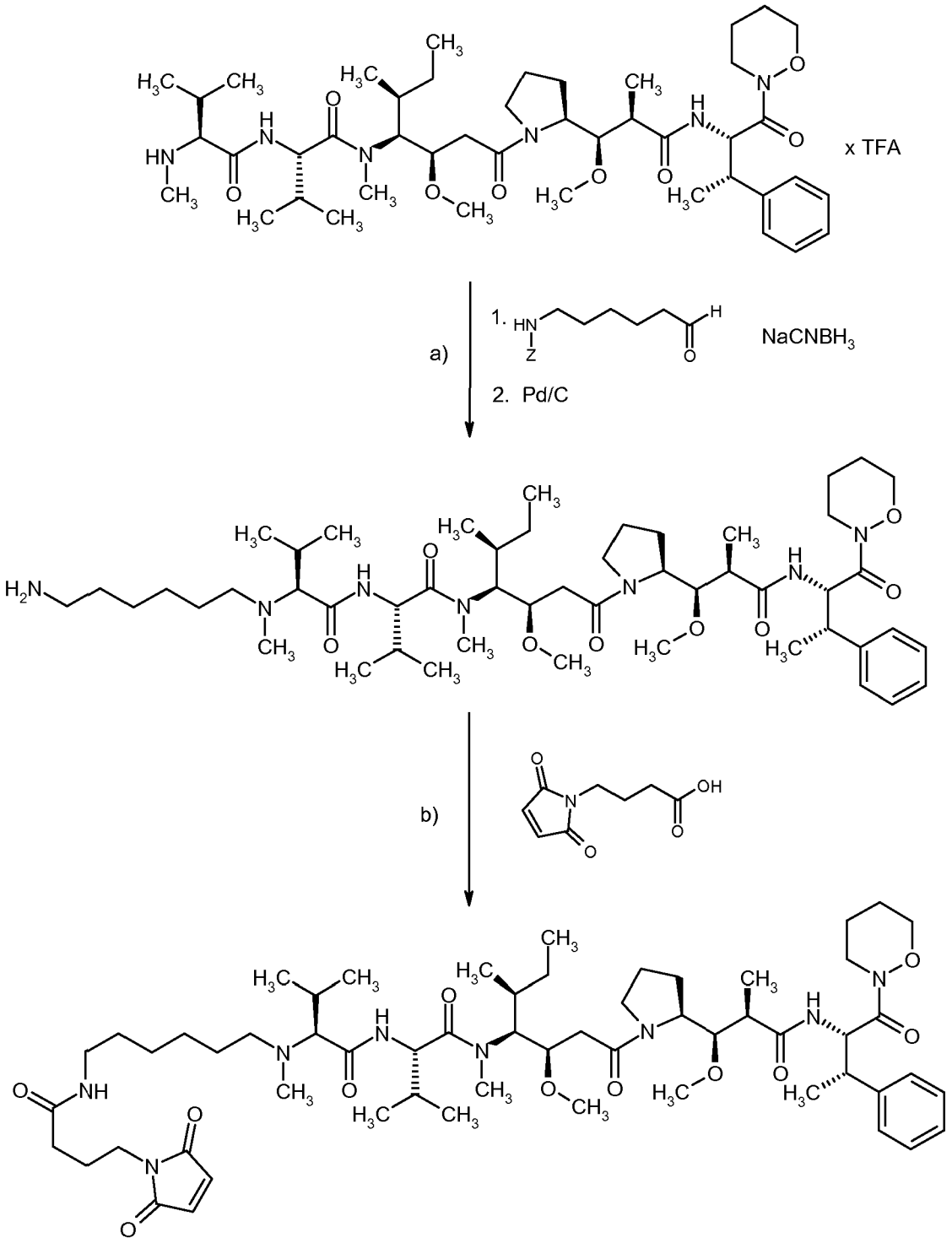
[a): 1. EDCI, DMAP, Dichlormethan, RT; 2. Dichlormethan, RT ; b): Diisopropylamin, DMAP, Dichlormethan, RT].

Schema 13



[a): DMAP, Diisopropylamin, Dichlormethan, RT].

Schema 18

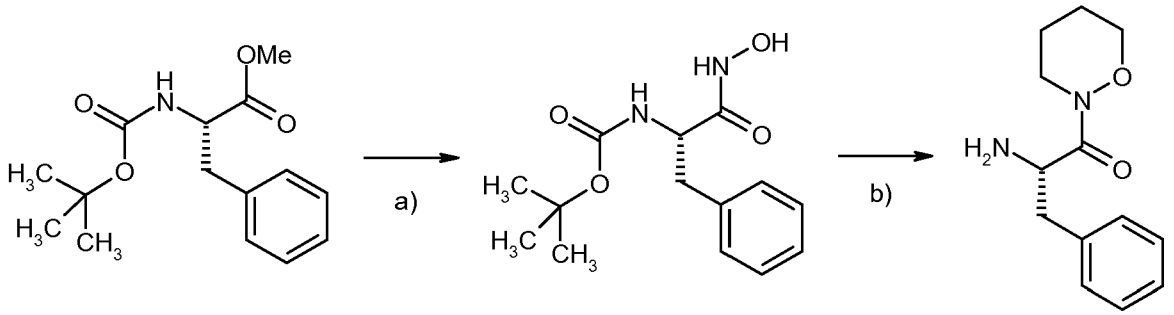


[a): 1. Wasser/Dioxan, 1N HCl, 100°C; 2. H_2, Pd/C, Methanol, RT; b): HATU, Diisopropylethylamin, RT].

Die Verbindungen der Formel (IV) können aus kommerziell erhältlichen oder literaturbekannten Aminosäure-Bausteinen (siehe z. B. Pettit *et al.*, *Synthesis* 1996, 719; Shioiri *et al.*, *Tetrahedron Lett.* 1991, *32*, 931; Shioiri *et al.*, *Tetrahedron* 1993, *49*, 1913; Koga *et al.*, *Tetrahedron Lett.*

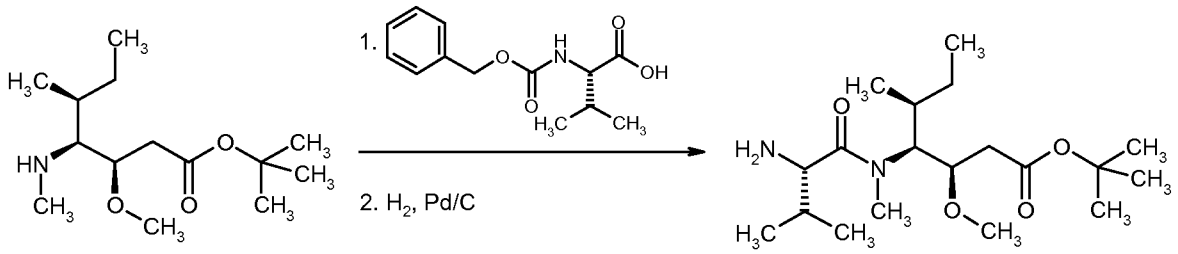
1991, *32*, 2395; Vidal *et al.*, *Tetrahedron* 2004, *60*, 9715; Poncet *et al.*, *Tetrahedron* 1994, *50*, 5345. Pettit *et al.*, *J. Org. Chem.* 1994, *59*, 1796) in Analogie zu literaturbekannten Verfahren nach üblichen Methoden der Peptidchemie, und wie im vorliegenden experimentellen Teil beschrieben, hergestellt werden. Die nachfolgenden Syntheseschemata (Schema 14 bis 16) verdeutlichen die Herstellung beispielhaft.

Schema 14



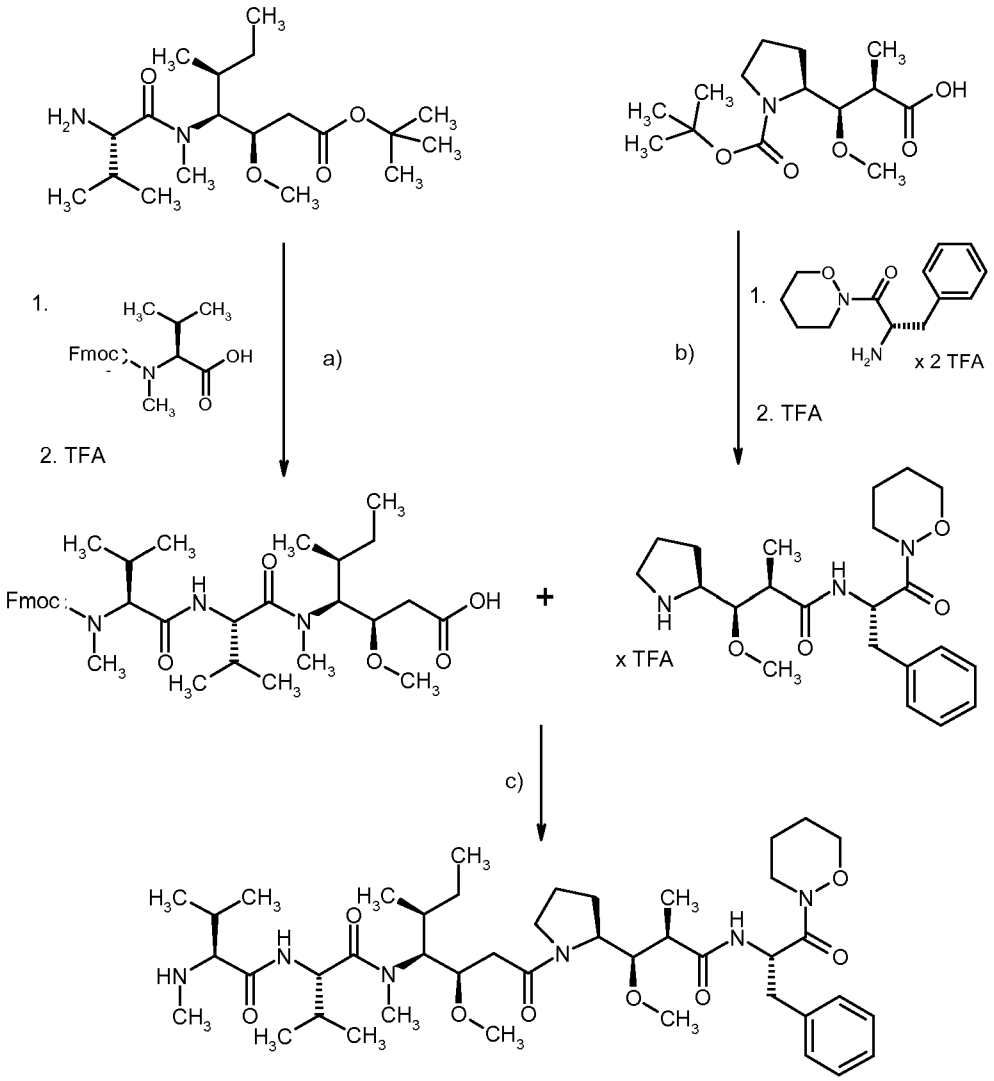
[a): Hydroxylamin-Hydrochlorid, KOH, MeOH, 0°C → RT; b): $BrCH_2(CH_2)_2CH_2Br$, K_2CO_3, Aceton, Rückfluß].

Schema 15



[a): 1. Diisopropylethylamin, BEP, Dichlormethan, -10°C → RT; 2. MeOH].

Schema 16



[a): 1. Diisopropylethylamin, BEP, DMF, RT; 2. Dichlormethan; b): 1. HATU, Diisopropylethylamin, DMF, RT; 2. Dichlormethan, RT; c): 1. HATU, Diisopropylethylamin, DMF, RT; 2. Piperidin, DMF, RT].

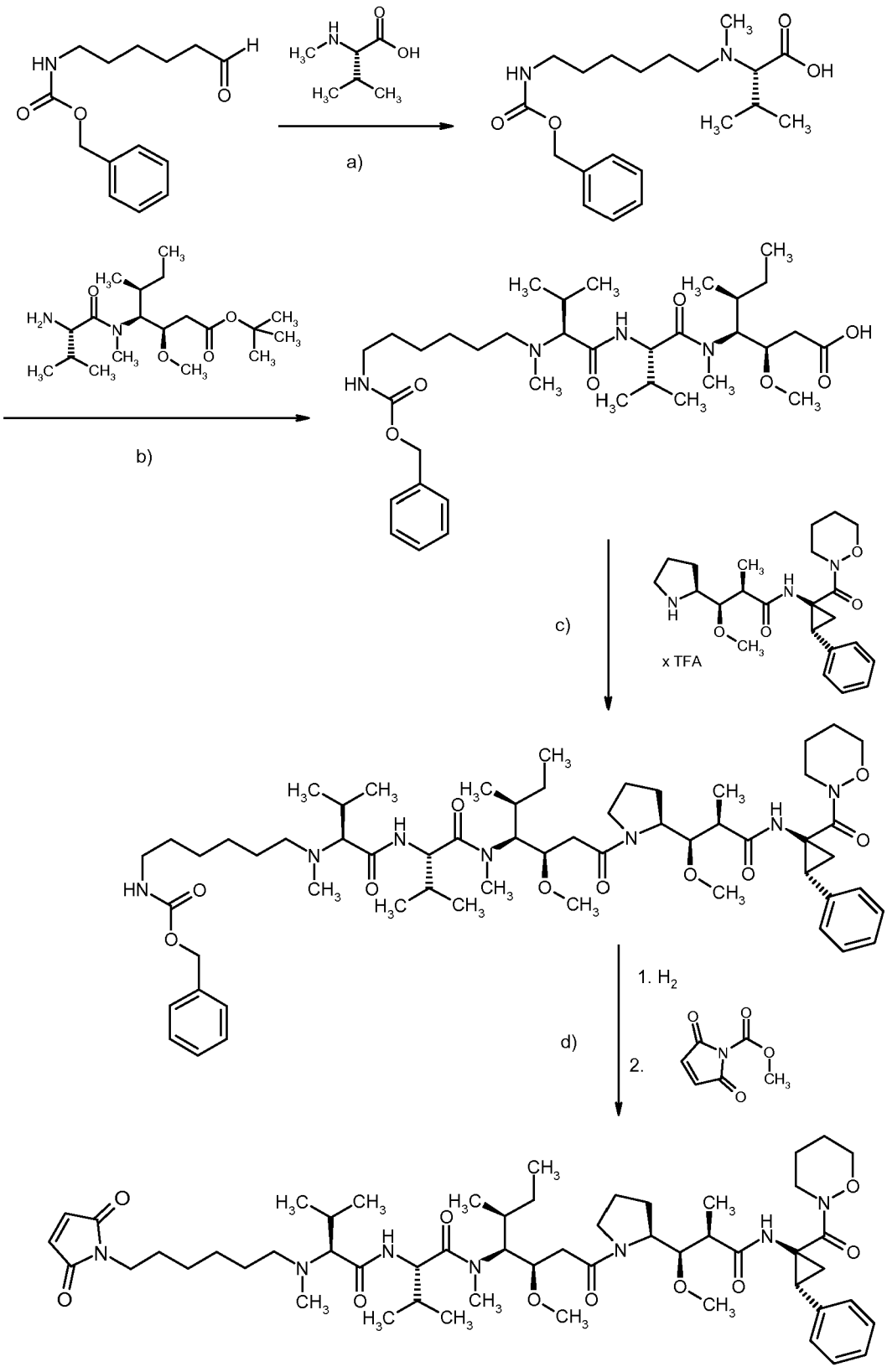
Die Verbindungen der Formeln (XI), (XIII), (XV), (XVII) und (XXI) einschließlich, wo zutreffend, chiraler oder diastereomerer Formen hiervon sind kommerziell erhältlich oder als solche in der Literatur beschrieben, oder sie können auf für den Fachmann offenkundigem Wege in Analogie zu in der Literatur publizierten Methoden hergestellt werden. Zahlreiche ausführliche Vorschriften sowie Literaturangaben zur Herstellung der Ausgangsmaterialien befinden sich auch im Experimentellen Teil im Abschnitt zur Herstellung der Ausgangsverbindungen und Intermediate.

Die Verbindungen der Formeln (V), (VII), (VIII), (X), (XVIII), (XX) und (XXIII) einschließlich, wo zutreffend, chiraler oder diastereomerer Formen hiervon sind literaturbekannt, oder sie können auf für den Fachmann offenkundigem Wege in Analogie zu in der Literatur publizierten Methoden

hergestellt werden. Zahlreiche ausführliche Vorschriften sowie Literaturangaben zur Herstellung der Ausgangsmaterialien befinden sich auch im Experimentellen Teil im Abschnitt zur Herstellung der Ausgangsverbindungen und Intermediate.

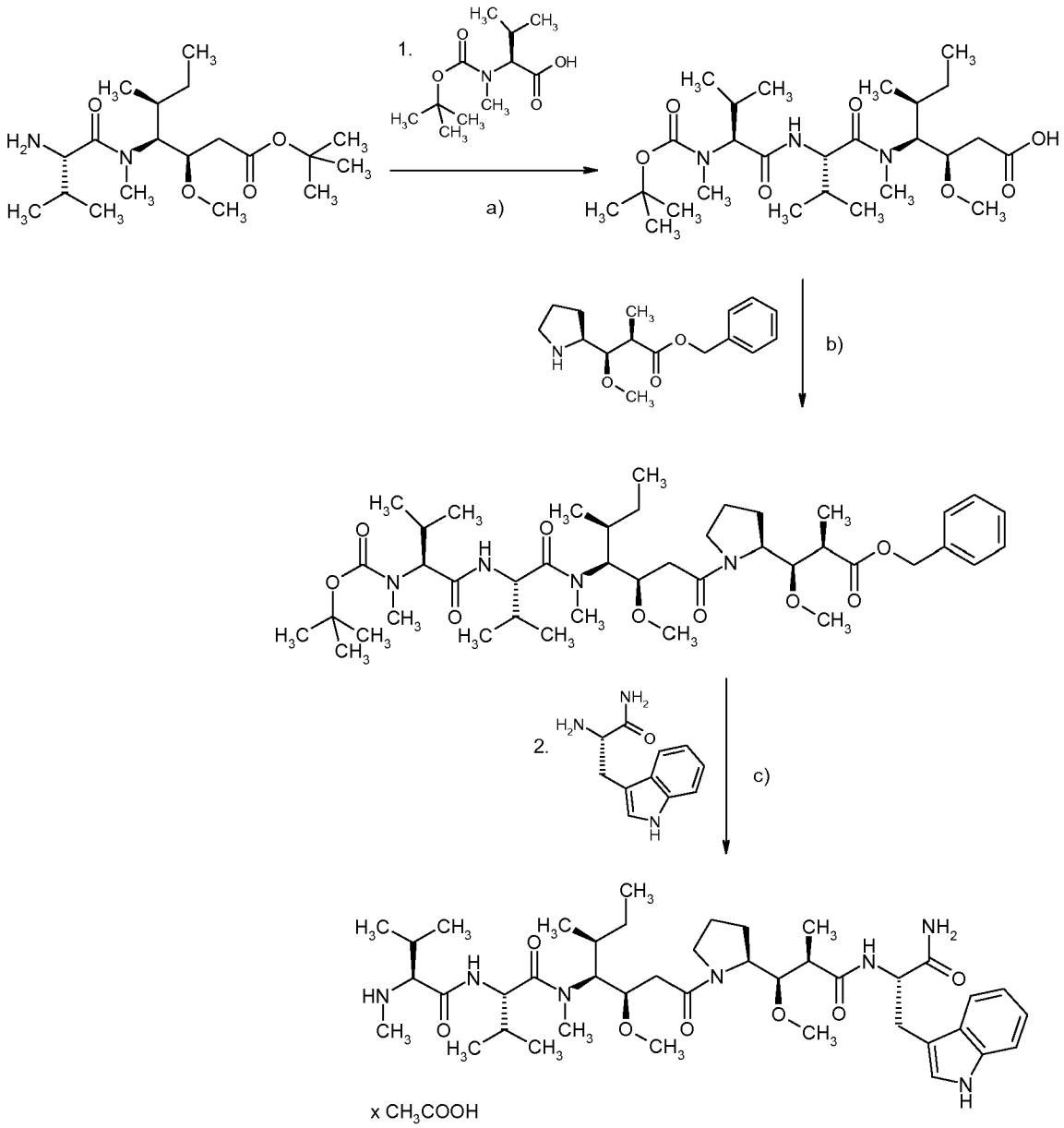
Alternativ können einzelne Schritte der Herstellungssequenz in anderer Reihenfolge oder mit anderen Schutzgruppenkombinationen durchgeführt werden. Dieses Vorgehen wird in den nachfolgenden Syntheseschemata (Schema 17, 19,20 und 21) beispielhaft verdeutlicht.

Schema 17



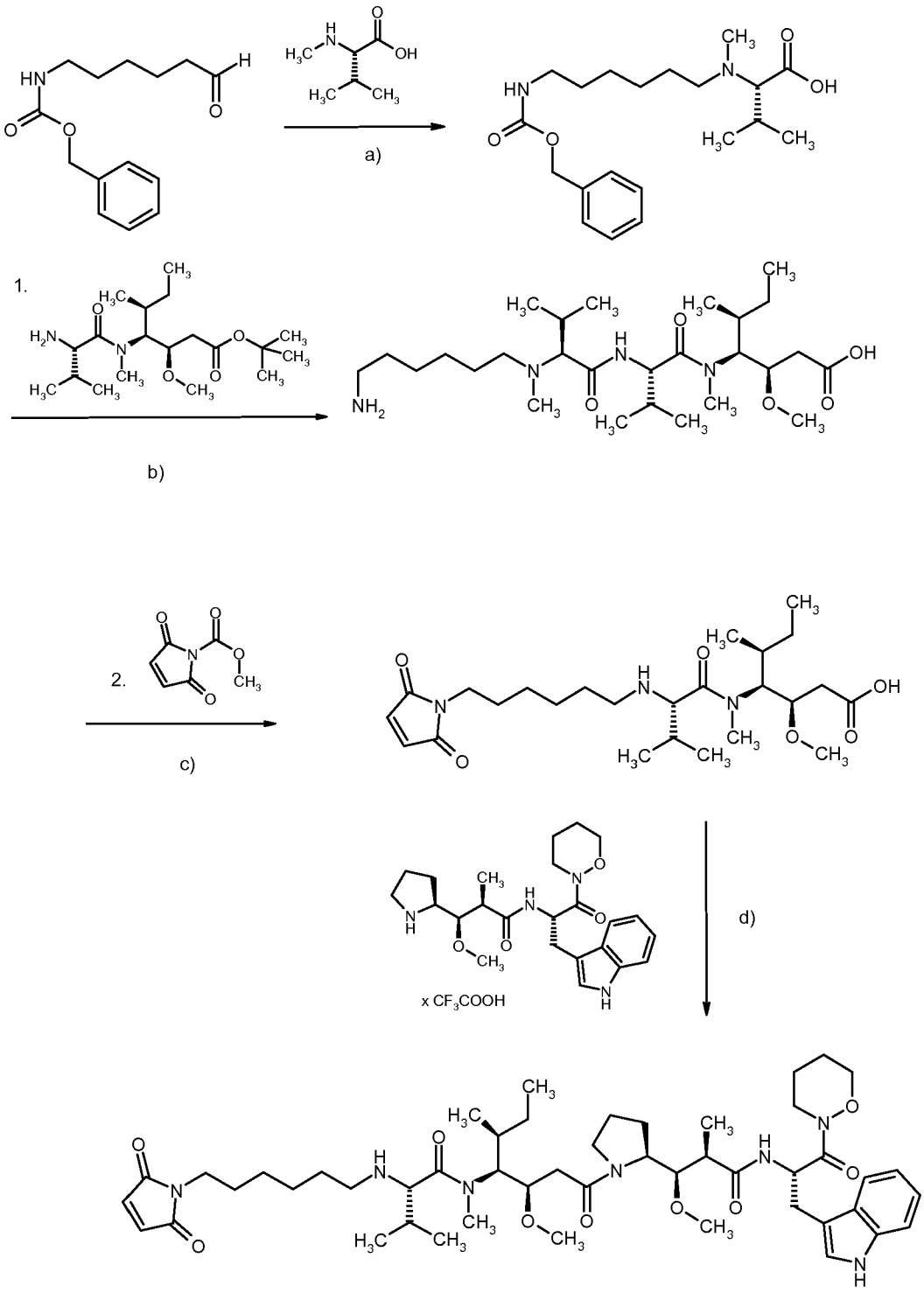
[a): Boran-Pyridin-Komplex, Essigsäure, MeOH; b): 1. HOBt, EDCI, Diisopropylethylamin, DMF, RT; 2. TFA, Dichlormethan, RT; c): HATU, Diisopropylethylamin, DMF, RT; d): 1. Pd/C, MeOH, RT; 2. $NaHCO_3$, Dioxan, Wasser].

Schema 19



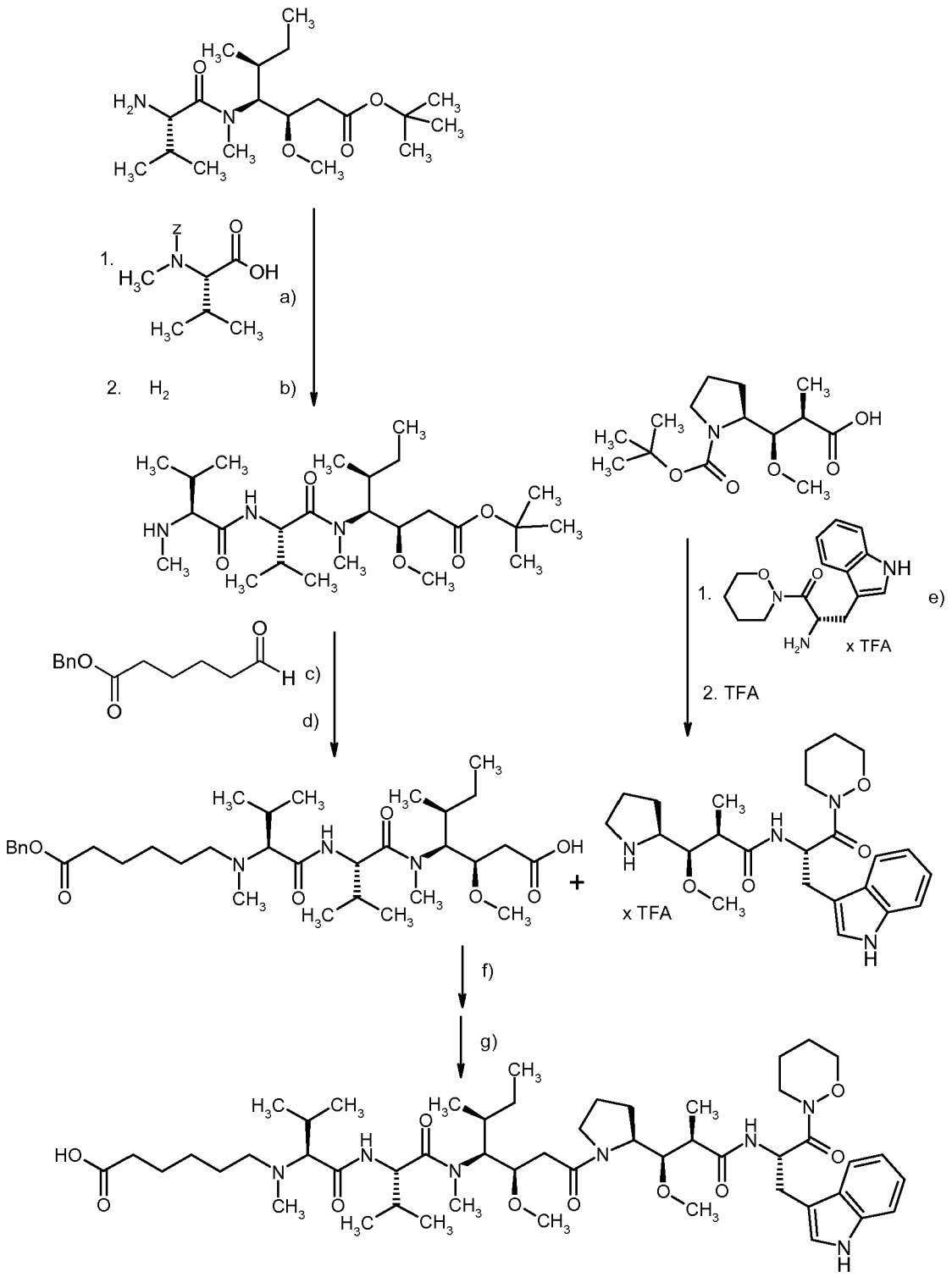
[a): 1. HATU, Diisopropylethylamin, DMF, RT; 2. TFA, Dichlormethan, RT ; 3. $((H_3C)_3C(C=O))_2O$, DMF, Diisopropylethylamin; b): Diisopropylethylamin, BEP, DMF, RT; c): 1. H_2, Pd/C (10%). Methanol, RT ; 2. HATU, Diisopropylethylamin, DMF, RT; 3. TFA, Dichlormethan, RT].

Schema 20



[a): Boran-Pyridin-Komplex, Essigsäure, MeOH; b): 1. HOBt, EDCI, Diisopropylethylamin, DMF, RT; 2. TFA, Dichlormethan, RT; 3. H_2, Pd/C, MeOH, RT c): 1. $NaHCO_3$, Dioxan, Wasser; d): HATU, Diisopropylethylamin, DMF, RT].

Schema 21



[a): 1. HOBt, EDCI, Diisopropylethylamin, DMF, RT; b) H_2, Pd/C, MeOH, RT c) Boran-Pyridin-Komplex, Essigsäure, MeOH; d) TFA, Dichlormethan, RT, e): HATU, Diisopropylethylamin, DMF, RT; f): HATU, Diisopropylethylamin, DMF, RT; g) H_2, Pd/C, MeOH, RT].

Das FGFR2 Krebs-Zielmolekül des Binders der vorliegenden Erfindung ist dem Fachmann bekannt. Der Volllängen-FGFR2 wird als FGFR2 alpha (SEQ ID NO:1) bezeichnet, während die Isoform, der die Domäne D1 fehlt, als FGFR2 beta bezeichnet wird (SEQ ID NO:2) (siehe Abbildung 1) Eine alternative Spleißung in Domäne 3 führt zu zwei unterschiedlichen Varianten, nämlich FGFR2 IIIb, der durch die Exons 7 und 8 kodiert wird, und FGFR2 IIIc, der durch die Exons 7 und 9 kodiert wird (siehe Abbildung 1).

In einer Ausführungsform der Erfindung bindet der Binder, bevorzugt spezifisch, an FGFR2. In einem weiteren Gegenstand der Erfindung bindet der Binder, bevorzugt spezifisch, an die extrazelluläre Domäne des Zielmoleküls FGFR2 (siehe Abbildung 1).

In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung bindet der Binder, bevorzugt spezifisch, an eine oder mehrere Formen des humanen FGFR2 Polypeptids. In einem weiteren Gegenstand der Erfindung bindet der Binder, bevorzugt spezifisch, an alle Isoformen und Splicevarianten von FGFR2. Im Folgenden schließt der Begriff verschiedene „Formen" von FGFR2, verschiedene Isoformen, verschiedene Spleissvarianten, verschiedene Glykoformen oder FGFR2 Polypeptide, die verschiedene translationale und posttranslationale Modifikationen unterlaufen, ein, ist jedoch nicht darauf begrenzt.

In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung bindet der Binder, bevorzugt spezifisch an die N-terminale Domäne des Krebs-Zielmoleküls FGFR2. In einem weiteren Gegenstand der Erfindung bindet der Binder, bevorzugt spezifisch, an das extrazelluläre N-terminale Epitop (^{1}RPSFSLVEDTTLEPE^{15}) von FGFR2 (SEQ ID NO:23).

In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung bindet der Binder, bevorzugt spezifisch, auch an die FGFR2 anderer Spezien. Dies bewirkt, daß die erfindungsgemäßen Konjugate pharmakologisch einfacher auch in diesen Spezien untersucht werden können. Bevorzugte Spezien sind Nager, insbesondere Mäuse oder Ratten, aber auch Hunde, Schweine und nicht-humane Primaten.

In einer bevorzugten Ausführungsform wird der Binder nach Bindung an FGFR2 auf der Zielzelle durch die Bindung von der Zielzelle internalisiert. Dies bewirkt, dass das Binder-Wirkstoffkonjugat, welches ein Immunokonjugat oder ein ADC sein kann, von der Zielzelle aufgenommen wird.

In einer Ausführungsform ist der Binder ein Bindeprotein. In einer bevorzugten Ausführungsform ist der Binder ein Antikörper, ein antigen-bindendes Antikörperfragment, ein multispezifischer Antikörper oder ein Antikörpermimetikum.

Bevorzugte Antikörpermimetika sind Affibodies, Adnectins, Anticalins, DARPins, Avimers, oder Nanobodies. Bevorzugte multispezifischer Antikörper sind bispezifische und trispezifische Antikörper.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist der Binder ein Antikörper oder ein antigen-bindendes Antikörperfragment, weiter bevorzugt ist ein isolierter Antikörper oder ein isoliertes antigen-bindendes Antikörperfragment.

Bevorzugte antigen-bindende Antikörperfragmente sind Fab, Fab', $F(ab')_2$ und Fv Fragmente, Diabodies, DAbs, lineare Antikörper und scFv. Besonders bevorzugt sind Fab, Diabodies und scFv.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist der Binder ein Antikörper. Besonders bevorzugt sind monoklonale Antikörper oder antigen-bindende Antikörperfragmente davon. Weiter besonders bevorzugt sind humane, humanisierte oder chimäre Antikörper oder antigen-bindende Antikörperfragmente davon.

In einer bevorzugten Ausführungsform umfasst der Antikörper oder das antigen-bindende Fragment die Aminosäuresequenz der CDR Sequenzen der variablen leichten und schweren Kette des Antikörpers M048-D01-hIgG1.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform umfasst der Antikörper oder das antigen-bindende Fragment die Aminosäuresequenz der CDR Sequenzen der variablen leichten und schweren Kette des Antikörpers Antikörper M048-D01-hIgG1 wiedergegeben in SEQ ID NO:15 (H-CDR1), SEQ ID NO:16 (H-CDR2), SEQ ID NO:17 (H-CDR3), SEQ ID NO:18 (L-CDR1), SEQ ID NO:19 (L-CDR2) und SEQ ID NO:20 (L-CDR3).

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform umfasst der Antikörper oder das antigen-bindende Fragment die Aminosäuresequenz der variablen leichten und schweren Ketten des Antikörpers M048-D01-hIgG1 oder M048-D01-hIgG1-b.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform umfasst der Antikörper oder das antigen-bindende Fragment die Aminosäuresequenz der variablen leichten und schweren Ketten des Antikörpers M048-D01-hIgG1, wiedergegeben in SEQ ID NO:12 (Vl) und SEQ ID NO:11 (Vh), oder der variablen leichten und schweren Ketten des Antikörpers M048-D01-hIgG1-b, wiedergegeben in in SEQ ID NO:14 (Vl) und SEQ ID NO:13 (Vh).

In einer weiteren besonders bevorzugten Ausführungsform umfasst der Antikörper oder das antigen-bindende Fragment die Aminosäuresequenz der variablen leichten und schweren Kette des Antikörpers M048-D01- hIgG1-b wiedergegeben in SEQ ID NO: 14 (Vl) und SEQ ID NO:13 (Vh).

In einer weiteren besonders bevorzugten Ausführungsform umfasst der Antikörper die Aminosäuresequenz der leichten und schweren Kette des Antikörpers M048-D01-hIgG1-b wiedergegeben in SEQ ID NO: 9 (leichte Kette) und SEQ ID NO:10 (schwere Kette).

In einer weiteren besonders bevorzugten Ausführungsform umfasst der Antikörpers die Amniosäuresequenz der leichten und schweren Kette des Antikörpers M048-D01-hIgG1 wiedergegeben in SEQ ID NO: 7 (leichte Kette) und SEQ ID NO:8 (schwere Kette).

Beispiele weiterer FGFR2-Antikörper sind die in dieser Erfindung beschriebenen Antikörper GAL-FR21-mIgG1 (SEQ ID NO:3 und SEQ ID NO:4) und GAL-FR22-mIgG2a (SEQ ID NO:5 und SEQ ID NO:6). Die beiden letztgenannten wurden auf Basis von WO2010/054265 aus den dort beschrieben variablen Regionen der leichten (Vl) und schweren Ketten (Vh) der Antikörper GAL-FR21 (SEQ ID NO:1 und SEQ ID NO:4 von WO2010/054265) und GAL-FR22 (SEQ ID NO:7 und SEQ ID NO:8 von WO2010/054265) konstruiert, wobei die variablen Regionen von GAL-FR21 in ein mIgG1-Format reformatiert wurden, während die variablen Regionen von GAL-FR22 in ein mIgG2a-Format reformatiert wurden.

Antikörper oder antigen-bindende Antikörperfragmente, die Krebs-Zielmoleküle binden, können vom Durchschnittsfachmann mit bekannten Verfahren hergestellt werden, wie z.B. chemische Synthese oder rekombinante Expression. Binder für Krebs-Zielmoleküle können kommerziell erworben werden oder können durch den Durchschnittsfachmann mit bekannten Verfahren hergestellt werden, wie z.B. chemische Synthese oder rekombinante Expression. Weitere Verfahren zur Herstellung von Antikörpern oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten sind in WO2007070538 beschrieben (siehe Seite 22 „Antibodies“). Der Fachmann kennt Verfahren wie sogenannte Phage-Display Bibliotheken (z.B. Morphosys HuCAL Gold) erstellt und zur Auffindung von Antikörpern oder antigen-bindenden Antikörperfragmenten verwendet werden können (siehe WO2007070538, Seite 24 ff und Beispiel 1 auf Seite 70, Beispiel 2 auf Seite 72). Weitere Verfahren zur Herstellung von Antikörpern, die DNA Bibliotheken aus B-Zellen verwenden, sind zum Beispiel auf Seite 26 (WO2007070538) beschrieben. Verfahren zur Humanisierung von Antikörpern sind auf Seite 30-32 von WO2007070538 und im Detail in Queen, et al.,.Pros. Natl. Acad. Sci. USA 86:10029-10033,1989 oder in WO90/0786 beschrieben. Des Weiteren sind dem Fachmann Verfahren zur rekombinanten Expression von Proteinen im allgemeinen und im speziellen von Antikörpern bekannt (siehe z.B. in Berger and Kimrnel (Guide to Molecular Cloning Techniques, Methods in Enzymology, Vo1. 152, Academic Press, Inc.); Sambrook, et al., (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Cold Spring Harbor, N.Y.; 1989) Vol. 1-3); Current Protocols in Molecular Biolony, (F. M. Ausabel et al. [Eds.], Current Protocols, Green Publishing Associates, Inc. / John Wiley & Sons, Inc.); Harlow et al., (MonocIonal

Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press (19881, Paul [Ed.]); Fundamental Immunology, (Lippincott Williams & Wilkins (1998)); and Harlow, et al., (Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1998)). Der Fachmann kennt die entsprechenden Vektoren, Promotoren und Signalpeptide, die zur Expression eines Proteins/Antikörpers notwendig sind. Gebräuchliche Verfahren sind auch in WO2007070538 auf den Seiten 41 – 45 beschrieben. Verfahren zur Herstellung eines IgG1-Antikörpers sind z.B. in WO2007070538 in Beispiel 6 auf Seite 74 ff beschrieben. Verfahren, mit denen die Internalisierung eines Antikörpers nach Bindung an sein Antigen bestimmt werden kann, sind dem Fachmann bekannt und sind z.B. in WO2007070538 auf Seite 80 beschrieben. Der Fachmann kann die in WO2007070538 beschriebenen Verfahren, die zur Herstellung von Carboanhydrase IX (Mn)-Antikörpern verwendet wurden, analog zur Herstellung für Antikörper mit anderer Zielmolekülspezifität verwenden.

Weitere Beispiele für FGFR2-Binder sind die in WO2007144893 beschriebenen single chain Fv Antikörperfragmente PRO-007 (bindet FGFR2 mit hoher Affinität) und PRO-001 (bindet FGFR3 mit hoher Affinität und FGFR2 mit niedriger Affinität).

Die erfindungsgemäßen Verbindungen besitzen wertvolle pharmakologische Eigenschaften und können zur Vorbeugung und Behandlung von Erkrankungen bei Menschen und Tieren verwendet werden.

Die erfindungsgemäßen Binder-Wirkstoff-Konjugate (ADCs) der Formel (Ia) weisen eine hohe und spezifische cytotoxische Aktivität gegenüber Tumorzellen auf, welche anhand der im vorliegenden experimentellen Teil (Teil C.) aufgeführten Assays gezeigt werden kann. Diese hohe und spezifische cytotoxische Aktivität der erfindungsgemäßen Binder-Wirkstoff-Konjugate (ADCs) der Formel (Ia) wird durch die geeignete Kombination vom neuen N,N-Dialkylauristatin-Derivaten und Binder mit Linkern, welche sowohl eine enzymatisch, hydrolytisch oder reduktiv spaltbare Soll-Bruchstelle zur Freisetzung der Toxophore als auch keine solche Soll-Bruchstelle aufweisen, erreicht. Insbesondere durch Verwendung von stabilen Linkern, welche keine enzymatisch, hydrolytisch oder reduktiv spaltbare Soll-Bruchstelle zur Freisetzung der Toxophore aufweisen, und die nach Aufnahme des ADCs in die Tumorzelle und nach komplettem intrazellulären, enzymatischen Abbau des Antikörpers noch ganz oder teilweise intakt bleiben, wird die Wirkung sehr spezifisch auf die Tumorzelle eingegrenzt. Die Kompatibilität von ADCs mit stabilen Linkern setzt unter anderem voraus, dass die intrazellulär gebildeten Metabolite ausreichend effizient entstehen, ihr Target erreichen und dort ihre anti-proliferative Wirkung am Target in ausreichender Potenz entfalten können, ohne dass sie zuvor von Transporterproteinen wieder aus der Tumorzelle ausgeschleust werden. Eine solche Kompatibilität der ADCs mit einer stabilen Linkerchemie und dem betreffenden

Target bietet ein vergrößertes therapeutisches Fenster, (siehe z.B. L. Ducry, Bioconjugate Chem. 2010, 21-5; A.G. Polson, Cancer Res. 2009, 69, 2358).

Insbesondere weisen die erfindungsgemäßen Binder-Wirkstoff-Konjugate der Formel (Ia) eine hohe und spezifische cytotoxische Aktivität gegenüber FGFR2-exprimierenden Tumorzellen auf. Die Aktivität gegenüber nicht-FGFR2-exprimierenden Tumorzellen ist dabei deutlich schwächer ausgeprägt.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind aufgrund dieses Eigenschaftsprofils daher in besonderem Maße zur Behandlung von hyperproliferativen Erkrankungen beim Menschen und bei Säugetieren allgemein geeignet. Die Verbindungen können einerseits die Zellproliferation und Zellteilung hemmen, blockieren, verringern oder senken und andererseits die Apoptose verstärken.

Zu den hyperproliferativen Erkrankungen, zu deren Behandlung die erfindungsgemäßen Verbindungen eingesetzt werden können, zählt insbesondere die Gruppe der Krebs- und Tumorerkrankungen. Hierunter werden im Rahmen der vorliegenden Erfindung insbesondere die folgenden Erkrankungen verstanden, ohne jedoch auf sie beschränkt zu sein: Brustkarzinome und Brusttumore (ductale und lobuläre Formen, auch *in situ,* dreifach-negative [triple-negative], HER2-negative), Atemwegstumore (kleinzelliges und nicht-kleinzelliges Karzinom, Bronchialkarzinom), Hirntumore (z.B. des Hirnstamms und des Hypothalamus, Astrocytoma, Medulloblastoma, Ependymoma sowie neuro-ectodermale und pineale Tumore), Tumore der Verdauungsorgane (Speiseröhre, Speiseröhrenmagenübergang (carcinomas of the esophagogastric junction = EGJ), Magen (diffuse und intestinale Formen), Gallenblase, Dünndarm, Dickdarm, Rektum, Lebertumore (u.a. hepatozelluläres Karzinom, Cholangiokarzinom und gemischt-hepatozelluläres Cholangiokarzinom), Tumore des Kopf- und Halsbereiches (Larynx, Hypopharynx, Nasopharynx, Oropharynx, Lippen und Mundhöhle), Hauttumore (Plattenepithelkarzinom, Kaposi-Sarkom, malignes Melanom, Merkelzell-Hautkrebs und nicht-melanomartiger Hautkrebs), Tumore der Weichteile (u.a. Weichteilsarkome, Osteosarkome, maligne fibröse Histiozytome, Lymphosarkome und Rhabdomyosarkome), Tumore der Augen (u.a. intraokuläres Melanom und Retinoblastom), Tumore der endokrinen und exokrinen Drüsen (z.B. thyroide und parathyroide Drüsen, Bauchspeicheldrüse und Speicheldrüse), Tumore des Harntrakts (Blasen-, Penis-, Nieren-, Nierenbecken- und Harnleitertumore) sowie Tumore der reproduktiven Organe (Endometrium-, Zervix-, Ovarial-, Vaginal-, Vulva- und Uteruskarzinome der Frau sowie Prostata- und Hodenkarzinome des Mannes). Dazu gehören auch proliferative Bluterkrankungen in solider Form und als zirkulierende Blutzellen, wie Lymphome, Leukämien und myeloproliferative Erkrankungen, z.B. akute myeloide, akute lymphoblastische, chronisch-lymphozytische, chronisch-myelogene und Haarzell-Leukämie, sowie

AIDS-korrelierte Lymphome, Hodgkin-Lymphome, Non-Hodgkin-Lymphome, kutane T-Zell-Lymphome, Burkitt-Lymphome und Lymphome im zentralen Nervensystem.

Bevorzugte hyperproliferative Erkrankungen für anti-FGFR2 Binder-Wirkstoff-Konjugate

Hyperproliferative Erkrankungen, zu deren Behandlung die erfindungsgemäßen Verbindungen bevorzugt eingesetzt werden können, sind FGFR2 exprimierende Tumore, wie beispielsweise Magenkarzinom (intestinaler und diffuser Typ), Siegelringkarzinom, insbesondere Diffuser Typ, Speiseröhrenkrebs, Krebs des Speiseröhrenmagenübergangs (Carcinoma of the Esophagogastric Junction = EGJ), Brustkrebs, Dickdarmkrebs, kolorektales Karzinom, rektales Karzinom, Prostatakrebs, Nierenkrebs, Karzinome des Kopf- und Halsbereiches, Bauchspeicheldrüsenkrebs, Leberkrebs, Cervixkarzinom, Ovarkarzinom, Endometriumkarzinom, insbesondere endometrioider Typ, serös-papillärer Typ, Klarzell-Subtyp, Lungenkrebs, insbesondere Nicht-kleinzelliges Lungenkarzinom (NSCLC), Adenokarzinom, Plattenepitehlkarzinom und Pankreaskarzinom.

Diese gut beschriebenen Krankheiten des Menschen können mit vergleichbarer Ätiologie auch in anderen Säugetieren vorkommen und dort mit den Verbindungen der vorliegenden Erfindung behandelt werden.

Der Begriff "Behandlung" oder "behandeln" wird im Rahmen dieser Erfindung konventionell verwendet und bedeutet die Versorgung, Pflege und Betreuung eines Patienten mit dem Ziel, eine Krankheit oder gesundheitliche Abweichung zu bekämpfen, zu verringern, abzuschwächen oder zu erleichtern und die Lebensbedingungen zu verbessern, die durch diese Krankheit beeinträchtigt werden, wie beispielsweise bei einer Krebserkrankung.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist somit die Verwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen zur Behandlung und/oder Prävention von Erkrankungen, insbesondere der zuvor genannten Erkrankungen.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prävention von Erkrankungen, insbesondere der zuvor genannten Erkrankungen.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen in einem Verfahren zur Behandlung und/oder Prävention von Erkrankungen, insbesondere der zuvor genannten Erkrankungen.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Verfahren zur Behandlung und/oder Prävention von Erkrankungen, insbesondere der zuvor genannten Erkrankungen, unter Verwendung einer wirksamen Menge von mindestens einer der erfindungsgemäßen Verbindungen.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können allein oder bei Bedarf in Kombination mit einer oder mehreren anderen pharmakologisch wirksamen Substanzen eingesetzt werden, solange diese Kombination nicht zu unerwünschten und inakzeptablen Nebenwirkungen führt. Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind daher Arzneimittel, enthaltend mindestens eine der erfindungsgemäßen Verbindungen und einen oder mehrere weitere Wirkstoffe, insbesondere zur Behandlung und/oder Prävention der zuvor genannten Erkrankungen.

Beispielsweise können die Verbindungen der vorliegenden Erfindung mit bekannten anti-hyperproliferativen, zytostatischen oder zytotoxischen Substanzen zur Behandlung von Krebserkrankungen kombiniert werden. Als geeignete Kombinationswirkstoffe seien beispielhaft genannt:

Aldesleukin, Alendronsäure, Alfaferon, Alitretinoin, Allopurinol, Aloprim, Aloxi, Altretamin, Aminoglutethimid, Amifostin, Amrubicin, Amsacrin, Anastrozol, Anzmet, Aranesp, Arglabin, Arsentrioxid, Aromasin, 5-Azacytidin, Azathioprin, BCG oder tice-BCG, Bestatin, Betamethason-Acetat, Betamethason-Natriumphosphat, Bexaroten, Bleomycin-Sulfat, Broxuridin, Bortezomib, Busulfan, Calcitonin, Campath, Capecitabin, Carboplatin, Casodex, Cefeson, Celmoleukin, Cerubidin, Chlorambucil, Cisplatin, Cladribin, Clodronsäure, Cyclophosphamid, Cytarabin, Dacarbazin, Dactinomycin, DaunoXome, Decadron, Decadron-Phosphat, Delestrogen, Denileukin Diftitox, Depomedrol, Deslorelin, Dexrazoxan, Diethylstilbestrol, Diflucan, Docetaxel, Doxifluridin, Doxorubicin, Dronabinol, DW-166HC, Eligard, Elitek, Ellence, Emend, Epirubicin, Epoetin-alfa, Epogen, Eptaplatin, Ergamisol, Estrace, Estradiol, Estramustin-Natriumphosphat, Ethinylestradiol, Ethyol, Etidronsäure, Etopophos, Etoposid, Fadrozol, Farston, Filgrastim, Finasterid, Fligrastim, Floxuridin, Fluconazol, Fludarabin, 5-Fluordeoxyuridin-Monophosphat, 5-Fluoruracil (5-FU), Fluoxymesteron, Flutamid, Formestan, Fosteabin, Fotemustin, Fulvestrant, Gammagard, Gemcitabin, Gemtuzumab, Gleevec, Gliadel, Goserelin, Granisetron-Hydrochlorid, Histrelin, Hycamtin, Hydrocorton, erythro-Hydroxynonyladenin, Hydroxyharnstoff, Ibritumomab Tiuxetan, Idarubicin, Ifosfamid, Interferon-alpha, Interferon-alpha-2, Interferon-alpha-2α, Interferon-alpha-2β, Interferon-alpha-n1, Interferon-alpha-n3, Interferon-beta, Interferon-gamma-1α, Interleukin-2, Intron A, Iressa, Irinotecan, Kytril, Lentinan-Sulfat, Letrozol, Leucovorin, Leuprolid, Leuprolid-Acetat, Levamisol, Levofolinsäure-Calciumsalz, Levothroid, Levoxyl, Lomustin, Lonidamin, Marinol, Mechlorethamin, Mecobalamin, Medroxyprogesteron-Acetat, Megestrol-Acetat, Melphalan, Menest, 6-Mercaptopurin, Mesna, Methotrexat, Metvix, Miltefosin, Minocyclin, Mitomycin C, Mitotan, Mitoxantron, Modrenal, Myocet, Nedaplatin, Neulasta, Neumega, Neupogen, Nilutamid, Nolvadex, NSC-631570, OCT-43,

Octreotid, Ondansetron-Hydrochlorid, Orapred, Oxaliplatin, Paclitaxel, Pediapred, Pegaspargase, Pegasys, Pentostatin, Picibanil, Pilocarpin-Hydrochlorid, Pirarubicin, Plicamycin, Porfimer-Natrium, Prednimustin, Prednisolon, Prednison, Premarin, Procarbazin, Procrit, Raltitrexed, Rebif, Rhenium-186-Etidronat, Rituximab, Roferon-A, Romurtid, Salagen, Sandostatin, Sargramostim, Semustin, Sizofiran, Sobuzoxan, Solu-Medrol, Streptozocin, Strontium-89-chlorid, Synthroid, Tamoxifen, Tamsulosin, Tasonermin, Tastolacton, Taxoter, Teceleukin, Temozolomid, Teniposid, Testosteron-Propionat, Testred, Thioguanin, Thiotepa, Thyrotropin, Tiludronsäure, Topotecan, Toremifen, Tositumomab, Tastuzumab, Teosulfan, Tretinoin, Trexall, Trimethylmelamin, Trimetrexat, Triptorelin-Acetat, Triptorelin-Pamoat, UFT, Uridin, Valrubicin, Vesnarinon, Vinblastin, Vincristin, Vindesin, Vinorelbin, Virulizin, Zinecard, Zinostatin-Stimalamer, Zofran; ABI-007, Acolbifen, Actimmun, Affinitak, Aminopterin, Arzoxifen, Asoprisnil, Atamestan, Atrasentan, Avastin, BAY 43-9006 (Sorafenib), CCI-779, CDC-501, Celebrex, Cetuximab, Crisnatol, Cyproteron-Acetat, Decitabin, DN-101, Doxorubicin-MTC, dSLIM, Dutasterid, Edotecarin, Eflornithin, Exatecan, Fenretinid, Histamin-Dihydrochlorid, Histrelin-Hydrogel-Implant, Holmium-166-DOTMP, Ibandronsäure, Interferon-gamma, Intron-PEG, Ixabepilon, Keyhole Limpet-Hemocyanin, L-651582, Lanreotid, Lasofoxifen, Libra, Lonafarnib, Miproxifen, Minodronat, MS-209, liposomales MTP-PE, MX-6, Nafarelin, Nemorubicin, Neovastat, Nolatrexed, Oblimersen, Onko-TCS, Osidem, Paclitaxel-Polyglutamat, Pamidronat-Dinatrium, PN-401, QS-21, Quazepam, R-1549, Raloxifen, Ranpirnas, 13-*cis*-Retinsäure, Satraplatin, Seocalcitol, T-138067, Tarceva, Taxoprexin, Thymosin-alpha-1, Tiazofurin, Tipifarnib, Tirapazamin, TLK-286, Toremifen, TransMID-107R, Valspodar, Vapreotid, Vatalanib, Verteporfin, Vinflunin, Z-100, Zoledronsäure, sowie Kombinationen hiervon.

In einer bevorzugten Ausführungsform können die Verbindungen der vorliegenden Erfindung mit anti-hyperproliferativen Agentien kombiniert werden, welche beispielhaft – ohne dass diese Aufzählung abschließend wäre – sein können:

Aminoglutethimid, L-Asparaginase, Azathioprin, 5-Azacytidin, Bleomycin, Busulfan, Carboplatin, Carmustin, Chlorambucil, Cisplatin, Colaspase, Cyclophosphamid, Cytarabin, Dacarbazin, Dactinomycin, Daunorubicin, Diethylstilbestrol, 2',2'-Difluordeoxycytidin, Docetaxel, Doxorubicin (Adriamycin), Epirubicin, Epothilon und seine Derivate, erythro-Hydroxynonyladenin, Ethinylestradiol, Etoposid, Fludarabin-Phosphat, 5-Fluordeoxyuridin, 5-Fluordeoxyuridin-Monophosphat, 5-Fluoruracil, Fluoxymesteron, Flutamid, Hexamethylmelamin, Hydroxyharnstoff, Hydroxyprogesteron-Caproat, Idarubicin, Ifosfamid, Interferon, Irinotecan, Leucovorin, Lomustin, Mechlorethamin, Medroxyprogesteron-Acetat, Megestrol-Acetat, Melphalan, 6-Mercaptopurin, Mesna, Methotrexat, Mitomycin C, Mitotan, Mitoxantron, Paclitaxel, Pentostatin, *N*-Phosphono-

acetyl-L-aspartat (PALA), Plicamycin, Prednisolon, Prednison, Procarbazin, Raloxifen, Semustin, Streptozocin, Tamoxifen, Teniposid, Testosteron-Propionat, Thioguanin, Thiotepa, Topotecan, Trimethylmelamin, Uridin, Vinblastin, Vincristin, Vindesin und Vinorelbin.

In viel versprechender Weise lassen sich die erfindungsgemäßen Verbindungen auch mit biologischen Therapeutika wie Antikörpern (z.B. Avastin, Rituxan, Erbitux, Herceptin) kombinieren. Die erfindungsgemäßen Verbindungen können auch in Kombination mit gegen die Angiogenese gerichteten Therapien positive Effekte erzielen, wie zum Beispiel mit Avastin, Axitinib, Recentin, Regorafenib, Sorafenib oder Sunitinib. Kombinationen mit Inhibitoren des Proteasoms und von mTOR sowie Kombinationen mit Antihormonen und steroidalen metabolischen Enzyminhibitoren sind wegen ihres günstigen Nebenwirkungsprofils ebenfalls besonders geeignet.

Generell können mit der Kombination von Verbindungen der vorliegenden Erfindung mit anderen, zytostatisch oder zytotoxisch wirksamen Agenzien folgende Ziele verfolgt werden:

- eine verbesserte Wirksamkeit bei der Verlangsamung des Wachstums eines Tumors, bei der Reduktion seiner Größe oder sogar bei seiner völligen Eliminierung im Vergleich zu einer Behandlung mit einem einzelnen Wirkstoff;
- die Möglichkeit, die verwendeten Chemotherapeutika in geringerer Dosierung als bei der Monotherapie einzusetzen;
- die Möglichkeit einer verträglicheren Therapie mit weniger Nebeneffekten im Vergleich zur Einzelgabe;
- die Möglichkeit zur Behandlung eines breiteren Spektrums von Tumorerkrankungen;
- das Erreichen einer höheren Ansprechrate auf die Therapie;
- eine längere Überlebenszeit der Patienten im Vergleich zur heutigen Standardtherapie.

Darüber hinaus können die erfindungsgemäßen Verbindungen auch in Kombination mit einer Strahlentherapie und/oder einer chirurgischen Intervention eingesetzt werden.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Arzneimittel, die mindestens eine erfindungsgemäße Verbindung, üblicherweise zusammen mit einem oder mehreren inerten, nichttoxischen, pharmazeutisch geeigneten Hilfsstoffen enthalten, sowie deren Verwendung zu den zuvor genannten Zwecken.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können systemisch und/oder lokal wirken. Zu diesem Zweck können sie auf geeignete Weise appliziert werden, wie beispielsweise, parenteral, möglicherweise inhalativ oder als Implantat bzw. Stent.

Für diese Applikationswege können die erfindungsgemäßen Verbindungen in geeigneten Applikationsformen verabreicht werden.

Die parenterale Applikation kann unter Umgehung eines Resorptionsschrittes geschehen (z.B. intravenös, intraarteriell, intrakardial, intraspinal oder intralumbal) oder unter Einschaltung einer Resorption (z.B. . intramuskulär, subkutan, intrakutan, perkutan oder intraperitoneal). Für die parenterale Applikation eignen sich als Applikationsformen u.a. Injektions- und Infusionszubereitungen in Form von Lösungen, Suspensionen, Emulsionen oder Lyophilisaten. Bevorzugt ist die parenterale Applikation, insbesondere die intravenöse Applikation.

Im Allgemeinen hat es sich als vorteilhaft erwiesen, bei parenteraler Applikation Mengen von etwa 0.001 bis 1 mg/kg, vorzugsweise etwa 0.01 bis 0.5 mg/kg Körpergewicht zur Erzielung wirksamer Ergebnisse zu verabreichen.

Trotzdem kann es gegebenenfalls erforderlich sein, von den genannten Mengen abzuweichen, und zwar in Abhängigkeit von Körpergewicht, Applikationsweg, individuellem Verhalten gegenüber dem Wirkstoff, Art der Zubereitung und Zeitpunkt bzw. Intervall, zu welchem die Applikation erfolgt. So kann es in einigen Fällen ausreichend sein, mit weniger als der vorgenannten Mindestmenge auszukommen, während in anderen Fällen die genannte obere Grenze überschritten werden muss. Im Falle der Applikation größerer Mengen kann es empfehlenswert sein, diese in mehreren Einzelgaben über den Tag zu verteilen.

Die nachfolgenden Beispiele erläutern die Erfindung. Die Erfindung ist nicht auf die Beispiele beschränkt.

Die Prozentangaben in den folgenden Tests und Beispielen sind, sofern nicht anders angegeben, Gewichtsprozente; Teile sind Gewichtsteile. Lösungsmittelverhältnisse, Verdünnungsverhältnisse und Konzentrationsangaben von flüssig/flüssig-Lösungen beziehen sich jeweils auf das Volumen.

A. Beispiele

Abkürzungen und Akronyme:

ABCB1	ATP-binding cassette sub-family B member 1 (Synonym für P-gp und MDR1)
abs.	Absolut
ADC	Antibody-drug-conjugate = Antikörper-Wirkstoff-Konjugat
Ac	Acetyl
aq.	wässrig, wässrige Lösung
ATP	Adenosintriphosphat
BCRP	Brustkrebs-Resistenz-Protein, ein Efflux-Transporter
Boc	*tert.*-Butoxycarbonyl
br.	breit (bei NMR)
Bsp.	Beispiel
ca.	*circa*, ungefähr
CAIX	Carboanhydrase IX
CI	chemische Ionisation (bei MS)
d	Dublett (bei NMR)
d	Tag(e)
DC	Dünnschichtchromatographie
DCI	direkte chemische Ionisation (bei MS)
dd	Dublett von Dublett (bei NMR)
DMAP	4-*N*,*N*-Dimethylaminopyridin
DME	1,2-Dimethoxyethan
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium (standardisiertes Nährmedium für die Zellkultur)
DMF	*N*,*N*-Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid

DPBS, D-PBS, PBS	Dulbecco's Phosphat-gepufferte Salz-Lösung PBS = DPBS = D-PBS, pH7,4, Fa. Sigma, No D8537 Zusammensetzung: 0,2 g KCl 0,2 g KH_2PO_4 (anhyd) 8,0 g NaCl 1,15 g Na_2HPO_4 (anhyd) ad 1 l mit H_2O auffüllen
dt	Dublett von Triplett (bei NMR)
DTT	DL-Dithiothreitol
d. Th.	der Theorie (bei chemischer Ausbeute)
EDC	*N'*-(3-Dimethylaminopropyl)-*N*-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid
EGFR	Epidermal growth factor receptor = Epidermaler Wachstumsfaktor Rezeptor
EI	Elektronenstoß-Ionisation (bei MS)
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
eq.	Äquivalent(e)
ESI	Elektrospray-Ionisation (bei MS)
ESI-MicroTofq	ESI- MicroTofq (Name des Massenspektrometer mit Tof = Time Of Flight und q = Quadrupol)
FCS	fötales Kälberserum
FGFR2	Fibroblastenwachstmsfaktorrezeptor 2
Fmoc	(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl
ges.	gesättigt
GTP	Guanosin-5'-triphosphat
h	Stunde(n)
HATU	*O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat
HEPES	4-(2-Hydroxyethyl)piperazin-1-ethansulfonsäure
HOAc	Essigsäure
HOBt	1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat
HOSu	*N*-Hydroxysuccinimid
HPLC	Hochdruck-, Hochleistungsflüssigchromatographie
IC_{50}	halbmaximale Inhibitionskonzentration

i.m.	intramuskulär, Applikation in den Muskel
i.v.	intravenös, Applikation in die Vene
KatoIII	humane Tumorzelllinie
konz.	konzentriert
LC-MS	Flüssigchromatographie-gekoppelte Massenspektrometrie
LLC-PK1-Zellen	Lewis lung carcinoma pork kidney cell line
L-MDR	Human MDR1 transfizierte LLC-PK1 Zellen
m	Multiplett (bei NMR)
MDA-MB-231	humane Tumorzelllinie
MDR1	Multidrug resistence protein 1
MFM-223	humane Tumorzelllinie
min	Minute(n)
MS	Massenspektrometrie
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2*H*-tetrazoliumbromid
NCI-H716	humane Tumorzelllinie
NMM	*N*-Methylmorpholin
NMP	*N*-Methyl-2-pyrrolidinon
NMR	Kernresonanzspektrometrie
NMRI	Mausstamm, Herkunft aus dem Naval Medical Research Institute (NMRI)
Nude Mäuse	Nacktmäuse (Versuchstiere)
NSCLC	Non small cell lung cancer (Nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom)
PBS	Phosphat-gepufferte Salz-Lösung
Pd/C	Palladium auf Aktivkohle
P-gp	P-Glycoprotein, ein Transporterprotein
PNGaseF	Enzym zur Zuckerabspaltung
quant.	quantitativ (bei Ausbeute)
quart	Quartett (bei NMR)
quint	Quintett (bei NMR)
R_f	Retentionsindex (bei DC)
RT	Raumtemperatur
R_t	Retentionszeit (bei HPLC)
s	Singulett (bei NMR)
s.c.	subcutan, Applikation unter die Haut

SCID Mäuse	Versuchsmäuse mit einem schweren kombinierten Immundefekt (severe combined immunodeficiency)
SNU-16	humane Tumorzelllinie
SUM52-PE	humane Tumorzelllinie
t	Triplett (bei NMR)
tert.	tertiär
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
UV	Ultraviolett-Spektrometrie
v/v	Volumen zu Volumen-Verhältnis (einer Lösung)
Z	Benzyloxycarbonyl

HPLC- und LC-MS-Methoden:

Methode 1 (LC-MS):

Instrument: Waters Acquity SQD UPLC System; Säule: Waters Acquity UPLC HSS T3 1.8µ 50 mm x 1 mm; Eluent A: 1 l Wasser + 0.25 ml 99%-ige Ameisensäure, Eluent B: 1 l Acetonitril + 0.25 ml 99%-ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 90% A → 1.2 min 5% A → 2.0 min 5% A; Fluss: 0.40 ml/min; Ofen: 50°C; UV-Detektion: 210-400 nm.

Methode 2 (LC-MS):

Instrument: Micromass QuattroPremier mit Waters UPLC Acquity; Säule: Thermo Hypersil GOLD 1.9µ 50 mm x 1 mm; Eluent A: 1 l Wasser + 0.5 ml 50%-ige Ameisensäure, Eluent B: 1 l Acetonitril + 0.5 ml 50%-ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 90% A → 0.1 min 90% A → 1.5 min 10% A → 2.2 min 10% A; Fluss: 0.33 ml/min; Ofen: 50°C; UV-Detektion: 210 nm.

Methode 3 (LC-MS):

Instrument: Micromass Quattro Micro MS mit HPLC Agilent Serie 1100; Säule: Thermo Hypersil GOLD 3µ 20 mm x 4 mm; Eluent A: 1 l Wasser + 0.5 ml 50%-ige Ameisensäure, Eluent B: 1 l Acetonitril + 0.5 ml 50%-ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 100% A → 3.0 min 10% A → 4.0

min 10% A → 4.01 min 100% A (Fluss 2.5 ml/min) → 5.00 min 100% A; Ofen: 50°C; Fluss: 2 ml/min; UV-Detektion: 210 nm.

Methode 4 (LC-MS):

Gerätetyp MS: Micromass ZQ; Gerätetyp HPLC: HP 1100 Series; UV DAD; Säule: Phenomenex Gemini 3µ 30 mm x 3.00 mm; Eluent A: 1 l Wasser + 0.5 ml 50%-ige Ameisensäure, Eluent B: 1 l Acetonitril + 0.5 ml 50%-ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 90% A → 2.5 min 30% A → 3.0 min 5% A → 4.5 min 5% A; Fluss: 0.0 min 1 ml/min → 2.5 min/3.0 min/4.5 min 2 ml/min; Ofen: 50°C; UV-Detektion: 210 nm.

Methode 5 (HPLC):

Gerät: HP 1090 Serie II; Säule: Merck Chromolith SpeedROD RP-18e, 50 mm x 4.6 mm; Vorsäule: Merck Chromolith Guard Cartridge Kit RP-18e, 5 mm x 4.6 mm; Injektionsvolumen: 5 µl; Eluent A: 70% $HClO_4$ in Wasser (4 ml/Liter), Eluent B: Acetonitril; Gradient: 0.00 min 20% B → 0.50 min 20% B → 3.00 min 90% B → 3.50 min 90% B → 3.51 min 20% B → 4.00 min 20% B; Fluss: 5 ml/min; Säulentemperatur: 40°C.

Methode 6 (HPLC):

Gerät: Waters 2695 mit DAD 996; Säule: Merck Chromolith SpeedROD RP-18e, 50 mm x 4.6 mm; BestNr: 1.51450.0001. Vorsäule: Merck Chromolith Guard Cartridge Kit RP-18e, 5 mm x 4.6 mm; BestNr: 1.51470.0001. Eluent A: 70% $HClO_4$ in Wasser (4 ml/Liter), Eluent B: Acetonitril; Gradient: 0.00 min 5% B → 0.50 min 5% B → 3.00 min 95% B → 4.00 min 95% B; Fluss: 5 ml/min.

Methode 7 (LC-MS):

Gerätetyp MS: Waters ZQ; Gerätetyp HPLC: Agilent 1100 Series; UV DAD; Säule: Thermo Hypersil GOLD 3µ 20 mm x 4 mm; Eluent A: 1 l Wasser + 0.5 ml 50%-ige Ameisensäure, Eluent B: 1 l Acetonitril + 0.5 ml 50%-ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 100% A → 3.0 min 10% A → 4.0 min 10% A → 4.1 min 100% A (Fluss 2.5 ml/min); Ofen: 55°C; Fluss: 2 ml/min; UV-Detektion: 210 nm.

Methode 8 (LC-MS):

Gerätetyp MS: Waters ZQ; Gerätetyp HPLC: Agilent 1100 Series; UV DAD; Säule: Thermo Hypersil GOLD 3µ 20 mm x 4 mm; Eluent A: 1 l Wasser + 0.5 ml 50%-ige Ameisensäure, Eluent

B: 1 l Acetonitril + 0.5 ml 50%-ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 100% A → 2.0 min 60% A → 2.3 min 40% A → 3.0 min 20% A → 4.0 min 10% A → 4.2 min 100% A (Fluss 2.5 ml/min); Ofen: 55°C; Fluss: 2 ml/min; UV-Detektion: 210 nm.

Methode 9 (LC-MS):

Instrument: Waters Acquity SQD UPLC System; Säule: Waters Acquity UPLC HSS T3 1.8µ 50 mm x 1 mm; Eluent A: 1 l Wasser + 0.25 ml 99%-ige Ameisensäure, Eluent B: 1 l Acetonitril + 0.25 ml 99%-ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 95% A → 6.0 min 5% A → 7.5 min 5% A; Ofen: 50°C; Fluss: 0.35 ml/min; UV-Detektion: 210-400 nm.

Methode 10 (HPLC):

Gerät: Agilent 1200 Series; Säule: Agilent Eclipse XDB-C18 5µ 4.6 mm x 150 mm; Vorsäule: Phenomenex KrudKatcher Disposable Pre-Column; Injektionsvolumen: 5 µl; Eluent A: 1 l Wasser + 0.01% Trifluoressigsäure; Eluent B: 1 l Acetonitril + 0.01% Trifluoressigsäure; Gradient: 0.00 min 10% B → 1.00 min 10% B → 1.50 min 90% B → 5.5 min 10% B; Fluss: 2 ml/min; Säulentemperatur: 30°C.

Für alle Reaktanden oder Reagenzien, deren Herstellung im Folgenden nicht explizit beschrieben ist, gilt, dass sie von allgemein zugänglichen Quellen kommerziell bezogen wurden. Für alle übrigen Reaktanden oder Reagenzien, deren Herstellung im Folgenden ebenfalls nicht beschrieben ist und die nicht kommerziell erhältlich waren oder von Quellen bezogen wurden, die nicht allgemein zugänglich sind, ist ein Verweis auf die veröffentlichte Literatur angegeben, in der ihre Herstellung beschrieben ist.

Methode 11 (LC-MS):

Instrument: Waters ACQUITY SQD UPLC System; Säule: Waters Acquity UPLC HSS T3 1.8 µ 30 x 2 mm; Eluent A: 1 l Wasser + 0.25 ml 99%ige Ameisensäure , Eluent B: 1 l Acetonitril + 0.25 ml 99%ige Ameisensäure; Gradient: 0.0 min 90% A → 1.2 min 5% A → 2.0 min 5% A Ofen: 50°C; Fluss: 0.60 ml/min; UV-Detektion: 208 – 400 nm.

Methode 12 (HPLC):

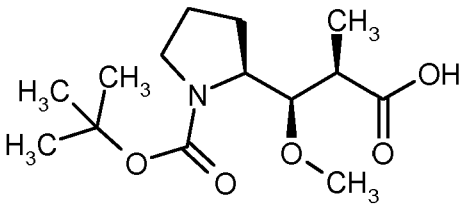
Gerät: Agilent 1200 Series mit Säulenofen und DAD; Säule: Merck Chromolith SpeedROD RP-18e, 50 mm x 4.6 mm; BestNr: 1.51450.0001. Vorsäule: Merck Chromolith Guard Cartridge Kit RP-18e, 5 mm x 4.6 mm; BestNr: 1.51470.0001. Eluent A: 70% $HClO_4$ in Wasser (4 ml/Liter), Eluent

B: Acetonitril; Gradient: 0.00 min 5% B → 0.50 min 5% B → 3.00 min 95% B → 4.00 min 95% B; Fluss: 5 ml/min; Säulentemperatur: 30°C.

Ausgangsverbindungen und Intermediate:

Ausgangsverbindung 1

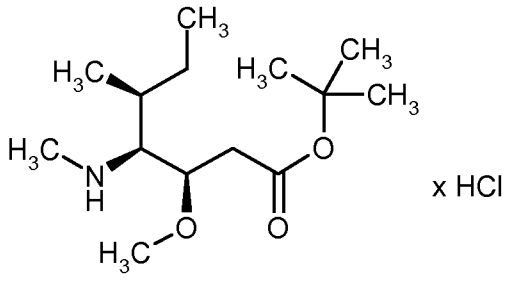
(2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert*.-Butoxycarbonyl)pyrrolidin-2-yl]-3-methoxy-2-methylpropansäure (Boc-Dolaproin)



Die Titelverbindung kann auf verschiedenen Wegen nach Literaturvorschriften hergestellt werden, siehe z.B. Pettit *et al.*, *Synthesis* 1996, 719; Shioiri *et al.*, *Tetrahedron Lett.* 1991, *32*, 931; Shioiri *et al.*, *Tetrahedron* 1993, *49*, 1913; Koga *et al.*, *Tetrahedron Lett.* 1991, *32*, 2395; Vidal *et al.*, *Tetrahedron* 2004, *60*, 9715; Poncet *et al.*, *Tetrahedron* 1994, *50*, 5345. Sie wurde entweder als freie Säure oder als 1:1 Salz mit Dicycclohexylamin hergestellt.

Ausgangsverbindung 2a

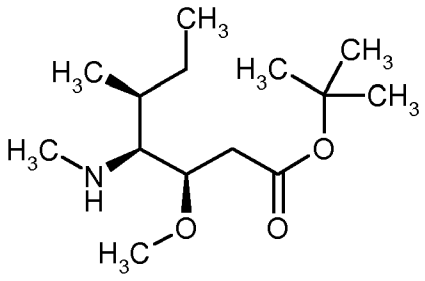
tert.-Butyl-(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-5-methyl-4-(methylamino)heptanoat-Hydrochlorid (Dolaisoleucin-OtBu x HCl)



Die Titelverbindung kann auf verschiedenen Wegen nach Literaturvorschriften hergestellt werden, siehe z.B. Pettit *et al.*, *J. Org. Chem.* 1994, *59*, 1796; Koga *et al.*, *Tetrahedron Lett.* 1991, *32*, 2395; Shioiri *et al.*, *Tetrahedron Lett.* 1991, *32*, 931; Shioiri *et al.*, *Tetrahedron* 1993, *49*, 1913.

Ausgangsverbindung 2b

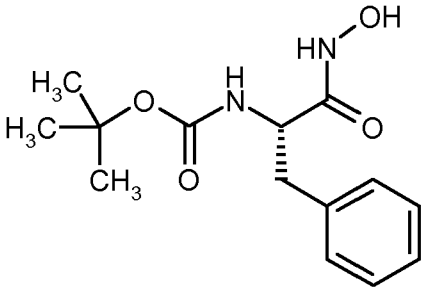
tert.-Butyl-(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-5-methyl-4-(methylamino)heptanoat (Dolaisoleucin-O^{t}Bu)



Die Verbindung wurde in Analogie zur Ausgangsverbindung 2a hergestellt, jedoch wurde die Hydrierung ohne Zusatz von 1N Salzsäure durchgeführt.

Ausgangsverbindung 3

N^{α}-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-hydroxy-L-phenylalaninamid



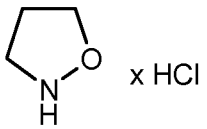
Die Titelverbindung wurde nach Literaturvorschrift hergestellt (A. Ritter *et al.*, *J. Org. Chem.* 1994, *59*, 4602).

Ausbeute: 750 mg (75% d. Th.)

LC-MS (Methode 3): R_t = 1.67 min; MS (ESIpos): m/z = 281 $(M+H)^+$.

Ausgangsverbindung 4

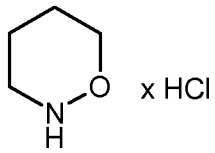
1,2-Oxazolidin-Hydrochlorid



Die Titelverbindung kann nach Literaturvorschriften hergestellt werden, siehe z.B. H. King, *J. Chem. Soc.* 1942, 432; sie ist auch kommerziell erhältlich.

Ausgangsverbindung 5

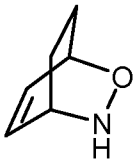
1,2-Oxazinan-Hydrochlorid



Die Titelverbindung kann nach Literaturvorschriften hergestellt werden, siehe z.B. H. King, *J. Chem. Soc.* 1942, 432.

Ausgangsverbindung 6

2-Oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en

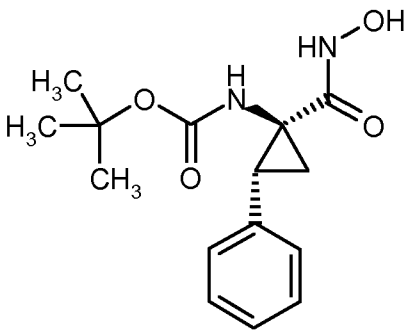


Die Titelverbindung kann in Boc-geschützter Form nach Literaturvorschrift hergestellt werden (siehe z.B. C. Johnson *et al.*, *Tetrahedron Lett.* 1998, *39*, 2059); die Entschützung erfolgte auf übliche Weise durch Behandlung mit Trifluoressigsäure und anschließende Neutralisation.

Ausbeute: 149 mg (89% d. Th.).

Ausgangsverbindung 7

tert.-Butyl-[(1*S*,2*R*)-1-(hydroxycarbamoyl)-2-phenylcyclopropyl]carbamat



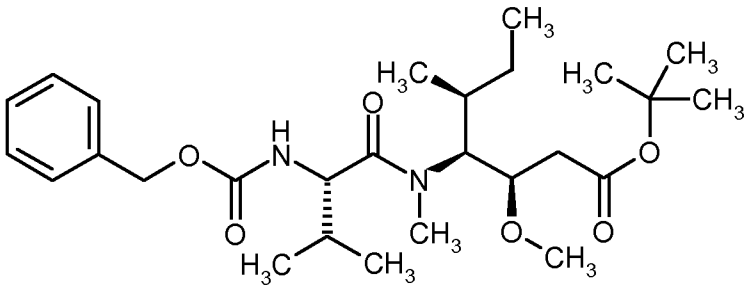
Die Titelverbindung wurde gemäß einer Literaturvorschrift (A. Ritter *et al.*, *J. Org. Chem.* 1994, *59*, 4602) hergestellt ausgehend von kommerziell erhältlicher (1*S*,2*R*)-1-[(*tert.*-Butoxycarbonyl)amino]-2-phenylcyclopropancarbonsäure (C. Cativiela *et al.*, *Chirality* 1999, 11, 583).

Ausbeute: 339 mg (59% d. Th.)

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.82 min; MS (ESIpos): m/z = 293 $(M+H)^+$.

Intermediat 1

tert.-Butyl-(3*R*,4*S*,5*S*)-4-[{*N*-[(benzyloxy)carbonyl]-L-valyl}(methyl)amino]-3-methoxy-5-methyl-heptanoat



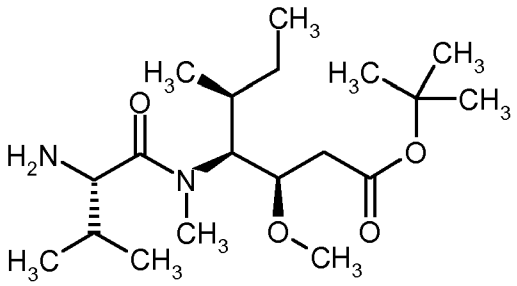
10.65 g (41.058 mmol) *tert.*-Butyl-(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-5-methyl-4-(methylamino)-heptanoat (Ausgangsverbindung 2b) wurden in 250 ml Dichlormethan aufgenommen und die Lösung auf -10°C abgekühlt. Dann wurden unter Rühren 10.317 g (41.058 mmol) N-[(Benzyloxy)carbonyl]-L-valin, 16.866 g (61.586 mmol) 2-Brom-1-ethylpyridinium-Tetrafluoroborat (BEP) sowie 28.6 ml *N,N*-Diisopropylethylamin zugegeben und die Mischung anschließend 20 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde danach mit Dichlormethan verdünnt und zweimal mit gesättigter Natriumchloridlösung ausgeschüttelt, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 4:1 als Eluent gereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden eingeengt und der Rückstand über Nacht im Hochvakum getrocknet. Es wurden 10.22 g (51% d. Th.) der Titelverbindung als gelbliches Öl erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 2.3 min;

LC-MS (Methode 2): R_t = 1.59 min; MS (ESIpos): m/z = 493 $(M+H)^+$.

Intermediat 2

tert.-Butyl-(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-5-methyl-4-[methyl(L-valyl)amino]heptanoat



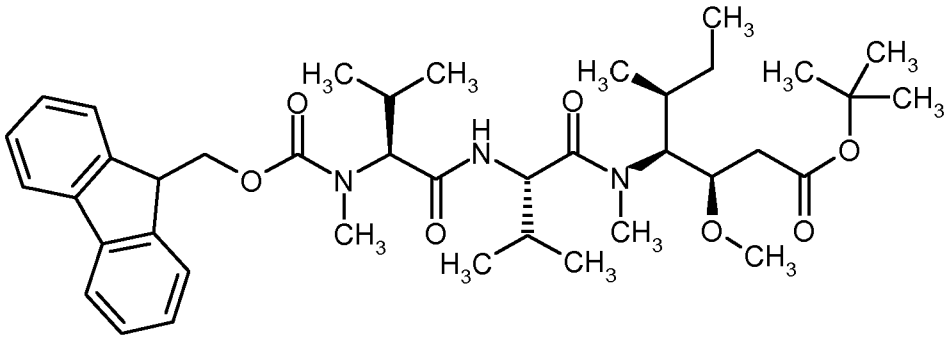
500 mg (1 mmol) *tert.*-Butyl-(3*R*,4*S*,5*S*)-4-[{*N*-[(benzyloxy)carbonyl]-L-valyl}(methyl)amino]-3-methoxy-5-methylheptanoat (Intermediat 1) wurden in 50 ml Methanol gelöst und nach Zugabe von 100 mg 10%-igem Palladium auf Aktivkohle 1 h lang bei RT unter Wasserstoff-Normaldruck hydriert. Der Katalysator wurde danach abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Man erhielt 370 mg (quant.) der Titelverbindung als nahezu farbloses Öl.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.59 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.74 min; MS (ESIpos): m/z = 359 $(M+H)^+$.

Intermediat 3

N-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-*tert.*-butoxy-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



4.64 g (13.13 mmol) *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valin wurden in 20 ml DMF gelöst und nacheinander mit 4.28 g (11.94 mmol) *tert.*-Butyl-(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-5-methyl-4-[methyl(L-valyl)amino]heptanoat (Intermediat 2), 2.75 g (14.33 mmol) 1-(3-Dimethylamino-propyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid sowie 2.2 g (14.33 mmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde danach in eine Mischung aus halbgesättigter wässriger Ammoniumchlorid-Lösung und Ethylacetat gegossen. Die organische Phase wurde abgetrennt, nacheinander mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat

getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde direkt, ohne weitere Reinigung, in der nächsten Stufe eingesetzt.

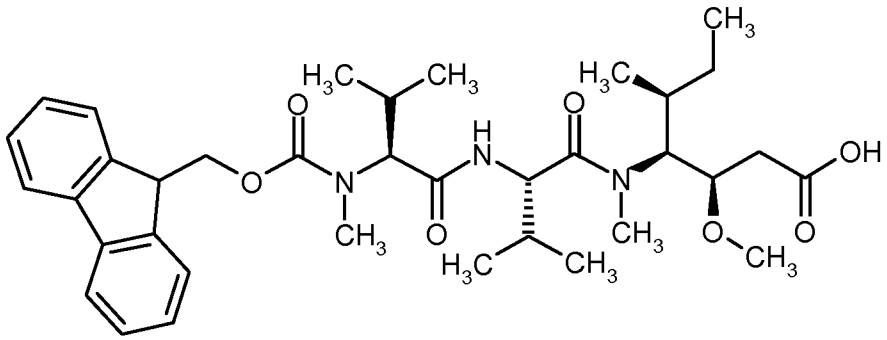
Ausbeute: 9.1 g (quant., 60%-ige Reinheit)

HPLC (Methode 5): R_t = 2.7 min;

LC-MS (Methode 2): R_t = 1.99 min; MS (ESIpos): m/z = 694 $(M+H)^+$.

Intermediat 4

N-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



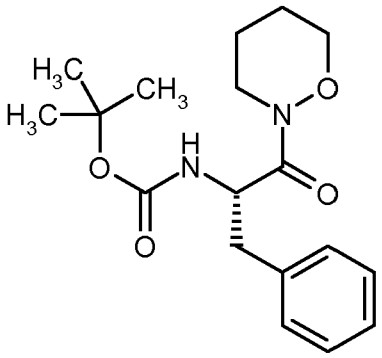
9.1 g des Rohproduktes *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-*tert.*-butoxy-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 3) wurden in 56.6 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 56.6 ml Trifluoressigsäure versetzt und 2h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt und der verbliebene Rückstand durch Flash-Chromatographie gereinigt, wobei als Eluent Dichlormethan, Dichlormethan/Ethylacetat 3:1 und Dichlormethan/Ethylacetat/Methanol 15:5:0.5 verwendet wurden. Nach Vereinigung der entsprechenden Fraktionen und Einengen wurden 5.8 g (86% d. Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 2.2 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.3 min; MS (ESIpos): m/z = 638 $(M+H)^+$.

Intermediat 5

tert.-Butyl-[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]carbamat



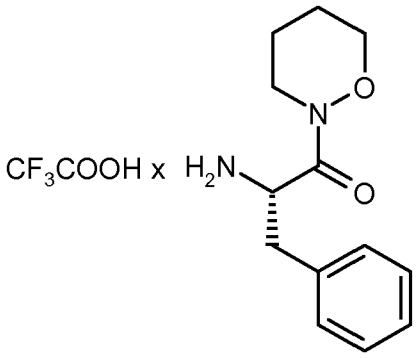
500 mg (1.9 mmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-L-phenylalanin wurden in 10 ml DMF gelöst und nacheinander mit 466 mg (3.8 mmol) 1,2-Oxazinan-Hydrochlorid (Ausgangsverbindung 5), 433 mg (2.3 mmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 382 mg (2.8 mmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat sowie 731 mg (5.7 mmol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde danach in eine Mischung aus halbgesättigter wässriger Ammoniumchlorid-Lösung und Ethylacetat gegossen. Die organische Phase wurde abgetrennt, nacheinander mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Man erhielt 620 mg (98% d. Th.) der Titelverbindung.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 2): R_t = 1.62 min; MS (ESIpos): m/z = 235 $(M-C_4H_8-CO_2+H)^+$.

Intermediat 6

(2*S*)-2-Amino-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-3-phenylpropan-1-on-Trifluoracetat



620 mg (1.85 mmol) *tert.*-Butyl-[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]carbamat (Intermediat 5) wurden in 5 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 10 ml Trifluoressigsäure versetzt und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt und

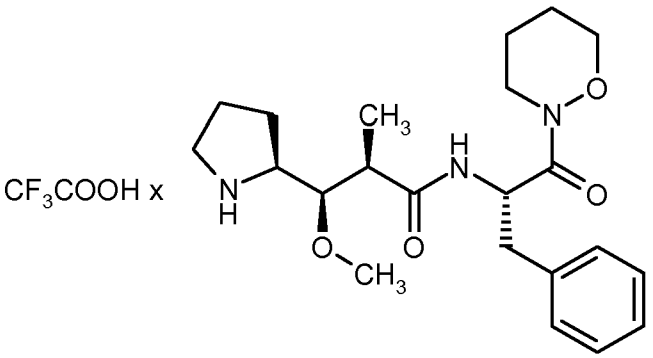
der verbliebene Rückstand aus Wasser/Acetonitril lyophilisiert. Auf diese Weise wurden 779 mg (91% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 0.45 min;

LC-MS (Methode 3): R_t = 1.09 min; MS (ESIpos): m/z = 235 $(M+H)^+$.

Intermediat 7

(2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-*N*-[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanamid-Trifluoracetat



360 mg (1.25 mmol) (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert.*-Butoxycarbonyl)pyrrolidin-2-yl]-3-methoxy-2-methyl-propansäure (Ausgangsverbindung 1) wurden in 10 ml DMF aufgenommen und nacheinander mit 579.2 mg (1.25 mmol) (2*S*)-2-Amino-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-3-phenylpropan-1-on-Trifluoracetat (Intermediat 6), 714.5 mg (1.88 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) sowie 655 µl *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde 16 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde danach eingeengt, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und zuerst mit 5%-iger wässriger Zitronensäure-Lösung, dann mit 5%-iger wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung und anschließend mit gesättigter Natriumchloridlösung ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde eingeengt und der Rückstand durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan/Methanol 16:4 als Eluent gereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden vereinigt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Trocknen des Rückstands im Hochvakuum wurden 503.5 mg (74% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats *tert.*-Butyl-(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-carboxylat erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.12 min; MS (ESIpos): m/z = 504 $(M+H)^+$.

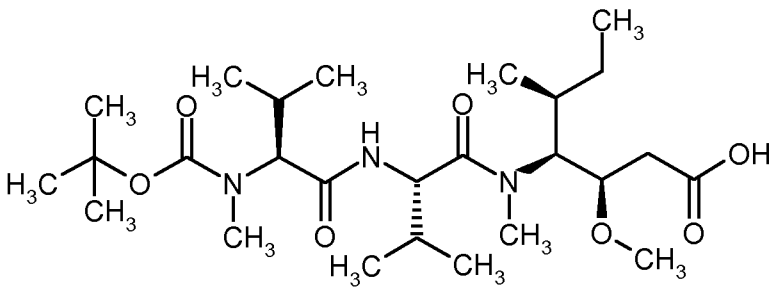
503 mg (1 mmol) dieses Intermediats wurden in 20 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 10 ml Trifluoressigsäure versetzt und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt und mit Dichlormethan rückdestilliert. Der verbliebene Rückstand wurde aus Ethylacetat mit n-Pentan gefällt, das Lösungsmittel abdekantiert. Der so erhaltene Rückstand wurde in Wasser gelöst und mit Ethylacetat ausgeschüttelt und die wässrige Phase anschließend lyophilisiert. Auf diese Weise wurden 462 mg (89% d. Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.53 min;

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.57 min; MS (ESIpos): m/z = 404 $(M+H)^+$.

Intermediat 8

N-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



51 mg (0.08 mmol) *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 4) wurden in 10 ml DMF gelöst und mit 0.5 ml Piperidin versetzt. Nach 10 min Rühren bei RT wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt und der Rückstand mit Diethylether verrührt. Die unlöslichen Bestandteile wurden abfiltriert und mehrfach mit Diethylether gewaschen. Dann wurde der Filter-Rückstand in 5 ml Dioxan/Wasser aufgenommen und die Lösung mit 1 N Natronlauge auf pH 11 eingestellt. Unter Ultraschallbehandlung wurden in mehreren Portionen insgesamt 349 mg (1.6 mmol) Di-*tert.*-butyldicarbonat zugegeben, wobei der pH-Wert der Lösung bei 11 gehalten wurde. Nach Beendigung der Reaktion wurde das Dioxan abgedampft und die wässrige Lösung mit Zitronensäure auf einen pH-Wert von 2-3 eingestellt. Man extrahierte zweimal mit je 50 ml Ethylacetat. Die organischen Phasen wurden vereinigt, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde in Diethylether aufgenommen und das der Titelverbindung mit Pentan ausgefällt. Durch Dekantieren wurde das Lösungsmittel abgetrennt. Der Rückstand wurde noch mehrmals mit

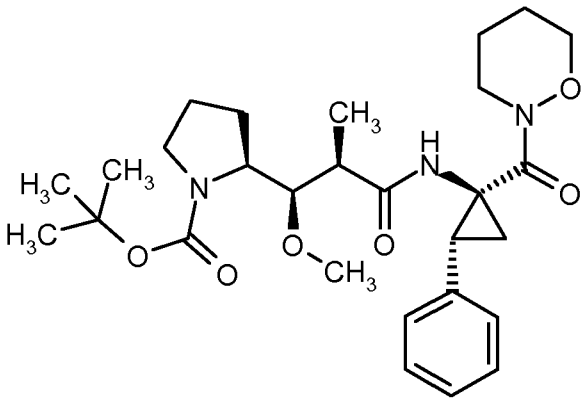
Pentan digeriert und schließlich im Hochvakuum getrocknet. Es wurden so 40 mg (97% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 6): R_t = 2.2 min;

LC-MS (Methode 2): R_t = 1.32 min; MS (ESIpos): m/z = 516 $(M+H)^+$.

Intermediat 9

tert.-Butyl-(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-carboxylat



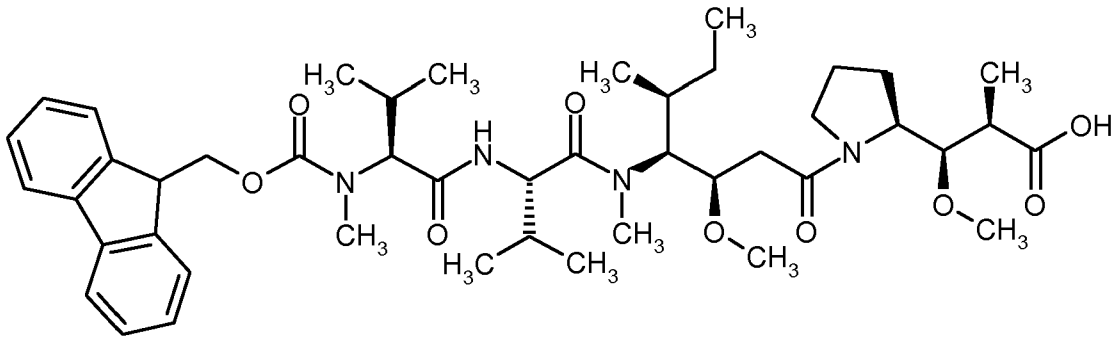
Die Titelverbindung wurde in Analogie zur Synthese der Intermediate 5, 6 und 7 über drei Stufen durch Kupplung von kommerziell erhältlicher (1*S*,2*R*)-1-[(*tert.*-Butoxycarbonyl)amino]-2-phenylcyclopropancarbonsäure mit 1,2-Oxazinan-Hydrochlorid (Ausgangsverbindung 5), anschließende Entschützung mit Trifluoressigsäure und Kupplung mit Ausgangsverbindung 1 hergestellt. Das Endprodukt wurde durch präparative HPLC gereinigt.

HPLC (Methode 5): R_t = 2.12 min;

LC-MS (Methode 2): R_t = 1.25 min; MS (ESIpos): m/z = 516 $(M+H)^+$.

Intermediat 10

N-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



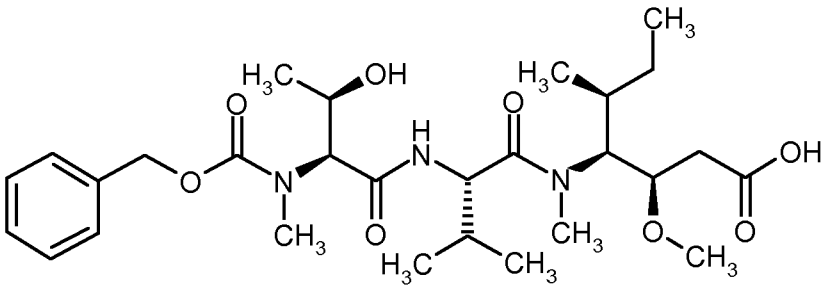
315 mg (0.494 mmol) *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 4) wurden in 12 ml DMF gelöst, mit 104 mg (0.543 mmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid sowie 83 mg (0.543 mmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat versetzt und 90 min bei RT gerührt. Anschließend wurden 112 µl *N*,*N*-Diisopropylethylamin sowie 149 mg (0.494 mmol) (2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propansäure-Trifluoracetat, welches zuvor aus der Ausgangsverbindung 1 durch Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure hergestellt worden war, hinzugegeben. Die Mischung wurde 2 h bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde durch zweimalige präparative HPLC aufgereinigt. Es wurden 140 mg (35% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines farblosen Schaumes erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 2.40 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.38 min; MS (ESIpos): m/z = 807 $(M+H)^+$.

Intermediat 11

N-[(Benzyloxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-threonyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Zunächst wurde *N*-[(Benzyloxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-threonin aus 237 mg (0.887 mmol) seines Dicyclohexylamin-Salzes durch Aufnehmen in Ethylacetat und Ausschütteln mit 5%-iger wässriger Schwefelsäure freigesetzt. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert

und eingeengt. Der Rückstand wurde in 16 ml DMF aufgenommen und nacheinander mit 365 mg (1 mmol) *tert.*-Butyl-(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-5-methyl-4-[methyl(L-valyl)amino]heptanoat (Intermediat 2), 185 mg (0.967 mmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid sowie 148 mg (0.967 mmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat versetzt. Die Mischung wurde 2 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde danach in eine Mischung aus halbgesättigter wässriger Ammoniumchlorid-Lösung und Ethylacetat gegossen. Die organische Phase wurde abgetrennt, nacheinander mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde durch präparative HPLC aufgereinigt. Es wurden so 283 mg (53% d. Th.) des *tert.*-Butylester-Intermediats *N*-[(Benzyloxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-threonyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-*tert.*-butoxy-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 2.17 min.

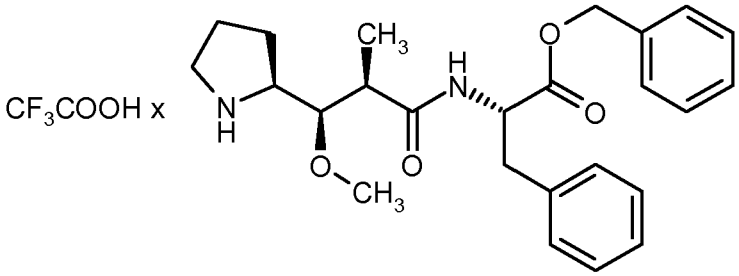
283 mg (0.466 mmol) dieses Intermediats wurden in 5 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 5 ml wasserfreier Trifluoressigsäure versetzt und 2 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Hochvakuum eingeengt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Man erhielt 156 mg (61% d. Th.) der Titelverbindung als farblosen Schaum.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.50 min;

LC-MS (Methode 2): R_t = 1.09 min; MS (ESIpos): m/z = 552 $(M+H)^+$.

Intermediat 12

Benzyl-*N*-{(2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}-L-phenylalaninat-Trifluoracetat



Im ersten Schritt wurde die Ausgangsverbindung 1 aus 600 mg (1.28 mmol) des entsprechenden Dicyclohexylammoniumsalz freigesetzt durch Auflösen des Salzes in 100 ml Ethylacetat und Ausschütteln zunächst mit 50 ml 0.5%-iger Schwefelsäure und dann mit gesättigter Natriumchloridlösung. Daraufhin wurde die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet,

filtriert, eingeengt und sofort mit Benzyl-L-phenylalaninat in Analogie zur Synthese von Intermediat 7 umgesetzt und anschließend entschützt.

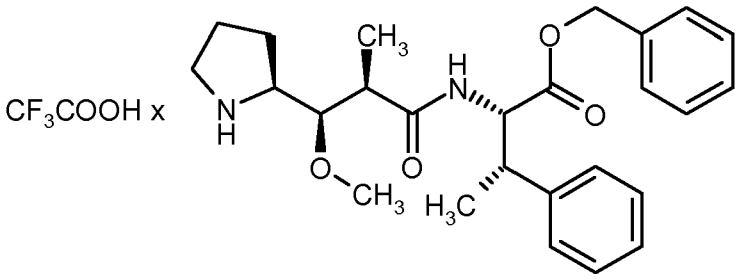
Ausbeute: 650 mg (94% über 2 Stufen)

HPLC (Methode 6): R_t = 1.76 min;

LC-MS (Methode 2): R_t = 1.68 min; MS (ESIpos): m/z = 425 $(M+H)^+$.

Intermediat 13

Benzyl-(β*S*)-*N*-{(2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}-β-methyl-L-phenylalaninat-Trifluoracetat



Zunächst wurde (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert.*-Butoxycarbonyl)pyrrolidin-2-yl]-3-methoxy-2-methylpropansäure aus 351 mg (0.75 mmol) des Dicyclohexylamin-Salzes (Ausgangsverbindung 1) durch Aufnehmen in Ethylacetat und Ausschütteln mit wässriger 5%iger Kaliumhydrogensulfat-Lösung freigesetzt. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde in 10 ml DMF aufgenommen und nacheinander mit 373 mg (0.75 mmol) Benzyl-(β*S*)-β-methyl-L-phenylalaninat-Trifluoracetat [hergestellt aus kommerziell erhältlichem (β*S*)-*N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-β-methyl-L-phenylalanin durch EDC/DMAP-vermittelte Veresterung mit Benzylalkohol und nachfolgende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure], 428 mg (1.125 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) sowie 392 µl *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde 20 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde dann auf eine Mischung aus halbgesättigter wässriger Ammoniumchlorid-Lösung und Ethylacetat gegossen. Die organische Phase wurde abgetrennt, nacheinander mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und anschließend eingeengt. Der Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Man erhielt so 230 mg (57% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats Benzyl-(β*S*)-*N*-{(2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert.*-butoxycarbonyl)pyrrolidin-2-yl]-3-methoxy-2-methylpropanoyl}-β-methyl-L-phenylalaninat.

HPLC (Methode 6): R_t = 2.3 min;

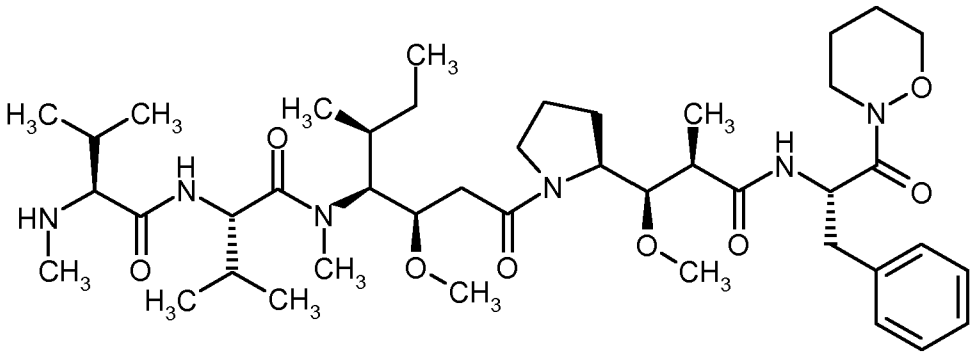
LC-MS (Methode 1): R_t = 1.36 min; MS (ESIpos): m/z = 539 $(M+H)^+$.

230 mg (0.42 mmol) dieses Intermediats wurden in 5 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 5 ml Trifluoressigsäure versetzt und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum weiter getrocknet und dann aus Acetonitril/Wasser lyophilisiert. Auf diese Weise wurden 230 mg (quant.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 6): R_t = 1.6 min.

Intermediat 14

N-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



x CF_3COOH

143 mg (0.223 mmol) *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 4) wurden in 15 ml DMF aufgenommen und nacheinander mit 141 mg (0.22 mmol) (2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-*N*-[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanamid-Trifluoracetat (Intermediat 7), 102 mg (0.27 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) sowie 128 µl (0.74 mmol) *N*,*N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde 3 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde danach in eine Mischung aus halbgesättigter wässriger Ammoniumchlorid-Lösung und Ethylacetat gegossen. Die organische Phase wurde abgetrennt, nacheinander mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Man erhielt so 275 mg (quant.) des Fmoc-geschützten Intermediats *N*-[(9*H*-Fluoren-9-

ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid.

HPLC (Methode 5): R_t = 2.73 min;

LC-MS (Methode 4): R_t = 3.19 min; MS (ESIpos): m/z = 1023 $(M+H)^+$.

46 mg (0.045 mmol) dieses Intermediats wurden in 4 ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 1 ml Piperidin wurde das Reaktionsgemisch 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt (Eluent: Acetonitril + 0.01% TFA / Wasser + 0.01% TFA). Es wurden 22 mg (54% d. Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

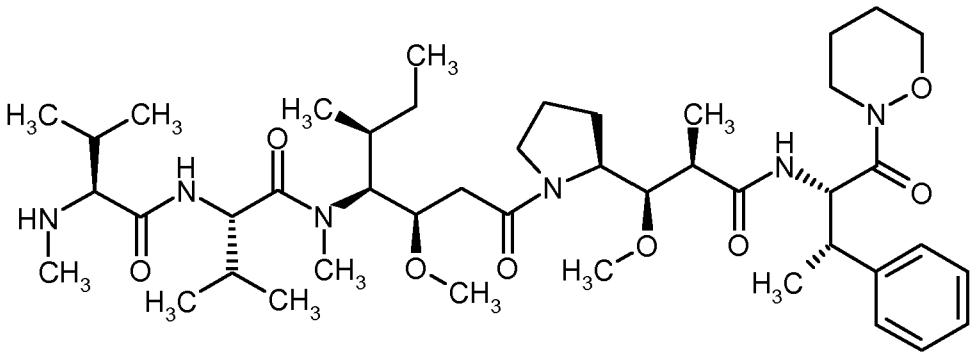
HPLC (Methode 5): R_t = 1.68 min;

LC-MS (Methode 2): R_t = 1.03 min; MS (ESIpos): m/z = 801 $(M+H)^+$

^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d_6): δ = 8.8 (m, 2H), 8.7 (m, 1H), 8.42 und 8.15 (2d, 1H), 7.3-7.1 (m, 5H), 5.12 und 4.95 (2m, 1H), 4.70 und 4.62 (2m, 1H), 4.62 und 4.50 (2t, 1H), 4.1-3.9 (m, 3H), 3.85 (m, 1H), 3.75-3.6 (m, 2H), 3.23, 3.18, 3.17, 3.14, 3.02 und 2.96 (6s, 9H), 3.1-2.9 und 2.75 (2m, 2H), 2.46 (m, 3H), 2.4-2.1 (m, 2H), 2.05 (br. m, 2H), 1.85-1.55 (br. m, 6H), 1.5-1.2 (br. m, 3H), 1.1-0.8 (m, 18H), 0.75 (t, 3H) [weitere Signale unter H_2O-Peak verborgen].

Intermediat 15

N-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*,3*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



x CF_3COOH

126 mg (0.198 mmol) *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 4) wurden in 10 ml DMF aufgenommen und nacheinander mit 105 mg (0.198 mmol) (2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-*N*-[(2*S*,3*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanamid-Trifluoracetat (Intermediat 17), 41.6 mg (0.217 mmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethyl-carbodiimid-Hydrochlorid, 33 mg (0.217 mmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat sowie 79 µl (0.454 mmol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde danach in eine Mischung aus halbgesättigter wässriger Ammonium-chlorid-Lösung und Ethylacetat gegossen. Die organische Phase wurde abgetrennt, nacheinander mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Es wurden so 220 mg (quant.) des Fmoc-geschützten Intermediats *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*,3*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 2.77 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.5 min; MS (ESIpos): m/z = 1037 $(M+H)^+$.

220 mg (0.212 mmol) dieses Intermediats wurden in 5 ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 1 ml Piperidin wurde das Reaktionsgemisch 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt (Eluent: Acetonitril + 0.01% TFA / Wasser + 0.01% TFA). Es wurden 91 mg (46% d. Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

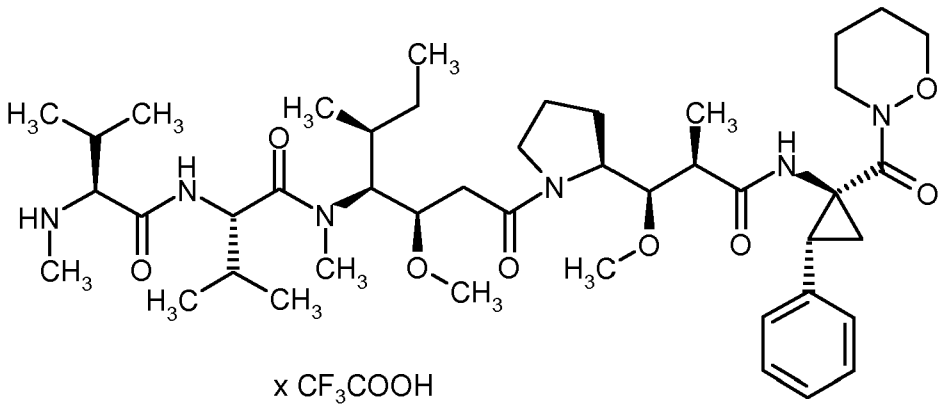
HPLC (Methode 5): R_t = 1.71 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.9 min; MS (ESIpos): m/z = 815 $(M+H)^+$

^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d_6): δ = 8.87 und 8.80 (2d, 2H), 8.75 (m, 1H), 8.40 und 7.98 (2d, 1H), 7.3-7.1 (m, 5H), 5.45 und 5.2 (2t, 1H), 4.78 und 4.62 (2m, 1H), 4.73 und 4.58 (2t, 1H), 4.2-4.0 (m, 3H), 3.7-3.6 (m, 1H), 3.35, 3.20, 3.18, 3.14, 3.12 und 3.00 (6s, 9H), 3.1 und 2.95 (2m, 2H), 2.46 (m, 3H), 2.4-2.0 (m, 4H), 1.9-1.6 (m, 4H), 1.6-1.2 (m, 5H), 1.1-0.75 (m, 21H), 0.80 (t, 3H) [weitere Signale unter H_2O-Peak verborgen].

Intermediat 16

N-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



617 mg (1.2 mmol) *tert.*-Butyl-(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-carboxylat (Intermediat 24) wurden in 44 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 4.4 ml Trifluoressigsäure versetzt und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt und der verbliebene Rückstand aus Dioxan/Wasser lyophilisiert. Es wurden 702 mg (quant.) der entschützten Verbindung (2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-*N*-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanamid-Trifluoracetat als Rohprodukt erhalten, das ohne weitere Reinigung in der folgenden Stufe eingesetzt wurde.

470 mg (0.74 mmol) *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 4) wurden in 57 ml DMF aufgenommen und nacheinander mit 390 mg (ca. 0.74 mmol) des oben erhaltenen (2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-*N*-[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanamid-Trifluoracetates, 336 mg (0.88 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) sowie 423 µl (2.4 mmol) *N*,*N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde 2 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde dann in eine Mischung aus halbgesättigter wässriger Ammoniumchlorid-Lösung und Ethylacetat gegossen. Die organische Phase wurde abgetrennt, nacheinander mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde durch präparative HPLC gereinigt. Man erhielt so 453 mg (59% d. Th.) des Fmoc-geschützten Intermediats *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-

methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid.

HPLC (Methode 5): R_t = 2.58 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 3.10 min; MS (ESIpos): m/z = 1035 $(M+H)^+$.

453 mg (0.438 mmol) dieses Intermediats wurden in 24 ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 2.4 ml Piperidin wurde das Reaktionsgemisch 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt und der Rückstand durch präparative HPLC gereinigt (Eluent: Acetonitril / 0.1% TFA in Wasser). Es wurden 260 mg (64% d. Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

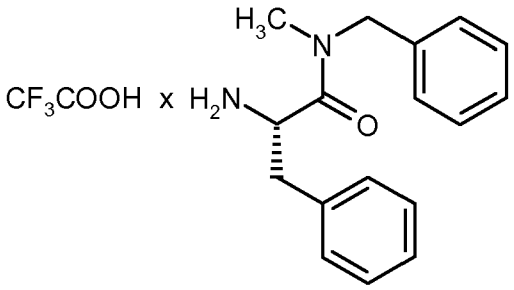
HPLC (Methode 5): R_t = 1.64 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.86 min; MS (ESIpos): m/z = 813 $(M+H)^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 8.8 (m, 2H), 8.65 (m, 2H), 7.3-7.1 (m, 5H), 4.8-4.05 (m, 2H), 4.0 und 3.82 (2m, 2H), 3.8-3.5 (m, 8H), 3.32, 3.29, 3.20, 3.19, 3.12 und 3.00 (6s, 9H), 2.65 (t, 1H), 2.5-2.45 (m, 3H), 2.4-1.3 (m, 15H), 1.15-0.85 (m, 18H), 0.8 und 0.75 (2d, 3H) [weitere Signale unter H_2O-Peak verborgen].

Intermediat 17

N-Benzyl-*N*-methyl-L-phenylalaninamid-Trifluoracetat



1000 mg (3.77 mmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-L-phenylalanin wurden in 10 ml DMF gelöst und mit 457 mg (3.77 mmol) *N*-Methylbenzylamin, 2150 mg (5.65 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 657 µl *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min bei RT gerührt und anschließend im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und dreimal mit Wasser ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wurde durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Petrolether/Ethylacetat 3:1 als Laufmittel gereinigt.

Die Produktfraktionen wurden eingeengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Man erhielt so 1110 mg (75% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats *N*-Benzyl-N^{α}-(*tert.*-butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-phenylalaninamid.

HPLC (Methode 6): R_t = 2.1 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.14 min; MS (ESIpos): m/z = 369 $(M+H)^+$.

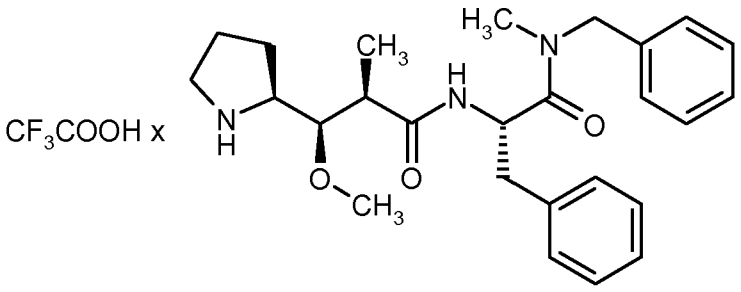
1108 mg (3.007 mmol) dieses Intermediats wurden in 30 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 10 ml Trifluoressigsäure versetzt und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt, der verbliebene Rückstand mit Dichlormethan verrührt und das Lösungsmittel abdestilliert. Der Rückstand wurde noch zweimal mit Pentan verrührt, das Lösungsmittel jeweils wieder abdekantiert und das der Titelverbindung schließlich im Hochvakuum getrocknet. Es wurden so 1075 mg (93% d. Th.) der Titelverbindung als ein Harz erhalten.

HPLC (Methode 6): R_t = 1.6 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.6 min; MS (ESIpos): m/z = 269 $(M+H)^+$.

Intermediat 18

N-Benzyl-N^{α}-{(2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}-*N*-methyl-L-phenylalaninamid-Trifluoracetat



Zunächst wurde (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert.*-Butoxycarbonyl)pyrrolidin-2-yl]-3-methoxy-2-methylpropansäure (Ausgangsverbindung 1) aus 141 mg (0.491 mmol) ihres Dicyclohexylamin-Salzes durch Aufnehmen in Ethylacetat und Ausschütteln mit 5%-iger wässriger Schwefelsäure freigesetzt. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde in 10 ml DMF aufgenommen und mit 187.6 mg (0.49 mmol) *N*-Benzyl-*N*-methyl-L-phenylalaninamid-Trifluoracetat (Intermediat 9), 190.3 mg (1.47 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) sowie 256 µl *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde 1 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde danach einge-

engt, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und die Lösung nacheinander mit gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung, gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wurde per Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Acetonitril/Wasser 30:1 als Eluent gereinigt. Die Produktfraktionen wurden eingeengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Man erhielt so 168 mg (64% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats *tert.*-Butyl-(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-({(2*S*)-1-[benzyl(methyl)amino]-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl}amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-carboxylat.

HPLC (Methode 6): R_t = 2.2 min;

LC-MS (Methode 2): R_t = 1.22 min; MS (ESIpos): m/z = 538 $(M+H)^+$.

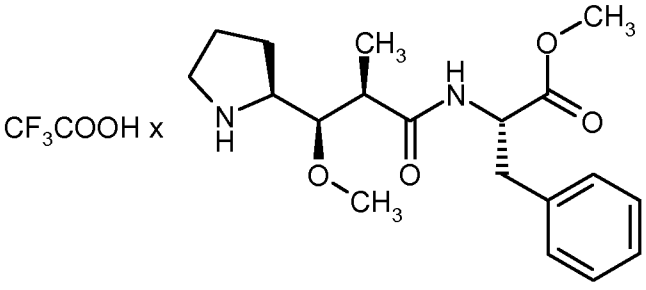
168 mg (0.312 mmol) dieses Intermediats wurden in 15 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 3 ml Trifluoressigsäure versetzt und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde zunächst mit Dichlormethan, dann mit Diethylether verrührt und das Lösungsmittel jeweils wieder abdestilliert. Nach Trocknen im Hochvakuum wurden 170 mg (99% d. Th.) der Titelverbindung als ein Harz erhalten.

HPLC (Methode 6): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.73 min; MS (ESIpos): m/z = 438 $(M+H)^+$.

Intermediat 19

Methyl-*N*-{(2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}-L-phenylalaninat-Trifluoracetat



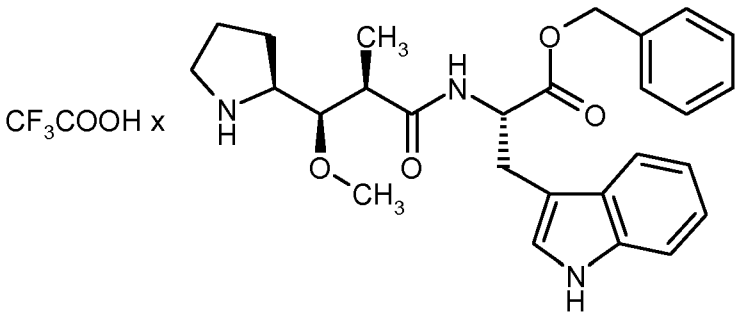
Die Titelverbindung wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 18 ausgehend von (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert.*-Butoxycarbonyl)pyrrolidin-2-yl]-3-methoxy-2-methylpropansäure (Ausgangsverbindung 1), die aus dem Dicyclohexylamin-Salz freigesetzt wurde, und Methyl-L-phenylalaninat-Hydrochlorid hergestellt.

HPLC (Methode 5): R_t = 0.6 min;

LC-MS (Methode 3): R_t = 1.17 min; MS (ESIpos): m/z = 349 $(M+H)^+$.

Intermediat 20

Benzyl-*N*-{(2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}-L-tryptophanat-Trifluoracetat



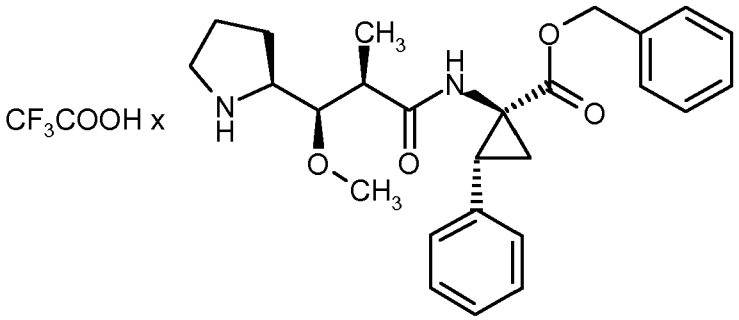
Die Titelverbindung wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 18 ausgehend von (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert*.-Butoxycarbonyl)pyrrolidin-2-yl]-3-methoxy-2-methylpropansäure (Ausgangsverbindung 1), die aus dem Dicyclohexylamin-Salz freigesetzt wurde, und Benzyl-L-tryptophanat hergestellt.

HPLC (Methode 6): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.8 min; MS (ESIpos): m/z = 464 $(M+H)^+$.

Intermediat 21

Benzyl-(1*S*,2*R*)-1-({(2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}amino)-2-phenylcyclopropancarboxylat-Trifluoracetat



Die Titelverbindung wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 18 ausgehend von (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert*.-Butoxycarbonyl)pyrrolidin-2-yl]-3-methoxy-2-methylpropansäure (Ausgangsver-

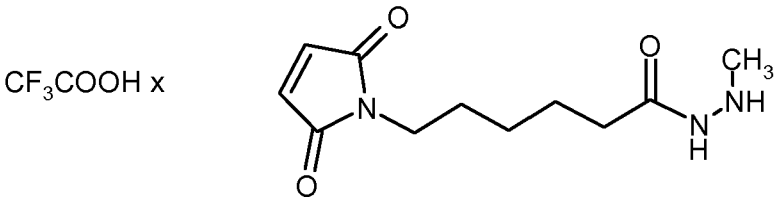
bindung 1), die aus dem Dicyclohexylamin-Salz freigesetzt wurde, und Benzyl-(1*S*,2*R*)-1-amino-2-phenylcyclopropancarboxylat hergestellt. Benzyl-(1*S*,2*R*)-1-amino-2-phenylcyclopropancarboxylat wurde zuvor nach Standardmethoden durch Veresterung von kommerziell erhältlicher (1*S*,2*R*)-1-[(*tert.*-Butoxycarbonyl)amino]-2-phenylcyclopropancarbonsäure mit Benzylalkohol und anschließende Boc-Abspaltung mit Trifluoressigsäure hergestellt.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.5 min;

LC-MS (Methode 2): R_t = 0.93 min; MS (ESIpos): m/z = 437 $(M+H)^+$.

Intermediat 22

6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-N'-methylhexanhydrazid-Trifluoracetat



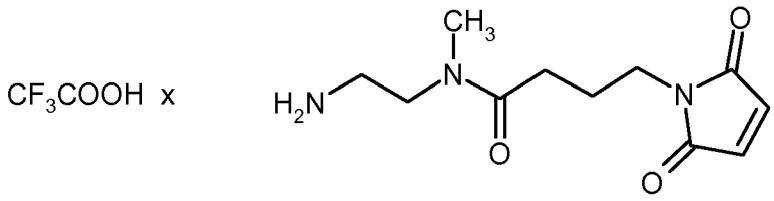
100 mg (473 µmol) 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexansäure wurden in 71 µl DMF gelöst und anschließend mit 139 mg (947 µmol) tert.-Butyl-1-methylhydrazincarboxylat, 182 mg (947 µmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid und 145 mg (947 µmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Nach Lyophilisation aus Dioxan/Wasser wurden 129 mg (80% d. Th.) des geschützten Intermediats als farbloser Schaum erhalten.

Anschließend wurden die 129 mg (380 µmol) mit 2 ml Trifluoressigsäure in 8 ml Dichlormethan deblockiert. Nach 1 h Rühren bei RT wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde aus Acetonitril/Wasser lyophilisiert und es verblieben 125 mg (83% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.38 min; MS (ESIpos): m/z = 240 $(M+H)^+$

Intermediat 23

N-(2-Aminoethyl)-4-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-N-methylbutanamid-Trifluoracetat



Zunächst wurden 35 mg (164 µmol) tert.-Butyl-[2-(methylamino)ethyl]carbamat-Hydrochlorid-Trifluoracetat, 30 mg (164 µmol) 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)butansäure, 75 mg (197 µmol) O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 57 µl *N,N*-Diisopropylethylamin in 5 ml DMF zusammengegeben und über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden eingeengt und durch Lyophilisation aus Dioxan/Wasser wurden 35 mg (63% d.Th.) des geschützten Intermediats erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.6 min;

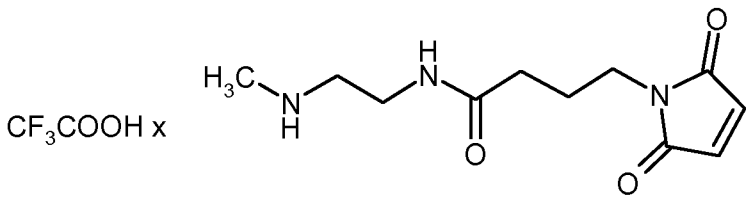
LC-MS (Methode 1): R_t = 0.71 min; MS (ESIpos): m/z = 340 $(M+H)^+$.

Anschließend wurde die gesamte Menge des geschützten Intermediats mit 1ml Trifluoressigsäre in 5 ml Dichlormethan deblockiert, wobei 28 mg (77% d.Th.) der Titelverbindung erhalten wurden.

LC-MS (Methode 3): R_t = 0.75 min; MS (ESIpos): m/z = 240 $(M+H)^+$.

Intermediat 24

4-(2,5Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-N-[2-(methylamino)ethyl]butanamid-Trifluoracetat



Zunächst wurden 35 mg (164 µmol) tert.-Butyl-(2-aminoethyl)methylcarbamathydrochlorid-Trifluoracetat, 30 mg (164 µmol) 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)butansäure, 75 mg (197 µmol) O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 57 µl *N,N*-Diisopropylethylamin in 5 ml DMF zusammengegeben und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden eingeengt und durch

Lyophilisation aus Dioxan/Wasser wurden 51 mg (91% d.Th.) des geschützten Intermediats erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.6 min;

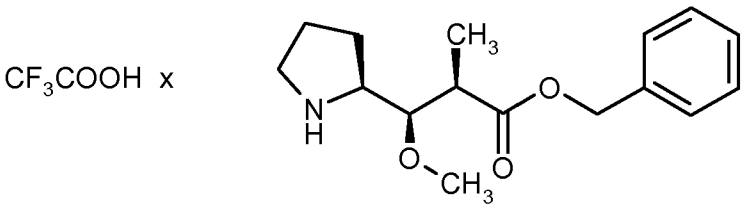
LC-MS (Methode 1): R_t = 0.77 min; MS (ESIpos): m/z = 340 $(M+H)^+$.

Anschließend wurde die gesamte Menge mit 1 ml Trifluoressigsäre in 5 ml Dichlormethan entschützt, wobei 45 mg (69% d.Th.) der Titelverbindung erhalten wurden.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.19 min; MS (ESIpos): m/z = 240 $(M+H)^+$.

Intermediat 25

Benzyl-(2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoat-Trifluoracetat



Zunächst wurde (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert.*-Butoxycarbonyl)pyrrolidin-2-yl]-3-methoxy-2-methylpropansäure aus 1.82 g (3.88 mmol) ihres Dicyclohexylamin-Salzes durch Aufnehmen in 150 ml Ethylacetat und Ausschütteln mit 100 ml 0.5 %-iger Schwefelsäure freigesetzt. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde in 10 ml Dioxan und 10 ml Wasser aufgenommen und mit 1517 mg (4.66 mmol) Cäsiumcarbonat versetzt, 5 min im Ultraschallbad behandelt und anschließend im Vakuum eingeengt und einmal mit DMF nachdestilliert. Der Rückstand wurde dann in 15 ml DMF aufgenommen und mit 1990 mg (11.64 mmol) Benzylbromid versetzt. Die Mischung wurde 15 min im Ultraschallbad behandelt und anschließend im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde zwischen Ethylacetat und Wasser verteilt, die organische Phase abgetrennt und mit gesättigter Natriumchloridlösung ausgeschüttelt und anschließend eingeengt. Rer Rückstand wurde dann durch präparative HPLC gereinigt. Man erhielt so 1170 mg (80% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats.

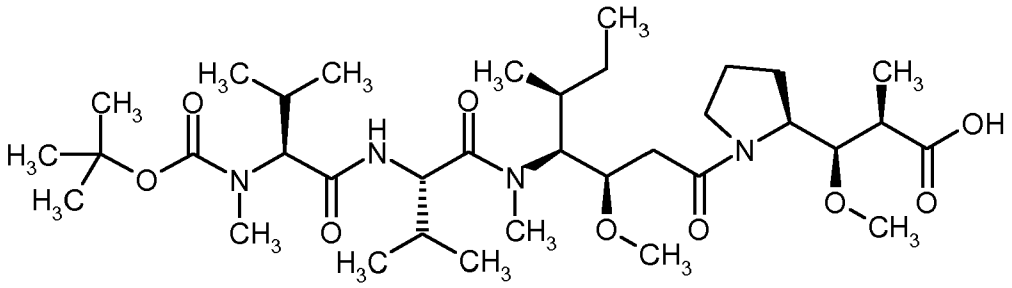
Anschließend wurden diese 1170 mg sofort mit 5 ml Trifluoressigsäure in 15 ml Dichlormethan entschützt. Nach 15 min Rühren bei RT wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde aus Dioxan lyophilisiert. Nach Trocknung im Hochvakuum verblieben 1333 mg (84% d.Th.) der Titelverbindung als gelbes Öl.

HPLC (Methode 6): R_t = 1.5 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.59 min; MS (ESIpos): m/z = 278 $(M+H)^+$.

Intermediat 26

N-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



1200 mg (2.33 mmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 5) wurden mit 910.8 mg (2.33 mmol) Benzyl-(2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoat-Trifluoracetat (Intermediat 14), 1327 mg (3.49 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluroniumhexafluorophosphat und 2027 µl *N*,*N*-Diisopropylethylamin in 50 ml DMF zusammengegeben und 5 min bei RT gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der verbliebene Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und nacheinander mit 5%-iger wässriger Zitronensäure-Lösung und gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde abgetrennt und eingeengt. Der Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Die Produktfraktionen wurden vereinigt, eingeengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es wurden so 1000 mg (55% d. Th.) des Benzylester-Intermediats *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-(benzyloxy)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als ein Harz erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.56 min; MS (ESIpos): m/z = 775 $(M+H)^+$.

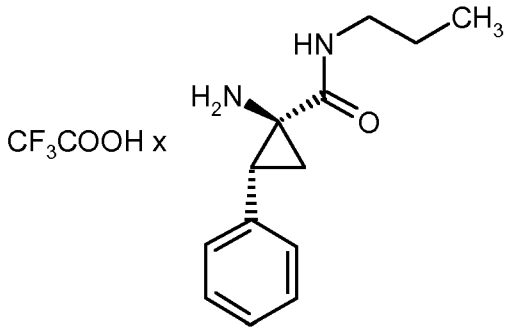
Die gesamte erhaltene Menge dieses Intermediats wurde in 25 ml einer Mischung aus Methanol und Dichlormethan (20:1) aufgenommen und die Benzylester-Gruppe durch Hydrierung unter Wasserstoff-Normaldruck mit 10% Palladium auf Aktivkohle als Katalysator entfernt. Nach 30 min Rühren bei RT wurde der Katalysator abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingeengt. Man erhielt 803 mg (91% d. Th.) der Titelverbindung als weißen Feststoff.

HPLC (Methode 6): R_t = 2.1 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.24 min; MS (ESIpos): m/z = 685 $(M+H)^+$.

Intermediat 27

(1*S*,2*R*)-1-Amino-2-phenyl-*N*-propylcyclopropancarboxamid-Trifluoracetat



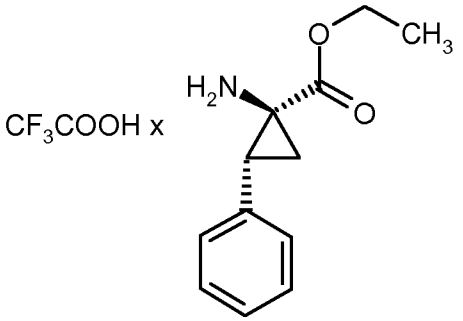
Die Titelverbindung wurde durch Kupplung von kommerziell erhältlicher (1*S*,2*R*)-1-[(*tert.*-Butoxycarbonyl)amino]-2-phenylcyclopropancarbonsäure mit *n*-Propylamin in Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) und nachfolgende Boc-Abspaltung mit Trifluoressigsäure hergestellt (Ausbeute 85% d. Th. über beide Stufen).

HPLC (Methode 6): R_t = 1.2 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.52 min; MS (ESIpos): m/z = 219 $(M+H)^+$.

Intermediat 28

Ethyl-(1*S*,2*R*)-1-amino-2-phenylcyclopropancarboxylat-Trifluoracetat

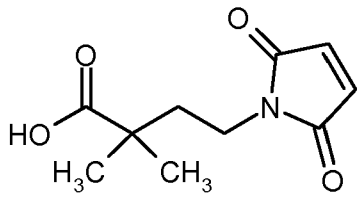


Die Titelverbindung wurde nach Standardmethoden durch Veresterung von kommerziell erhältlicher (1*S*,2*R*)-1-[(*tert.*-Butoxycarbonyl)amino]-2-phenylcyclopropancarbonsäure mit Ethanol und anschließende Boc-Abspaltung mit Trifluoressigsäure hergestellt.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.50 min; MS (ESIpos): m/z = 206 $(M+H)^+$.

Intermediat 29

4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-2,2-dimethylbutansäure

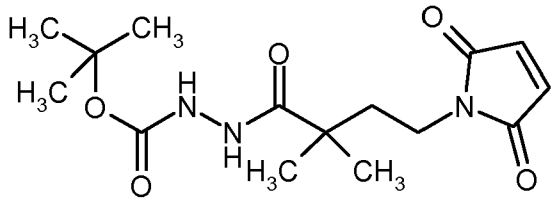


Zu einer Lösung von 1.39 g (8.95 mmol) N-Methoxycarbonylmaleinimid in 44 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung wurden bei 0°C 1.5 g (8.95 mmol) 4-Amino-2,2-dimethylbuttersäure gegeben und 40 min nachgerührt. Anschließend wurde das Kühlbad entfernt und das Reaktionsgemisch 1 h weitergerührt. Unter Eiskühlung wurde das Reaktionsgemisch dann durch Zugabe von Schwefelsäure auf pH 3 eingestellt und mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und eingeengt. Es wurden 1.17 g (79%ig, 49% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.64 min; m/z = 212 $(M+H)^+$.

Intermediat 30

tert.-Butyl-2-[4-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-2,2-dimethylbutanoyl]hydrazincarboxylat

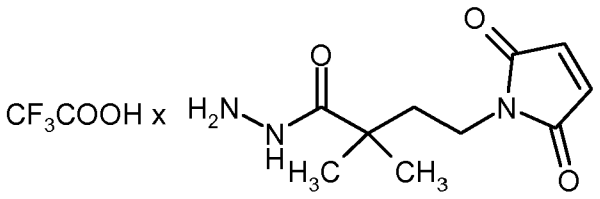


Zu einer Lösung von 50 mg (237 µmol) 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-2,2-dimethylbutansäure in 2 ml THF wurden bei 0°C zunächst 26 µl (237 µmol) 4-Methylmorpholin und anschließend 31 µl (237 µmol) Isobutylchloroformiat gegeben. Nach Entfernen des Kühlbades und 15 min. Nachrühren bei RT wurden 31.3 mg (237 µmol) tert.-Butyloxycarbonylhydrazid zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht gerührt und anschließend eingeengt. Der Rückstand wurde per präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 50.8 mg (66% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.71 min; m/z = 324 $(M-H)^-$.

Intermediat 31

4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-2,2-dimethylbutanhydrazid-Trifluoracetat

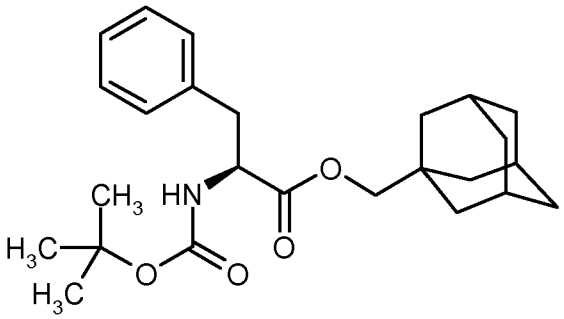


50 mg (154 mmol) *tert.*-Butyl-2-[4-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-2,2-dimethylbutanoyl]hydrazincarboxylat wurden in 2 ml Dichlormethan gelöst und mit 0.4 ml Trifluoressigsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min bei RT gerührt und anschließend eingeengt. Es wurden 55.2 mg (93%ige Reinheit, 99% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.36 min; m/z = 226 $(M+H)^+$.

Intermediat 32

Adamantan-1-ylmethyl-*N*-(*tert.*-butoxycarbonyl)-L-phenylalaninat

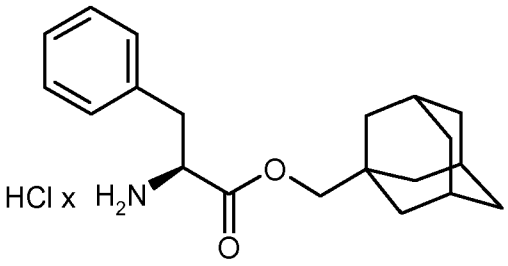


Zu einer Lösung von 500 mg (1.89 mmol) *N*-Boc-L-Phenylalanin in 25 ml Dichlormethan wurden bei RT 1192 mg (6.2 mmol) EDC, 578 µl (4.1 mmol) Triethylamin, 345 mg (2.8 mmol) DMAP und 345 mg (2.1 mmol) 1-Adamantylmethanol gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht gerührt, dann mit 50 ml Dichlormethan verdünnt und nacheinander mit 10%-iger wässriger Zitronensäure-Lösung, Wasser und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, anschließend eingeengt und der Rückstand durch präparative HPLC gereinigt. Es wurden 769 mg (90% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 2): R_t = 1.84 min; m/z = 414 $(M+H)^+$.

Intermediat 33

Adamantan-1-ylmethyl-*L*-phenylalaninat-Hydrochlorid

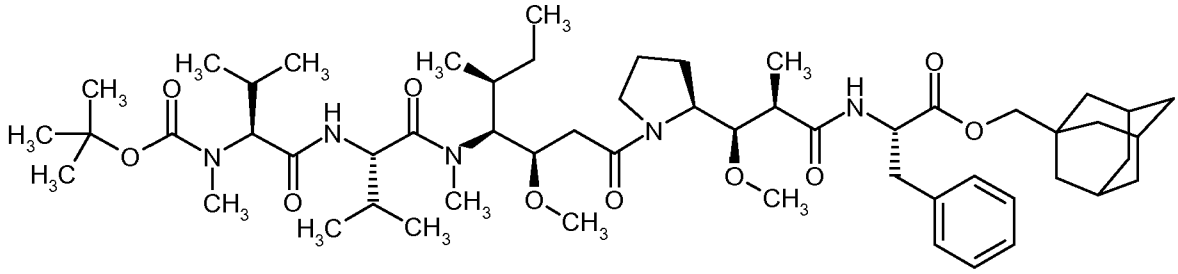


769 mg (1.86 mmol) Adamantan-1-ylmethyl-N-(*tert.*-butoxycarbonyl)-*L*-phenylalaninat (Intermediat 13) wurden in 25 ml einer 4 N Lösung von Chlorwasserstoff in Dioxan gelöst und 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch eingeengt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Es wurden 619 mg (95% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.82 min; m/z = 314 $(M+H)^+$.

Intermediat 34

N-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-N-methyl-*L*-valyl-N-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(adamantan-1-ylmethoxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-*L*-valinamid

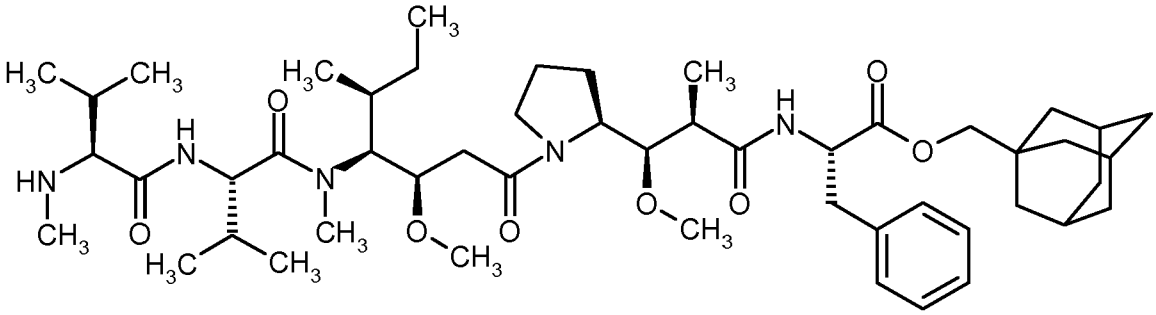


Zu einer Lösung von 20 mg (29 µmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid in 1 ml DMF wurden bei RT 15.3 µl (88 µmol) *N,N*-Diisopropylethylamin, 6.7 mg (44 µmol) HOBt und 6.7 mg (35 µmol) EDC gegeben und die Mischung 30 min lang gerührt. Anschließend wurden 10.1 mg (32 µmol) Adamantan-1-yl-*L*-phenylalaninat-Hydrochlorid hinzugefügt. Nach Rühren über Nacht wurde das Reaktionsgemisch direkt über präparative HPLC in seine Komponenten aufgetrennt. Es wurden 27.5 mg (93% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.70 min; m/z = 980 $(M+H)^+$.

Intermediat 35

N-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(adamantan-1-ylmethoxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



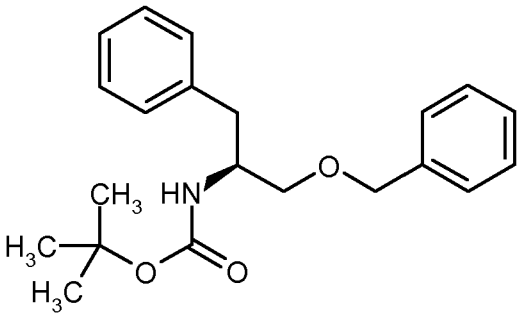
x CF_3COOH

27.5 mg (28 µmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(adamantan-1-ylmethoxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 1.8 ml Dichlormethan gelöst und mit 361 µl TFA versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min gerührt und dann eingeengt. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen und lyophilisiert. Es wurden 22.7 mg (81% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.14 min; m/z = 880 $(M+H)^+$.

Intermediat 36

tert.-Butyl-[(2*S*)-1-(benzyloxy)-3-phenylpropan-2-yl]carbamat



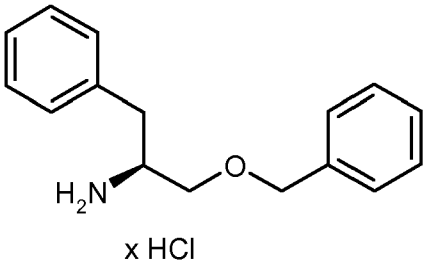
Unter Argonatmosphäre wurden 500 mg (1.99 mmol) *N*-Boc-*L*-Phenylalaninol in 5 ml DMF gelöst und auf 0°C gekühlt. Anschließend wurden 159 mg (3.98 mmol) einer 60%-igen Suspension von Natriumhydrid in Paraffinöl zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde bis zur Beendigung der Gasentwicklung gerührt und anschließend mit 260 µl (2.19 mmol) Benzylbromid versetzt. Das Kühlbad

wurde entfernt und die Reaktionsmischung 2 h bei RT gerührt. Danach wurde das Reaktionsgemisch eingeengt, der Rückstand in Eiswasser aufgenommen und das Gemisch mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wurde mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 226 mg (33% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.28 min; m/z = 342 $(M+H)^+$.

Intermediat 37

(2*S*)-1-(Benzyloxy)-3-phenylpropan-2-amin-Hydrochlorid

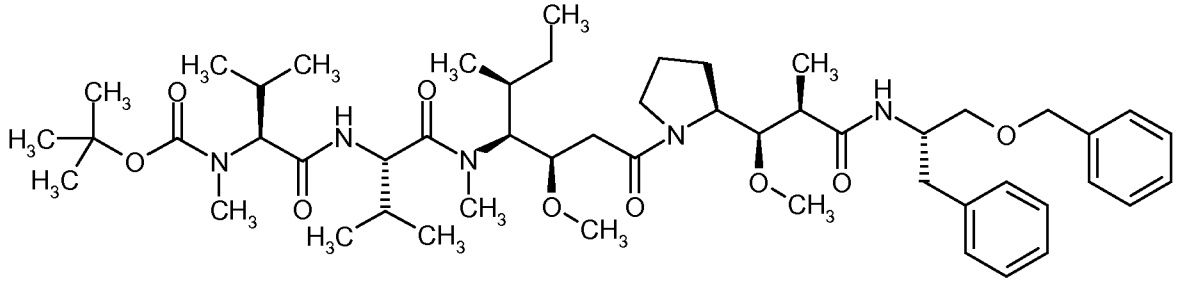


220 mg (644 µmol) *tert.*-Butyl-[(2*S*)-1-(benzyloxy)-3-phenylpropan-2-yl]carbamat wurden in 11 ml einer 4 N Lösung von Chlorwasserstoff in Dioxan gelöst und 1 h bei RT gerührt. Dann wurde das Reaktionsgemisch eingeengt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Es wurden 138 mg (77% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.65 min; m/z = 242 $(M+H)^+$.

Intermediat 38

N-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzyloxy)-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

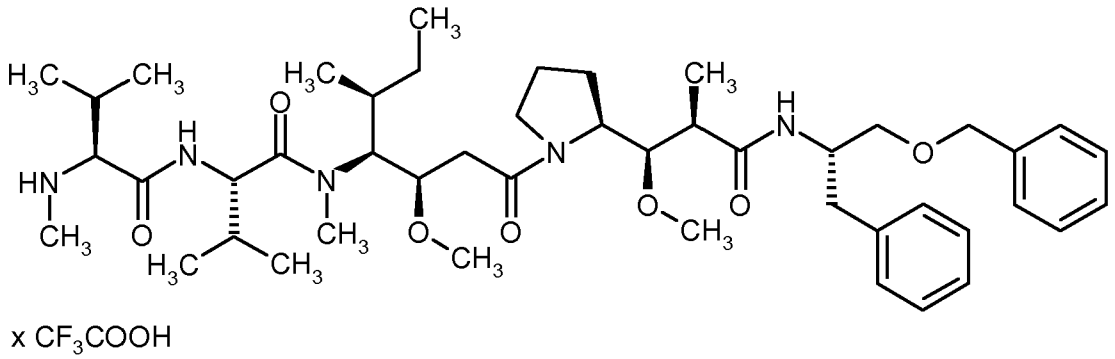


Zu einer Lösung von 20 mg (29 µmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid in 1 ml DMF wurden bei RT 15.3 µl (88 µmol) *N,N*-Diisopropylethylamin, 6.7 mg (44 µmol) HOBt und 6.7 mg (35 µmol) EDC gegeben und die Mischung 30 min lang gerührt. Anschließend wurden 7.8 mg (32 µmol) (2*S*)-1-(Benzyloxy)-3-phenylpropan-2-amin-Hydrochlorid hinzugefügt. Nach Rühren über Nacht wurde das Reaktionsgemisch direkt über präparative HPLC in seine Komponenten aufgetrennt. Es wurden 26 mg (98% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): Rt = 1.51 min; m/z = 909 (M+H)+.

Intermediat 39

N-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzyloxy)-3-phenylpropan-2-yl]-amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat

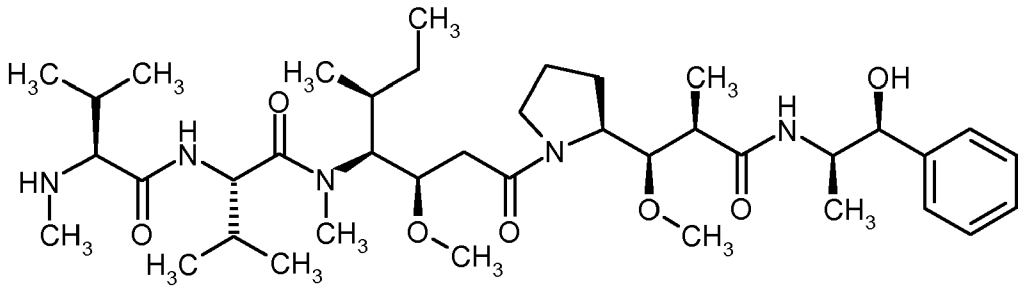


26 mg (29 µmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzyloxy)-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 1.8 ml Dichlor-methan gelöst und mit 370 µl TFA versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min bei RT gerührt und anschließend eingeengt. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen und lyophilisiert. Es wurden 26.4 mg (quant.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.97 min; m/z = 809 $(M+H)^+$.

Intermediat 40

N-Methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(1S,2R)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



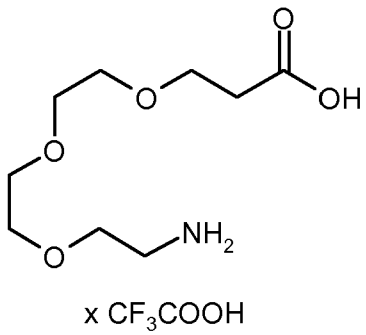
50 mg (70µmol) von Intermediat 26 und 11 mg (70 µmol) (1S, 2R)-2-Amino-1-phenylpropan-1-ol in 10 ml DMF wurden mit 42 mg (0.11 µmol) O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 25 µL *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt und das Reaktionsgemisch 5 min bei RT gerührt. Anschließend wurde eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Vereinigung der entsprechenden Fraktionen, Einengen und Trocknung im Hochvakuum wurden 49 mg (81%) des geschützten Intermediats erhalten. Anschließend wurde die Boc-Gruppe nach bekannten Bedingungen mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan abgespalten. Nach Einengen erfolgte die Reinigung der Titelverbindung durch präparative HPLC und es wurden 26 mg (52%) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.65 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.77 min; MS (ESIpos): m/z = 718 $(M+H)^+$.

Intermediat 41

3-{2-[2-(2-Aminoethoxy)ethoxy]ethoxy}propansäure-Trifluoracetat



x CF_3COOH

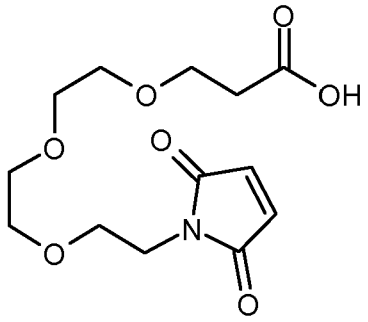
150 mg (541 µmol) *tert.*-Butyl-3-{2-[2-(2-aminoethoxy)ethoxy]ethoxy}propanoat wurden in 3 ml Dichlormethan gelöst, mit 1.5 ml Trifluoressigsäure versetzt und 1 h bei RT gerührt, anschließend wurde das Reaktionsgemisch eingeengt.

Es wurden 181 mg (100% d.Th.) Produkt erhalten.

MS (EI): m/z 222 $(M+H)^+$

Intermediat 42

3-(2-{2-[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)ethoxy]ethoxy}ethoxy)propansäure



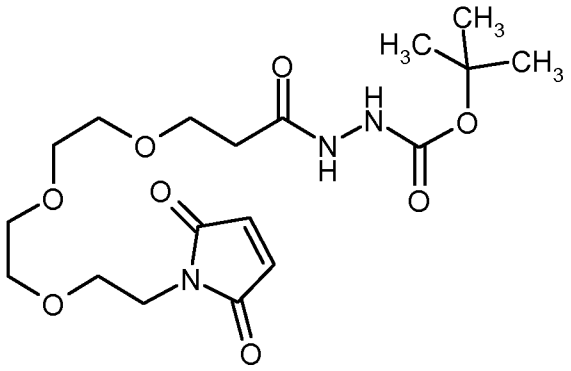
186 mg (555 µmol) 3-{2-[2-(2-Aminoethoxy)ethoxy]ethoxy}propansäure-Trifluoracetat wurden in 2.6 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung gelöst und bei 0°C mit 86 mg (555 µmol) N-Methoxycarbonylmaleinimid versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 40 min. bei 0 °C und 1 h bei RT gerührt, dann wieder auf 0°C abgekühlt, mit Schwefelsäure auf pH 3 eingestellt und mit 3x 25 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und eingeengt.

Es wurden 126 mg (75% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.53 min; m/z = 302 $(M+H)^+$.

Intermediat 43

tert.-Butyl-15-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-4-oxo-7,10,13-trioxa-2,3-diazapentadecan-1-oat



125 mg (417 µmol) 3-(2-{2-[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)ethoxy]ethoxy}ethoxy)propansäure wurden bei 0°C in 2.1 ml THF gelöst und mit 46 µl (417 mmol) 4-Methylmorpholin und 54.5 µl (417 µmol) Isobutylchloroformiat versetzt. Das Eisbad

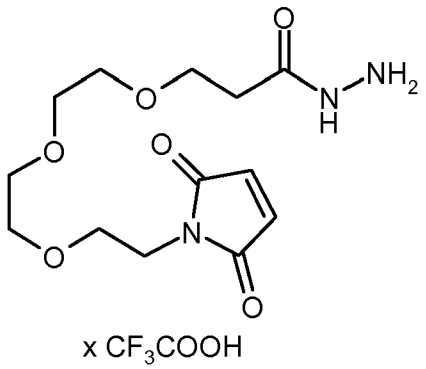
wurde entfernt und das Reaktionsgemisch 30 min. bei RT gerührt. Anschließend wurden bei 0°C 55 mg (417 µmol) tert.-Butyloxycarbonylhydrazid zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht auf RT erwärmt, eingeengt und per präparativer HPLC gereinigt.

Es wurden 60 mg (33% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.66 min; m/z = 416 $(M+H)^+$.

Intermediat 44

3-(2-{2-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)ethoxy]ethoxy}ethoxy)propanhydrazid-Trifluoracetat



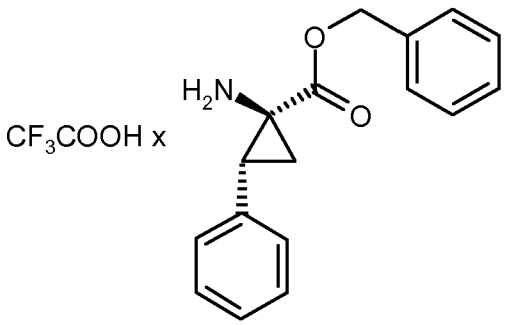
60 mg (145 µmol) *tert.*-Butyl-15-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-4-oxo-7,10,13-trioxa-2,3-diazapentadecan-1-oat wurden in 1 ml Dichlormethan gelöst und mit 0.2 ml Trifluoressigsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min. bei RT gerührt und anschließend eingeengt.

Es wurden 62 mg (100% d.Th.) Produkt erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.35 min; m/z = 316 $(M+H)^+$.

Intermediat 45

Benzyl-(1*S*,2*R*)-1-amino-2-phenylcyclopropancarboxylat-Trifluoracetat

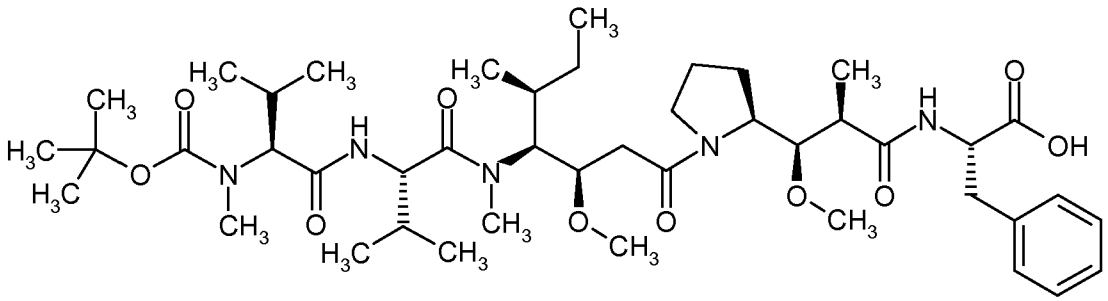


Die Titelverbindung wurde nach Standardmethoden durch Veresterung von kommerziell erhältlicher (1*S*,2*R*)-1-[(*tert.*-Butoxycarbonyl)amino]-2-phenylcyclopropancarbonsäure mit Benzylalkohol und anschließende Boc-Abspaltung mit Trifluoressigsäure hergestellt.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.72 min; MS (ESIpos): m/z = 268 $(M+H)^+$.

Intermediat 46

N-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(1*S*)-1-carboxy-2-phenylethyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



383 mg (0.743 mmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 8) wurden mit 485 mg (0.743 mmol) Benzyl-*N*-{(2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}-L-phenylalaninat-Trifluoracetat (Intermediat 12), 424 mg (1.114 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 388 µl *N*,*N*-Diisopropylethylamin in 15 ml DMF zusammengegeben und 10 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der verbliebene Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und nacheinander mit 5%-iger wässriger Zitronensäure-Lösung und gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde abgetrennt, eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Die Produktfraktionen wurden vereinigt, eingeengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es wurden 335 mg (48% d. Th.) des Benzylester-Intermediats als ein Schaum erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.49 min; MS (ESIpos): m/z = 922 $(M+H)^+$.

100 mg (0.11 mmol) dieses Intermediats wurden in 15 ml Methanol aufgenommen und die Benzylester-Gruppe durch Hydrierung unter Wasserstoff-Normaldruck mit 10% Palladium auf Aktivkohle als Katalysator entfernt. Nach 1 h Rühren bei RT wurde der Katalysator abfiltriert und das Filtrat

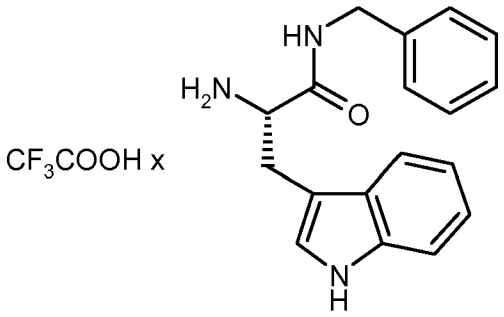
im Vakuum eingeengt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 85 mg (94% d. Th.) der Titelverbindung als Feststoff erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.4 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.24 min; MS (ESIpos): m/z = 832 $(M+H)^+$.

Intermediat 47

N-Benzyl-L-tryptophanamid-Trifluoracetat



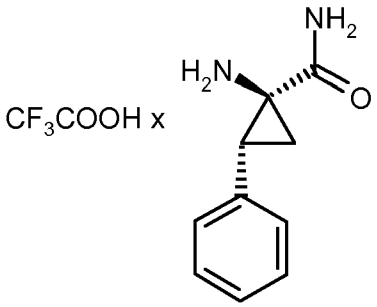
202 mg (0.5 mmol) 2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl-*N*-(tert.-butoxycarbonyl)-L-tryptophanat und 45 mg (0.42 mmol) Benzylamin wurden in 10 ml DMF gelöst und mit 110 µl (630 µmol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 3 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt und der Rückstand durch Flash-Chromatographie an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/17% aq. Ammoniak 20:0.5:0.05). Die entsprechenden Fraktionen wurden vereinigt und eingeengt. Der resultierende Rückstand wurde mit Diethylether digeriert und dann im Hochvakuum getrocknet. Anschließend wurde dieser Rückstand in 10 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 3 ml wasserfreier Trifluoressigsäure versetzt. Nach 45 min Rühren bei RT wurde eingeengt und der Rückstand durch präparative HPLC gereinigt. Nach Trocknen im Hochvakuum wurden 117 mg (57% d. Th. über beide Stufen) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.6 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.66 min; MS (ESIpos): m/z = 294 $(M+H)^+$.

Intermediat 48

(1*S*,2*R*)-1-Amino-2-phenylcyclopropancarboxamid-Trifluoracetat



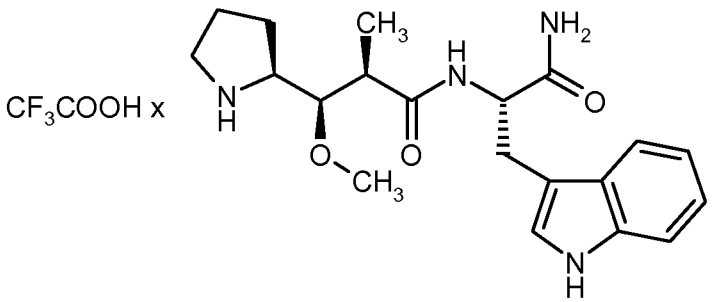
50 mg (180 µmol) kommerziell erhältlicher (1*S*,2*R*)-1-[(*tert.*-Butoxycarbonyl)amino]-2-phenylcyclopropancarbonsäure wurden in 5 ml DMF gelöst, mit 94 µl (541 µmol) *N,N*-Diisopropylethylamin, 31 mg (270 µmol) *N*-Hydroxysuccinimid sowie 41.5 mg (216 µmol) EDC versetzt und anschließend über Nacht bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde danach eingeengt, der Rückstand in Dioxan aufgenommen, mit 71 mg (901 µmol) Ammoniumhydrogencarbonat versetzt und das Reaktionsgemisch dann 3 Tage bei RT stehen gelassen. Das Reaktionsgemisch wurde danach mit einer 1:1-Mischung aus Ethylacetat und Wasser verdünnt. Die organische Phase wurde abgetrennt, über Magnesiumsulfat getrocknet und eingeengt. Der resultierende Rückstand wurde anschließend in 3 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 3 ml wasserfreier Trifluoressigsäure versetzt. Nach 1 h Rühren bei RT wurde eingeengt. Der Rückstand wurde mit Pentan verrührt, abgesaugt und aus Dioxan lyophilisiert. Auf diese Weise wurden 32 mg (62% d. Th. über beide Stufen) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 6): R_t = 0.38 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.20 min; MS (ESIpos): m/z = 177 $(M+H)^+$.

Intermediat 49

N^{α}-{(2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}-L-tryptophanamid-Trifluoracetat



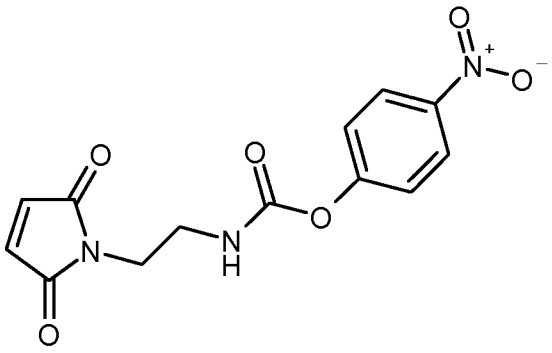
Die Titelverbindung wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 13 aus der Ausgangsverbindung 1 und L-Tryptophanamid-Hydrochlorid hergestellt.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.4 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.92 min; MS (ESIpos): m/z = 473 $(M+H)^+$.

Intermediat 50

4-Nitrophenyl-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)ethyl]carbamat



813 mg (3.1 mmol) Triphenylphosphin wurden in 25 ml THF gelöst und unter Argon auf -70°C abgekühlt. Nach tropfenweiser Zugabe von 627 mg (3.1 mmol) Diisopropylazodicarboxylat wurde die Mischung 5 min gerührt. Anschließend wurden 500 mg (3.1 mmol) tert.-Butyl-(2-aminoethyl)carbamat gelöst in 5 ml THF zugetropft und das Reaktionsgemisch weitere 5 min bei -70°C gerührt. Dann wurden 136.6 mg (1.55 mmol) 2,2 Dimethyl-1-propanol gelöst in 1 ml THF sowie 301 mg (3.1 mmol) Maleinimid zugesetzt, das Reaktionsgemisch weitere 10 min bei -70°C gerührt und anschließend auf RT erwärmt. Nach weiteren 16h Rühren bei RT wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Man erhielt 463 mg (62%) des geschützten Intermediats.

Nach Entfernen der Boc-Schutzgruppe unter Standardbedingungen wurden 652 mg von 1-(2-aminoethyl)-1*H*-pyrrol-2,5-dion als Trifluoracetat erhalten.

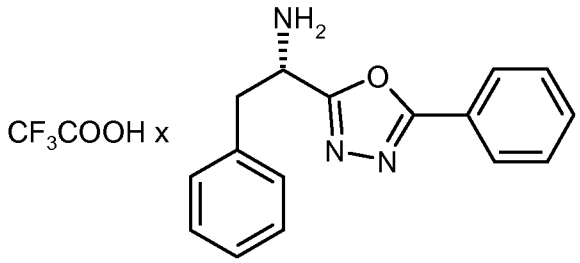
112.9 mg (543 µmol) Chlorameisensäurenitrophenylester wurden in 30 ml THF gelöst und nach Zugabe von 100 mg (271.6 µmol) 1-(2-Aminoethyl)-1*H*-pyrrol-2,5-dion-Trifluoracetat 30 min bei RT gerührt. Die Mischung wurde filtriert und das Filtrat wurde bis zur Trockne eingeengt und anschließend mit Diethylether aufgeschlämmt. Nach Absaugen und Trocknen wurden 60 mg (95% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): Rt = 0.65 min;

LC-MS (Methode 1): Rt = 0.74 min; MS (ESIpos): m/z = 306 (M+H)+.

Intermediat 51

(*1S*)-2-Phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethanamin-Trifluoracetat



200 mg (0.75 mmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-L-phenylalanin wurden bei 0°C in 5.5 ml Dichlormethan vorgelegt und mit 128 mg (0.79 mmol) 1,1'-Carbonyldiimidazol versetzt. Nach 30 min wurden 103 mg (0.75 mmol) Benzoylhydrazid zugegeben. Nach weiteren 45 min bei 0°C wurden schließlich 500 mg (1.5 mmol) Tetrabromkohlenstoff und 395 mg (1.5 mmol) Triphenylphosphin hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde zunächst 2 h bei 0°C und dann über Nacht bei RT nachgerührt. Das Gemisch wurde anschließend am Rotationsverdampfer eingeengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Das so erhaltene Rohprodukt wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 217 mg (78% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats *tert.*-Butyl-[(1*S*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]carbamat erhalten.

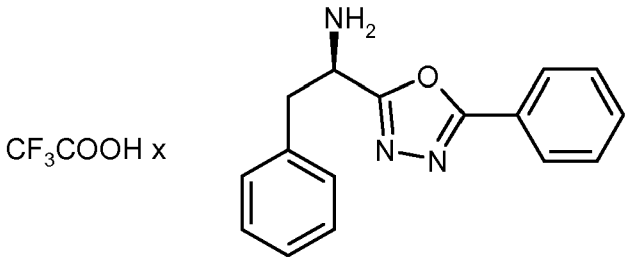
LC-MS (Methode 12): R_t = 1.15 min; MS (ESIpos): m/z = 366 $(M+H)^+$

217 mg (0.59 mmol) dieses Intermediats wurden in 3 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 0.6 ml Trifluoressigsäure versetzt und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum weiter getrocknet und dann aus Dioxan lyophilisiert. Auf diese Weise wurden 214 mg (90% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.62 min; MS (ESIpos): m/z = 266 $(M+H)^+$

Intermediat 52

(*1R*)-2-Phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethanamin-Trifluoracetat



200 mg (0.75 mmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-D-phenylalanin wurden bei 0°C in 5.5 ml Dichlormethan vorgelegt und mit 128.3 mg (0.79 mmol) 1,1'-Carbonyldiimidazol versetzt. Nach 30 min wurden 103 mg (0.75 mmol) Benzoylhydrazid zugegeben. Nach weiteren 45 min bei 0°C wurden schließlich 500 mg (1.5 mmol) Tetrabromkohlenstoff und 395 mg (1.5 mmol) Triphenylphosphin hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wurde zunächst 2 h bei 0°C und dann über Nacht bei RT nachgerührt. Das Gemisch wurde anschließend am Rotationsverdampfer eingeengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Das so erhaltene Rohprodukt wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 219 mg (80% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats *tert.*-Butyl-[(1*R*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]carbamat erhalten.

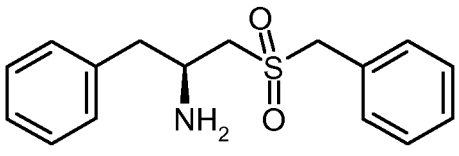
LC-MS (Methode 2): R_t = 1.36 min; MS (ESIpos): m/z = 366 $(M+H)^+$

219 mg (0.6 mmol) dieses Intermediats wurden in 3 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 0.6 ml Trifluoressigsäure versetzt und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum weiter getrocknet und dann aus Dioxan lyophilisiert. Auf diese Weise wurden 196 mg (86% d. Th.) der Titelverbindung als Feststoff erhalten.

HPLC (Methode 10): R_t = 2.41 min

Intermediat 53

(*2S*)-1-(Benzylsulfonyl)-3-phenylpropan-2-amin



200 mg (1.13 mmol) (4*S*)-4-Benzyl-1,3-oxazolidin-2-on wurden in 3 ml *tert.*-Butanol vorgelegt und mit 280 mg (2.26 mmol) Benzylmercaptan versetzt. Das Gemisch wurde anschließend 2 Tage unter Rückfluss erhitzt. Danach wurde das Reaktionsgemisch am Rotationsverdampfer eingeengt und das

erhaltene Intermediat (2*S*)-1-(Benzylsulfanyl)-3-phenylpropan-2-amin ohne Aufarbeitung direkt weiter umgesetzt.

HPLC (Methode 10): R_t = 2.63 min

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.67 min; MS (ESIpos): m/z = 258 $(M+H)^+$

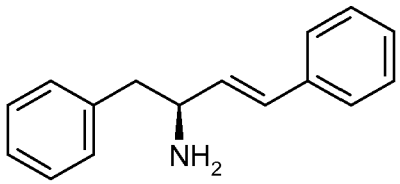
Das oben erhaltene rohe Intermediat wurde in einer Lösung von 2 ml 30%-igem Wasserstoffperoxid und 5 ml Ameisensäure gelöst und 12 h bei RT gerührt. Dann wurde das Reaktionsgemisch auf gesättigte Natriumsulfat-Lösung gegeben und dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeengt. Das erhaltene Rohprodukt wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden so 343 mg (61% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 10): R_t = 2.40 min;

LC-MS (Methode 12): R_t = 0.65 min; MS (ESIpos): m/z = 290 $(M+H)^+$

Intermediat 54

(*2S,3E*)-1,4-Diphenylbut-3-en-2-amin



552.7 mg (9.85 mmol) Kaliumhydroxid wurden in Methanol gelöst, auf 1.1 g neutrales Aluminiumoxid aufgezogen und dann im Hochvakuum getrocknet. Zu einer Lösung von 240 mg (0.82 mmol) (2*S*)-1-(Benzylsulfonyl)-3-phenylpropan-2-amin und 1.56 g des so präparierten Kaliumhydroxid auf Aluminiumoxid in 6.2 ml *n*-Butanol wurden bei 5-10°C 307 µl (3.3 mmol) Dibrom-difluormethan getropft. Die Reaktionsmischung wurde 2 h bei RT gerührt, dann über Celite filtriert und der Rückstand gut mit Dichlormethan nachgewaschen. Das Filtrat wurde eingeengt und der resultierende Rückstand im Vakuum getrocknet. Das so erhaltene Rohprodukt wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 98 mg (35% d. Th.) der Titelverbindung mit einem *E/Z*-Diastereomerenverhältnis von 4:1 erhalten.

HPLC (Methode 10): R_t = 2.46 min;

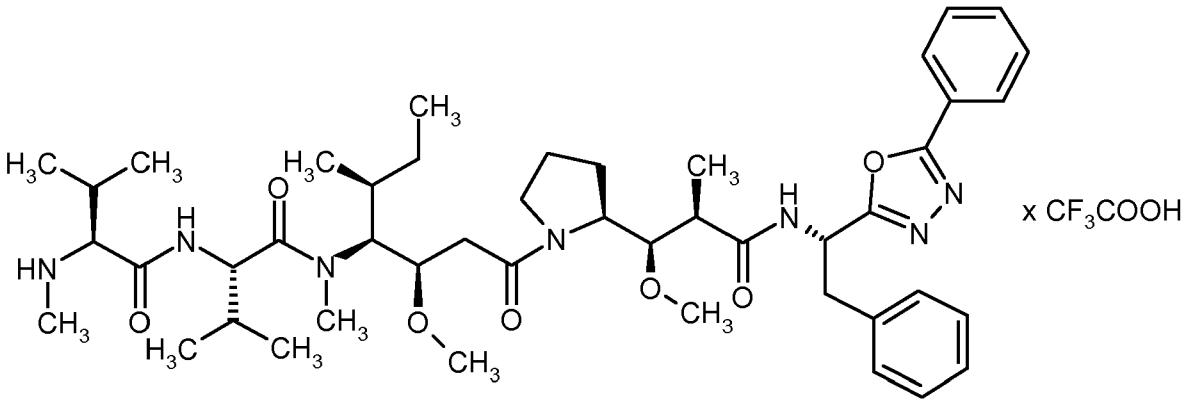
LC-MS (Methode 12): R_t = 0.75 min; MS (ESIpos): m/z = 224 $(M+H)^+$

Das oben erhaltene *E/Z*-Diastereomerengemisch wurde in 2 ml Ethanol und 0.2 ml *N,N*-Diisopropylethylamin gelöst und über HPLC an chiraler Phase aufgetrennt [Säule: Daicel Chiralpak AD-H, 5 µm, 250 mm x 20 mm; Eluent: Hexan/(Ethanol + 0.2% Diethylamin) 50:50 v/v; UV-Detektion: 220 nm; Temperatur: 30°C]. Die entsprechenden Fraktionen wurden am Rotationsverdampfer eingeengt und der Rückstand im Vakuum getrocknet. Es wurden 45 mg der Titelverbindung erhalten.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ [ppm] = 2.62 - 2.83 (m, 2 H) 3.52 - 3.71 (m, 1 H) 6.18 - 6.30 (m, 1 H) 6.34 - 6.46 (m, 1 H) 6.98 - 7.57 (m, 10 H) [weitere Signale unter Lösungsmittel-Peaks verborgen].

Intermediat 55

N-Methyl-*L*-valyl-N-[(*3R,4S,5S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1*S*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-*L*-valinamid-Trifluoracetat



20 mg (29 µmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 1 mL DMF gelöst, mit 13.3 mg (35 µmol) HATU und 15.3 µl (88 µmol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt und 30 min. bei RT gerührt. Anschließend wurden 12.2 mg (32 µmol) (1*S*)-2-Phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethanamin-Trifluoracetat zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend per präparativer HPLC aufgetrennt. Es wurden so 22 mg (81% d.Th) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1*S*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid erhalten.

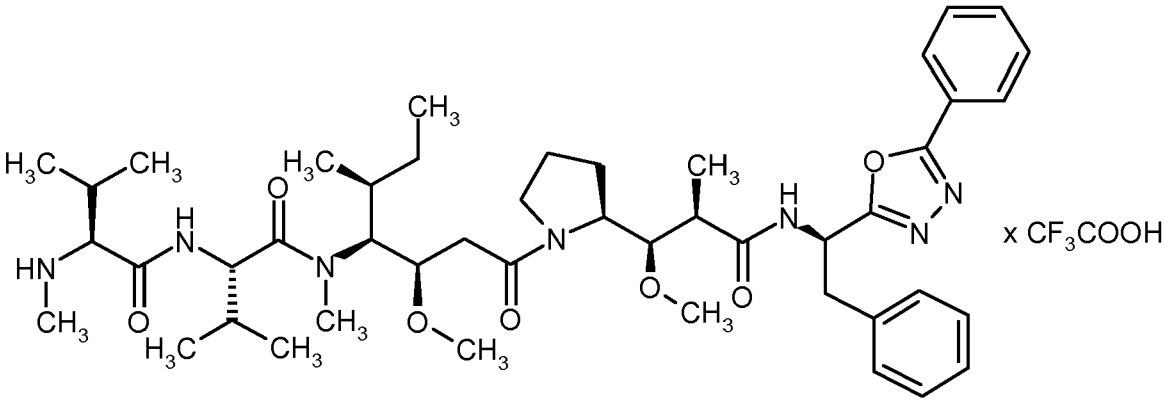
LC-MS (Methode 12): R_t = 1.45 min; MS (ESIpos): m/z = 933 $(M+H)^+$

Durch nachfolgende Abspaltung der BOC-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure wurden dann 22.4 mg (98% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.85 min; MS (ESIpos): m/z = 833 $(M+H)^+$

Intermediat 56

N-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1*R*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



N-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1*R*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 55 durch Umsetzung von 20 mg (29 µmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxy-propyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid mit 12.2 mg (32 µmol) (1*R*)-2-Phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethanamin-Trifluoracetat hergestellt.

Ausbeute: 17 mg (64 % d. Th.)

HPLC (Methode 10): R_t = 3.74 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.45 min; MS (ESIpos): m/z = 933 $(M+H)^+$

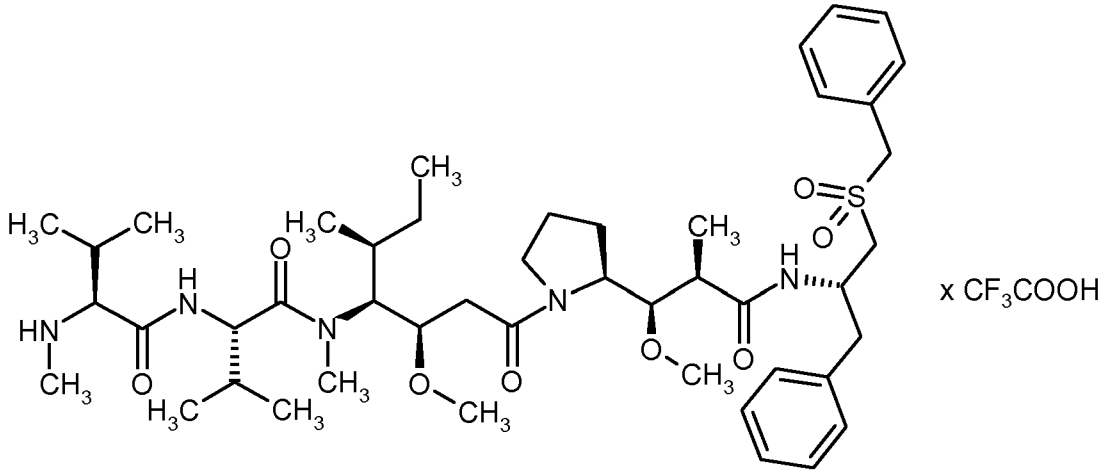
Durch nachfolgende Abspaltung der BOC-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure erhielt man dann 17.1 mg (99 % d. Th.) der Titelverbindung.

HPLC (Methode 10): R_t = 2.55 min;

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.85 min; MS (ESIpos): m/z = 833 $(M+H)^+$

Intermediat 57

N-Methyl-*L*-valyl-N-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzylsulfonyl)-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-*L*-valinamid-Trifluoracetat



N-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzylsulfonyl)-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 55 durch Umsetzung von 20 mg (29 µmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid mit 9.3 mg (20 µmol) (2*S*)-1-(Benzylsulfonyl)-3-phenylpropan-2-amin hergestellt.

Ausbeute: 19.2 mg (68 % d. Th.)

HPLC (Methode 10): R_t = 3.5 min;

LC-MS (Methode 12): R_t = 1.41 min; MS (ESIpos): m/z = 957 $(M+H)^+$

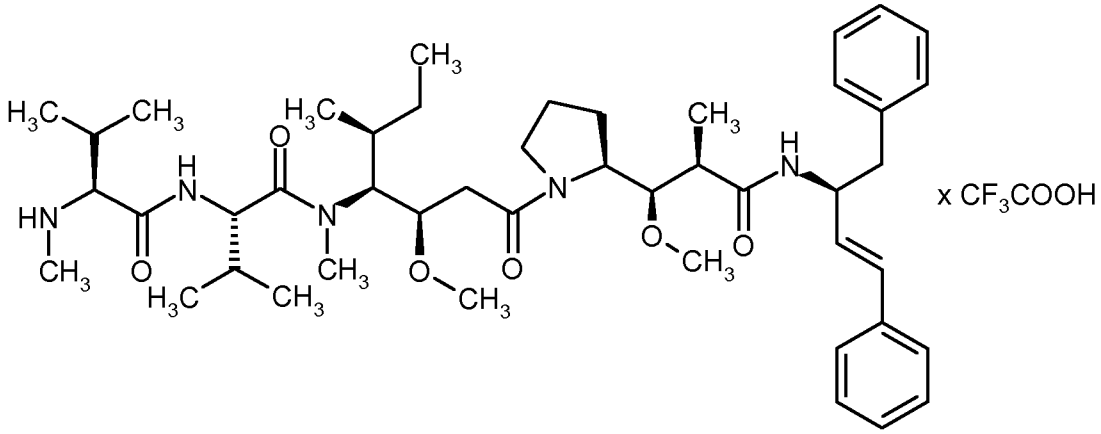
Durch nachfolgende Abspaltung der BOC-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure erhielt man dann 19.3 mg (99 % d. Th.) der Titelverbindung.

HPLC (Methode 10): R_t = 2.52 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.86 min; MS (ESIpos): m/z = 857 $(M+H)^+$

Intermediat 58

N-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*,3*E*)-1,4-diphenylbut-3-en-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



N-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*,3*E*)-1,4-diphenylbut-3-en-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 55 durch Umsetzung von 20 mg (29 µmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(*3R,4S,5S*)-1-{(*2S*)-2-[(*1R,2R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid mit 7.1 mg (32 µmol) (2*S*,3*E*)-1,4-Diphenylbut-3-en-2-amin hergestellt.

Ausbeute: 15.1 mg (58 % d. Th.)

HPLC (Methode 10): R_t = 4.2 min;

LC-MS (Methode 12): R_t = 1.51 min; MS (ESIpos): m/z = 891 $(M+H)^+$

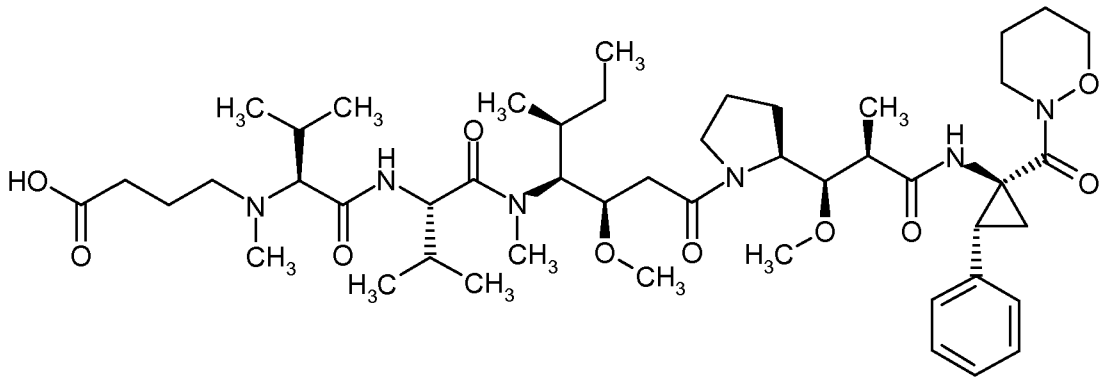
Durch nachfolgende Abspaltung der BOC-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure erhielt man dann 15.7 mg (99 % d. Th.) der Titelverbindung.

HPLC (Methode 10): R_t = 2.62 min;

LC-MS (Methode 12): R_t = 0.97 min; MS (ESIpos): m/z = 791 $(M+H)^+$

Intermediat 61

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]-pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



50 mg (0.054 mmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]-pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat (Intermediat 16) wurden in 8 ml Dioxan/Wasser gelöst und mit 70 ml (0.108 mmol) einer 15%-igen Lösung von 4-Oxobutansäure in Wasser versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend 1 h bei 100°C gerührt. Nach Abkühlen auf RT wurden 3.7 mg (0.059 mmol) Natriumcyanoborhydrid zugegeben und die Mischung durch Zugabe von etwa 300 µl 0.1 N Salzsäure auf einen pH-Wert von 3 eingestellt. Das Reaktionsgemisch wurde danach weitere 2 h bei 100°C gerührt. Nach Abkühlen wurden erneut 70 ml (0.108 mmol) der 15%-igen 4-Oxobutansäure-Lösung zugesetzt und das Reaktionsgemisch wiederum 1 h bei 100°C gerührt. Dann wurden weitere 3.7 mg (0.059 mmol) Natriumcyanoborhydrid zugegeben und anschließend mit etwa 300 µl 0.1 N Salzsäure der pH-Wert wieder auf 3 eingestellt. Das Reaktionsgemisch wurde danach erneut 2 h bei 100°C gerührt. Bei immer noch nicht vollständiger Umsetzung wurde diese Prozedur noch ein drittes Mal wiederholt. Das Reaktionsgemisch wurde schließlich eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden auf diese Weise 32 mg (65% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines farblosen Schaums erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.64 min;

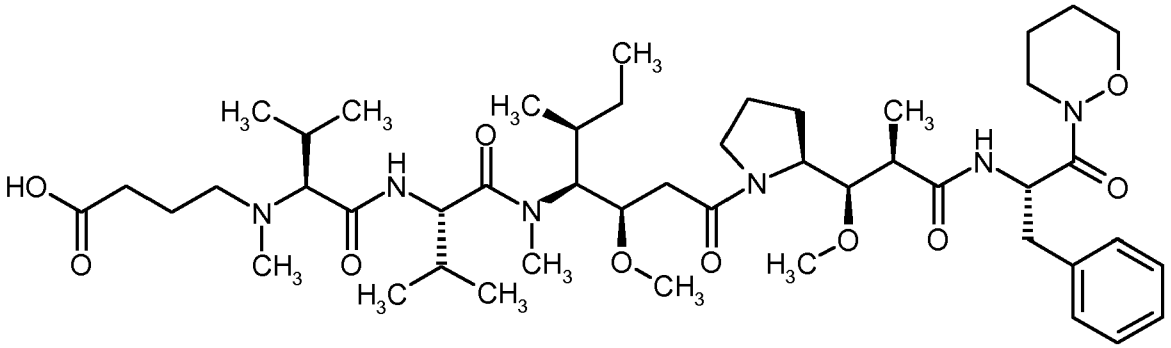
LC-MS (Methode 9): R_t = 4.76 min; MS (ESIpos): m/z = 899 $(M+H)^+$

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ = 8.95 und 8.8 (2m, 1H), 8.88 und 8.65 (2s, 1H), 7.4-7.1 (m, 5H), 5.0, 4.78, 4.65 und 4.55 (4m, 2H), 4.1-3.7 (m, 5H), 3.32, 3.29, 3.20, 3.12, 3.1 und 3.0 (6s,

9H), 2.75 (m, 2H), 2.63 (t, 1H), 2.4-2.2 (m, 4H), 2.1-1.2 (m, 12H), 1.2-0.8 (m, 16H), 0.75 (m, 3H) [weitere Signale unter H_2O- und DMSO-Peaks verborgen].

Intermediat 62

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Die Titelverbindung wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 61 durch Umsetzung von 50 mg *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat (Intermediat 14) mit 4-Oxobutansäure hergestellt.

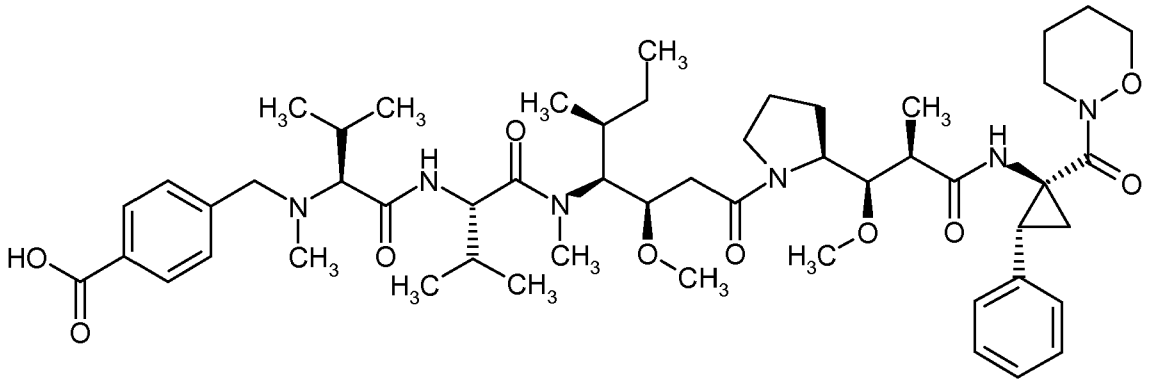
Ausbeute: 34 mg (70% d. Th.)

HPLC (Methode 5): R_t = 1.64 min;

LC-MS (Methode 9): R_t = 4.77 min; MS (ESIpos): m/z = 887 $(M+H)^+$.

Intermediat 63

N-(4-Carboxybenzyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]-pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Die Titelverbindung wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 61 durch Umsetzung von 15 mg *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat (Intermediat 16) mit 4-Formylbenzoesäure hergestellt.

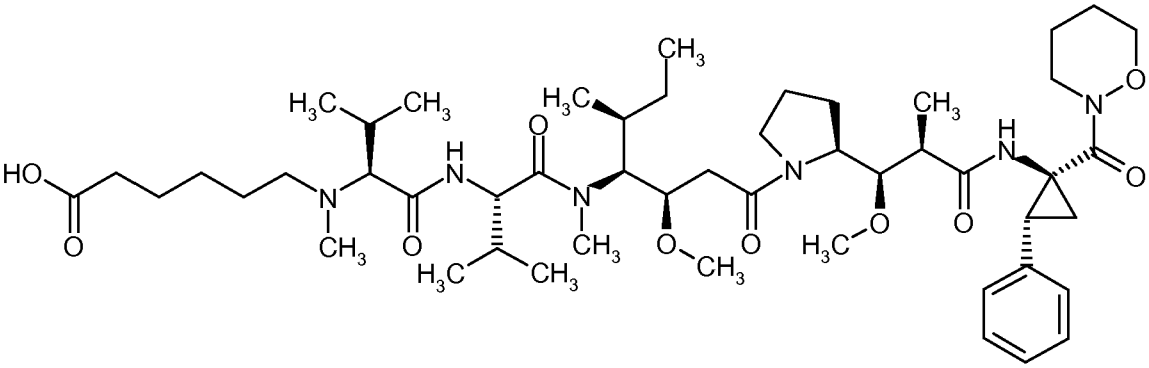
Ausbeute: 7.5 mg (48% d. Th.)

HPLC (Methode 5): R_t = 1.75 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.97 min; MS (ESIpos): m/z = 947 $(M+H)^+$.

Intermediat 64

N-(5-Carboxypentyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]-pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



10 mg (0.011 mmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat (Intermediat 16)

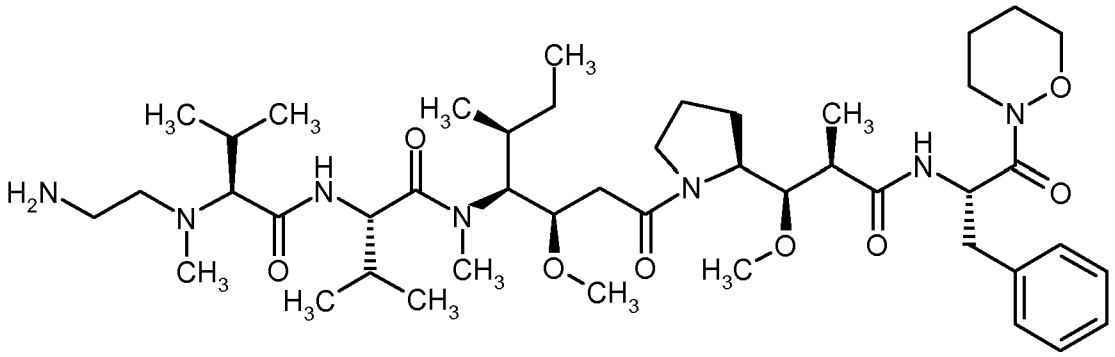
wurden in 2 ml Dioxan/Wasser gelöst und mit 2.8 mg (0.022 mmol) 6-Oxohexansäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend 1 h bei 100°C gerührt. Nach Abkühlen auf RT wurden 0.75 mg (0.012 mmol) Natriumcyanoborhydrid zugegeben und die Mischung durch Zugabe von 0.1 N Salzsäure auf einen pH-Wert von 3 eingestellt. Das Reaktionsgemisch wurde danach eine weitere Stunde bei 100°C gerührt. Nach Abkühlen wurden erneut 2.8 mg (0.022 mmol) 6-Oxohexansäure zugesetzt und das Reaktionsgemisch wiederum 1 h bei 100°C gerührt. Es wurden weitere 0.75 mg (0.012 mmol) Natriumcyanoborhydrid zugegeben und anschließend mit 0.1 N Salzsäure der pH-Wert wieder auf 3 eingestellt. Das Reaktionsgemisch wurde danach erneut 1 h bei 100°C gerührt. Diese Prozedur wurde dann noch ein drittes Mal wiederholt. Das Reaktionsgemisch wurde schließlich eingeengt und das Rohprodukt mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden so 6.4 mg (64% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines farblosen Schaums erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.68 min;

LC-MS (Methode 9): R_t = 4.86 min; MS (ESIpos): m/z = 927 $(M+H)^+$.

Intermediat 65

N-(2-Aminoethyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Bistrifluoracetat



x 2 CF_3COOH

Die Titelverbindung wurde durch Umsetzung von 68 mg *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat (Intermediat 14) mit *tert.*-Butyl-(2-oxoethyl)carbamat und nachfolgende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure hergestellt.

Ausbeute: 49 mg (62% d. Th. über zwei Stufen)

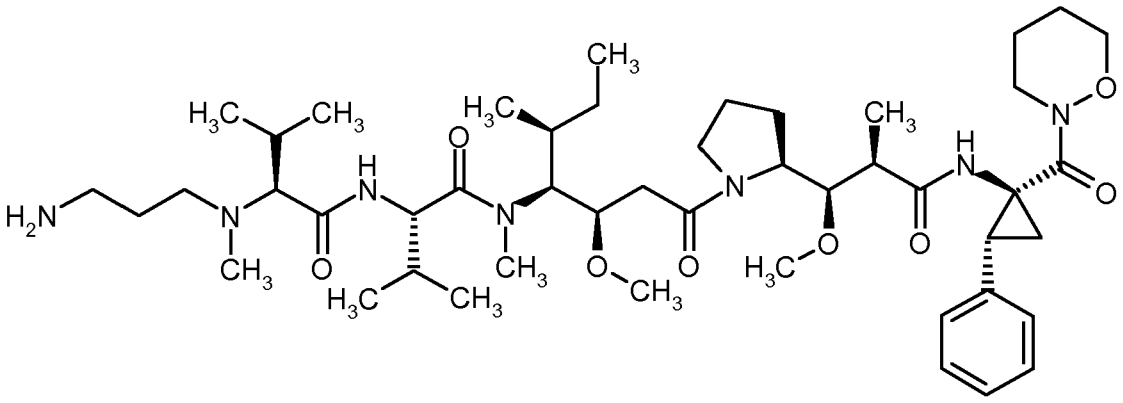
HPLC (Methode 5): R_t = 1.58 min;

LC-MS (Methode 2): R_t = 1.05 min; MS (ESIpos): m/z = 844 $(M+H)^+$

^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d_6): δ = 8.25 (m, 1H), 8.45 und 8.15 (2d, 1H), 7.65-7.55 (m, 3H), 7.23-7.1 (m, 5H), 5.12 und 4.95 (2m, 1H), 4.72 und 4.62 (2m, 1H), 4.6 und 4.52 (2t, 1H), 4.2-3.8 (m, 4H), 3.7 (d, 1H), 3.23, 3.20, 3.19, 3.18, 3.03 und 2.98 (6s, 9H), 3.0-2.7 (m, 6H), 2.4-1.2 (m, 15H), 1.05, 1.0, 0.88 und 0.82 (4d, 6H), 0.92 (m, 6H), 0.73 (m, 6H) [weitere Signale unter H_2O-Peak verborgen].

Intermediat 66

N-(3-Aminopropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]-pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Die Titelverbindung wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 65 durch Umsetzung von 25 mg (0.027 mmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat (Intermediat 16) mit Benzyl-(3-oxopropyl)carbamat und nachfolgende hydrogenolytische Abspaltung der Z-Schutzgruppe (mit 10% Palladium auf Kohle als Katalysator, in Ethanol als Lösungsmittel) hergestellt.

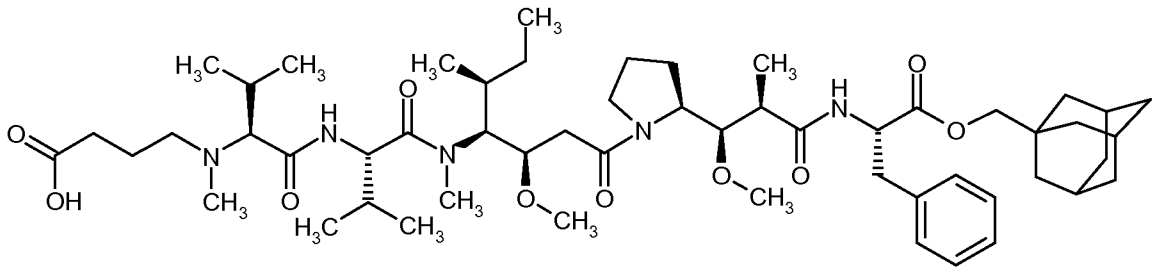
Ausbeute: 11 mg (41% d. Th. über zwei Stufen)

HPLC (Methode 5): R_t = 1.53 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.72 min; MS (ESIpos): m/z = 870 $(M+H)^+$.

Intermediat 67

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(adamantan-1-ylmethoxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

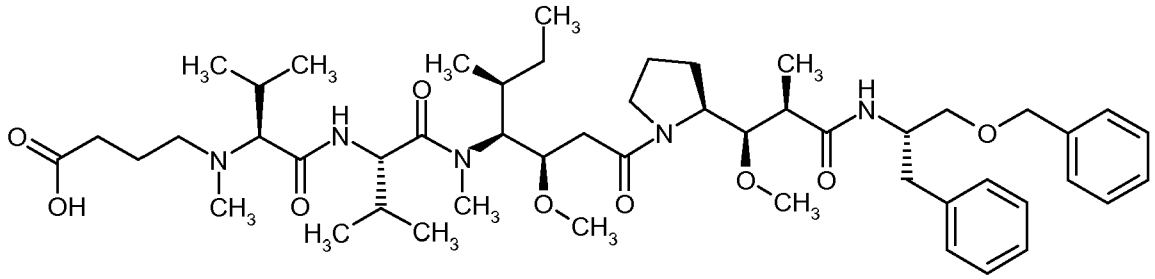


26 mg (26 µmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(adamantan-1-yl-methoxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat und 33.9 µl einer 15%-igen wässrigen Bernsteinaldehydsäure-Lösung (53 µmol) wurden in 957 µl eines 1:1-Dioxan/Wasser-Gemisches gelöst und für 1 h auf 100 °C erhitzt. Nach kurzem Abkühlen wurden 1.81 mg (29 µmol) Natriumcyanoborhydrid zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde durch Zugabe von 0.1 N Salzsäure auf pH 3 eingestellt und für weitere 2 h auf 100°C erhitzt. Nach erneuter Zugabe gleicher Mengen an Bernsteinaldehydsäure-Lösung, Natriumcyanoborhydrid und Salzsäure wurde nochmals für 2 h auf 100 °C erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde danach direkt mittels präparativer HPLC in seine Komponenten aufgetrennt. Es wurden so 18.5 mg (73% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.17 min; m/z = 967 $(M+H)^+$.

Intermediat 68

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzyloxy)-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

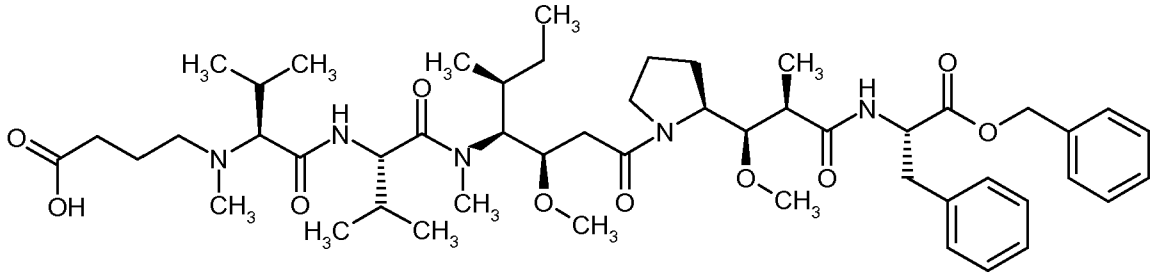


24 mg (26 µmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzyloxy)-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat und 33.7 µl einer 15%-igen wässrigen Bernsteinaldehydsäure-Lösung (52 µmol) wurden in 953 µl eines 1:1-Dioxan/Wasser-Gemisches gelöst und für 1 h auf 100°C erhitzt. Nach kurzem Abkühlen wurden 1.80 mg (29 µmol) Natriumcyanoborhydrid zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde durch Zugabe von 0.1 N Salzsäure auf pH 3 eingestellt und für weitere 2 h auf 100°C erhitzt. Nach erneuter Zugabe gleicher Mengen an Bernsteinaldehydsäure-Lösung, Natriumcyanoborhydrid und Salzsäure wurde nochmals für 2 h auf 100°C erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde danach direkt mittels präparativer HPLC in seine Komponenten aufgetrennt. Es wurden so 15.2 mg (65% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.01 min; m/z = 895 $(M+H)^+$

Intermediat 69

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



53 mg (84 µmol) *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 4) und 45 mg (84 µmol) Benzyl-*N*-{(2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}-L-phenylalaninat-Trifluoracetat (Intermediat 12) wurden in 2 ml DMF aufgenommen, mit 19 µl *N*,*N*-Diisopropylethylamin, 14 mg (92 µmol) HOBt sowie 17.6 mg (92 µmol) EDC versetzt und dann über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden so 59 mg (68% d. Th.) des Fmoc-geschützten Intermediats *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]-pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.55 min; m/z = 1044 $(M+H)^+$.

57 mg (0.055 mmol) dieses Intermediats wurden zur Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe mit 1.2 ml Piperidin in 5 ml DMF behandelt. Nach Einengen und Reinigung mittels präparativer HPLC wurden 39 mg (76% d. Th.) des freien Amin-Intermediats *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.01 min; m/z = 822 $(M+H)^+$.

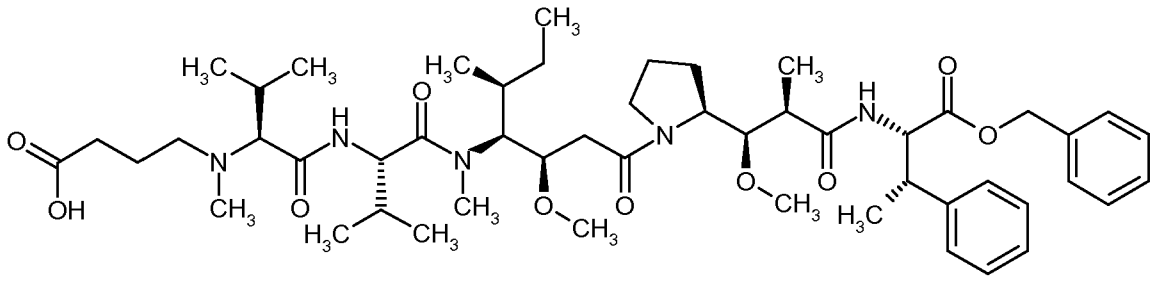
37 mg (0.045 mmol) dieses Intermediats wurden in 5 ml Dioxan/Wasser gelöst und analog zur Herstellung der Verbindung in Intermediat 66 mit einer 15%-igen wässrigen Lösung von 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid umgesetzt. Es wurden 16 mg (39% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines farblosen Schaums erhalten.

HPLC (Methode 6): R_t = 2.1 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.01 min; MS (ESIpos): m/z = 908 $(M+H)^+$.

Intermediat 70

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*,3*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 14 beschriebenen Synthese ausgehend von den Intermediaten 4 und 26 die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*,3*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]-pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid hergestellt.

30 mg (0.032 mmol) dieser Verbindung wurden in 6 ml Dioxan/Wasser gelöst und mit 41 µl (0.063 mmol) einer 15%-igen wässrigen Lösung von 4-Oxobutansäure versetzt. Das Reaktionsgemisch

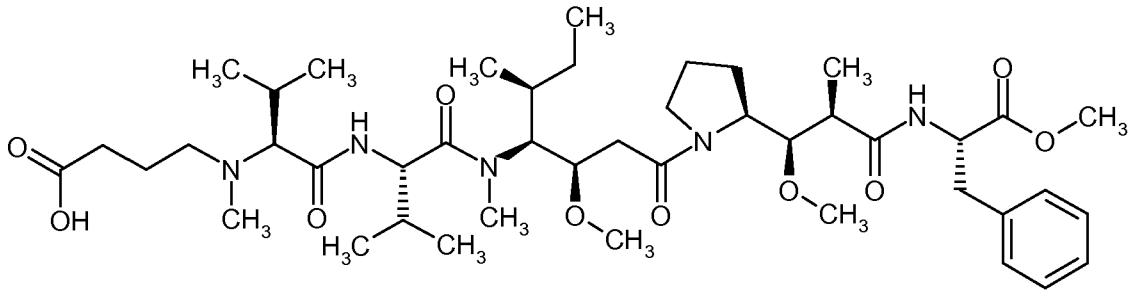
wurde anschließend 1 h bei 100°C gerührt. Nach Abkühlen auf RT wurden 2.2 mg (0.035 mmol) Natriumcyanoborhydrid zugegeben und die Mischung durch Zugabe von etwa 300 µl 0.1 N Salzsäure auf einen pH-Wert von 3 eingestellt. Das Reaktionsgemisch wurde danach weitere 2 h bei 100°C gerührt. Nach Abkühlen wurden erneut 41 µl (0.063 mmol) der 15%-igen 4-Oxobutansäure-Lösung zugesetzt und das Reaktionsgemisch wiederum 1 h bei 100°C gerührt. Dann wurden weitere 2.2 mg (0.035 mmol) Natriumcyanoborhydrid zugegeben und anschließend mit etwa 300 µl 0.1 N Salzsäure der pH-Wert wieder auf 3 eingestellt. Das Reaktionsgemisch wurde danach erneut 2 h bei 100°C gerührt. Bei immer noch nicht vollständiger Umsetzung wurde diese Prozedur noch ein drittes Mal wiederholt. Das Reaktionsgemisch wurde schließlich eingeengt und das Rohprodukt mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden so 24 mg (82% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines farblosen Schaums erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 9): R_t = 5.15 min; MS (ESIpos): m/z = 922 $(M+H)^+$.

Intermediat 71

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-3-{[(2*S*)-1-methoxy-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



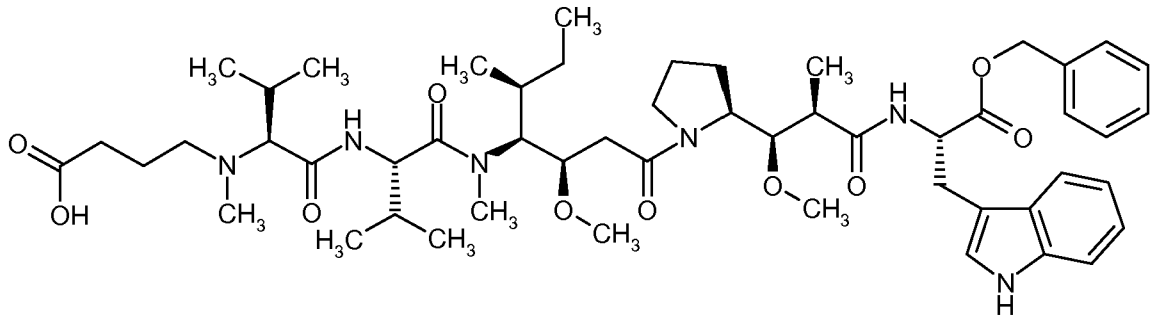
Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 14 beschriebenen Synthese ausgehend von den Intermediaten 4 und 39 die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-3-{[(2*S*)-1-methoxy-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid hergestellt. Aus 7 mg (0.009 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 2 mg (22% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines farblosen Schaums erhalten.

HPLC (Methode 6): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 2): R_t = 1.06 min; MS (ESIpos): m/z = 832 $(M+H)^+$.

Intermediat 72

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzyloxy)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



212 mg (411 µmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 8) und 237 mg (411 µmol) Benzyl-*N*-{(2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}-L-tryptophanat-Trifluoracetat (Intermediat 20) wurden in 30 ml DMF aufgenommen und mit 188 mg (493 µmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat sowie 215 µl *N*,*N*-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 20 h bei RT gerührt, anschließend im Vakuum eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die Produktfraktionen wurden vereinigt, eingeengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es wurden so 315 mg (80% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzyloxy)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als farbloser Schaum erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.45 min; m/z = 961 $(M+H)^+$.

50 mg (52 µmol) dieses Intermediats wurden zur Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mit 1 ml Trifluoressigsäure in 9 ml Dichlormethan behandelt. Nach Einengen und Reinigung mittels präparativer HPLC wurden 29 mg (57% d. Th.) des freien Amin-Intermediats *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzyloxy)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.99 min; m/z = 861 $(M+H)^+$.

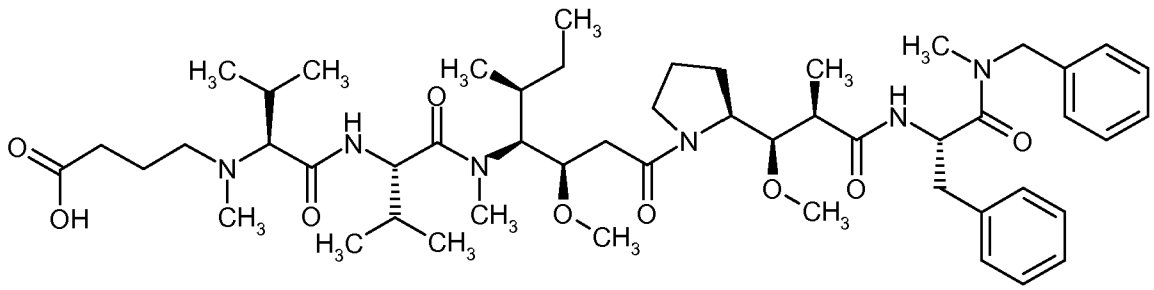
29 mg (0.03 mmol) dieses Intermediats wurden in 6 ml Dioxan/Wasser gelöst und mit 39 µl (0.059 mmol) einer 15%-igen wässrigen Lösung von 4-Oxobutansäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend 1 h bei 100°C gerührt. Nach Abkühlen auf RT wurden 2 mg (0.033 mmol) Natriumcyanoborhydrid zugegeben und die Mischung durch Zugabe von etwa 300 µl 0.1 N Salzsäure auf einen pH-Wert von 3 eingestellt. Das Reaktionsgemisch wurde danach weitere 2 h bei 100°C gerührt. Nach Abkühlen wurden erneut 39 µl (0.059 mmol) der 15%-igen 4-Oxobutansäure-Lösung zugesetzt und das Reaktionsgemisch wiederum 1 h bei 100°C gerührt. Dann wurden weitere 2 mg (0.033 mmol) Natriumcyanoborhydrid zugegeben und anschließend mit etwa 300 µl 0.1 N Salzsäure der pH-Wert wieder auf 3 eingestellt. Das Gemisch wurde erneut 2 h bei 100°C gerührt. Danach wurde das Reaktionsgemisch auf ein 1:1-Gemisch aus halbgesättigter wässriger Ammoniumchlorid-Lösung und Ethylacetat gegossen. Die organische Phase wurde abgetrennt, mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wurde aus Wasser/ Acetonitril gefriergetrocknet. Es wurden so 27 mg (94% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines farblosen Schaums erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 2.2 min;

LC-MS (Methode 9): R_t = 5.04 min; MS (ESIpos): m/z = 947 $(M+H)^+$.

Intermediat 73

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-({(2*S*)-1-[benzyl-(methyl)amino]-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl}amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Zunächst wurde in Analogie zu der für Intermediat 14 beschriebenen Synthese ausgehend von den Intermediaten 4 und 38 die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-({(2*S*)-1-[benzyl(methyl)amino]-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl}amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-propyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid hergestellt. Aus 25 mg (0.026 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von

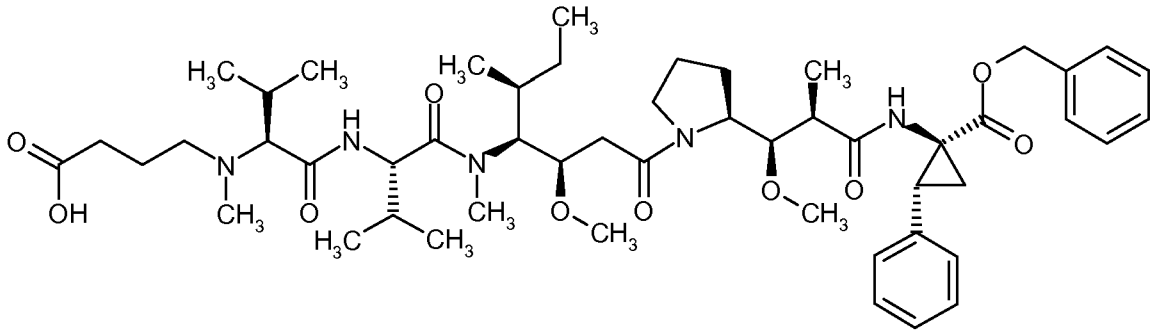
Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 13 mg (54% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines farblosen Schaums erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.2 min;

LC-MS (Methode 9): R_t = 5.01 min; MS (ESIpos): m/z = 921 $(M+H)^+$.

Intermediat 74

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-({(1*S*,2*R*)-1-[(benzyloxy)carbonyl]-2-phenylcyclopropyl}amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



50 mg (73 µmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) und 28 mg (73 µmol) Benzyl-(1*S*,2*R*)-1-amino-2-phenylcyclopropancarboxylat-Trifluoracetat (Intermediat 45) wurden in 5 ml DMF aufgenommen und mit 42 mg (110 µmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 38 µl *N*,*N*-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 5 h bei RT gerührt, anschließend im Vakuum eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die Produktfraktionen wurden vereinigt und eingeengt. Nach Lyophilisation aus Dioxan/Wasser wurden 35 mg (51% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-({(1*S*,2*R*)-1-[(benzyloxy)carbonyl]-2-phenylcyclopropyl}amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als farbloser Schaum erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.52 min; m/z = 934 $(M+H)^+$.

35 mg dieses Intermediats wurden zur Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mit 1 ml Trifluoressigsäure in 5 ml Dichlormethan behandelt. Nach Einengen und Lyophilisation aus Dioxan/Wasser wurden 34 mg (97% d. Th.) des freien Amin-Intermediats *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-

[(1*R*,2*R*)-3-({(1*S*,2*R*)-1-[(benzyloxy)carbonyl]-2-phenylcyclopropyl}amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valina m i d a l s Trifluoracetat erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.91 min; m/z = 834 $(M+H)^+$.

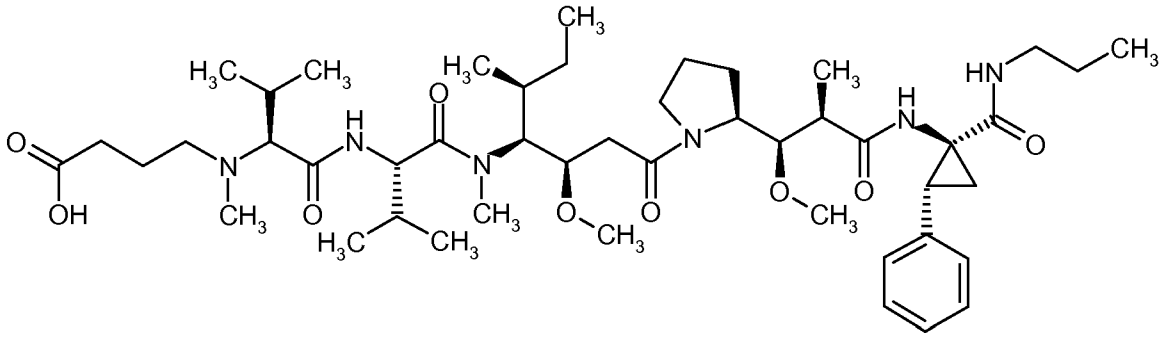
Aus 11 mg (0.011 mmol) dieses Intermediats wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 66 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 2.5 mg (24% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines farblosen Schaums erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.2 min;

LC-MS (Methode 9): R_t = 5.1 min; MS (ESIpos): m/z = 920 $(M+H)^+$.

Intermediat 75

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1*S*,2*R*)-2-phenyl-1-(propylcarbamoyl)cyclopropyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 74 beschriebenen Synthese durch Kupplung von *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) und (1*S*,2*R*)-1-Amino-2-phenyl-*N*-propylcyclopropancarboxamid-Trifluoracetat (Intermediat 27) in Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1*S*,2*R*)-2-phenyl-1-(propylcarbamoyl)cyclopropyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat hergestellt. Aus 14 mg (0.016 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch

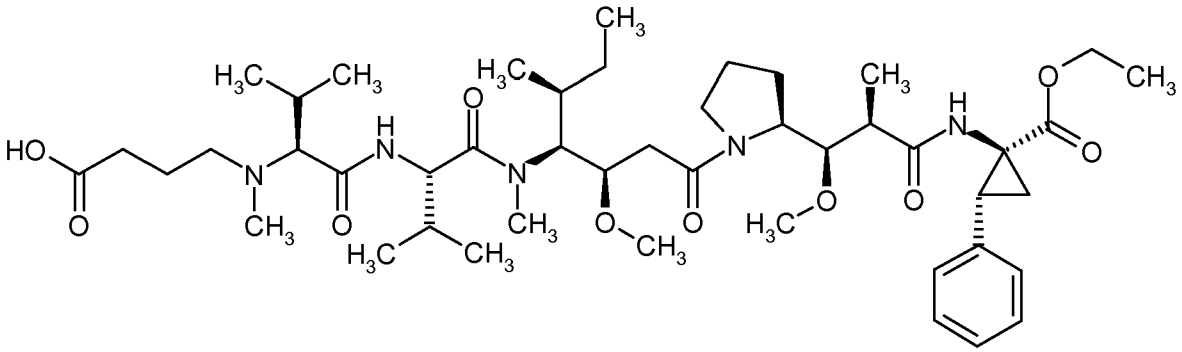
Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 11.3 mg (83% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 6): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 2): R_t = 1.27 min; MS (ESIpos): m/z = 871 $(M+H)^+$.

Intermediat 76

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(ethoxycarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



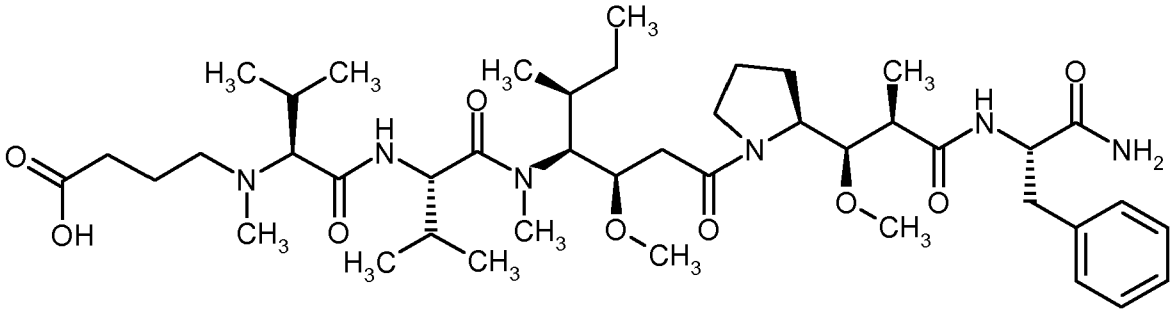
Zunächst wurde durch Kupplung von Intermediat 46 (*N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid) mit Intermediat 48 (Ethyl-(1*S*,2*R*)-1-amino-2-phenylcyclopropancarboxylat-Trifluoracetat) in Gegenwart von O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Boc-Abspaltung die Ausgangsverbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(ethoxycarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat hergestellt. Aus 70 mg (0.079 mmol) dieses Ausgangsmaterials wurden dann durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Analogie zu Intermediat 61 46 mg (68% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 6): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 2): R_t = 1.28 min; MS (ESIpos): m/z = 858 $(M+H)^+$

Intermediat 77

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 75 beschriebenen Synthese durch Kupplung von *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) und L-Phenylalaninamid-Hydrochlorid in Gegenwart von O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]-pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat hergestellt. Aus 47 mg (0.049 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 39 mg (96% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

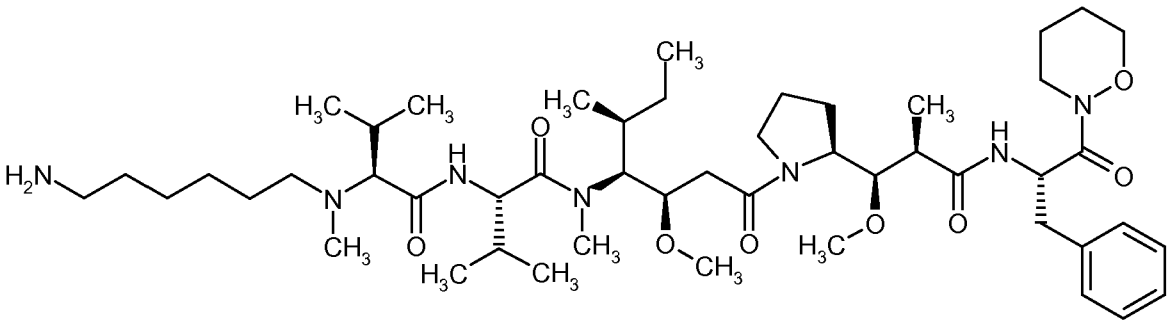
HPLC (Methode 6): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 9): R_t = 4.44 min; MS (ESIpos): m/z = 817 $(M+H)^+$

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ = 8.95 und 8.8 (2m, 1H), 8.25 und 8.0 (2d, 1H), 7.45, 7.35 und 7.0 (3s, breit, 2H), 7.3-7.1 (m, 5H), 4.8-4.4 (2m, 3H), 3.95 (m, 1H), 3.82 (m, 1H), 3.72 (d, 1H), 3.22, 3.18, 3.15, 3.05 und 3.00 (5s, 9H), 2.85-2.7 (m, 4H), 2.45-1.6 (m, 12H), 1.5-1.2 (m, 3H), 1.1-0.7 (m, 21H) [weitere Signale unter Lösungsmittel-Peaks verborgen].

Intermediat 78

N-(6-Aminohexyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5S)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 66 über 2 Stufen ausgehend von 20 mg (16 µmol) der Verbindung aus Intermediat 14 und Benzyl-(6-oxohexyl)carbamat hergestellt, wobei die Hydrierung in Methanol als Lösungsmittel durchgeführt wurde.

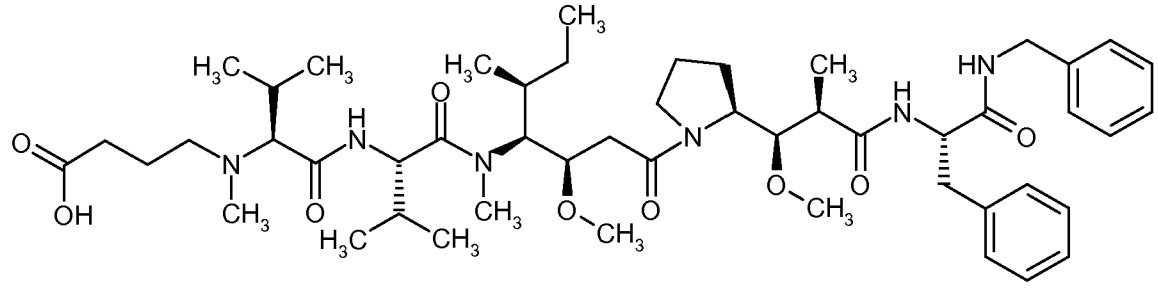
Ausbeute: 7.6 mg (55% d.Th. über 2 Stufen)

HPLC (Methode 6): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.7 min; MS (ESIpos): m/z = 901 $(M+H)^+$.

Intermediat 79

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzylamino)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



36 mg (43 µmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(1*S*)-1-carboxy-2-phenylethyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 46) und 4.6 mg (43 µmol) Benzylamin wurden in 5 ml DMF aufgenommen, mit 7.5 µl (88 µmol) *N,N*-Diisopropylethylamin, 10 mg (65 µmol) HOBt sowie 10 mg (52 µmol) EDC versetzt und dann über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 29 mg (73% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzylamino)-1-

oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.43 min; m/z = 921 $(M+H)^+$.

29 mg dieses Intermediats wurden zur Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mit 1 ml Trifluoressigsäure in 6 ml Dichlormethan behandelt. Nach Einengen und Lyophilisation aus Dioxan/Wasser wurden 30 mg (quant.) des freien Amin-Intermediats *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzylamino)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.95 min; m/z = 821 $(M+H)^+$.

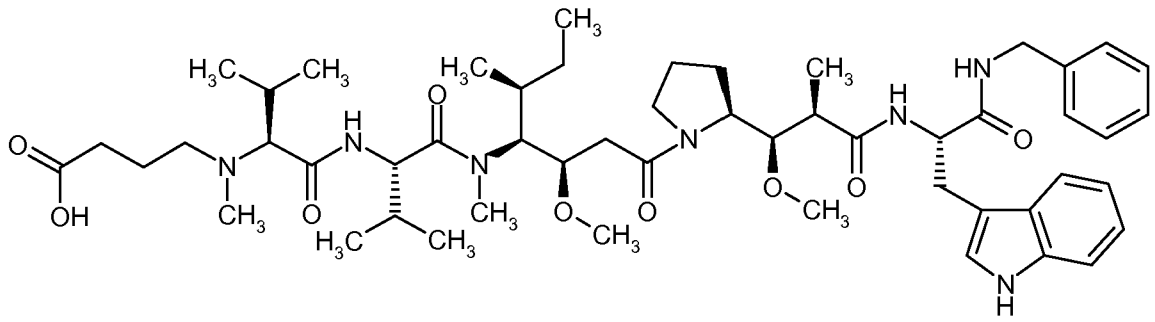
Aus 17 mg (0.018 mmol) dieses Intermediats wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 13 mg (80% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines farblosen Schaums erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 9): R_t = 4.97 min; MS (ESIpos): m/z = 907 $(M+H)^+$.

Intermediat 80

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzylamino)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 74 beschriebenen Synthese durch Kupplung von *N*-(*tert*.-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) und *N*-Benzyl-L-tryptophanamid-Trifluoracetat (Intermediat 47) in Gegenwart von *O*-(7-

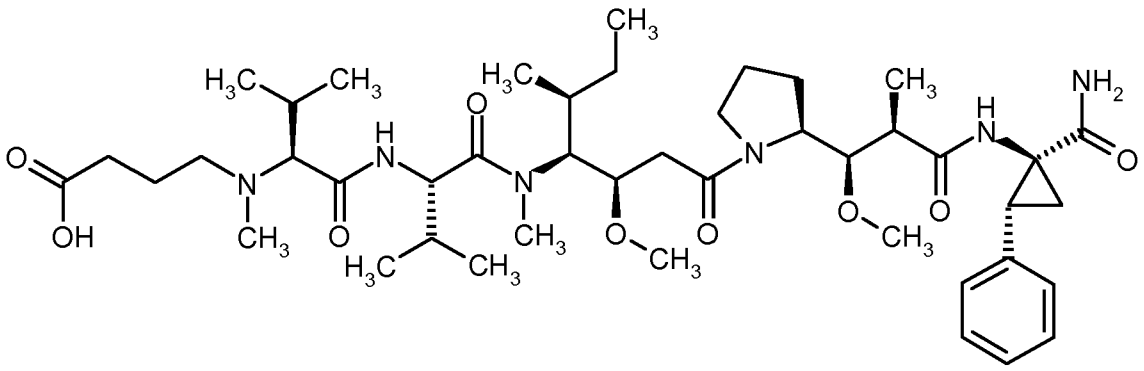
Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzylamino)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat hergestellt. Aus 10 mg (0.01 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 2.5 mg (26% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 2): R_t = 1.13 min; MS (ESIpos): m/z = 946 $(M+H)^+$.

Intermediat 81

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(1*S*,2*R*)-1-carbamoyl-2-phenylcyclopropyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 74 beschriebenen Synthese durch Kupplung von *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) und (1*S*,2*R*)-1-Amino-2-phenylcyclopropancarboxamid-Trifluoracetat (Intermediat 48) in Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(1*S*,2*R*)-1-carbamoyl-2-phenylcyclopropyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat hergestellt. Aus 14 mg (0.0163 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-

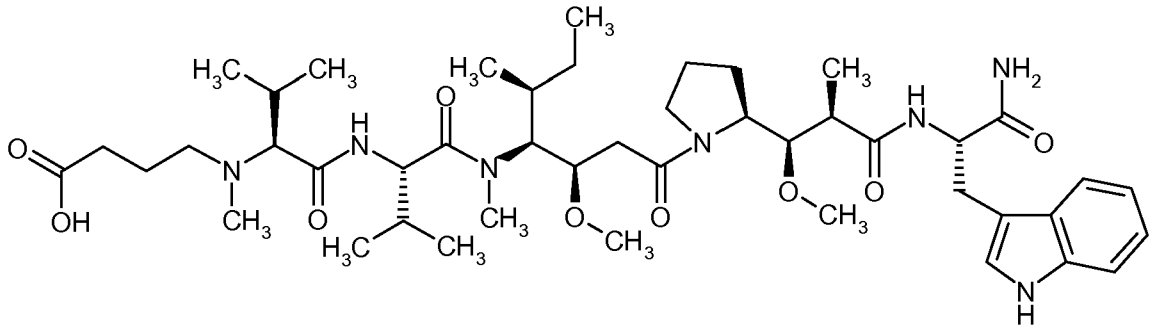
Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 8 mg (57% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.6 min;

LC-MS (Methode 9): R_t = 4.64 min; MS (ESIpos): m/z = 829 $(M+H)^+$.

Intermediat 82

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



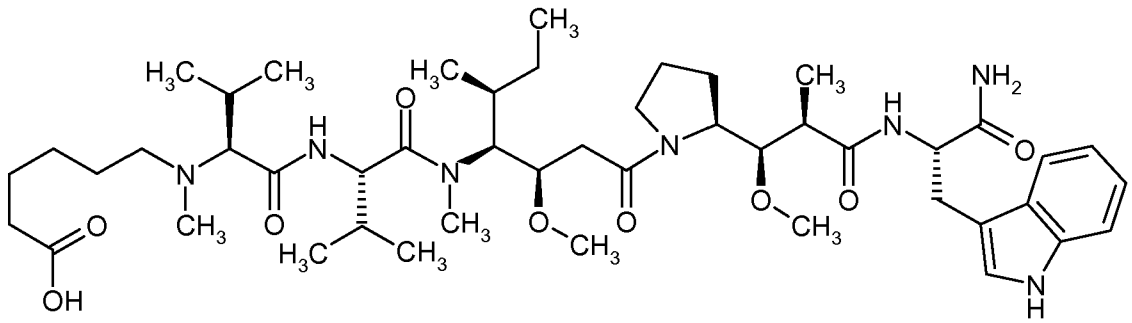
Zunächst wurde in Analogie zu der in den Intermediat 69 beschriebenen Synthese durch Kupplung von *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 4) und N^{α}-{(2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}-L-tryptophanamid-Trifluoracetat (Intermediat 49) in Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe mittels Piperidin die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat hergestellt. Aus 78 mg (0.088 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 68 mg (90% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 9): R_t = 4.49 min; MS (ESIpos): m/z = 856 $(M+H)^+$.

Intermediat 83

N-(5-Carboxypentyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde in Analogie zu der Verbindung in Intermediat 82 hergestellt ausgehend von 20 mg (26 µmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid hergestellt.

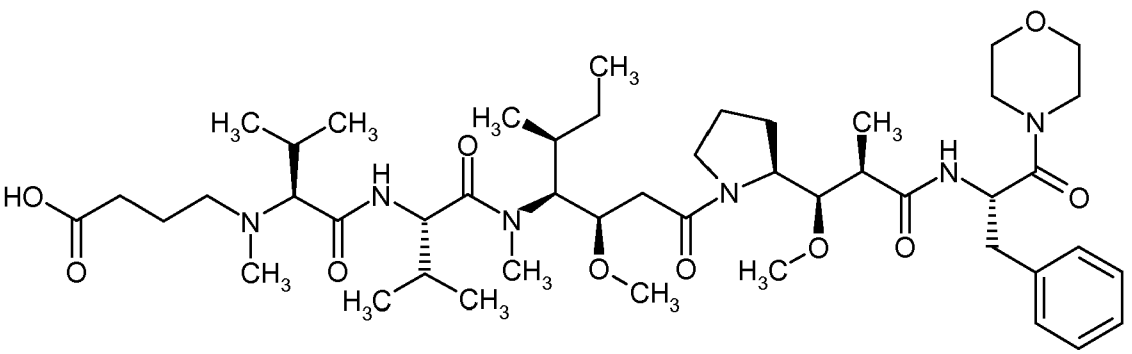
Ausbeute: 5 mg (25% d. Th.)

HPLC (Methode 5): R_t = 1.6 min;

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.72 min; MS (ESIpos): m/z = 884 $(M+H)^+$.

Intermediat 84

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(morpholin-4-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



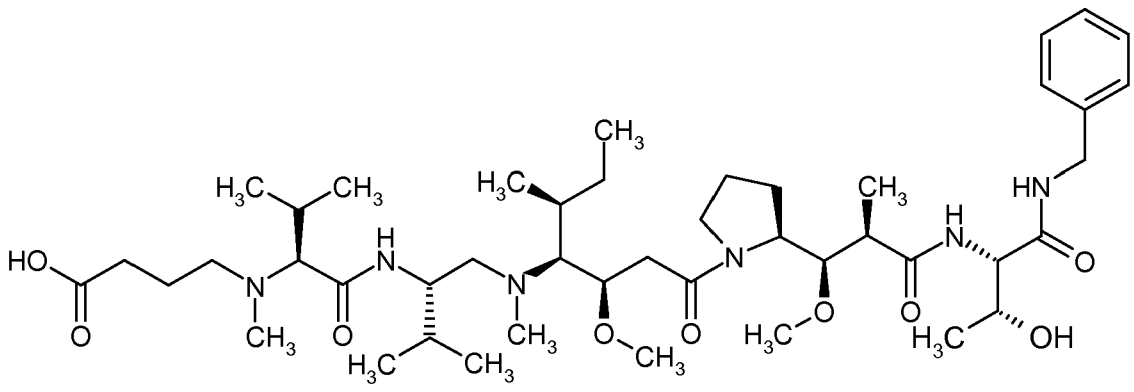
Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 79 beschriebenen Synthese durch Kupplung von *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(1*S*)-1-carboxy-2-phenylethyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 46) und Morpholin in Gegenwart von EDC und HOBT und anschließender Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(morpholin-4-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat hergestellt. Aus 30 mg (0.033 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 22 mg (76% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.6 min;

LC-MS (Methode 9): R_t = 4.58 min; MS (ESIpos): m/z = 887 $(M+H)^+$.

Intermediat 85

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*,3*R*)-1-(benzylamino)-3-hydroxy-1-oxobutan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 79 beschriebenen Synthese durch Kupplung von *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(1*S*)-1-carboxy-2-phenylethyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 46) und *N*-Benzyl-L-threoninamid-Trifluoracetat in Gegenwart von HATU und anschließender Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*,3*R*)-1-(benzylamino)-3-hydroxy-1-oxobutan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-

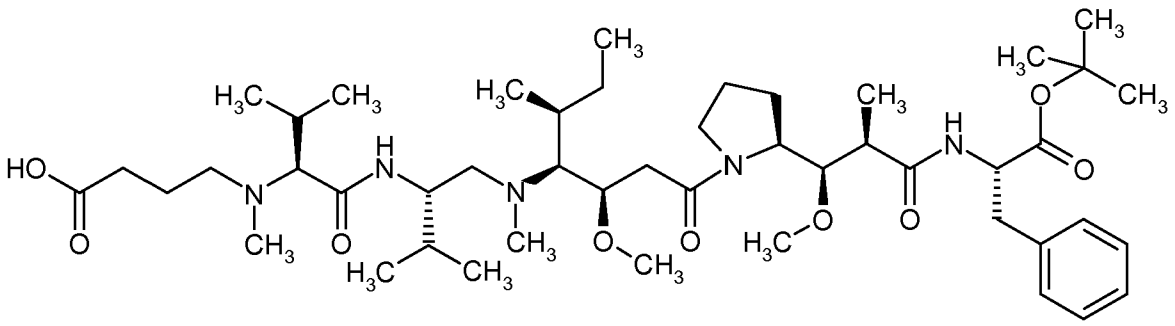
propyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat hergestellt. Aus 21 mg (0.024 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 20 mg (97% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.54 min;

LC-MS (Methode 9): R_t = 4.49 min; MS (ESIpos): m/z = 861 $(M+H)^+$.

Intermediat 86

4-{[(2*S*)-1-{[(2*S*)-1-{[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-*tert.*-Butoxy-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl](methyl)amino}-3-methylbutan-2-yl]amino}-3-methyl-1-oxobutan-2-yl](methyl)amino}butansäure



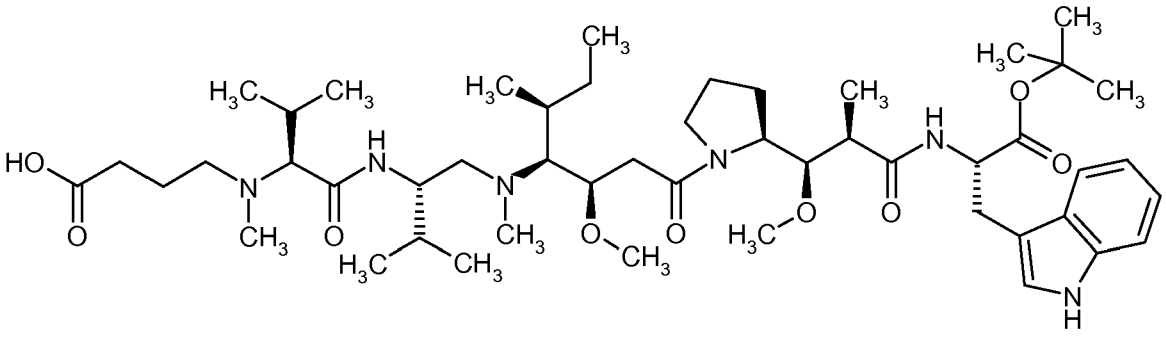
Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 74 beschriebenen Synthese durch Kupplung von *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) und *tert.*-Butyl-L-phenylalaninat-hydrochlorid in Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*′,*N*′-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure unter Erhalt des *tert.*-Butylesters (40 min Rühren mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan) die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-*tert.*-butoxy-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat hergestellt. Aus 22 mg (0.02 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 16 mg (94% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 9): R_t = 5.05 min; MS (ESIpos): m/z = 874 $(M+H)^+$.

Intermediat 87

4-{[(2*S*)-1-{[(2*S*)-1-{[(3*R*,4*S*,5S)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-*tert.*-Butoxy-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl](methyl)amino}-3-methylbutan-2-yl]amino}-3-methyl-1-oxobutan-2-yl](methyl)amino}butansäure



Die Herstellung dieser Verbindung erfolgte in Analogie zur in Intermediat 86 beschriebenen Synthese ausgehend von 230 mg (336 µmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) und *tert.*-Butyl-L-tryptophanat-Hydrochlorid über 3 Stufen.

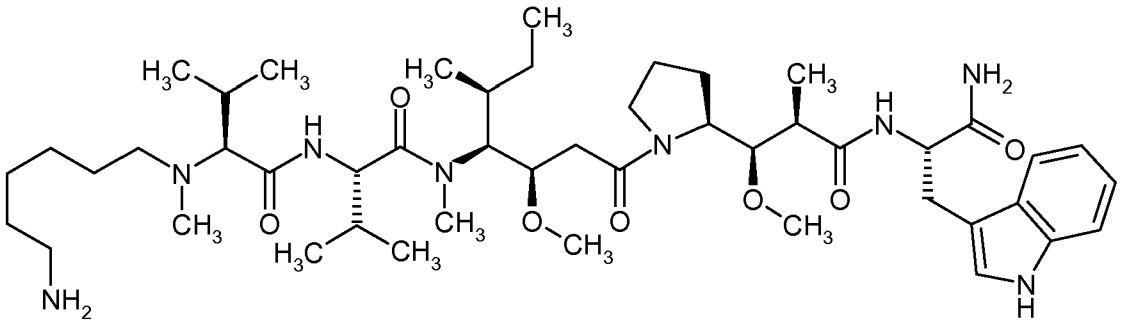
Ausbeute: 95 mg (31% d.Th. über 3 Stufen)

HPLC (Methode 5): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 9): R_t = 5.05 min; MS (ESIpos): m/z = 913 $(M+H)^+$.

Intermediat 88

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



Zunächst wurde in Analogie zu der in den Intermediat 69 beschriebenen Synthesen durch Kupplung von *N*-[(9H-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 4) und N^{α}-{(2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}-L-tryptophanamid-Trifluoracetat (Intermediat 49) in Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe mittels Piperidin die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat hergestellt. Aus 30 mg (0.03 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung der Verbindung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit Benzyl-(6-oxohexyl)carbamat, das vorher durch Oxidation von Benzyl-(6-hydroxyhexyl)carbamat gewonnen wurde, in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 17 mg (45% d. Th.) der Z-geschützten Verbindung erhalten. Anschließend wurde durch Hydrogenolyse in Methanol über 10% Palladium/Aktivkohle die Titelverbindung erhalten.

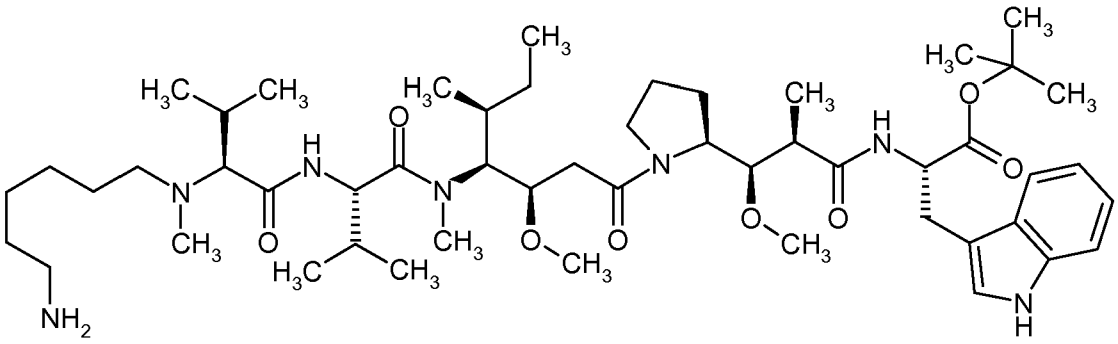
Ausbeute: 14 mg (95% d. Th.)

HPLC (Methode 5): R_t = 1.5 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.73 min; MS (ESIpos): m/z = 869 $(M+H)^+$.

Intermediat 89

N-(6-Aminohexyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-*tert.*-butoxy-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 86 beschriebenen Synthese durch Kupplung von *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) und *tert.*-Butyl-L-tryptophanat-hydrochlorid in Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure unter Erhalt des *tert.*-Butylesters (30 min Rühren mit Trifluoressigsäure/Dichlormethan 1:10) die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-*tert.*-butoxy-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat hergestellt. Aus 71 mg (0.075 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung der Verbindung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit Benzyl-(6-oxohexyl)carbamat, das vorher durch Oxidation von Benzyl-(6-hydroxyhexyl)carbamat gewonnen wurde, in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 35 mg (44% d. Th.) der Z-geschützten Verbindung erhalten. Anschließend wurde durch Hydrogenolyse in Methanol über 10% Palladium/Aktivkohle die Titelverbindung erhalten.

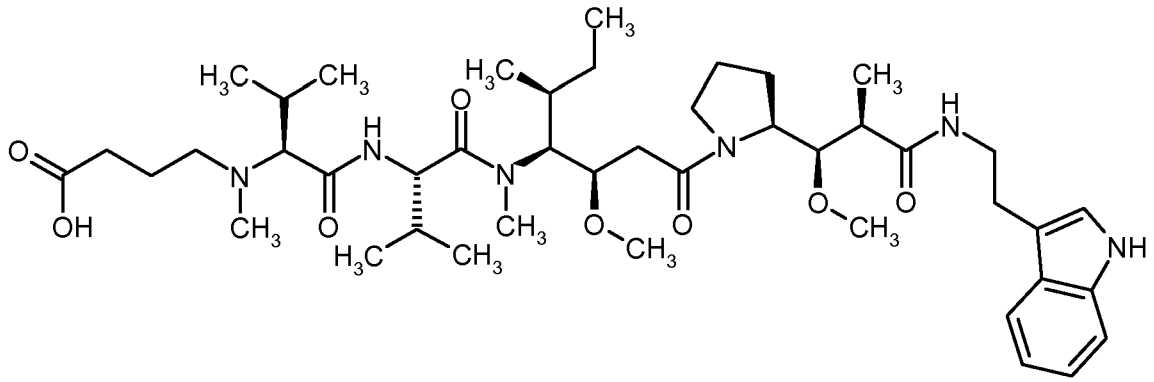
Ausbeute: 30 mg (98% d. Th.)

HPLC (Methode 5): Rt = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): Rt = 0.77 min; MS (ESIpos): m/z = 926 (M+H)+.

Intermediat 90

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



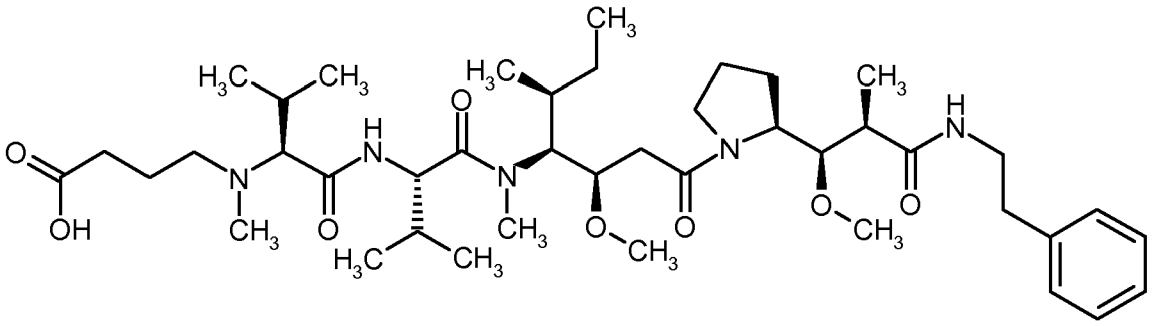
Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 74 beschriebenen Synthese durch Kupplung von *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) und 2-(1*H*-Indol-3-yl)ethanamin in Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat hergestellt. Aus 100 mg (0.119 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 50 mg (49% d. Th.) der Titelverbindung erhalten. Die Reinigung der Titelverbindung erfolgte hier durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan/Methanol/Ammoniak 17% als Eluent, wobei das Mischungsverhältnis von zunächst 15/2/02 auf 15/4/0.5 umgestellt wurde.

HPLC (Methode 6): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.87 min; MS (ESIpos): m/z = 813 $(M+H)^+$.

Intermediat 91

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-{(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-{(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(2-phenylethyl)amino]propyl}pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl}-*N*-methyl-L-valinamid



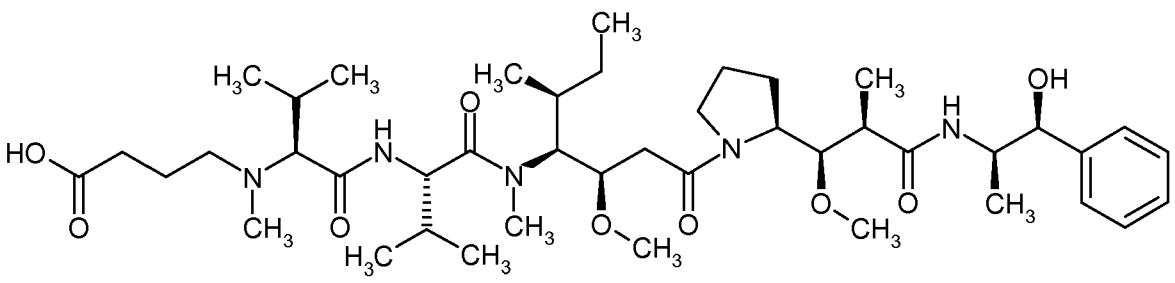
Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 74 beschriebenen Synthese durch Kupplung von *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) und Phenylethylamin in Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-{(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-{(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(2-phenylethyl)amino]propyl}pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl}-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat hergestellt. Aus 57 mg (0.071 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 44 mg (80% d. Th.) der Titelverbindung erhalten. Die Reinigung der Titelverbindung kann auch hier durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan/Methanol/Ammoniak 17% als Eluent erfolgen (15/2/02 -> 15/4/0.5).

HPLC (Methode 5): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 9): R_t = 4.64 min; MS (ESIpos): m/z = 774 $(M+H)^+$.

Intermediat 92

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(1*S*,2*R*)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



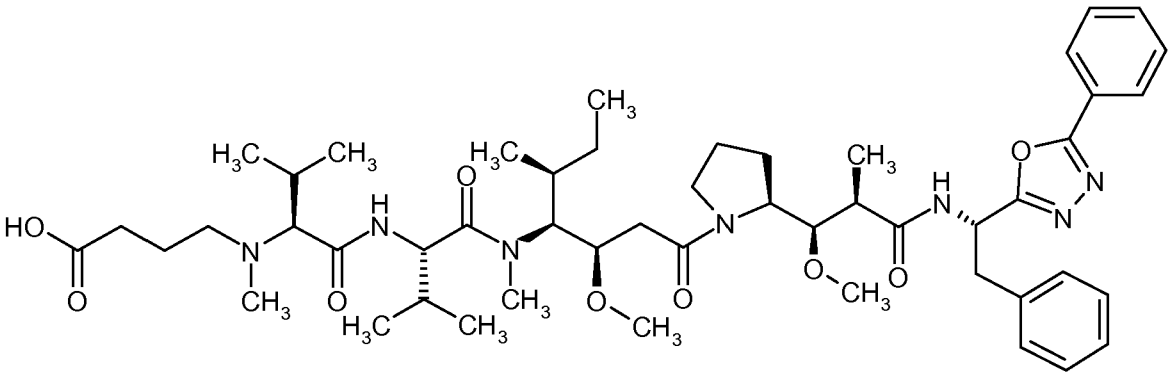
Aus 100 mg (0.139 mmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(*1R*,2*R*)-3-{[(1*S*,2*R*)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 40) wurden in Analogie zur Herstellung von Intermediat 61 durch Umsetzung mit 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid 94 mg (84% d. Th.) der Titelverbindung erhalten. Die Reinigung der Titelverbindung erfolgte durch präparative HPLC.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.5 min;

LC-MS (Methode 9): R_t = 4.46 min; MS (ESIpos): m/z = 804 $(M+H)^+$.

Intermediat 93

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1*S*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



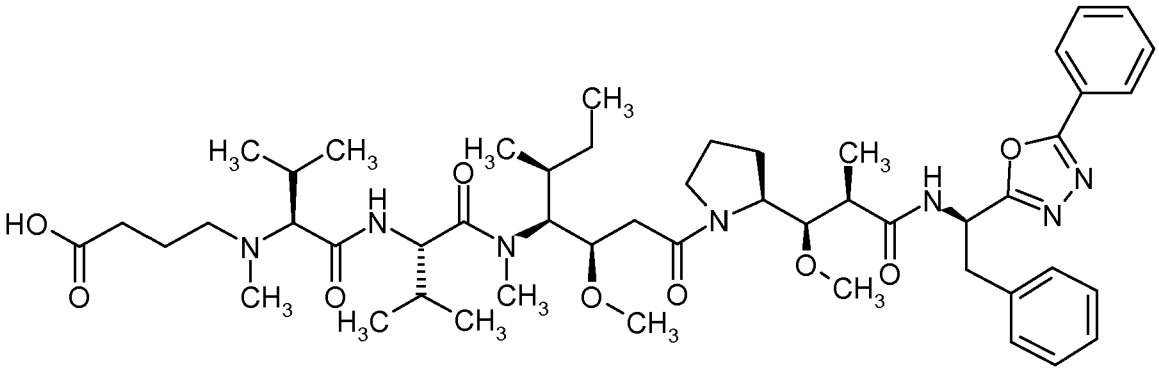
22.4 mg (24 µmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1*S*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat wurden in 1.4 ml Dioxan/Wasser gelöst und analog zur Herstellung von Intermediat 61 mit 15%-iger wässriger Lösung von 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid umgesetzt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 8.2 mg (38% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines weißen Feststoffs erhalten.

HPLC (Methode 10): R_t = 2.54 min

LC-MS (Methode 12): R_t = 0.94 min; MS (ESIpos): m/z = 919 $(M+H)^+$

Intermediat 94

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1*R*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



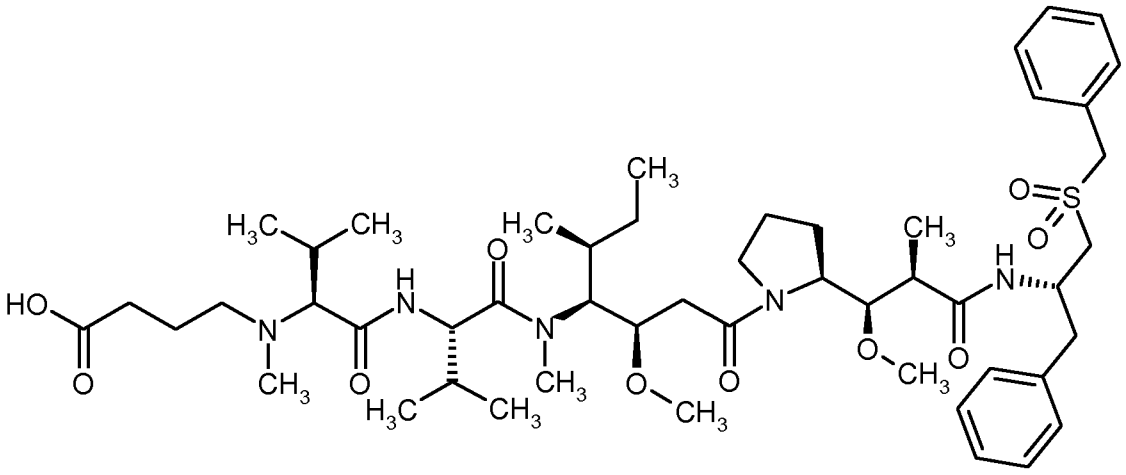
17.1 mg (18 µmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1*R*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat wurden in 1.1 ml Dioxan/Wasser gelöst und analog zur Herstellung von Intermediat 61 mit 15%-iger wässriger Lösung von 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid umgesetzt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 14.8 mg (89% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines weißen Feststoffs erhalten.

HPLC (Methode 10): R_t = 2.54 min;

LC-MS (Methode 12): R_t = 0.92 min; MS (ESIpos): m/z = 919 $(M+H)^+$

Intermediat 95

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzylsulfonyl)-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

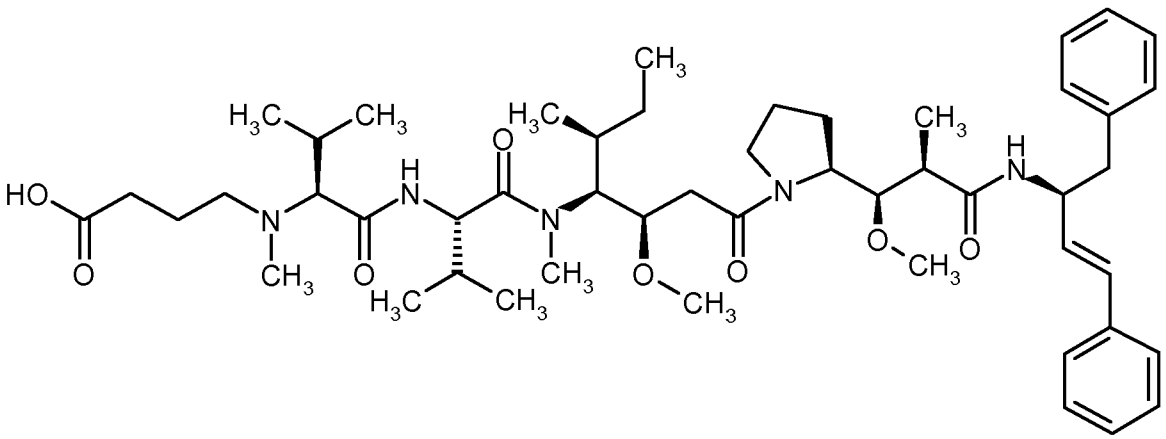


19.3 mg (20 µmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzylsulfonyl)-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat wurden in 1.2 ml Dioxan/Wasser gelöst und analog zur Herstellung von Intermediat 61 mit 15%-iger wässriger Lösung von 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid umgesetzt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 8.6 mg (45% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines Feststoffs erhalten.

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.85 min; MS (ESIpos): m/z = 943 $(M+H)^+$

Intermediat 96

N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*,3*E*)-1,4-diphenylbut-3-en-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



15.5 mg (10 µmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*,3*E*)-1,4-diphenylbut-3-en-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat wurden in 1.0 ml Dioxan/Wasser gelöst und

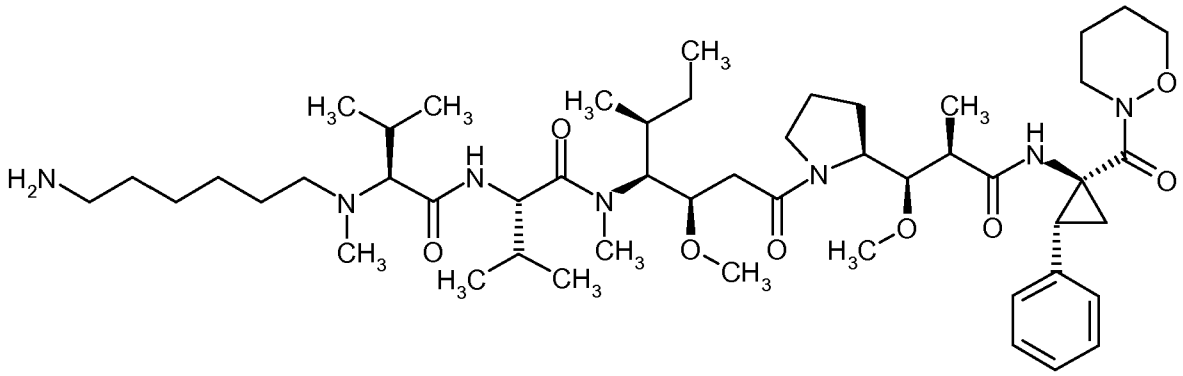
analog zur Herstellung von Intermediat 61 mit 15%-iger wässriger Lösung von 4-Oxobutansäure in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid umgesetzt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 10.3 mg (68% d. Th.) der Titelverbindung in Form eines weißen Feststoffs erhalten.

HPLC (Methode 10): R_t = 2.59 min;

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.94 min; MS (ESIpos): m/z = 877 $(M+H)^+$

Intermediat 97

N-(6-Aminohexyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Die Titelverbindung wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 66 durch Umsetzung von 200 mg (0.108 mmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]-pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat (Intermediat 16) mit Benzyl-(3-oxohexyl)carbamat und nachfolgende hydrogenolytische Abspaltung der Z-Schutzgruppe (mit 5% Palladium auf Kohle als Katalysator, in Methanol als Lösungsmittel) hergestellt.

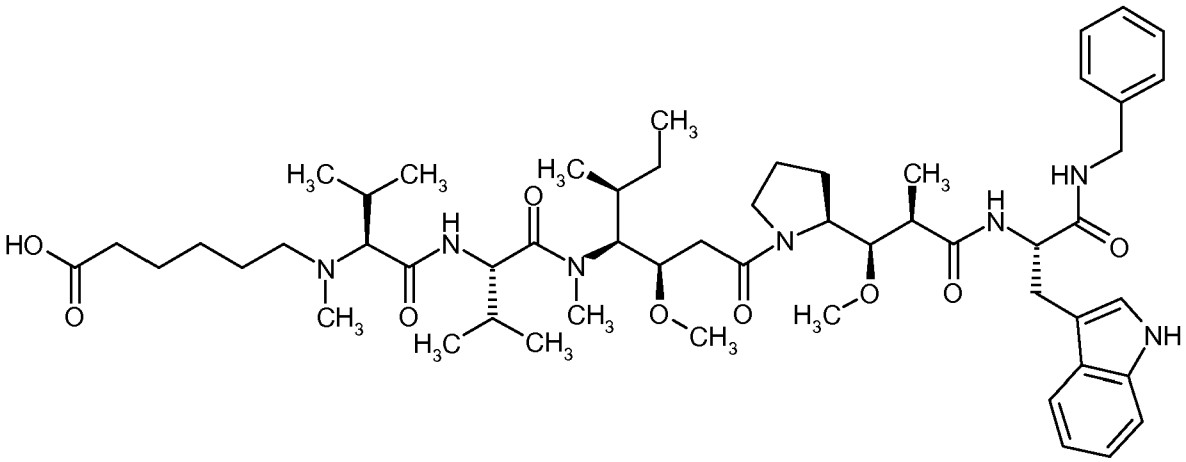
Ausbeute: 69 mg (65% d. Th. über zwei Stufen)

HPLC (Methode 5): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.76 min; MS (ESIpos): m/z = 912 $(M+H)^+$.

Intermediat 98

N-(5-Carboxypentyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzylamino)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Die Herstellung dieser Verbindung erfolgte in Analogie zur in Intermediat 80 beschriebenen Synthese. Die Reinigung erfolgte durch präparative HPLC.

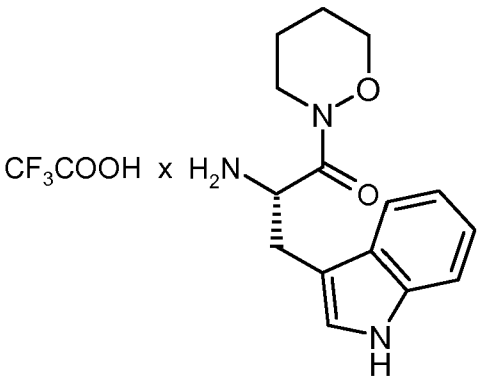
Ausbeute: 40 mg (29% d.Th. über 3 Stufen)

HPLC (Methode 5): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.92 min; MS (ESIpos): m/z = 974 $(M+H)^+$.

Intermediat 99

(2*S*)-2-Amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)propan-1-on-Trifluoracetat



324 mg (0.81 mmol) 2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl-*N*-(*tert.*-butoxycarbonyl)-L-tryptophanat wurden in 20 ml DMF gelöst und mit 200 mg (1.62 mmol) 1,2-Oxazinan-Hydrochlorid (Ausgangsverbindung

5) und 850 µl *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei 50°C gerührt und anschließend im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und mit Wasser extrahiert. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wurde durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan/Ethylacetat 4:1 als Laufmittel gereinigt. Die Produktfraktionen wurden eingeengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Man erhielt so 147.5 mg (48% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.03 min; MS (ESIpos): m/z = 374 $(M+H)^+$.

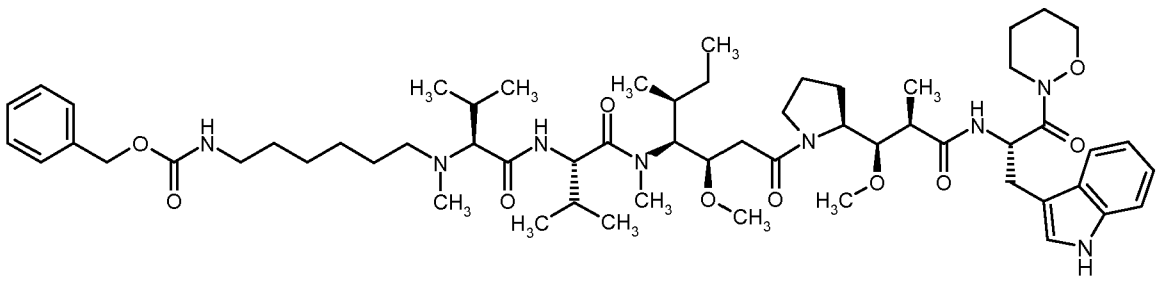
Aus 166 mg (444.5 µmol) dieses Intermediats wurde nach Standardbedingungen mit 3 ml Trifluoressigsäure in 20 ml Dichlormethan die Boc-Schutzgruppe abgespalten und nach HPLC Reinigung 155 mg (86% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.43 min;

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.56 min; MS (ESIpos): m/z = 274 $(M+H)^+$.

Intermediat 100

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



177 mg (260 µmol) *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) und 100 mg (260 µmol) (2*S*)-2-Amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)propan-1-on-Trifluoracetat (Intermediat 99) wurden in 15 ml DMF aufgenommen und mit 118 mg (310 µmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 140 µl *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min bei RT gerührt, anschließend im Vakuum eingeengt und der Rückstand mittels präparativer

HPLC aufgereinigt. Die Produktfraktionen wurden vereinigt und eingeengt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 170 mg (68% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.36 min; m/z = 940 $(M+H)^+$.

170 mg dieses Intermediats wurden zur Abspaltung der Boc-Schutzgruppe 30 min mit 3 ml Trifluoressigsäure in 30 ml Dichlormethan behandelt. Dann wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt, wobei 155 mg (86% d.Th.) des entschützten Intermediats N-Methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl] pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid erhalten wurden.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.85 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.86 min; MS (ESIpos): m/z = 840 $(M+H)^+$.

Aus 50 mg (0.052 mmol) dieses Intermediats wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 97 mit Benzyl-(3-oxohexyl)carbamat in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid und nachfolgender hydrogenolytischer Abspaltung der Z-Schutzgruppe (mit 5% Palladium auf Kohle als Katalysator, in Methanol als Lösungsmittel) hergestellt die Titelverbindung hergestellt.

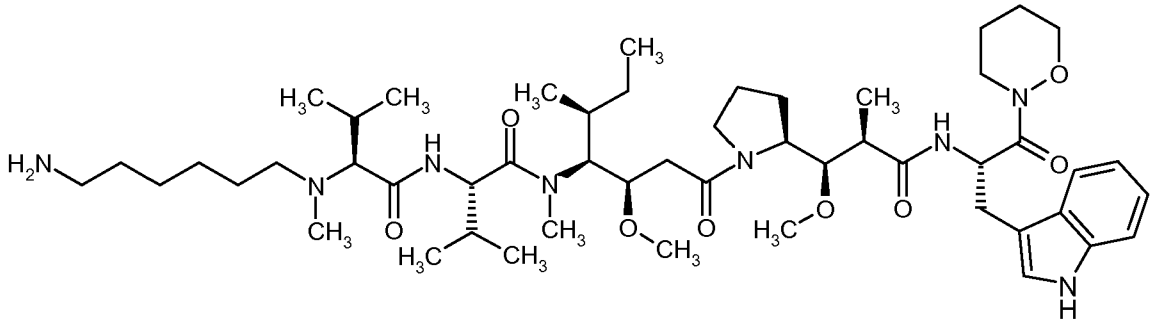
Ausbeute: 21 mg (37% d. Th.)

HPLC (Methode 12): R_t = 2.1 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.02 min; MS (ESIpos): m/z = 1073 $(M+H)^+$.

Intermediat 101

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



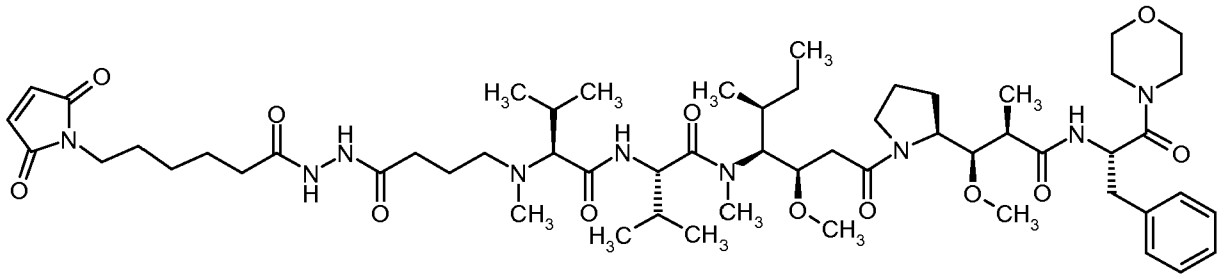
26.7 mg (24.87 µmol) von Intermediat 100 wurden in 10 ml Methanol gelöst und über Palladium/Aktivkohle (5%) 30 min bei Wasserstoff-Normaldruck hydriert. Der Katalysator wurde abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum abgedampft. Nach Trocknung des Rückstands im Hochvakuum wurden 22.5 mg (96% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.76 min; MS (ESIpos): m/z = 939 $(M+H)^+$.

Intermediat 102

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(morpholin-4-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde in Analogie zur in Intermediat 157 beschriebenen Synthese aus *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(morpholin-4-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid und kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid hergestellt.

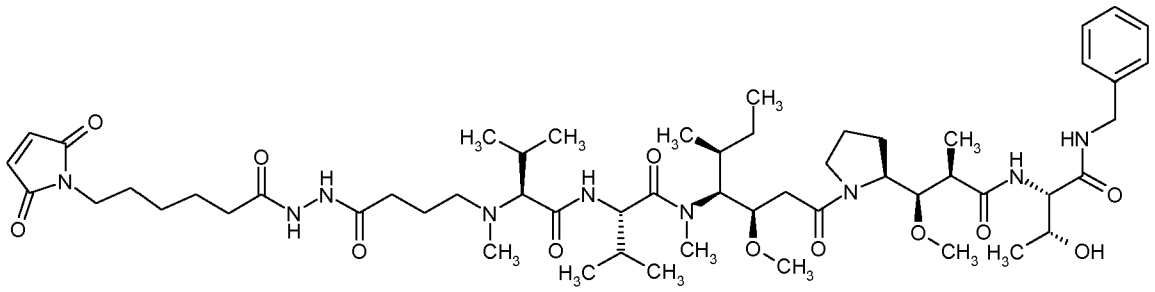
Ausbeute: 8 mg (71% d.Th.)

HPLC (Methode 12): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.87 min; MS (ESIpos): m/z = 1094 $(M+H)^+$.

Intermediat 103

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*,3*R*)-1-(benzylamino)-3-hydroxy-1-oxobutan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde in Analogie zur in Intermediat 157 beschriebenen Synthese aus *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*,3*R*)-1-(benzylamino)-3-hydroxy-1-oxobutan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid und kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid hergestellt.

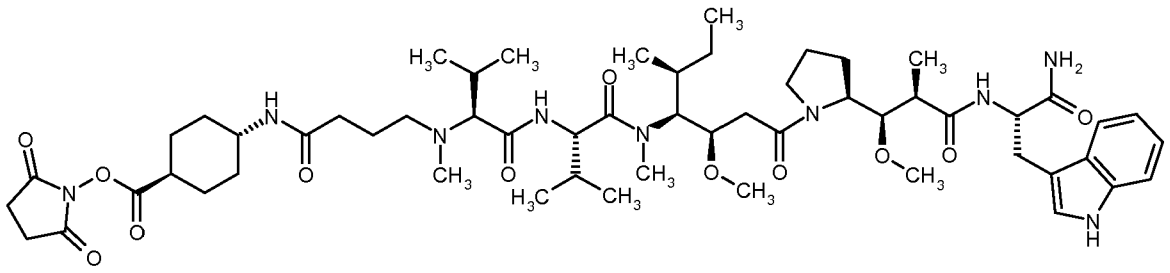
Ausbeute: 3 mg (22% d.Th.)

HPLC (Methode 5): R_t = 1.6 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.78 min; MS (ESIpos): m/z = 1069 $(M+H)^+$.

Intermediat 104

N-{4-[(trans-4-{[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]carbonyl}cyclohexyl)amino]-4-oxobutyl}-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Zunächst wurde Bbenzyl-trans-4-aminocyclohexancarboxylat-Trifluoracetat aus *trans*-4-Aminocyclohexancarbonsäure durch Einführung der Boc-Schutzgruppe, anschließende Einführung der Benzylesterschutzgruppe und nachfolgende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe nach klassischen Methoden der Peptidchemie hergestellt.

15 mg (18 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]

pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden dann in 5 ml Dimethylformamid gelöst und anschließend mit 13 mg (35 µmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat, 9 µL *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 15 mg (44 µmol) Benzyl-*trans*-4-aminocyclohexancarboxylat-Trifluoracetat versetzt. Die Mischung wurde 1 h bei RT gerührt und anschließend im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden vereinigt und das Lösungsmittels im Vakuum abgedampft. Nach Trocknung des Rückstands im Hochvakuum wurden 14.7 mg (78% d. Th.) des geschützten Intermediats als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 6): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.95 min; MS (ESIpos): m/z = 1072 $(M+H)^+$.

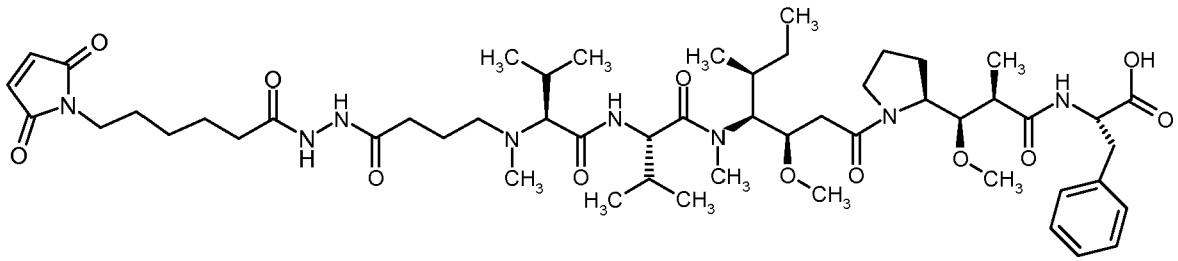
Von diesem geschützten Intermediat wurde zunächst hydrogenolytisch der Benzylester entfernt und die freie Carboxylkomponente in quantitativer Ausbeute erhalten. 14 mg (14 µmol; 1 Äquiv.) der entschützten Verbindung wurden in 5 ml DMF aufgenommen und mit 3.3 mg (29 µmol; 2.1 Äquiv.) *N*-Hydroxysuccinimid in Gegenwart von 4.1 mg (21 µmol; 1.5 Äquiv.) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 7.5 µL (44 µmol; 3.1 Äquiv.) *N,N*-Diisopropylethylamin und 0.9 mg (7 µmol; 0.5 Äquiv.) 4-Dimethylaminopyridin umgesetzt und über Nacht bei RT gerührt. Dann wurden nochmals 10 Äquiv. *N*-Hydroxysuccinimid, 5 Äquiv. 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 5 Äquiv. *N,N*-Diisopropylethylamin und 0.5 Äquiv. 4-Dimethylaminopyridin nachgesetzt und das Reaktionsgemisch 5 h im Ultraschallbad behandelt. Anschließend wurde das Lösungsmittel abgedampft, der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt und die entsprechenden Fraktionen vereinigt und eingeengt. Nach Lyophilisation des Rückstandes aus Dioxan wurden 9.7 mg (62% d. Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 6): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.77 min; MS (ESIpos): m/z = 1078 $(M+H)^+$.

Intermediat 105

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(1*S*)-1-carboxy-2-phenylethyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



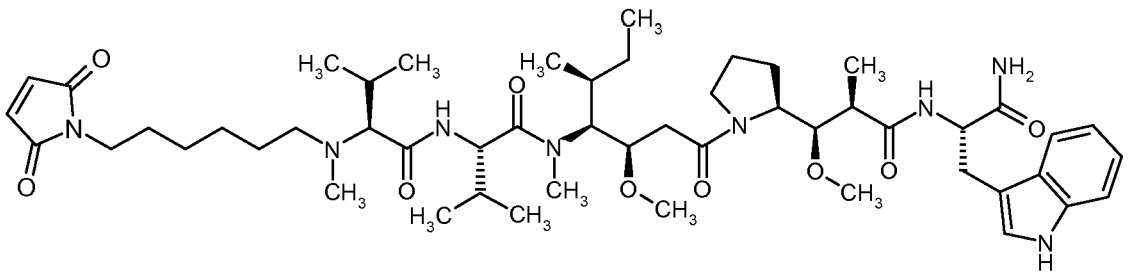
Diese Verbindung wurde in Analogie zur in Intermediat 157 beschriebenen Synthese ausgehend von 4-{[(2*S*)-1-{[(2*S*)-1-{[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-*tert.*-Butoxy-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl](methyl)amino}-3-methylbutan-2-yl]amino}-3-methyl-1-oxobutan-2-yl](methyl)amino}butansäure und kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid hergestellt. Das Ester-Intermediat wurde in 42%-iger Ausbeute erhalten. In einem zweiten Schritt wurde aus 6 mg (6 µmol) dieses Intermediats mit Trifluoressigsäure der tert.-Butylester gespalten. Nach HPLC Reinigung wurden 3.4 mg (48% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.66 min;

LC-MS (Methode 2): R_t = 1.04 min; MS (ESIpos): m/z = 1025 $(M+H)^+$.

Intermediat 106

N-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



14 mg (16 µmol) *N*-(6-Aminohexyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl] pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 87) wurden in 750 µl Dioxan aufgenommen und mit 1.5 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und anschließend mit 3.2 mg (21 µmol) Methyl-2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-carboxylat versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 1h bei RT gerührt und danach im Vakuum eingeengt. Der verbliebene

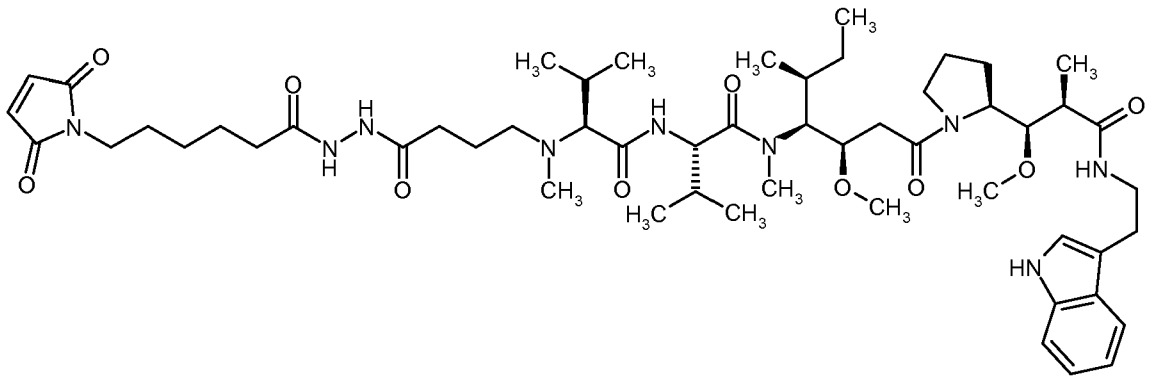
Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 5.5 mg (36% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.84 min; MS (ESIpos): m/z = 949 $(M+H)^+$.

Intermediat 107

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



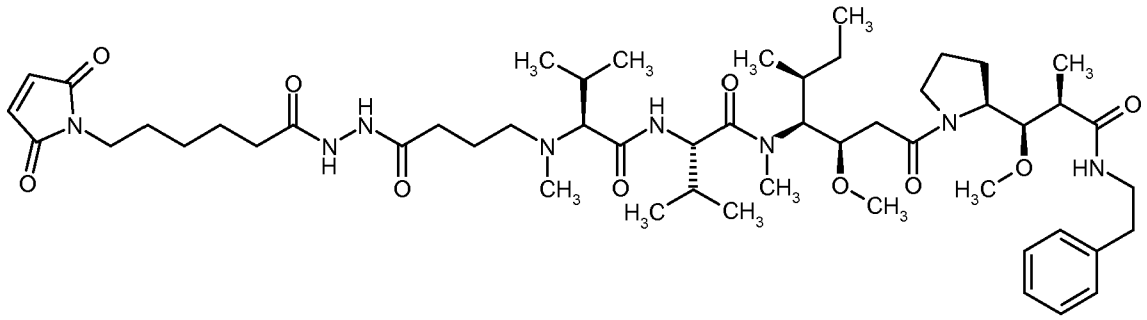
38 mg (47 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 37 ml DMF gelöst und anschließend mit 71 mg (187 µmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat, 33 µL *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 37 mg (140 µmol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid versetzt. Die Mischung wurde 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde im Hochvakuum eingeengt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 12.2 mg (26 % d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.6 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.85 min; MS (ESIpos): m/z = 1020 $(M+H)^+$.

Intermediat 108

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-{(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-[(2*S*)-2-{(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-[(2-phenylethyl)amino]propyl}pyrrolidin-1-yl]-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl}-*N*-methyl-L-valinamid



Die Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 107 hergestellt.

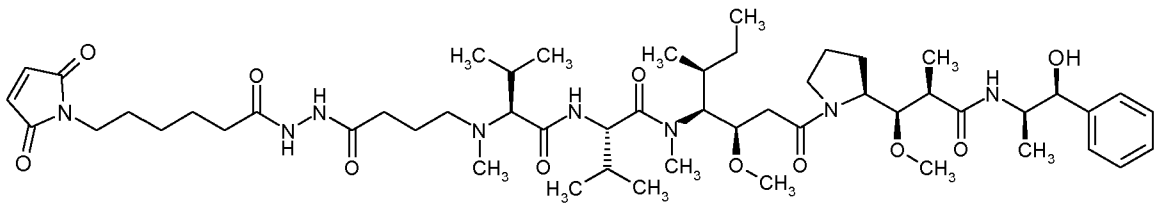
Ausbeute: 2.5 mg (30 % d.Th.)

HPLC (Methode 12): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.9 min; MS (ESIpos): m/z = 981 $(M+H)^+$.

Intermediat 109

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(1*S*,2*R*)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Die Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 107 aus der Verbindung in Intermediat 92 hergestellt.

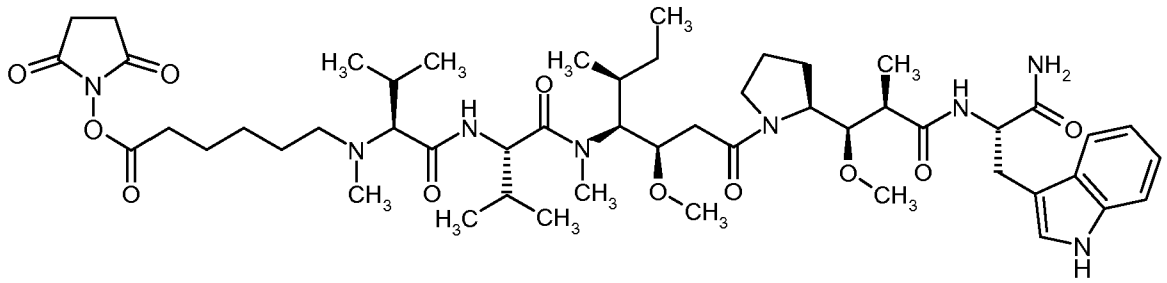
Ausbeute: 35 mg (65 % d.Th.)

HPLC (Methode 5): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.76 min; MS (ESIpos): m/z = 1011 $(M+H)^+$.

Intermediat 110

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



Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 147 aus der Verbindung in Intermediat 83 hergestellt.

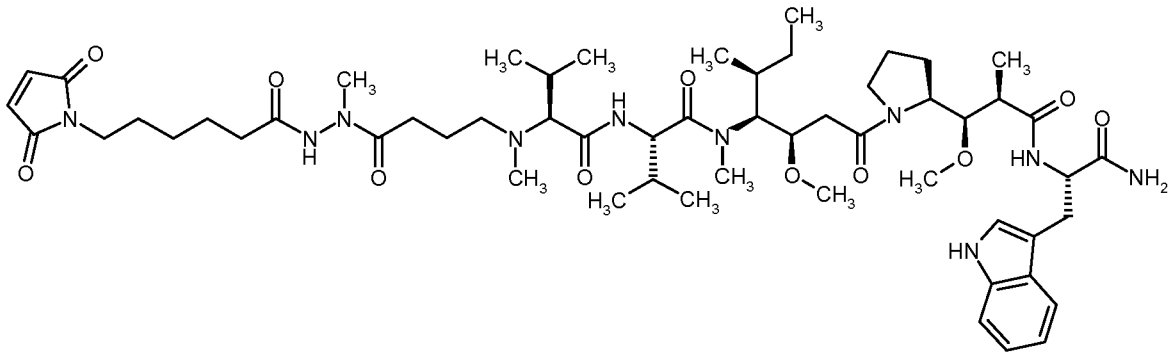
Ausbeute: 2.4 mg (24 % d.Th.)

HPLC (Methode 6): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.87 min; MS (ESIpos): m/z = 981 $(M+H)^+$.

Intermediat 111

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]-1-methylhydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-amino-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 140 aus Intermediat 82 und Intermediat 22 hergestellt.

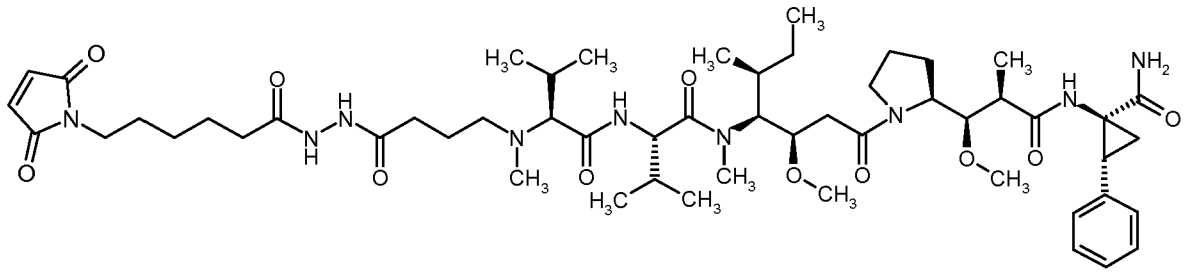
Ausbeute: 6.5 mg (51 % d.Th.)

HPLC (Methode 6): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 4.71 min; MS (ESIpos): m/z = 1077 $(M+H)^+$.

Intermediat 112

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(1*S*,2*R*)-1-carbamoyl-2-phenylcyclopropyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 157 aus der Verbindung in Intermediat 81 hergestellt.

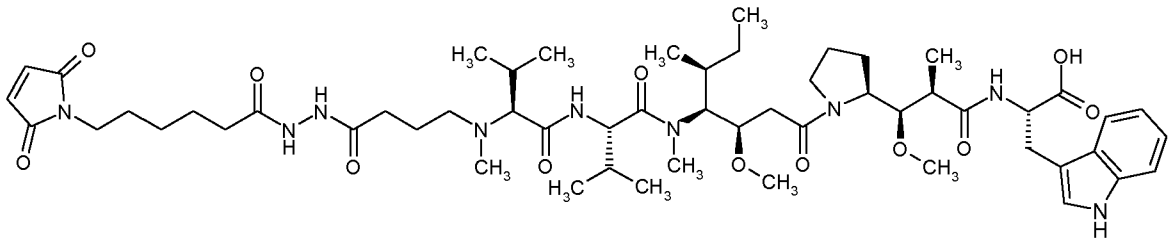
Ausbeute: 5.7 mg (57 % d.Th.)

HPLC (Methode 5): R_t = 1.6 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.87 min; MS (ESIpos): m/z = 1036 $(M+H)^+$.

Intermediat 113

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(1*S*)-1-carboxy-2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



95 mg (104 µmol) von 4-{[(2*S*)-1-{[(2*S*)-1-{[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-*tert.*-Butoxy-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl](methyl)amino}-3-methylbutan-2-yl]amino}-3-methyl-1-oxobutan-2-yl](methyl)amino}butansäure wurden in DMF gelöst und anschließend mit 79.5 mg (209 µmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat, 73 µL *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 68 mg (261 µmol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid versetzt. Die Mischung wurde 2 h bei RT gerührt. Anschließend wurde im Hochvakuum eingeengt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 104 mg (89 % d.Th.) des tert.-Butylesters der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.93 min; MS (ESIpos): m/z = 1121 $(M+H)^+$.

Das Intermediat wurde in 33.4 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 17 ml Trifluoressigsäure versetzt und 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt und der Rückstand durch präparative HPLC gereinigt.

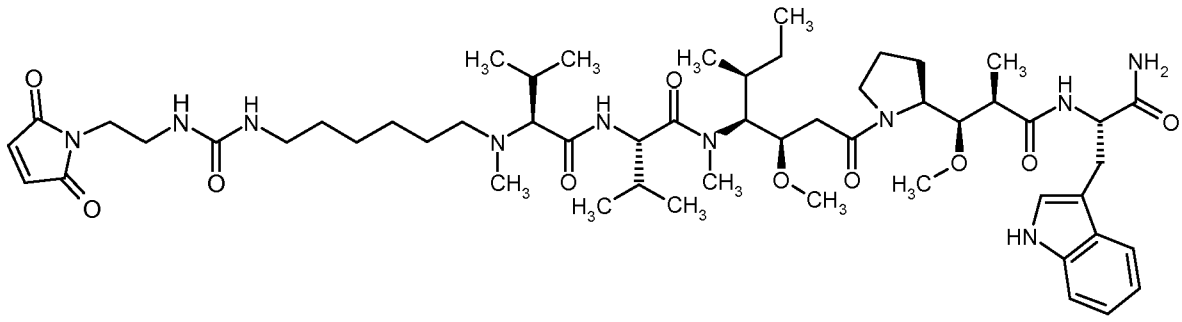
So wurden 61 mg (62 % d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.86 min; MS (ESIpos): m/z = 1064 $(M+H)^+$.

Intermediat 114

N-[6-({[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)ethyl]carbamoyl}amino)hexyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



5 mg (5µmol) von *N*-(6-Aminohexyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 885 µl DMF aufgenommen und mit 5.3 mg (8 µmol) 4-Nitrophenyl-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)ethyl]carbamat sowie 2.8 µl *N*,*N*-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2h bei RT gerührt und anschließend bis zur Trockene eingeengt. Der Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt.

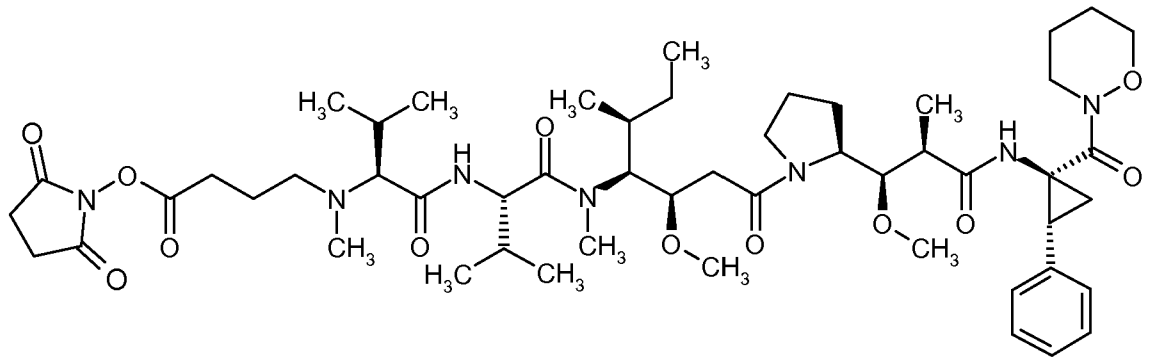
Ausbeute: 0.58 mg (11% d.Th.) eines farblosen Schaums

HPLC (Methode 5): R_t = 1.6 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.83 min; MS (ESIpos): m/z = 1035 $(M+H)^+$.

Intermediat 115

N-{4-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-4-oxobutyl}-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde in Analogie zu der Verbindung in Intermediat 147 ausgehend von 8 mg (9 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid hergestellt. Nach dem Einengen wurde der aktivierte Ester mittels präparativer HPLC gereinigt und nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum sofort mit dem Antikörper umgesetzt.

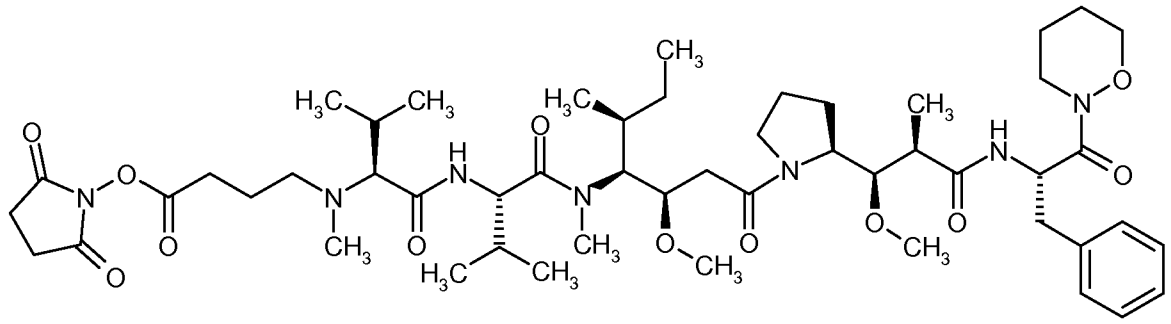
Ausbeute: 3 mg (27% d.Th.) (hydrolyseempfindlich)

HPLC (Methode 5): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.87 min; MS (ESIpos): m/z = 996 $(M+H)^+$.

Intermediat 116

N-{4-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-4-oxobutyl}-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde in Analogie zu der Verbindung in Intermediat 147 ausgehend von 5 mg (6 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]-pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid hergestellt. Nach dem Einengen wurde der aktivierte Ester mittels präparativer HPLC gereinigt und nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum sofort mit dem Antikörper umgesetzt.

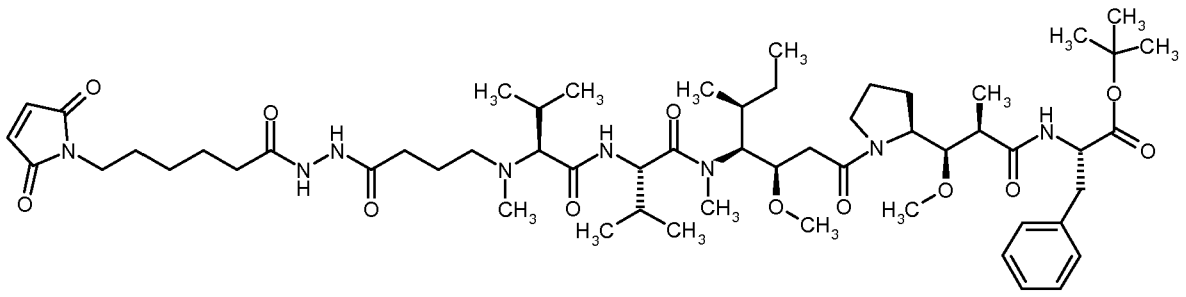
Ausbeute: 3.2 mg (43% d.Th.) (hydrolyseempfindlich)

HPLC (Methode 5): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.92 min; MS (ESIpos): m/z = 984 $(M+H)^+$.

Intermediat 117

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-tert.-butoxy-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 157 aus der Verbindung in Intermediat 86 hergestellt.

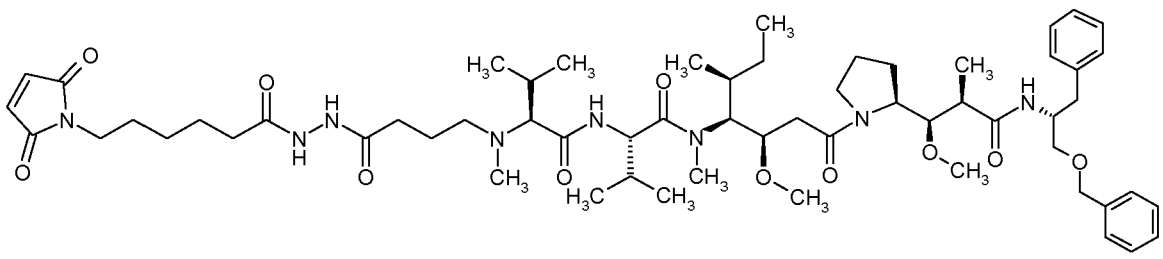
Ausbeute: 7 mg (42 % d.Th.)

HPLC (Methode 5): R_t = 1.6 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.94 min; MS (ESIpos): m/z = 1081 $(M+H)^+$.

Intermediat 118

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*R*)-1-(benzyloxy)-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

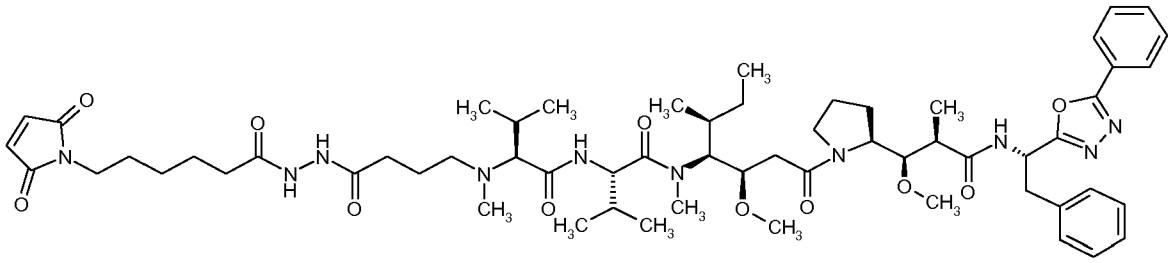


Die Zielverbindung wurde analog zu Intermediat 157 aus 7 mg (7.8 µmol) der Verbindung in Intermediat 68 hergestellt. Ausbeute: 6.3 mg (53% d.Th.)

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.00 min; MS (ESIpos): m/z = 1102 $(M+H)^+$.

Intermediat 119

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1*S*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

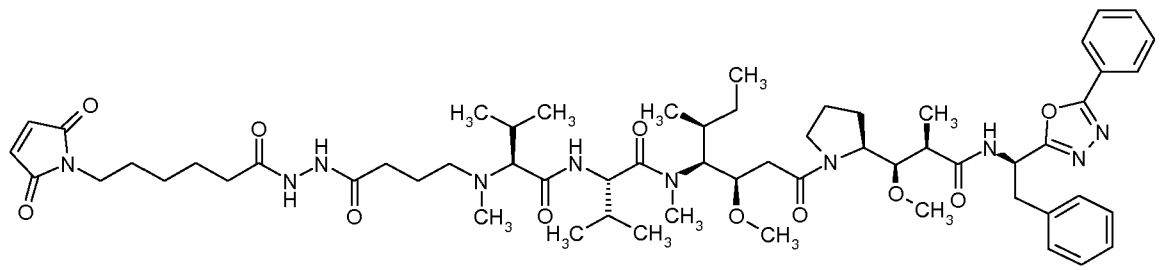


7.4 mg (8.1 mmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1*S*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid und 6.3 mg (24.2 mmol) 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid-hydrochlorid wurden in Analogie zu Intermediat 157 gekuppelt und aufgearbeitet. Es wurden 1.6 mg (13%. d. Th.) der Titelverbindung als Feststoff erhalten.

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.89 min; MS (ESIpos): m/z = 1126 $(M+H)^+$

Intermediat 120

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1*R*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

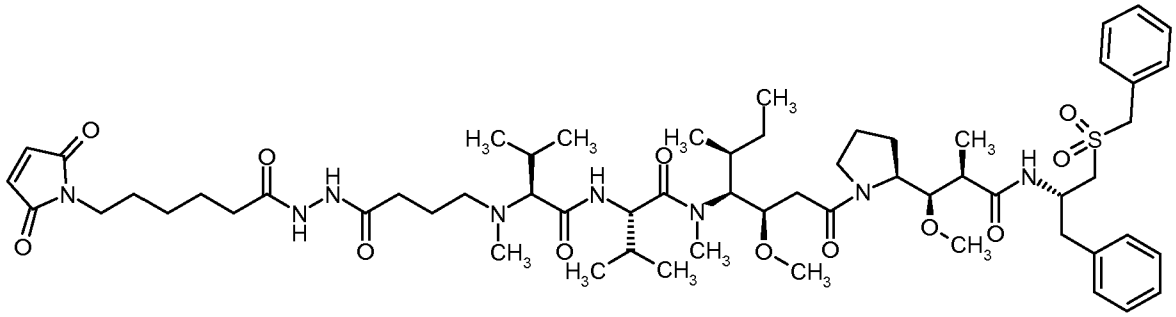


12.8 mg (13.9 mmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1*R*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid und 10.9 mg (41.8 mmol) 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid-Hydrochlorid wurden in Analogie zu Intermediat 157 gekuppelt und aufgearbeitet. Es wurden 10.8 mg (59%. d. Th.) der Titelverbindung als Feststoff erhalten.

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.90 min; MS (ESIpos): m/z = 1126 $(M+H)^+$

Intermediat 121

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzylsulfonyl)-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

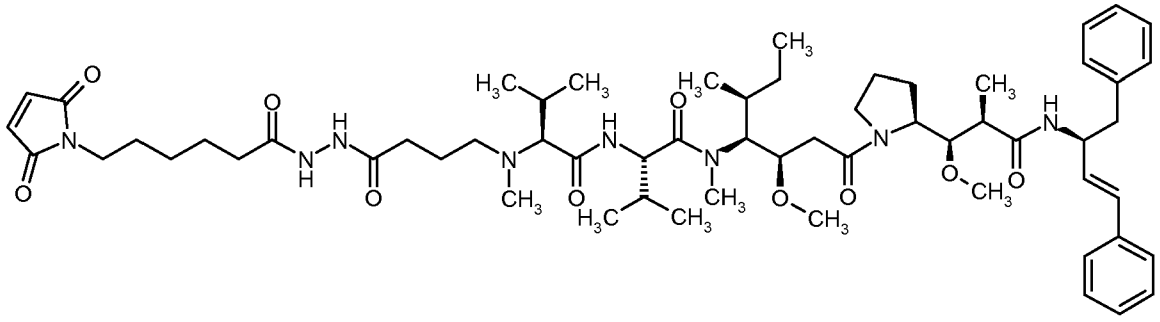


7.4 mg (7.9 mmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzylsulfonyl)-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid und 6.2 mg (23.5 mmol) 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid-Hydrochlorid wurden in Analogie zu Intermediat 157 gekuppelt und aufgearbeitet. Es wurden 6.9 mg (7 4% d. Th.) der Titelverbindung als Feststoff erhalten.

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.87 min; MS (ESIpos): m/z = 1150 $(M+H)^+$

Intermediat 122

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*,3***E***)-1,4-diphenylbut-3-en-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

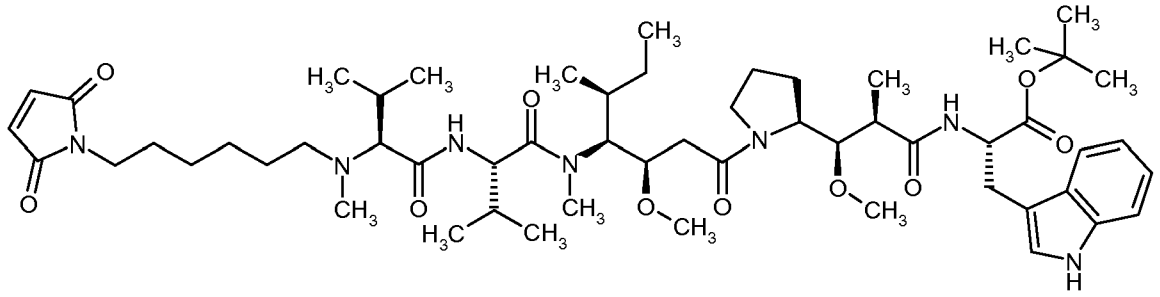


8 mg (9.1 mmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*,3*E*)-1,4-diphenylbut-3-en-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid und 7.2 mg (27.4 mmol) 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid-Hydrochlorid wurden in Analogie zu Intermediat 157 gekuppelt und aufgearbeitet. Es wurden 8.2 mg (82 % d. Th.) der Titelverbindung als weißer Feststoff erhalten.

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.95 min; MS (ESIpos): m/z = 1083 $(M+H)^+$

Intermediat 123

N-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-*tert.*-butoxy-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



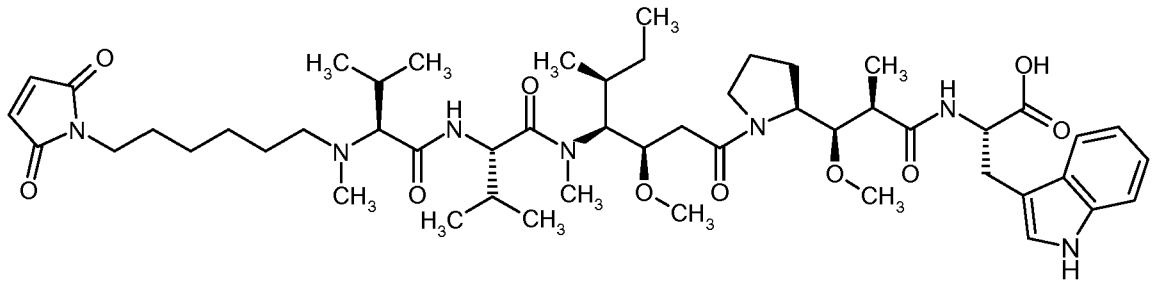
30 mg (30 µmol) von Intermediat 89 wurden in 2 ml 1,4-Dioxan aufgenommen und mit 4 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und anschließend mit 7.5 mg (50 µmol) Methyl-2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-carboxylat versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 1h bei RT gerührt und danach im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 24 mg (74% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 2.2 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.01 min; MS (ESIpos): m/z = 1006 $(M+H)^+$.

Intermediat 124

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



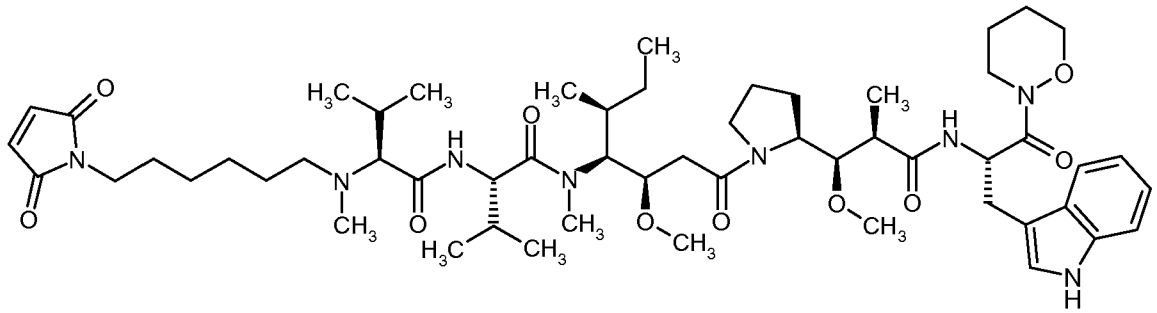
22 mg (20 µmol) von Intermediat 123 wurden mit 4 ml Trifluoressigsäure in 8 ml Dichlormethan 1 h bei RT umgesetzt. Danach wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 11 mg (54% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.85 min; MS (ESIpos): m/z = 950 $(M+H)^+$.

Intermediat 125

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



22.5 mg (20 µmol) von Intermediat 101 wurden in 2 ml Dioxan/Wasser 1:1 aufgenommen und anschließend mit 5.6 mg (40 µmol) Methyl-2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-carboxylat sowie mit 0.25 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min bei RT gerührt. Dann wurden nochmals 0.25 ml der gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung

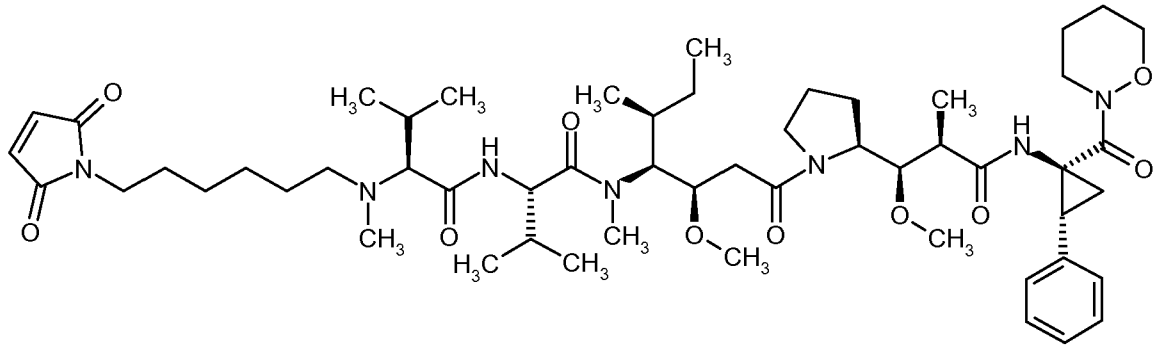
zugegeben und das Reaktionsgemisch weitere 15 min bei RT gerührt und anschließend im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 12.8 mg (50% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.95 min; MS (ESIpos): m/z = 1019 $(M+H)^+$.

Intermediat 126

N-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



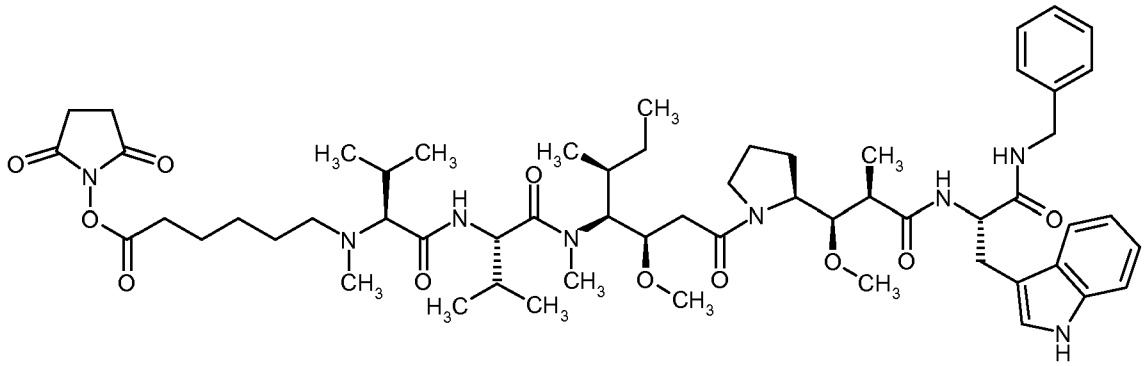
64 mg (70 µmol) *N*-(6-Aminohexyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 97) wurden in 3 ml Dioxan/Wasser 1:1 aufgenommen, dann mit 4 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung auf pH 9 eingestellt und anschließend mit 16.3 mg (110 µmol) Methyl-2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-carboxylat versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 1 h bei RT gerührt und danach im Vakuum eingeengt. Dann wurden nochmals 8 mg (55 µmol) Methyl-2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-carboxylat nachgesetzt, das Reaktionsgemisch erneut auf pH 9 eingestellt und eine weitere Stunde bei RT gerührt. Anschließend wurde eingeengt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Isoliert wurden zunächst 31 mg eines noch nicht cyclisierten Intermediats. 27 mg von diesem Intermediat wurden erneut in 2 ml Dioxan/Wasser 1:1 aufgenommen und dann mit 250 µl gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung versetzt. Nach 2 Stunden Rühren bei RT wurde das Reaktionsgemisch eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 20 mg (29% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.96 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.97 min; MS (ESIpos): m/z = 992 $(M+H)^+$.

Intermediat 127

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



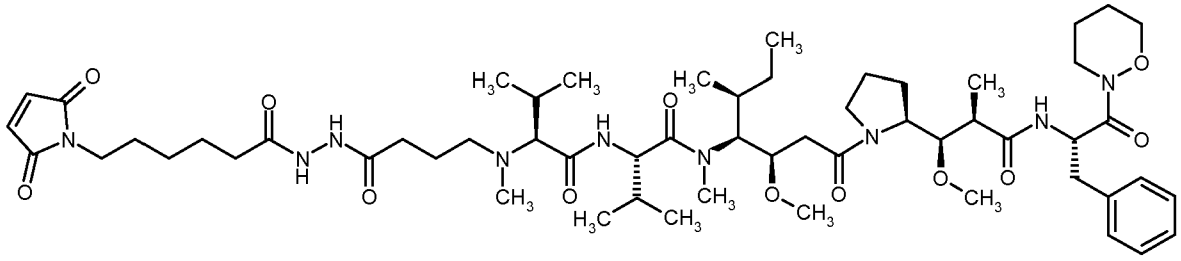
17 mg (18 µmol) *N*-(5-Carboxypentyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzylamino)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 98) wurden in 2.8 ml Dichlormethan gelöst und mit 20 mg (174 mmol) 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion und anschließend mit 10 mg (52 µmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid und 0.21 mg (0.17 µmol) DMAP versetzt. Nach 4 h Rühren bei RT wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 8.2 mg (43% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.98 min; MS (ESIpos): m/z = 1071 $(M+H)^+$.

Intermediat 128

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



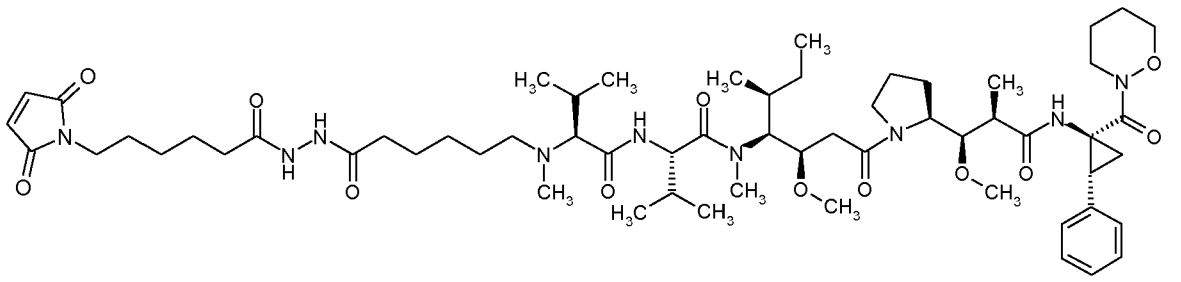
5 mg (5.6 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 845 µl DMF gelöst und anschließend mit 3.2 mg (17 µmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 2.6 mg (17 µmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat, 1.96 µL *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 5.9 mg (22.5 µmol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 2.2 mg (36%) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.88 min; MS (ESIpos): m/z = 1094 $(M+H)^+$.

Intermediat 129

N-(6-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-6-oxohexyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



4 mg (4.3 µmol) *N*-(5-Carboxypentyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in

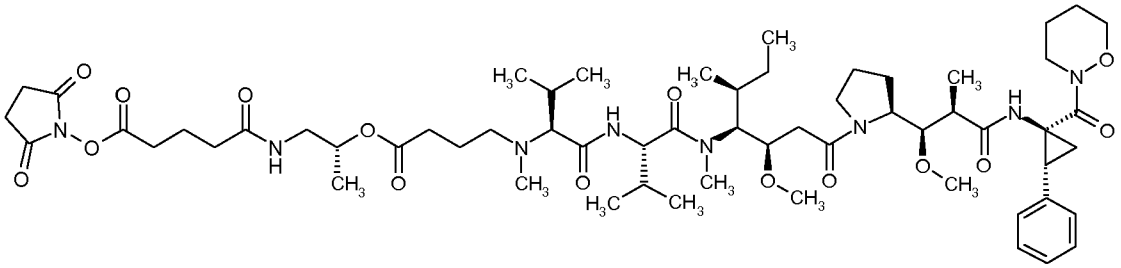
646 µl DMF gelöst und anschließend mit 2.5 mg (13 µmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 2.0 mg (13 µmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat, 2.25 µL *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 4.5 mg (17 µmol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid versetzt. Die Mischung wurde 3h bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 1.9 mg (39%) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 9): R_t = 4.9 min; MS (ESIpos): m/z = 1134 $(M+H)^+$.

Intermediat 130

N-(4-{[(2*R*)-1-({5-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-5-oxopentanoyl}amino)propan-2-yl]oxy}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



10.5 mg (11.7 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 3.7 ml Dichlormethan gelöst und anschließend mit 6.7 mg (35 µmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 0.7 mg (5.8 µmol) 4-Dimethylaminopyridin sowie mit 8.2 mg (47 µmol) von kommerziell erhältlichem *tert.*-Butyl-[(2*R*)-2-hydroxypropyl]carbamat versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 7.5 mg (61% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.03 min; MS (ESIpos): m/z = 1056 $(M+H)^+$.

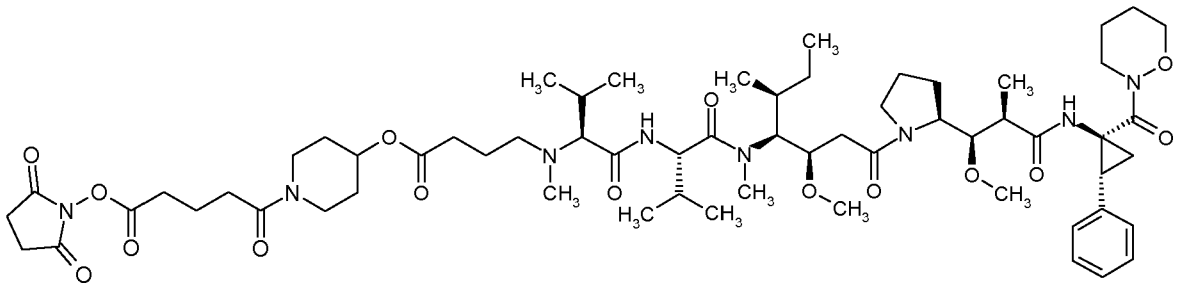
Anschließend wurde die Boc-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure abgespalten. 4.9 mg (0.005 mmol) des entschützten Rohprodukts wurden dann ohne weitere Reinigung in 1.8 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 3.7 mg (0.011 mmol)1,1'-[(1,5-Dioxopentan-1,5-diyl)bis(oxy)]dipyrrolidin-2,5-dion, 2.4 µl (0.014 mmol) *N,N*-Diisopropylethylamin und 0.6 mg (5 µmol) 4-Dimethylaminopyridin versetzt. Die Mischung wurde 2h bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 0.77 mg (15% d. Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.93 min; MS (ESIpos): m/z = 1167 $(M+H)^+$.

Intermediat 131

N-{4-[(1-{5-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-5-oxopentanoyl}piperidin-4-yl)oxy]-4-oxobutyl}-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



10 mg (11 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 2 ml Dichlormethan gelöst und anschließend mit 4.3 mg (22 µmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 0.88 mg (6 µmol) 4-Dimethylaminopyridin sowie mit 5.2 mg (22 µmol) kommerziell erhältlichem Benzyl-4-hydroxypiperidin-1-carboxylat versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 5 mg (40% d. Th.) des Z-geschützten Intermediats als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 2.1 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.04 min; MS (ESIpos): m/z = 1116 $(M+H)^+$.

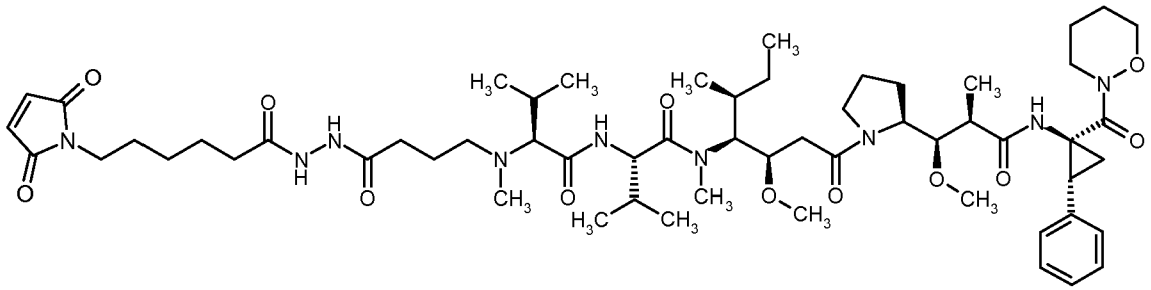
Anschließend wurde die Z-Schutzgruppe hydrogenolytisch in Ethanol über Palladium/Aktivkohle abgespalten. 4.6 mg (0.005 mmol) des entschützten Rohprodukts wurden dann ohne weitere Reinigung in 1.8 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 3.8 mg (0.012 mmol)1,1'-[(1,5-Dioxopentan-1,5-diyl)bis(oxy)]dipyrrolidin-2,5-dion, 0.8 µl (0.005 mmol) *N,N*-Diisopropylethyl amin und 0.6 mg (5 µmol) 4-Dimethylaminopyridin versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 0.96 mg (16% d. Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.94 min; MS (ESIpos): m/z = 1193 $(M+H)^+$.

Intermediat 132

N-(4-{2-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazinyl}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



15 mg (16.7 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 2500 µl DMF gelöst und anschließend mit 9.6 mg (50 µmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 7.6 mg (50 µmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat, 5.8 µL *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 17.4 mg (67 µmol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer

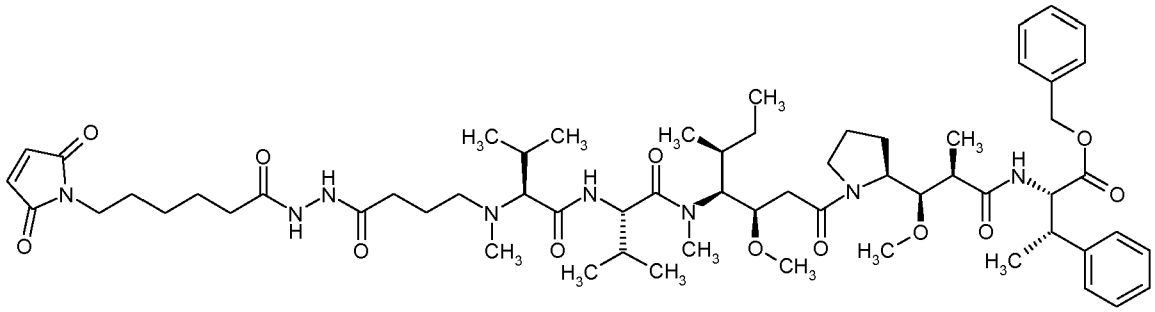
HPLC aufgereinigt. So wurden 11.2 mg (52% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 2): R_t = 1.09 min; MS (ESIpos): m/z = 1106 $(M+H)^+$.

Intermediat 133

N-(4-{2-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazinyl}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*,3*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



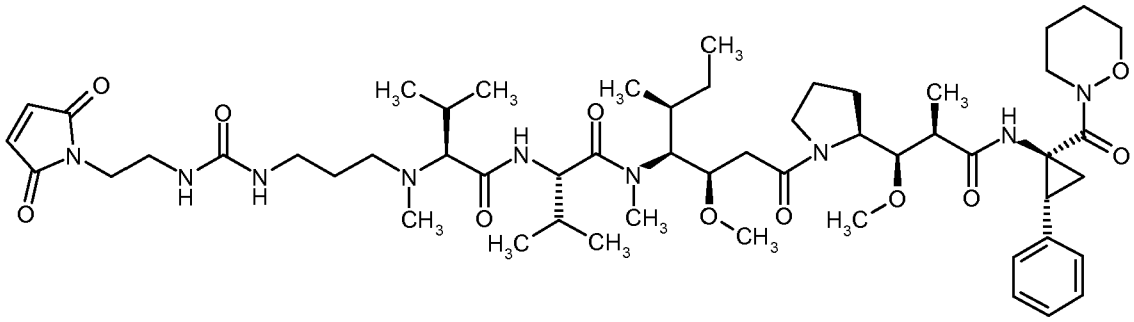
5.8 mg (6.3 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*,3*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl] pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 943 µl DMF gelöst und anschließend mit 3.6 mg (19 µmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 2.9 mg (19 µmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat, 2.2 µL *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 6.6 mg (25 µmol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 4.5 mg (64% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.03 min; MS (ESIpos): m/z = 1129 $(M+H)^+$.

Intermediat 134

N-[3-({[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)ethyl]carbamoyl}amino)propyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Zunächst wurde 4-Nitrophenyl-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)ethyl]carbamat nach Standardbedingungen ausgehend von kommerziell erhältlichem 1-(2-Aminoethyl)-1*H*-pyrrol-2,5-dion-Trifluoracetat und 4-Nitrophenylchlorocarbonat hergestellt.

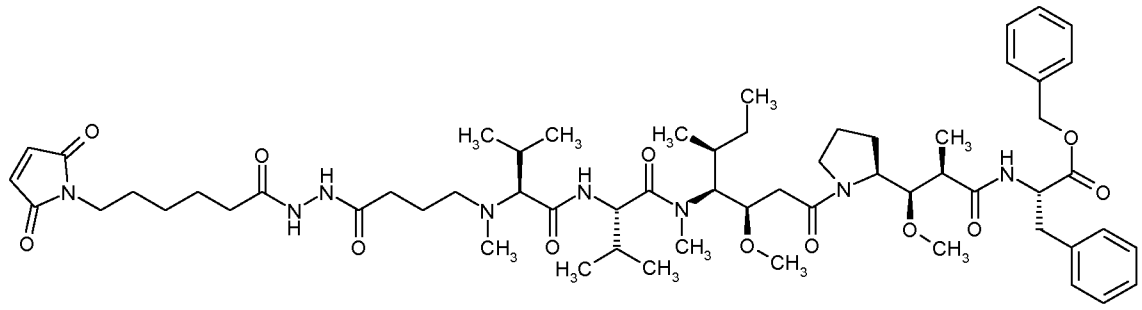
5 mg (6 µmol) *N*-(3-Aminopropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl] amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 1000 µl DMF gelöst und anschließend mit 2 µL *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 2.2 mg (9 µmol) 4-Nitrophenyl-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)ethyl]carbamat versetzt. Die Mischung wurde 1 h bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 1.6 mg (23% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 2): R_t = 1.09 min; MS (ESIpos): m/z = 1036 $(M+H)^+$.

Intermediat 135

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



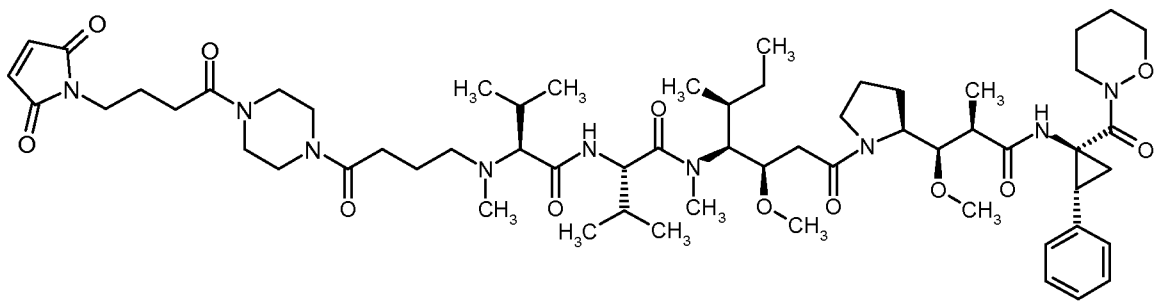
10 mg (11 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 4000 µl DMF gelöst und anschließend mit 6.3 mg (33 µmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 4.5 mg (33 µmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat, 5.7 µL *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 11.5 mg (44 µmol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 2.6 mg (14% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 6): R_t = 2.1 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.01 min; MS (ESIpos): m/z = 1115 $(M+H)^+$.

Intermediat 136

N-(4-{4-[4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)butanoyl]piperazin-1-yl}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Zunächst wurde 1-[4-Oxo-4-(piperazin-1-yl)butyl]-1*H*-pyrrol-2,5-dion-Trifluoracetat nach Standardbedingungen ausgehend von tert.-Butylpiperazin-1-carboxylat und 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)butansäure über 2 Stufen hergestellt.

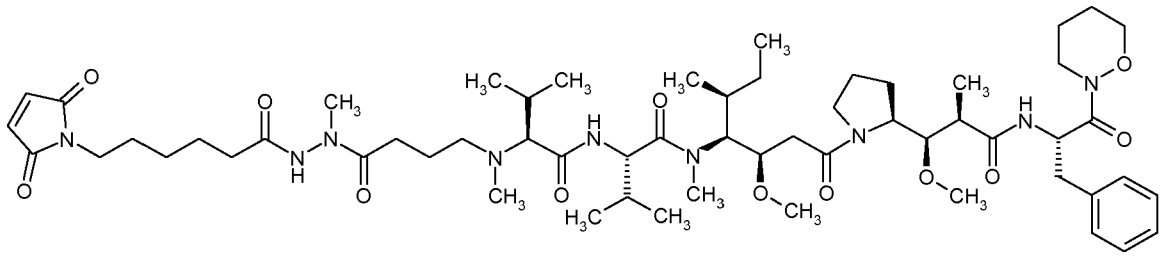
5 mg (5.6 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 1000 µl DMF gelöst und anschließend mit 2.1 mg (11 µmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 1.7 mg (11 µmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat, 2 µL *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 3.5 mg (5.6 µmol) 1-[4-Oxo-4-(piperazin-1-yl)butyl]-1*H*-pyrrol-2,5-dion-Trifluoracetat versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt. Dann wurden 2.1 mg (5.6 µmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat hinzugegeben und das Reaktionsgemisch weitere 3h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden eingeengt und durch Lyophilisation aus Wasser wurden 0.6 mg (10% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 6): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.9 min; MS (ESIpos): m/z = 1132 $(M+H)^+$.

Intermediat 137

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]-1-methylhydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Zunächst wurde 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-*N*'-methylhexanhydrazid-Trifluoracetat nach Standardbedingungen ausgehend von kommerziell erhältlicher 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexansäure und *tert.*-Butyl-1-methylhydrazincarboxylat über 2 Stufen hergestellt.

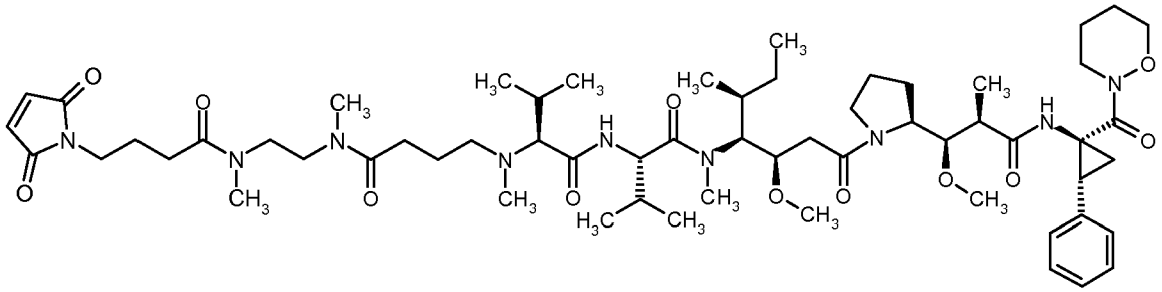
6.9 mg (8 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 2540 µl DMF gelöst und anschließend mit 3.6 mg (9 µmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat, 3 µL *N*,*N*-Diisopropylethylamin sowie mit 4.1 mg (12 µmol) 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-*N*'-methylhexanhydrazid-Trifluoracetat versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 3.9 mg (45% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.93 min; MS (ESIpos): m/z = 1108 $(M+H)^+$.

Intermediat 138

N-{4-[(2-{[4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)butanoyl](methyl)amino}ethyl)(methyl)amino]-4-oxobutyl}-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Ausgehend von *tert.*-Butyl-methyl[2-(methylamino)ethyl]carbamat und 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)butansäure wurde zunächst über 2 Stufen 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-*N*-methyl-*N*-[2-(methylamino)ethyl]butanamid-Trifluoracetat nach hergestellt.

6.6 mg (7.3 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 2000 µl DMF gelöst und anschließend mit 5.6 mg (14.7 µmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat, 2.6 µL *N*,*N*-Diisopropylethylamin sowie mit 4.1 mg (9 µmol) 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-*N*-methyl-*N*-[2-(methyl-

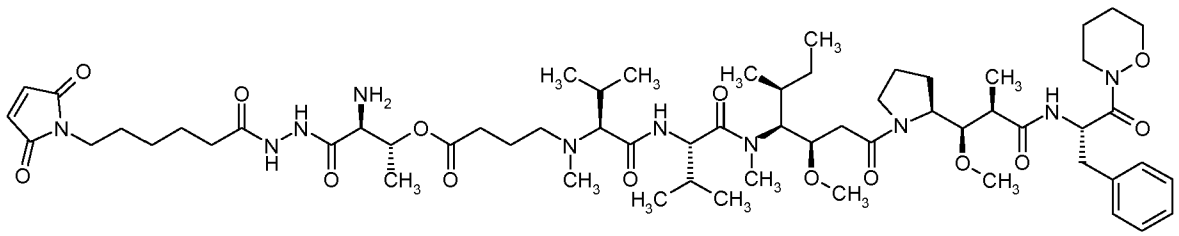
amino)ethyl]butanamid-Trifluoracetat versetzt. Nach 3 h Rühren bei RT wurden noch mal die gleichen Mengen an HATU und *N,N*-Diisopropylethylamin zugesetzt und das Reaktionsgemisch dann über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 4 mg (44% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 6): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.91 min; MS (ESIpos): m/z = 1134 $(M+H)^+$.

Intermediat 139

(2*R*,3*S*)-3-Amino-4-{2-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutan-2-yl-(3*R*,4*S*,7*S*,10*S*)-4-[(2*S*)-butan-2-yl]-7,10-diisopropyl-3-(2-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-2-oxoethyl)-5,11-dimethyl-6,9-dioxo-2-oxa-5,8,11-triazapentadecan-15-oat



13 mg (14.7 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 10 ml Dichlormethan gelöst und anschließend mit 8.4 mg (44 µmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 5.4 mg (44 µmol) 4-Dimethylaminopyridin sowie mit 9 mg (29.3 µmol) von kommerziell erhältlichem Benzyl-*N*-(*tert.*-butoxycarbonyl)-L-threoninat versetzt. Die Mischung wurde 5h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch zweimal mit Wasser ausgeschüttelt und die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Nach Lyophilisation aus Dioxan/Wasser wurden 14 mg (81% d. Th.) des geschützten Intermediats als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.3 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.13 min; MS (ESIpos): m/z = 1178 $(M+H)^+$.

Anschließend wurde die Z-Schutzgruppe hydrogenolytisch in Methanol über 10% Palladium/Aktivkohle abgespalten. 9.5 mg (0.0087 mmol) des entschützten Rohprodukts wurden dann ohne weitere Reinigung in 5 ml DMF aufgenommen und 5 mg (26.2 µmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 4 mg (26.2 µmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat, 54.6 µL *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 9.1 mg (34.9 µmol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid versetzt. Die Mischung wurde 1 h bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 9.5 mg (84% d.Th.) des Boc-geschützten Intermediats erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.1 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.97 min; MS (ESIpos): m/z = 1295 $(M+H)^+$.

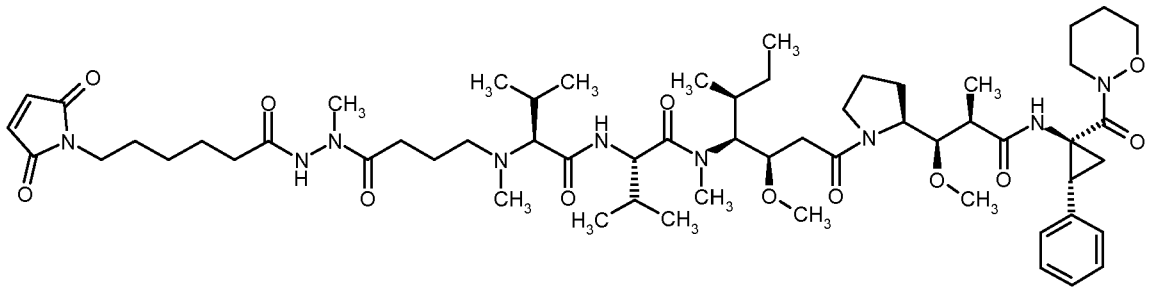
Anschließend wurden 9.5 mg (7.3 µmol) mit 0.5 ml Trifluoressigsäure in 2 ml Dichlormethan des Boc-geschützten Intermediats entschützt und nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 9 mg (82% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.1 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.84 min; MS (ESIpos): m/z = 1195 $(M+H)^+$.

Intermediat 140

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]-1-methylhydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



4.1 mg (12µmol) 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-*N*'-methylhexanhydrazid-Trifluoracetat (Intermediat 22) wurden zusammen mit 6.9 mg (8 µmol) der Verbindung aus Intermediat 61 in 2.5 ml DMF gelöst und anschließend mit 3.5 mg (9 µmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-

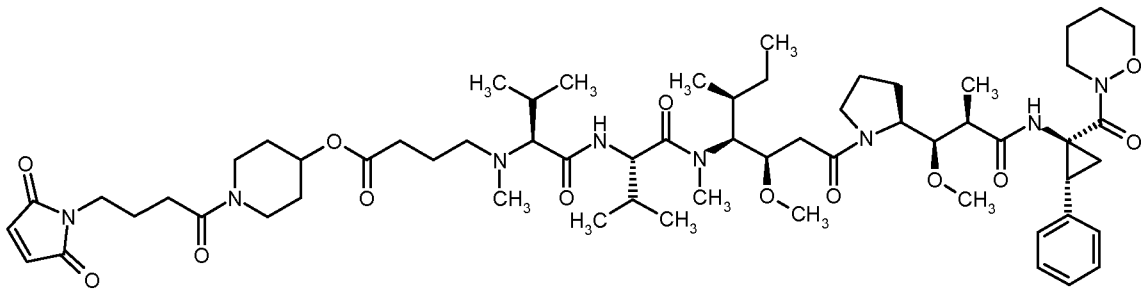
tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 3 µL *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 2.6 mg (30% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.90 und 0.91 min; MS (ESIpos): m/z = 1120 $(M+H)^+$.

Intermediat 141

N-[4-({1-[4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)butanoyl]piperidin-4-yl}oxy)-4-oxobutyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



44 mg (49 µmol) N-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 2 ml Dichlormethan gelöst und anschließend mit 18.8 mg (98 µmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 3.8 mg (24 µmol) 4-Dimethylaminopyridin sowie mit 23 mg (98 µmol) von kommerziell erhältlichem Benzyl-4-hydroxypiperidin-1-carboxylat versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 22 mg (40% d. Th.) des Z-geschützten Intermediats als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 2.1 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.04 min; MS (ESIpos): m/z = 1116 $(M+H)^+$.

Anschließend wurde die Z-Schutzgruppe hydrogenolytisch in Ethanol über Palladium/Aktivkohle abgespalten.

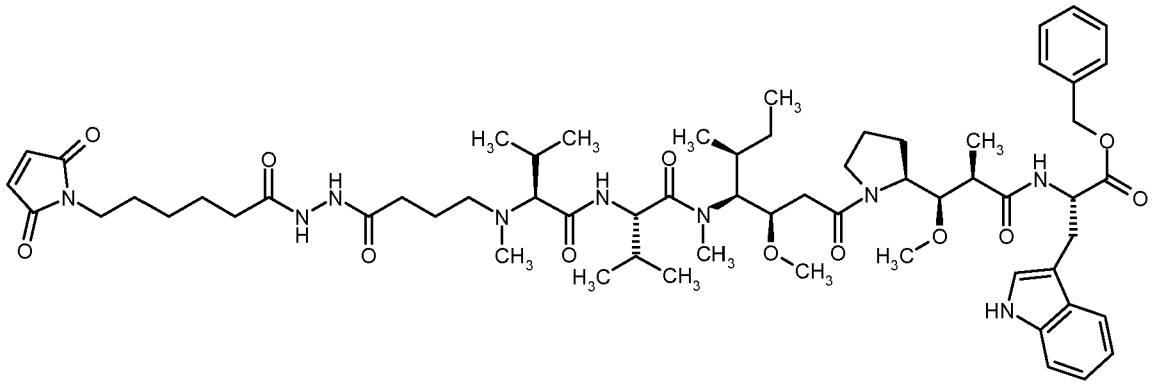
19 mg (19 µmol) des entschützten Rohprodukts wurden dann ohne weitere Reinigung in 4 ml DMF aufgenommen und mit 7 mg (39 µmol) 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)butansäure, 11 mg (29 µmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 5 µL *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde 1 h bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 7.5 mg (34% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.94 min; MS (ESIpos): m/z = 1147 $(M+H)^+$.

Intermediat 142

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzyloxy)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



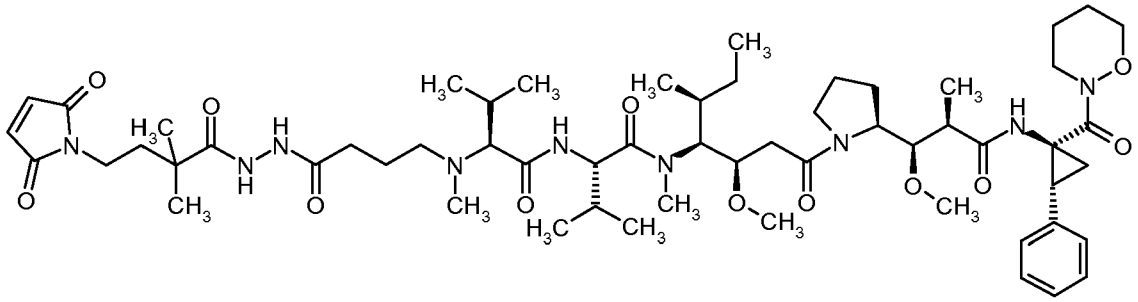
9 mg (9.5 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzyloxy)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 72) wurden in 1000 µl DMF gelöst und anschließend mit 10 mg (38 µmol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid, 7.2 mg (19µmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 8 µl *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt und das Reaktionsgemisch 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden eingeengt und durch Lyophilisation wurden 6.4 mg (58% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.99 min; MS (ESIpos): m/z = 1154 $(M+H)^+$.

Intermediat 143

N-(4-{2-[4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-2,2-dimethylbutanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



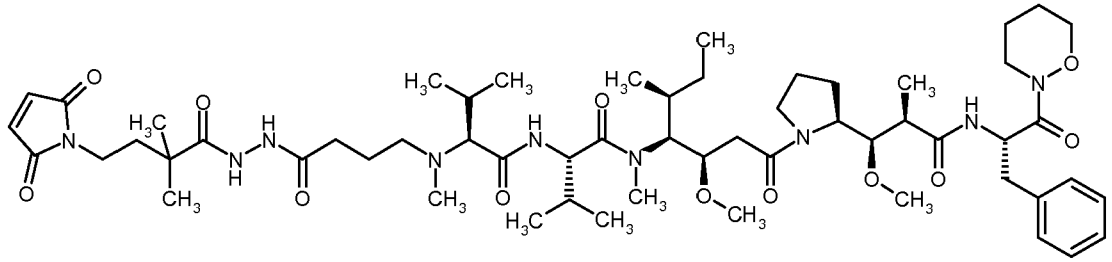
6 mg (6.7 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 61) wurden mit 3 mg (8.7 µmol) 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-2,2-dimethylbutanhydrazid-Trifluoracetat in Analogie zu Intermediat 142 zu 2 mg (27% d.Th.) der Titeleverbindung umgesetzt.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.1 min;

LC-MS (Methode 3): R_t = 1.92 min; MS (ESIpos): m/z = 1106 $(M+H)^+$.

Intermediat 144

N-(4-{2-[4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-2,2-dimethylbutanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

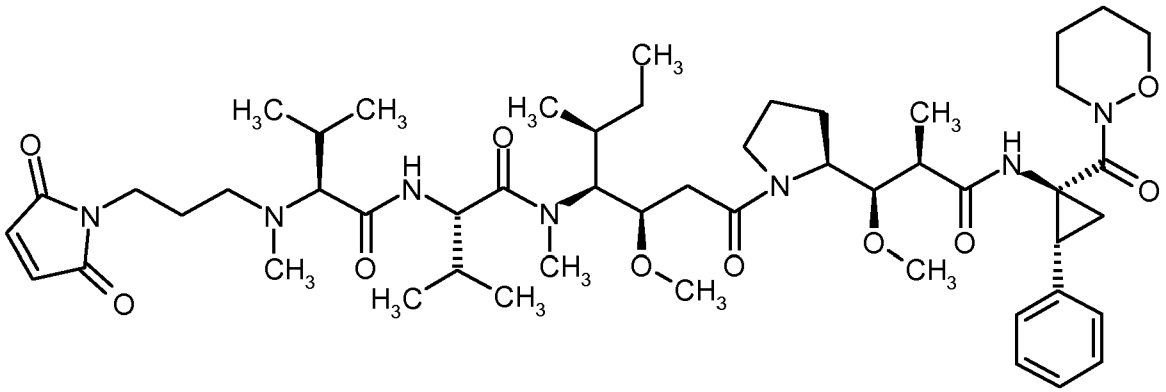


Zu einer Lösung von 5 mg (5.6 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid in 1 ml DMF wurden 7.65 mg (22.5 µmol) 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)-2,2-dimethylbutanhydrazid-Trifluoracetat, 3.2 mg (16.9 µmol) EDC, 1.96 µl (11.3 µmol) Diisopropylethylamin sowie 2.6 mg (16.9 µmol) HOBT gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 3 h bei RT gerührt. Anschließend wurden weitere 0.95 mg (2.8 µmol) 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)-2,2-dimethylbutanhydrazid-Trifluoracetat nachgegeben. Nach Rühren über Nacht wurde das Reaktionsgemisch eingeengt und per präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 3.5 mg (85%ig, 48% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 3): R_t = 1.86 min; m/z = 1094 $(M+H)^+$.

Intermediat 145

N-[3-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)propyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



12 mg (14 µmol) *N*-(3-Aminopropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 66) wurden in 750 µl Dioxan aufgenommen und mit 1.5 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und anschließend mit 3.2 mg (21 µmol) Methyl-2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-carboxylat versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 1h bei RT gerührt und

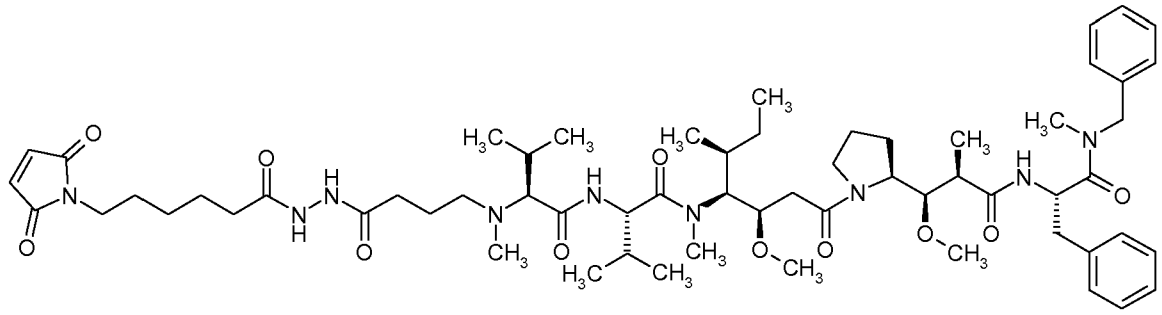
danach im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 4.2 mg (32% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.94 min; MS (ESIpos): m/z = 950 $(M+H)^+$.

Intermediat 146

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-({(2*S*)-1-[benzyl(methyl)amino]-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl}amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



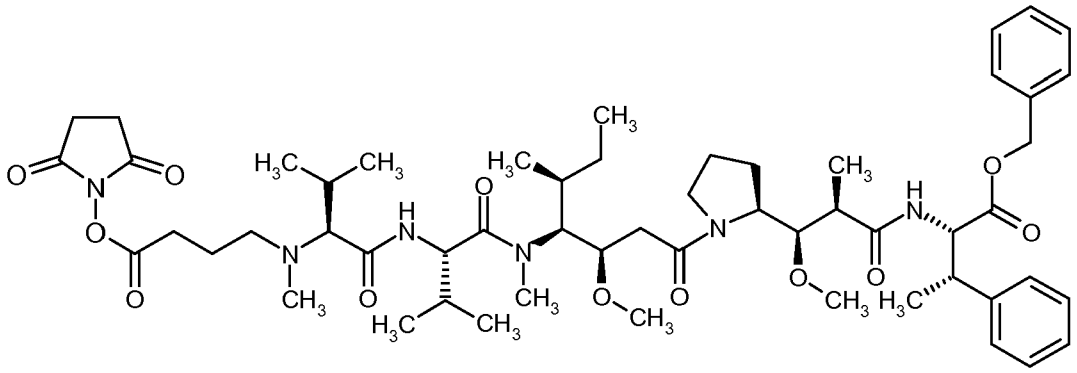
9 mg (9.8 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-({(2*S*)-1-[benzyl(methyl)amino]-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl}amino)-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 73) wurden in Analogie zu Intermediat 133 mit 10 mg (39 µmol) 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid zu 1.8 mg (15% d.Th.) der Titelverbindung umgesetzt.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.2 min;

LC-MS (Methode 9): R_t = 5.11 min; MS (ESIpos): m/z = 1128 $(M+H)^+$.

Intermediat 147

N-{4-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-4-oxobutyl}-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*,3*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid

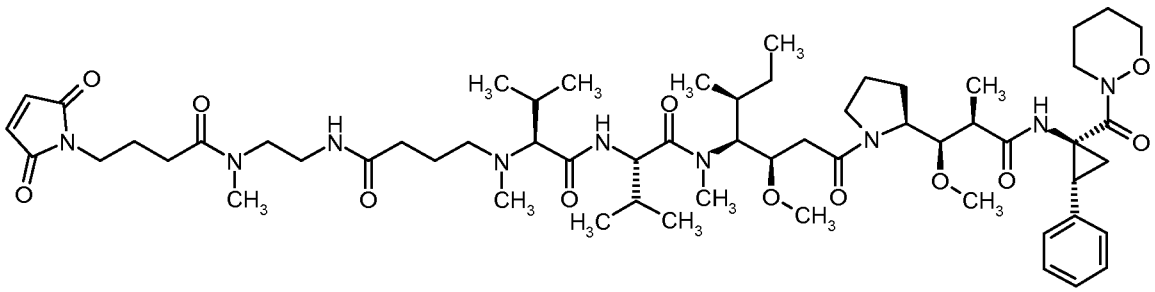


16 mg (17 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*,3*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 70) wurden in 2 ml Dichlormethan gelöst und mit 2.6 mg (23 mmol) 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion und anschließend mit 4 mg (21 µmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid versetzt. Nach 2 h Rühren bei RT wurden nochmals die gleichen Mengen an 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion und 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid nachgesetzt. Dann Rühren über Nacht bei RT wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 10 mg (56% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 2.0 min;

Intermediat 148

N-{4-[(2-{[4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)butanoyl](methyl)amino}ethyl)amino]-4-oxobutyl}-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



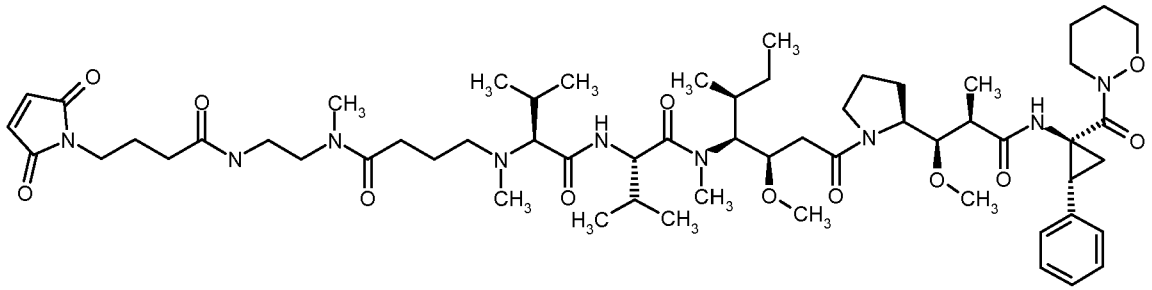
6 mg (7 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 61) wurden mit 2.8 mg (8 µmol) *N*-(2-Aminoethyl)-4-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-*N*-methylbutanamid-Trifluoracetat, 10.1 mg (27 µmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 5 µl *N,N*-Diisopropylethylamin in 2 ml DMF zusammengegeben und über Nacht bei RT gerührt. Dann wurden nochmals 5 mg (23.5 µmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 3 µl *N,N*-Diisopropylethylamin nachgesetzt. Nach weiteren 5 h Rühren bei RT wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden eingeengt und durch Lyophilisation aus Dioxan wurden 1.3 mg (15% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.1 min;

LC-MS (Methode 2): R_t = 1.21 min; MS (ESIpos): m/z = 1120 $(M+H)^+$.

Intermediat 149

N-{4-[(2-{[4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)butanoyl]amino}ethyl)(methyl)amino]-4-oxobutyl}-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



6 mg (7 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 61) wurden mit 3.1 mg (9 µmol) 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-*N*-[2-(methylamino)ethyl]butanamid-Trifluoracetat, 10.1 mg (27 µmol) O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und 5 µl *N,N*-Diisopropylethylamin in 2 ml

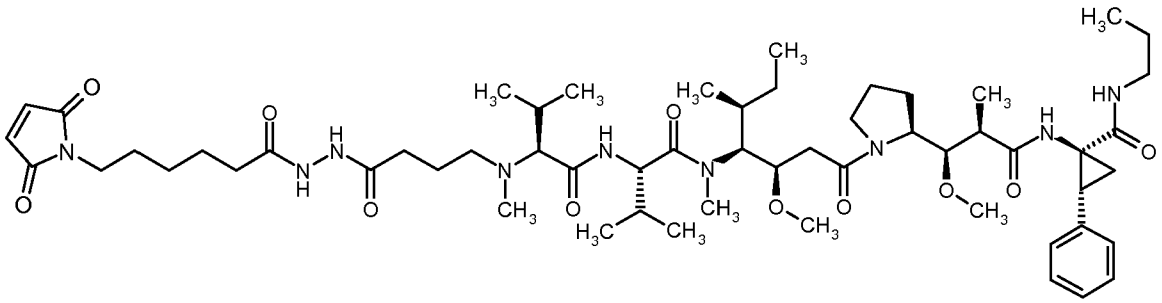
DMF zusammengegeben und 4 h bei RT gerührt. Dann wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden eingeengt und durch Lyophilisation aus Dioxan wurden 1 mg (13.4% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.1 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.89 min; MS (ESIpos): m/z = 1121 $(M+H)^+$.

Intermediat 150

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1*S*,2*R*)-2-phenyl-1-(propylcarbamoyl)cyclopropyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



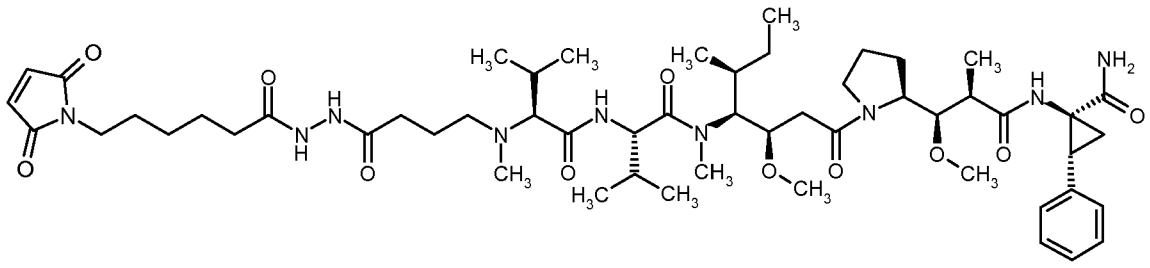
7.9 mg (9 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1*S*,2*R*)-2-phenyl-1-(propylcarbamoyl)cyclopropyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 3 ml DMF gelöst und anschließend mit 10.4 mg (54 µmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 8.3 mg (54 µmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat, 9 µL *N,N*-Diisopropylethylamin sowie mit 9.5 mg (36 µmol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 4.3 mg (22% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 6): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 9): R_t = 4.93 min; MS (ESIpos): m/z = 1078 $(M+H)^+$.

Intermediat 151

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(1*S*,2*R*)-1-carbamoyl-2-phenylcyclopropyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



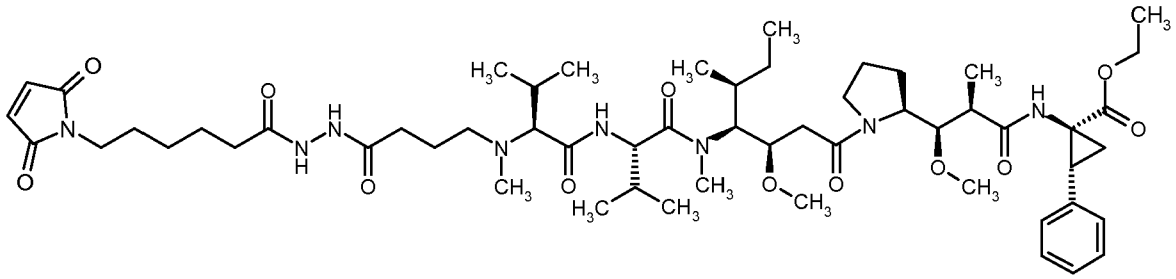
Die Verbindung wurde ausgehend von der Verbindung in Intermediat 81 analog zu Intermediat 150 hergestellt.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.87 min; MS (ESIpos): m/z = 1036 $(M+H)^+$.

Intermediat 152

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(ethoxycarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



10 mg (12 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(ethoxycarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 3 ml DMF gelöst und anschließend mit 8.9 mg (23 µmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat, 10 µL *N*,*N*-Diisopropylethylamin sowie mit 12 mg (47

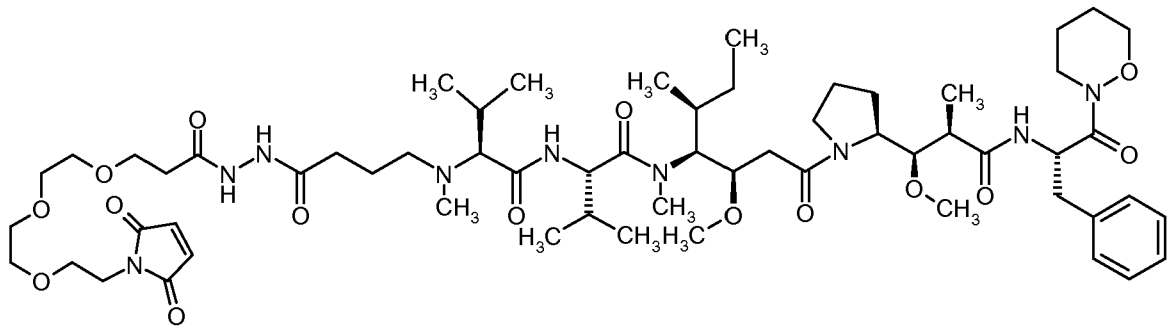
µmol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid versetzt. Die Mischung wurde 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde im Hochvakuum eingeengt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 5.8 mg (37 % d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 6): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 9): R_t = 4.99 min; MS (ESIpos): m/z = 1066 $(M+H)^+$.

Intermediat 153

N-[1-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)-12,15-dioxo-3,6,9-trioxa-13,14-diazaoctadecan-18-yl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



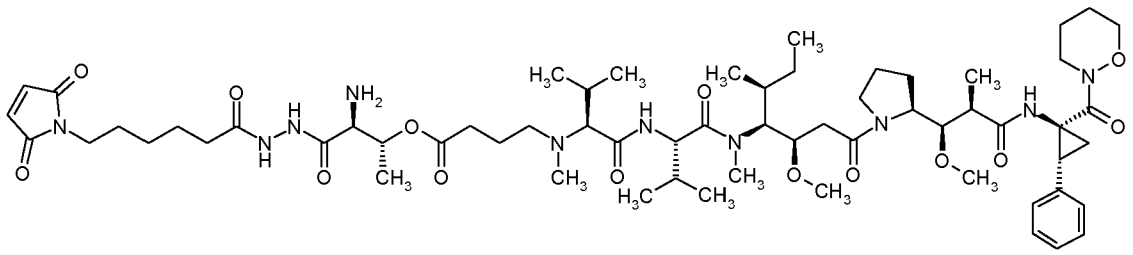
Zu einer Lösung von 5 mg (5.6 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid in 1 ml DMF wurden 9.7 mg (22.5 µmol) 3-(2-{2-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)ethoxy]ethoxy}ethoxy)propanhydrazid-Trifluoracetat, 3.2 mg (16.9 µmol) EDC, 1.96 µl (11.3 µmol) N,N-Diisopropylethylamin sowie 2.6 mg (16.9 µmol) HOBT gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 3 h bei RT gerührt. Anschließend wurden weitere 1.2 mg (2.8 µmol) 3-(2-{2-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)ethoxy]ethoxy}ethoxy)propanhydrazid-Trifluoracetat nachgegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend per präparativer HPLC gereinigt.

Es wurden 3.6 mg (51% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.90 min; m/z = 1185 $(M+H)^+$.

Intermediat 154

(2*R*,3*S*)-3-Amino-4-{2-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutan-2-yl-(3*R*,4*S*,7*S*,10*S*)-4-[(2*S*)-butan-2-yl]-7,10-diisopropyl-3-(2-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-2-oxoethyl)-5,11-dimethyl-6,9-dioxo-2-oxa-5,8,11-triazapentadecan-15-oat



15 mg (17 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 10 ml Dichlormethan gelöst und anschließend mit 12.8 mg (67 µmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 10 mg (83 µmol) 4-Dimethylaminopyridin sowie mit 10.3 mg (33 µmol) von kommerziell erhältlichem Benzyl-*N*-(*tert.*-butoxycarbonyl)-L-threoninat versetzt. Die Mischung wurde 4 h zum Rückfluß erhitzt. Dann wurden erneut die gleichen Mengen an Kupplungsreagenz und 4-Dimethylaminopyridin nachgesetzt und das Reaktionsgemisch über Nacht unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch mit Dichlormethan verdünnt, einmal mit Wasser ausgeschüttelt, die organische Phase abgetrennt und im Hochvakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 7.7 mg (37% d. Th.) des geschützten Intermediats als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.5 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.13 min; MS (ESIpos): m/z = 1190 $(M+H)^+$.

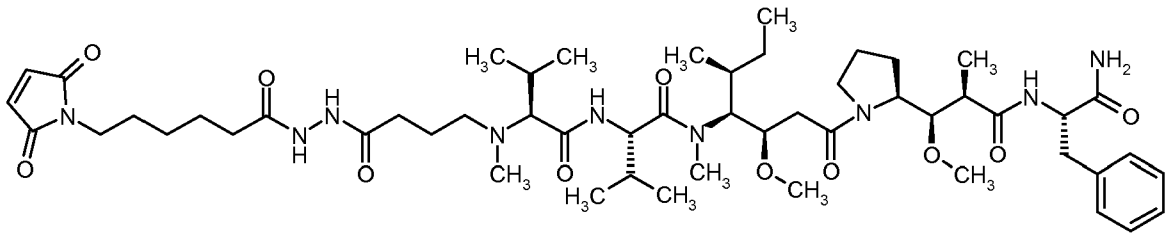
Anschließend wurde die Benzylester-Schutzgruppe durch Hydrierung unter Wasserstoff-Normaldruck in Methanol über 10% Palladium/Aktivkohle entfernt, und die so erhaltene Säure wie in Intermediat 151 beschrieben mit 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid verknüpft. In einem letzten Schritt wurde die Boc-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure abgelöst. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 0.22 mg (2.5% d. Th. über 3 Stufen) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.81 min; MS (ESIpos): m/z = 1207 $(M+H)^+$.

Intermediat 155

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



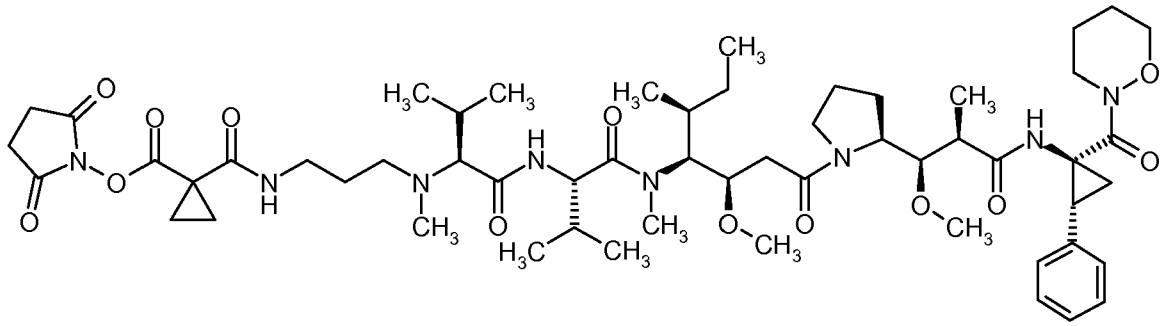
Diese Verbindung wurde in Analogie zur in Intermediat 152 beschriebenen Synthese aus *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-amino-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid und kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid hergestellt.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.6 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.82 min; MS (ESIpos): m/z = 1024 $(M+H)^+$.

Intermediat 156

N-(3-{[(1-{[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]carbonyl}cyclopropyl)carbonyl]amino}propyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



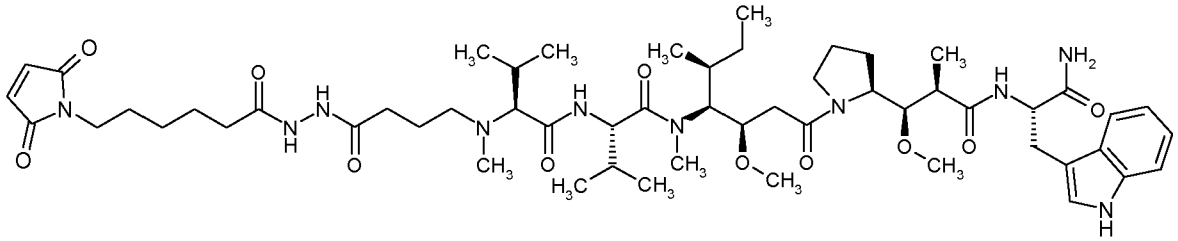
Diese Verbindung wurde in Analogie zur letzten Stufe der in Intermediat 131 beschriebenen Synthese aus *N*-(3-Aminopropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid und 1,1'-[Cyclopropan-1,1-diylbis(carbonyloxy)]dipyrrolidin-2,5-dion, das zuvor aus der entsprechenden Dicarbonsäure gewonnen wurde, hergestellt.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.92 min; MS (ESIpos): m/z = 1080 $(M+H)^+$.

Intermediat 157

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



15 mg (18 µmol) (*N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 3.8 ml DMF gelöst und anschließend mit 27 mg (70 µmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat, 12 µL *N*,*N*-Diisopropylethylamin sowie mit 14 mg (53 µmol) von kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde im Hochvakuum

eingeengt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 6.2 mg (33 % d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

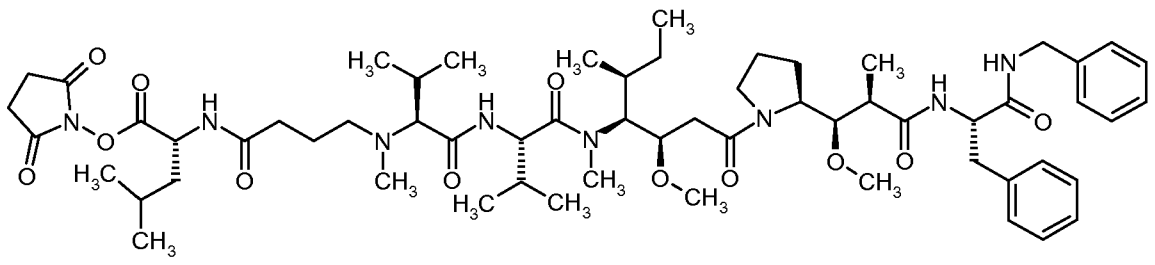
HPLC (Methode 5): R_t = 1.6 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.85 min; MS (ESIpos): m/z = 1063 $(M+H)^+$.

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6, charakteristische Signale): δ = 10.8 (d, 1H), 9.8-9.7 (m, 2H), 9.6 und 9.4 (2m, 1H), 8.9, 8.88, 8.78 und 8.75 (4d, 1H), 8.08 und 7.85 (2d, 1H), 7.6-6.9 (m, 9H), 4.7-4.4 (m, 3H), 3.4 (t, 2H), 3.23, 3.2, 3.18, 3.0, und 2.99 (5s, 9H), 2.8 (m, 3H), 2.1 (t, 2H), 1.06 und 1.01 (2d, 3H), 0.95-0.8 (m, 15H), 0.8-0.75 (dd, 3H).

Intermediat 158

N-[4-({(2*R*)-1-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-4-methyl-1-oxopentan-2-yl}amino)-4-oxobutyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzylamino)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



13 mg (14.7 µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzylamino)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid wurden in 4 ml Dimethylformamid gelöst und anschließend mit 9.4 mg (25 µmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat, 6 µL *N*,*N*-Diisopropylethylamin sowie mit 7 mg (31 µmol) von kommerziell erhältlichem *tert.*-Butyl-D-leucinathydrochlorid-Trifluoracetat versetzt. Die Mischung wurde 5h bei RT gerührt und anschließend im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Nach Lyophilisation aus Dioxan/Wasser wurden 6.5 mg (49% d. Th.) des geschützten Intermediats als farbloser Schaum erhalten.

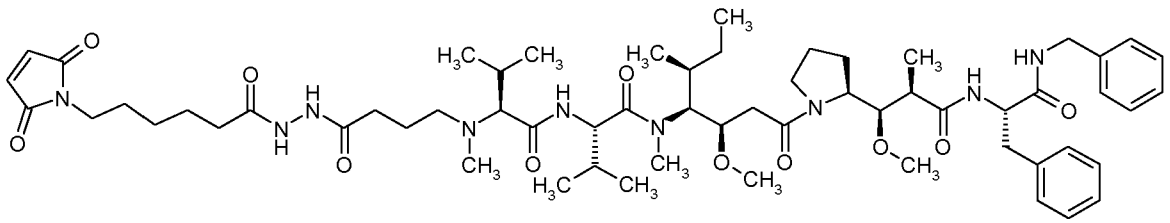
HPLC (Methode 5): R_t = 2.2 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.21 min; MS (ESIpos): m/z = 1076 $(M+H)^+$.

Aus diesem geschützten Intermediat wurde zunächst mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan die Boc-Schutzgruppe abgspalten, wobei 6.2 mg (99% d.Th.) der entschützten Verbindung erhalten wurden. 5.2 mg (5µmol) dieses Intermediats wurden in 1.5 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 0.8 mg (7 µmol) *N*-Hydroxysuccinimid in Gegenwart von 1.2 mg (6 µmol) 1-(3-Dimethylamino-propyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid und 0.16 mg (1 µmol) 4-Dimethylaminopyridin umgesetzt. Nach 2h Rühren bei RT wurde das Reaktionsgemisch eingeengt und mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 1.3 mg der Titelverbindung erhalten, die teilweise zum Edukt hydrolysierte.

Intermediat 159

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzylamino)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde in Analogie zur in Intermediat 157 beschriebenen Synthese aus *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzylamino)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid und kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid hergestellt.

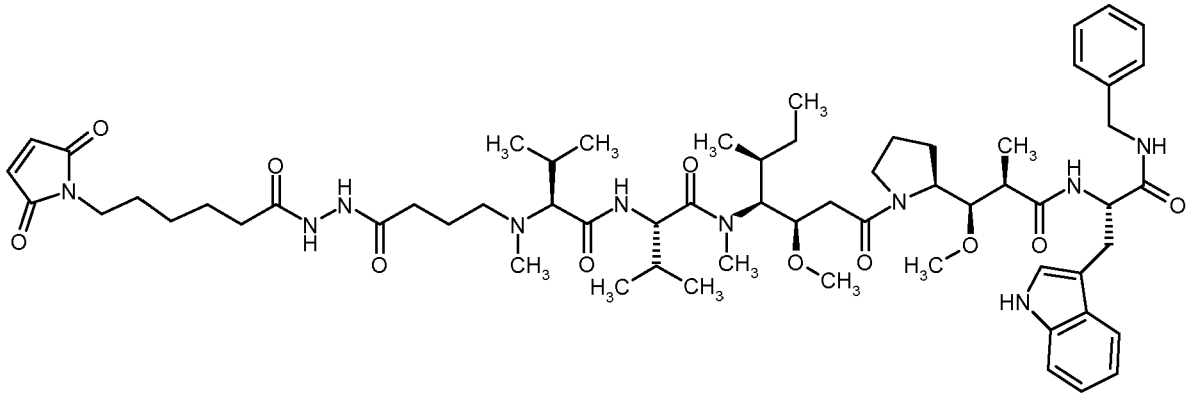
Ausbeute: 6 mg (53% d.Th.)

HPLC (Methode 5): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.94 min; MS (ESIpos): m/z = 1114 $(M+H)^+$.

Intermediat 160

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzylamino)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde in Analogie zur in Intermediat 157 beschriebenen Synthese aus 20 mg (21µmol) *N*-(3-Carboxypropyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzylamino)-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid und kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid hergestellt.

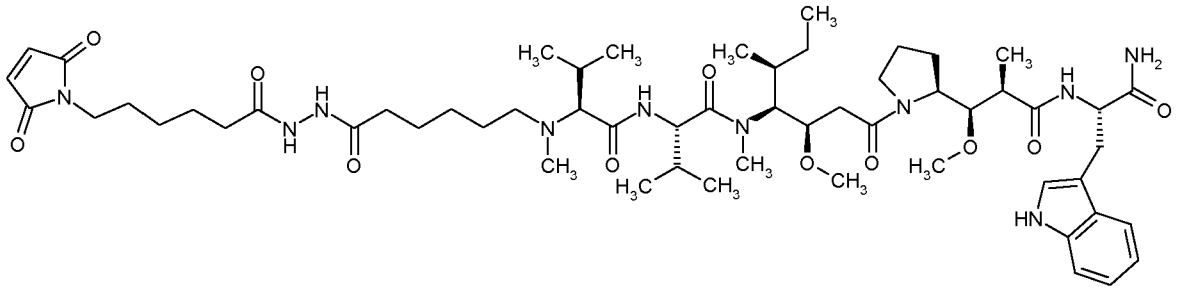
Ausbeute: 13 mg (52% d.Th.)

HPLC (Methode 5): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.92 min; MS (ESIpos): m/z = 1153 $(M+H)^+$.

Intermediat 161

N-(6-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-6-oxohexyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde in Analogie zur in Intermediat 157 beschriebenen Synthese aus *N*-(5-Carboxypentyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid und kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid hergestellt.

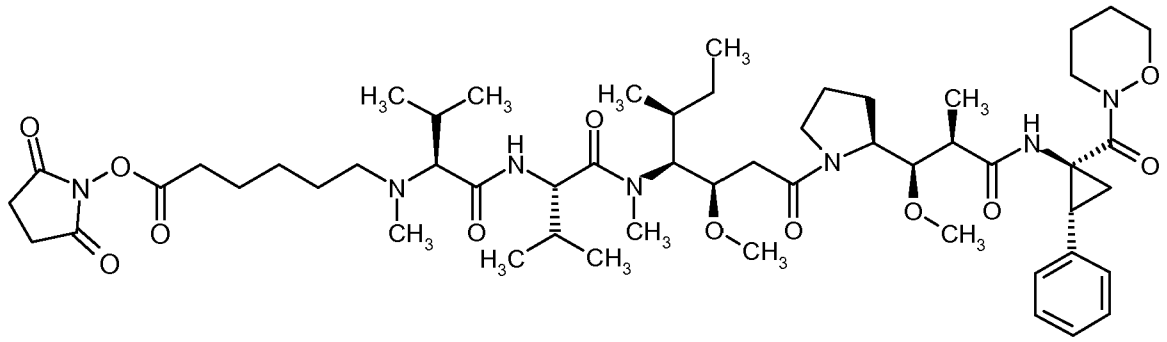
Ausbeute: 0.8 mg (16% d.Th.)

HPLC (Methode 5): R_t = 1.6 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.78 min; MS (ESIpos): m/z = 1092 $(M+H)^+$.

Intermediat 162

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid



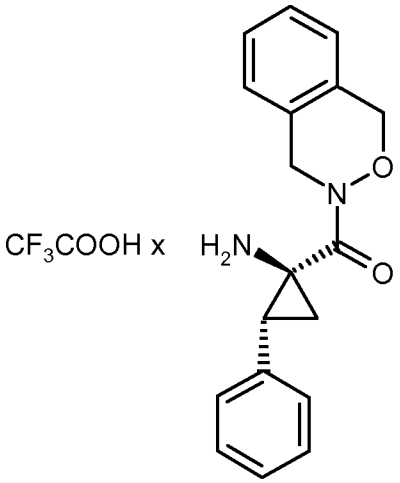
18 mg (20 µmol) *N*-(5-Carboxypentyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 64) wurden in 3.2 ml Dichlormethan gelöst und mit 22 mg (190 mmol) 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion und anschließend mit 11 mg (60 µmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid und 0.24 mg (0.17 µmol) DMAP versetzt. Nach 2 h Rühren bei RT wurden erneut 22 mg (190 mmol) 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion, 11 mg (60 µmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid und 0.24 mg (0.17 µmol) DMAP zugegeben und das Reaktionsgemisch eine weitere Stunde bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 8.2 mg (41% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.9 min; MS (ESIpos): m/z = 1024 $(M+H)^+$.

Intermediat 163

[(1*S*,2*R*)-1-Amino-2-phenylcyclopropyl](1,4-dihydro-3*H*-2,3-benzoxazin-3-yl)methanon-Trifluoracetat



Zunächst wurde ausgehend von 265 mg (0.82 mmol) *tert.*-Butyl-[(1*S*,2*R*)-1-(hydroxycarbamoyl)-2-phenylcyclopropyl]carbamat (Ausgangsverbindung 7) durch Reaktion mit 1,2-Bis(brommethyl)benzol analog einer Literaturvorschrift (siehe H. King, *J. Chem. Soc.* 1942, 432) das Boc-geschützte Intermediat tert.-Butyl-[(1S,2R)-1-(1,4-dihydro-3H-2,3-benzoxazin-3-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]carbamat hergestellt.

Ausbeute: 108 mg (34% d. Th.)

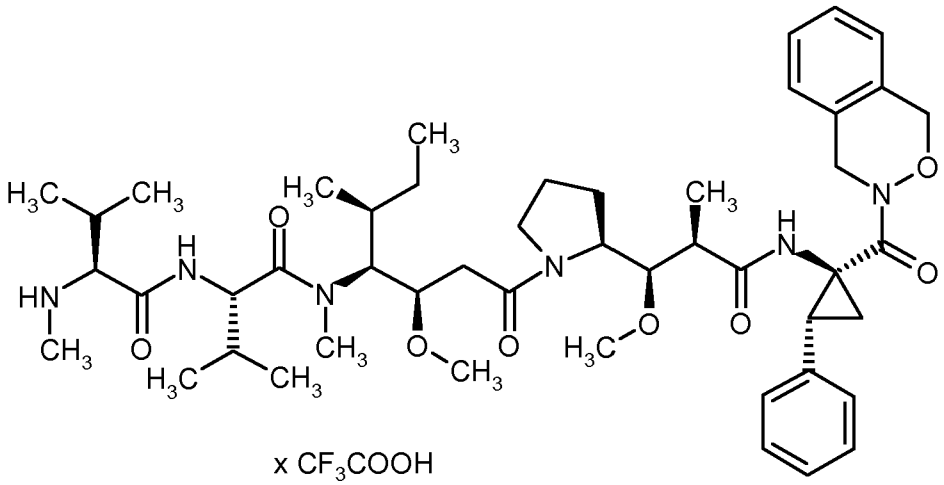
LC-MS (Methode 2): R_t = 1.3 min; MS (ESIpos): m/z = 395 $(M+H)^+$.

108 mg (0.27 mmol) dieses Intermediats wurden in 3.7 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 1.8 ml Trifluoressigsäure versetzt und 15 min bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingeengt und der verbliebene Rückstand aus Dioxan lyophilisiert. Es wurden 112 mg der Titelverbindung in quantitativer Ausbeute als farbloser Schaum erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.7 min; MS (ESIpos): m/z = 295 $(M+H)^+$.

Intermediat 164

N-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,4-dihydro-3*H*-2,3-benzoxazin-3-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



166 mg (0.196 mmol) *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 10) wurden in 40 ml DMF aufgenommen und nacheinander mit 80 mg (0.196 mmol) [(1*S*,2*R*)-1-Amino-2-phenylcyclopropyl](1,4-dihydro-3*H*-2,3-benzoxazin-3-yl)methanon-Trifluoracetat (Intermediat 163), 112 mg (0.294 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) sowie 682 µl (3.9 mmol) *N*,*N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde anschließend über Nacht bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde danach im Vakuum eingeengt, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und die Lösung mit gesättigter wässriger Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde schließlich durch präparative HPLC gereinigt. Man erhielt auf diese Weise 19 mg (9% d. Th.) des Fmoc-geschützten Intermediats *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(1*S*,2*R*)-1-(1,4-dihydro-3*H*-2,3-benzoxazin-3-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.68 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.51 min; MS (ESIpos): m/z = 1083 $(M+H)^+$.

19 mg (0.015 mmol) dieses Intermediats wurden in 4 ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 817 µl Piperidin wurde das Reaktionsgemisch 5 min bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingeengt und der Rückstand zunächst mit Diethylether digeriert und anschließend mittels präparativer HPLC gereinigt (Eluent: Acetonitril + 0.1% TFA / 0.1% aq. TFA). Die entsprechenden Fraktionen wurden vereinigt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand dann aus

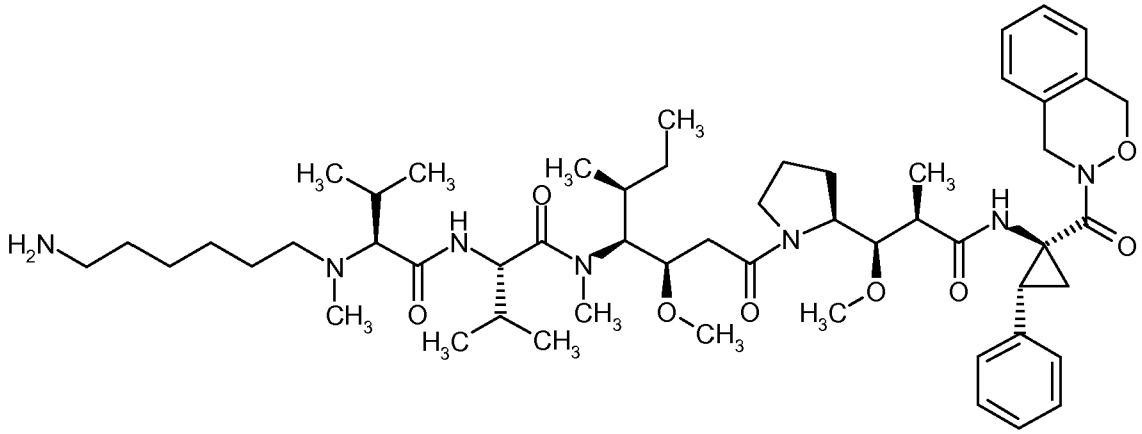
Dioxan/Wasser lyophilisiert. Es wurden 12 mg (92% d. Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 6): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.94 min; MS (ESIpos): m/z = 861 $(M+H)^+$.

Intermediat 165

N-(6-Aminohexyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(1S,2R)-1-(1,4-dihydro-3H-2,3-benzoxazin-3-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Aus 20 mg (0.021 mmol) von Intermediat 164 wurden in Analogie zur Herstellung von Intermediat 97 mit Benzyl-(3-oxohexyl)carbamat in Gegenwart von Natriumcyanoborhydrid und nachfolgender hydrogenolytischer Abspaltung der Z-Schutzgruppe (mit 5% Palladium auf Kohle als Katalysator, in Methanol als Lösungsmittel) die Titelverbindung hergestellt.

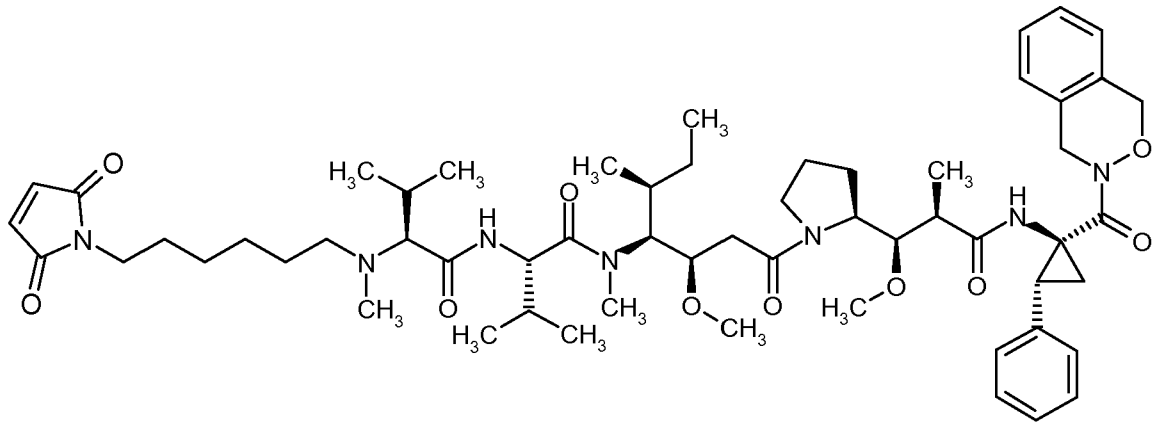
Ausbeute: 4.5 mg (23% d. Th. Über 2 Stufen)

HPLC (Methode 12): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.9 min; MS (ESIpos): m/z = 960 $(M+H)^+$.

Intermediat 166

N-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(1S,2R)-1-(1,4-dihydro-3H-2,3-benzoxazin-3-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



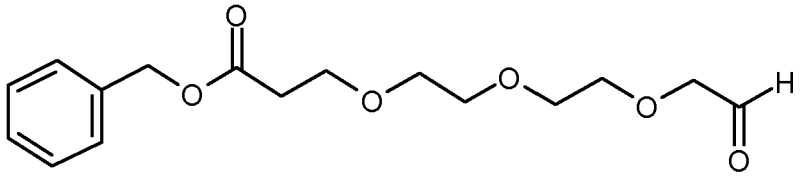
4.4 mg (4.5 µmol) von Intermediat 165 wurden in 1 ml Dioxan/Wasser 1:1 aufgenommen und anschließend mit 1 mg (6.8 µmol) Methyl-2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-carboxylat sowie mit 50µl gesättigter wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min bei RT gerührt. Dann wurden nochmals 50 µl der gesättigten wässrigen Natriumhydrogencarbonatlösung zugegeben und das Reaktionsgemisch weitere 15 min bei RT gerührt und anschließend im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 1 mg (21% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.1 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.08 min; MS (ESIpos): m/z = 1040 $(M+H)^+$.

Intermediat 167

Benzyl-3-{2-[2-(2-oxoethoxy)ethoxy]ethoxy}propanoat



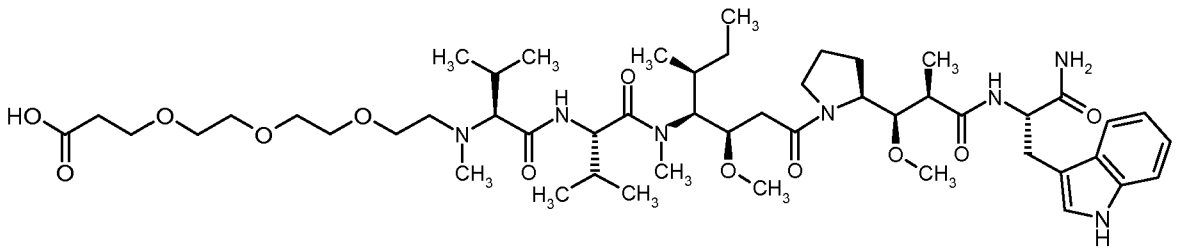
Die Titelverbindung wurde aus 6 g (21.55 mmol) von kommerziell erhältlicher 3-{2-[2-(2-Hydroxyethoxy)ethoxy]ethoxy}propansäure nach Standardbedingungen zunächst durch Veresterung mit Benzylchlorid und Caesiumcarbonat und anschließender Oxidation mit Schwefeltrioxid-Pyridin-Komplex hergestellt.

Ausbeute: 611 mg (10% d.Th. über 2 Stufen)

LC-MS (Methode 2): R_t = 1.69 min; MS (ESIpos): m/z = 311 $(M+H)^+$.

Intermediat 168

N-(2-{2-[2-(2-Carboxyethoxy)ethoxy]ethoxy}ethyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-1-amino-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Zunächst wurde in Analogie zu der in den Intermediat 69 beschriebenen Synthese durch Kupplung von *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 4) und N^{α}-{(2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}-L-tryptophanamid-Trifluoracetat (Intermediat 49) in Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe mittels Piperidin die Amin-Verbindung *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat hergestellt.

25 mg (0.028 mmol) dieser Verbindung und 17.5 mg (0.06 mmol) von Intermediat 167 wurden in 2 ml Methanol zusammengegeben und mit 12.6 mg (0.14 mmol) Boran-Pyridin-Komplex und 2.5 ml Essigsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt. Dann wurden nochmals die gleichen Mengen Boran-Pyridin-Komplex und Essisäure zugegeben und das Reaktionsgemisch weitere 24h bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Einengen der entsprechenden Fraktionen und Lyophilisation aus Dioxan/Wasser 1:1 wurden 26.5 mg (88% d.Th.) der Z-geschützten Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.04 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.97 min; MS (ESIpos): m/z = 1064 $(M+H)^+$.

25 mg (0.024 mmol) dieses Intermediats wurden in 10 ml Methanol aufgenommen und über 10%-igem Palladium auf Aktivkohle 45 min lang bei RT unter Wasserstoff-Normaldruck hydriert. Der

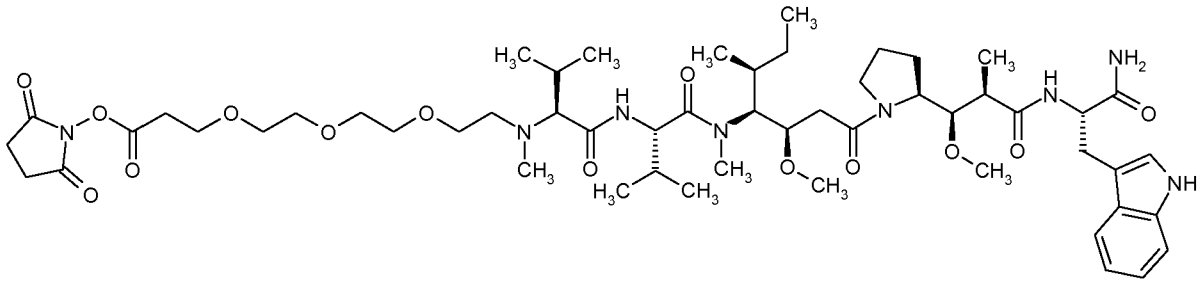
Katalysator wurde danach abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Lyophilisation aus Dioxan erhielt man 19.7 mg (85% d.Th.) der Titelverbindung.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.83 min; MS (ESIpos): m/z = 974 $(M+H)^+$.

Intermediat 169

N-{2-[2-(2-{3-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-3-oxopropoxy}ethoxy)ethoxy]ethyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-1-amino-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



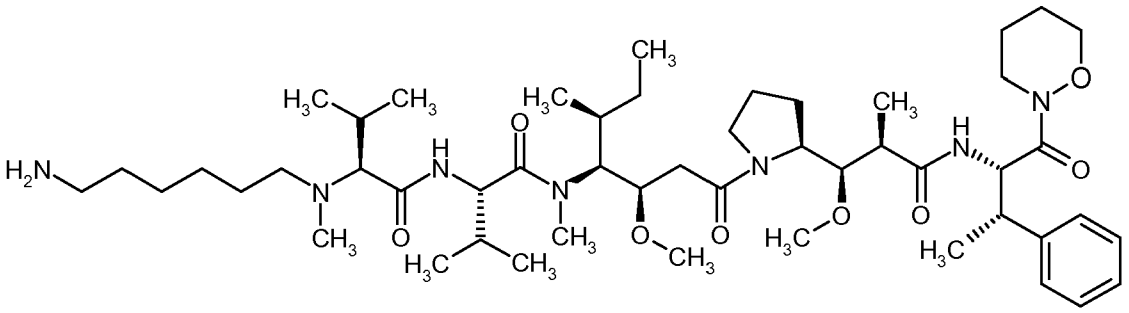
10 mg (10 µmol) von Intermediat 168 wurden in 3 ml DMF gelöst und mit 3.5 mg (30 mmol) 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion und anschließend mit 2.4 mg (10 µmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid und 5 µl N,N-Diisopropylethylamin versetzt. Nach 20 h Rühren bei RT wurden 8 mg (0.02 mmol) HATU zugegeben und das Reaktionsgemisch nochmals über Nacht bei RT gerührt und dann im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 8.6 mg (64% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): Rt = 1.9 min;

LC-MS (Methode 11): Rt = 0.81 min; MS (ESIpos): m/z = 1071 (M+H)+.

Intermediat 170

N-(6-Aminohexyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2S,3S)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 101 über 2 Stufen ausgehend von 26 mg (0.028 mmol) Intermediat 15 hergestellt.

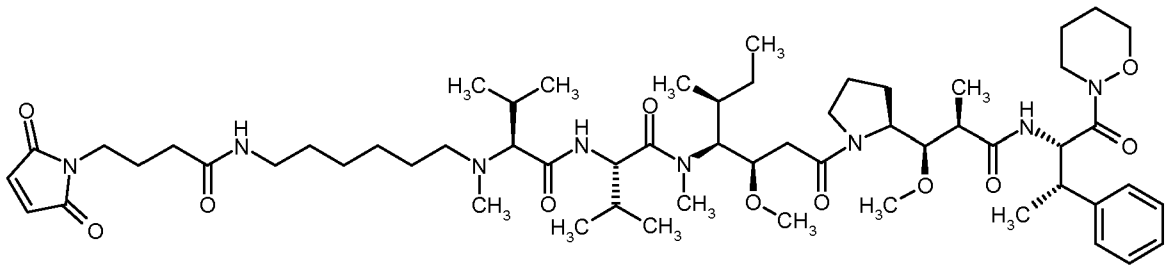
Ausbeute: 16.7 mg (63% d.Th. über 2 Stufen)

HPLC (Methode 12): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.81 min; MS (ESIpos): m/z = 914 $(M+H)^+$.

Intermediat 171

N-(6-{[4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)butanoyl]amino}hexyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2S,3S)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



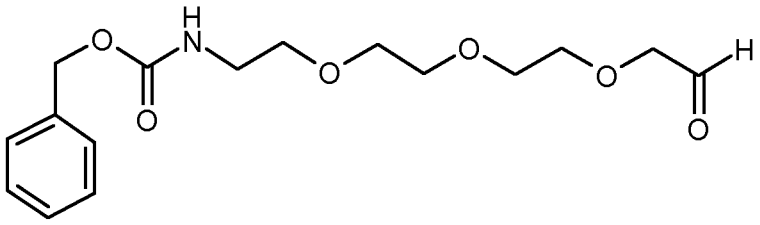
6.7 mg (7.3 µmol) der Verbindung aus Intermediat 170 und 3 mg (14.7 µmol) von kommerziell erhältlicher 4-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)butansäure wurden in 2 ml DMF aufgenommen und mit 5.6 mg (14.7 µmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyl-uronium-hexafluorophosphat (HATU) sowie 2 µl *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde 30 min bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden vereinigt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand anschließend aus Dioxan lyophilisiert. So wurden 4.5 mg (56% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.12 min; MS (ESIpos): m/z = 1079 $(M+H)^+$.

Intermediat 172

Benzyl-(2-{2-[2-(2-oxoethoxy)ethoxy]ethoxy}ethyl)carbamat



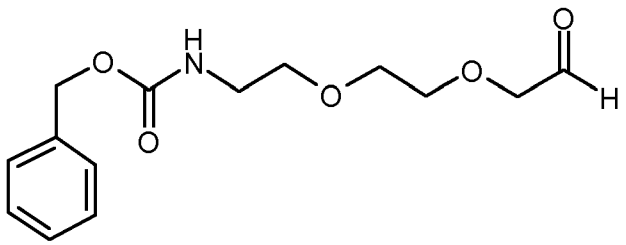
Die Titelverbindung wurde aus kommerziell erhältlichem 2-{2-[2-(2-Aminoethoxy)ethoxy]ethoxy}ethanol nach Standardbedingungen zunächst durch Einführung der Z-Schutzgruppe und anschließender Oxidation mit Schwefeltrioxid-Pyridin-Komplex hergestellt.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.4 min;

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.65 min; MS (ESIpos): m/z = 326 $(M+H)^+$.

Intermediat 173

Benzyl-{2-[2-(2-oxoethoxy)ethoxy]ethyl}carbamat



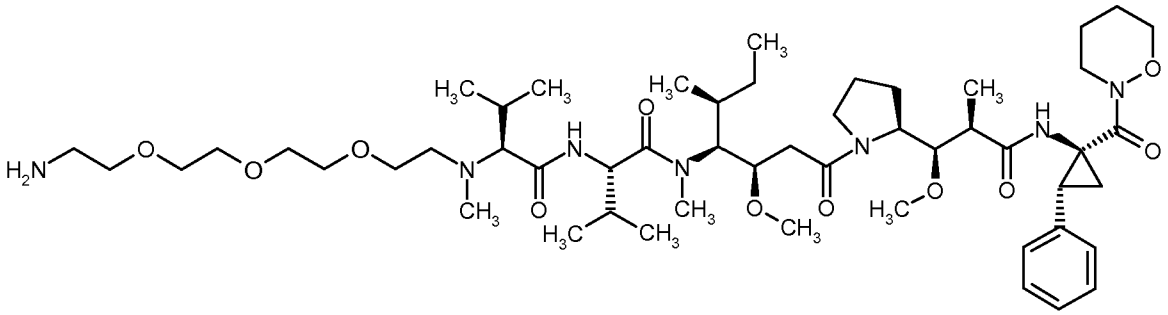
Die Titelverbindung wurde analog zu Intermediat 172 aus kommerziell erhältlichem 2-[2-(2-Aminoethoxy)ethoxy]ethanol nach Standardbedingungen zunächst durch Einführung der Z-Schutzgruppe und anschließender Oxidation mit Schwefeltrioxid-Pyridin-Komplex hergestellt.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.3 min;

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.68 min; MS (ESIpos): m/z = 282 $(M+H)^+$.

Intermediat 174

N-(2-{2-[2-(2-Aminoethoxy)ethoxy]ethoxy}ethyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1S,2R)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



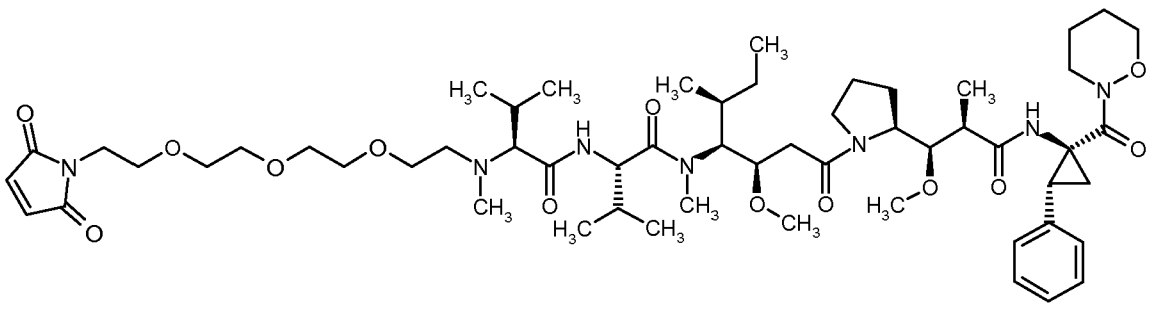
47 mg (0.05 mmol) von Intermediat 16 wurden in Analogie zur Herstellung von Intermediat 167 mit Benzyl-(2-{2-[2-(2-oxoethoxy)ethoxy]ethoxy}ethyl)carbamat in Gegenwart von Boran-Pyridin Komplex reduktiv aminiert. Anschließend wurde die Z-Schutzgruppe hydrogenolytisch mit 5% Palladium auf Kohle als Katalysator und in Methanol als Lösungsmittel entfernt und 38 mg (66% d.Th. über 2 Stufen) der Titelverbindung hergestellt.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.8 min; MS (ESIpos): m/z = 988 $(M+H)^+$.

Intermediat 175

N-[2-(2-{2-[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)ethoxy]ethoxy}ethoxy)ethyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1S,2R)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Die Herstellung erfolgte in Analogie zu Intermediat 166 ausgehend von 34 mg (0.03 mmol) von Intermediat 174.

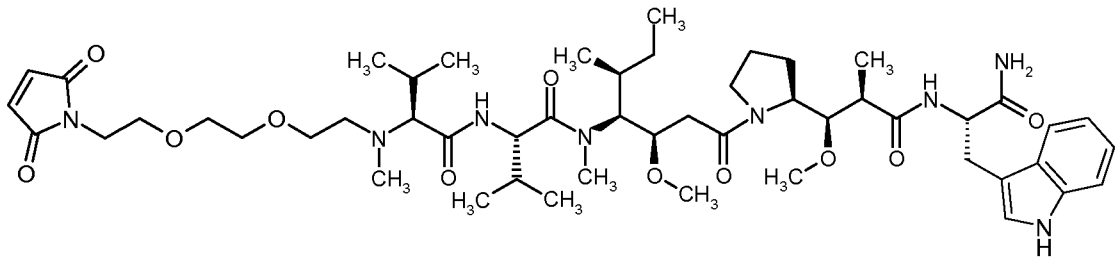
Ausbeute: 8.3 mg (23% d.Th.)

HPLC (Methode 5): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.97 min; MS (ESIpos): m/z = 1068 $(M+H)^+$.

Intermediat 176

N-(2-{2-[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)ethoxy]ethoxy}ethyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-1-amino-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



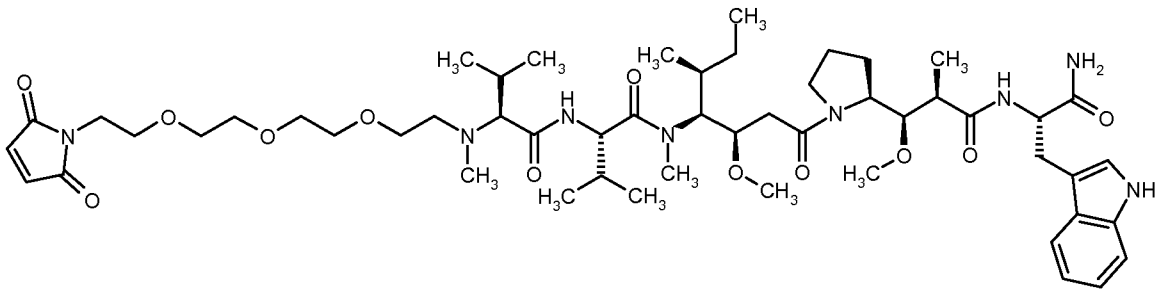
Die Herstellung erfolgte in Analogie zu den Intermediaten 174 und 175 beginnend mit der reduktive Aminierung von Intermediat 16 mit Intermediat 173, anschließender Entschützung und Aufbau des Maleinimids.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.8 min; MS (ESIpos): m/z = 981 $(M+H)^+$.

Intermediat 177

N-[2-(2-{2-[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)ethoxy]ethoxy}ethoxy)ethyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-1-amino-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



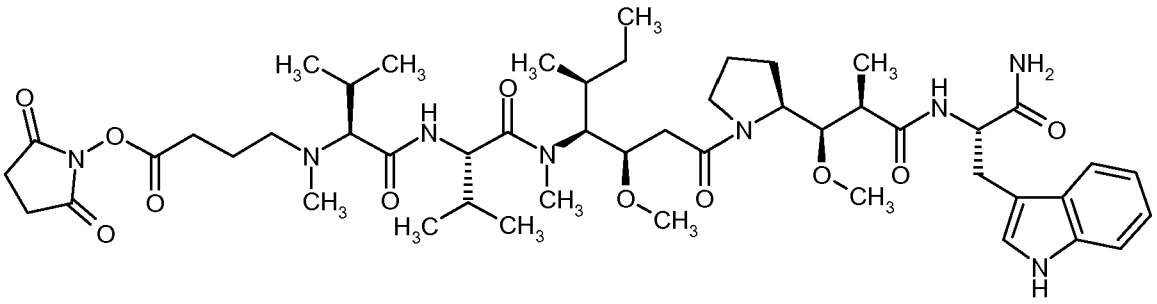
Die Herstellung erfolgte in Analogie zu den Intermediaten 174 und 175 beginnend mit der reduktive Aminierung von Intermediat 16 mit Intermediat 172, anschließender Entschützung und Aufbau des Maleinimids.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.86 min; MS (ESIpos): m/z = 1025 $(M+H)^+$.

Intermediat 178

N-{4-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-4-oxobutyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-1-amino-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid

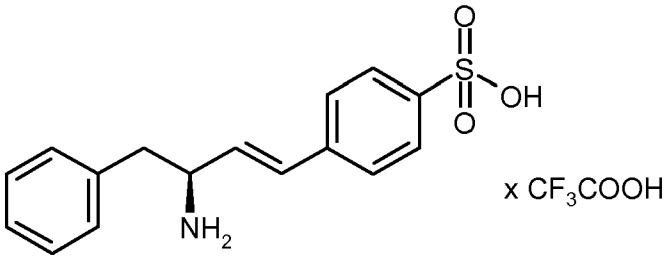


Die Herstellung erfolgte in Analogie zu Intermediaten 162 ausgehend von 6 mg von Intermediat 82.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.82 min; MS (ESIpos): m/z = 953 $(M+H)^+$.

Intermediat 179

4-[(1E,3S)-3-Amino-4-phenylbut-1-en-1-yl]benzolsulfonsäure-Trifluoracetat



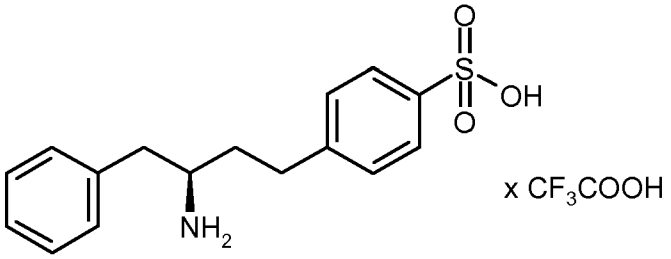
Eine Mischung aus 13.6 mg (0.06 mmol) Palladium(II)-Acetat, 469 mg (1.46 mmol) Kalium-4-iodbenzolsulfonat, 300 mg (1.21 mmol) (S)-tert.-Butyl-1-phenylbut-3-en-2-yl-carbamat, 16.5 mg (0.12 mmol) Phenylharnstoff und 167.6 mg (1.21 mmol) Kaliumcarbonat in 7.5 mL DMF wurde in der Mikrowelle für 15 min. auf 160°C erhitzt. Das Rohprodukt wurde anschließend direkt per präparativer HPLC gereinigt. Es wurden so 312 mg eines Gemisches aus 31% der BOC-geschützten Verbindung und 69% des freien Amins erhalten.

Dieses Gemisch wurde anschließend in 30 mL Dichlormethan aufgenommen, mit 1 mL Trifluoressigsäure versetzt und 20h bei RT gerührt. Nach Einengen im Vakuum wurde der Rückstand mit Diethylether verrührt, der entstandene Niederschlag abgesaugt und mit Diethylether nachgewaschen. Es wurden so 200 mg (62% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.44 min; MS (ESIpos): m/z = 304 $(M+H)^+$.

Intermediat 180

4-[(3R)-3-Amino-4-phenylbutyl]benzolsulfonsäure



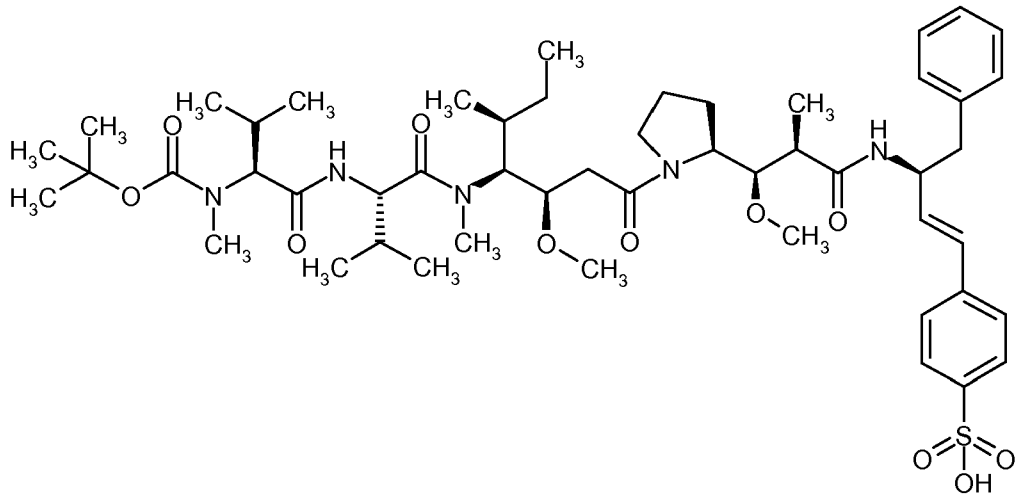
100 mg (0.25 mmol) 4-[(1E,3S)-3-Amino-4-phenylbut-1-en-1-yl]benzolsulfonsäure-Trifluoracetat wurden in 10 mL Essigsäure sowie einigen Tropfen DMF und Wasser suspendiert, mit 70 mg (0.07 mmol) Palladium auf Kohle (10%-ig) versetzt und 24h bei 2.2 bar Wasserstoff-Druck hydriert. Die Lösung wurde filtriert, das Filtrat per präp. HPLC gereinigt.

Es wurden 29 mg (76%ig, 21% d.Th.) Produkt erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.46 min; MS (ESIpos): m/z = 306 $(M+H)^+$.

Intermediat 181

N-(tert.-Butoxycarbonyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(2S,3E)-1-phenyl-4-(4-sulfophenyl)but-3-en-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid

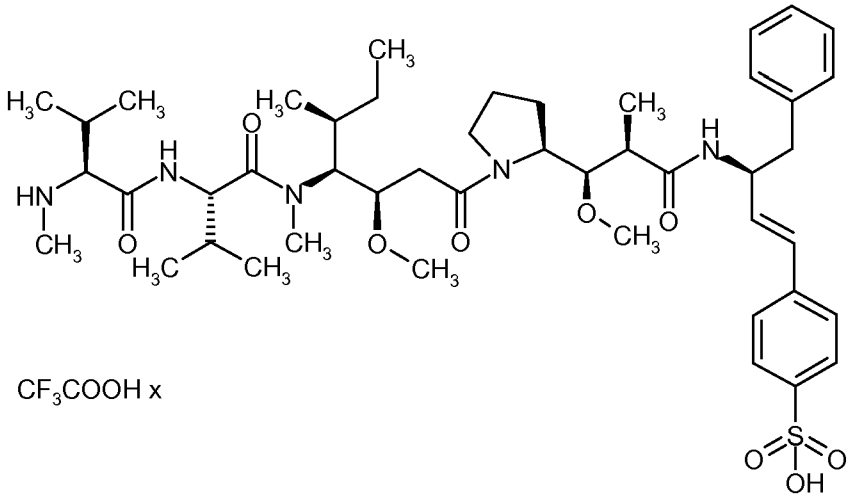


Zu einer Lösung von 90 mg (0.13 mmol) N-(tert.-Butoxycarbonyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid in 4 mL DMF wurden 60 mg (0.16 mmol) HATU und 69 µL (0.39 mmol) Hünig-Base gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min. bei RT gerührt und anschließend mit 60 mg (0.15 mmol) 60.3 mg (0.13 mmol) 4-[(1E,3S)-3-Amino-4-phenylbut-1-en-1-yl]benzolsulfonsäure-Trifluoracetat versetzt. Nach Rühren über Nacht wurde das Reaktionsgemisch per präp. HPLC gereinigt. Es wurden so 127 mg eines 44:56-Gemisches der Titelverbindung und des bereits entschützten Amins erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.21 min; MS (ESIpos): m/z = 971 $(M+H)^+$; R_t = 0.84 min; MS (ESIpos): m/z = 871 $(M+H)^+$ für die entschützte Verbindung.

Intermediat 182

N-Methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(2S,3E)-1-phenyl-4-(4-sulfophenyl)but-3-en-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



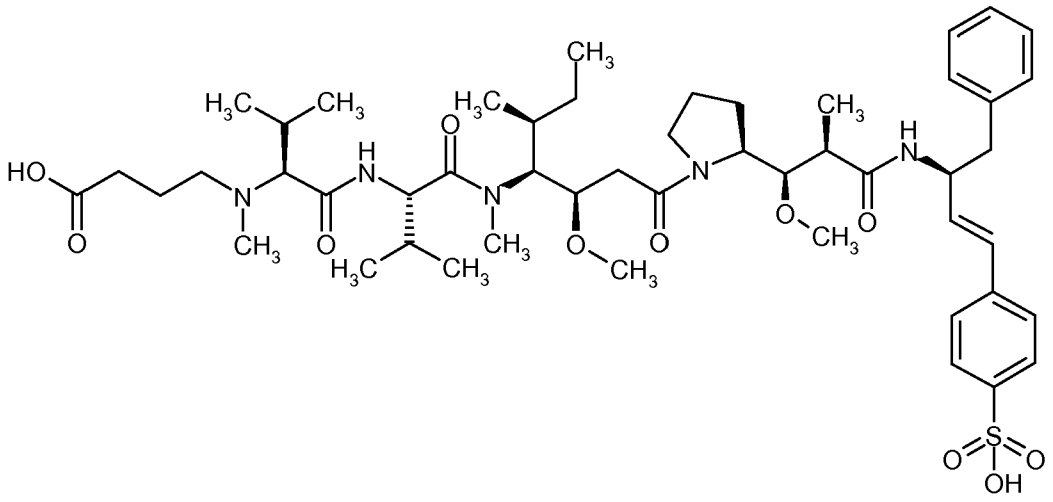
90 mg Intermediat 180 wurden in 4.6 mL Dichlormethan gelöst und mit 0.92 mL Trifluoressigsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min. bei RT gerührt und anschließend eingeengt. Das erhaltene Rohprodukt wurde per präp. HPLC gereinigt.

Es wurden 91 mg (98% d.Th.) der Zielverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.85 min; MS (ESIpos): m/z = 871 $(M+H)^+$

Intermediat 183

N-(3-Carboxypropyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(2S,3E)-1-phenyl-4-(4-sulfophenyl)but-3-en-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Es wurden 16.7 µL (0.03 mmol) einer 15%igen wässrigen Bernsteinaldehyd-Lösung in 943 µL Methanol vorgelegt und mit 17 mg (0.02 mmol) N-Methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-

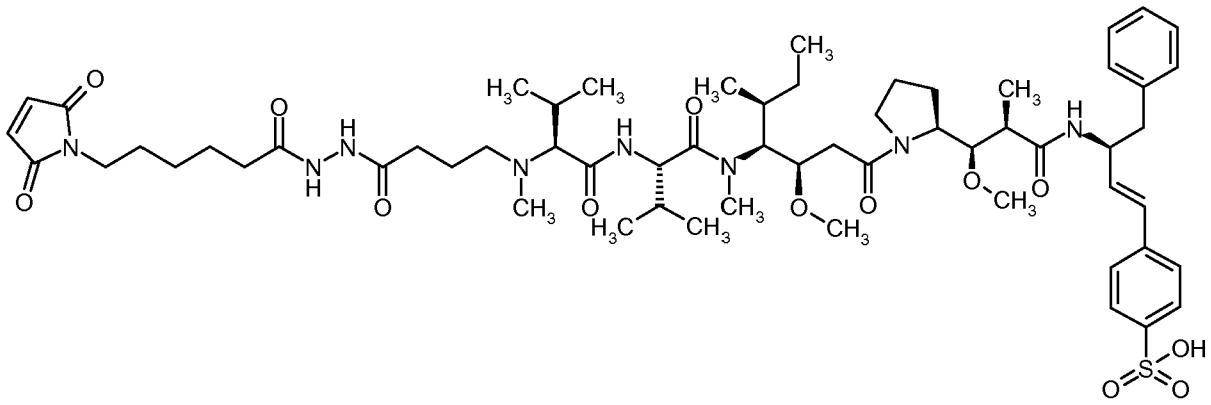
{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(2S,3E)-1-phenyl-4-(4-sulfophenyl)but-3-en-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat (Intermediat 181) sowie 1.1 µL (0.02 mmol) Essigsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 5 min. bei RT gerührt und anschließend mit 2.9 µL (0.02 mmol) Boran-Pyridin-Komplex versetzt. Nach 1h wurden jeweils weitere 2 Äquivalente Bernsteinaldehyd, Essigsäure und Boran-Pyridin-Komplex zugegeben und 20h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde dann per präp. HPLC gereinigt.

Es wurden so 20 mg (83%ig, 80% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.87 min; MS (ESIpos): m/z = 957 $(M+H)^+$

Intermediat 184

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(2S,3E)-1-phenyl-4-(4-sulfophenyl)but-3-en-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



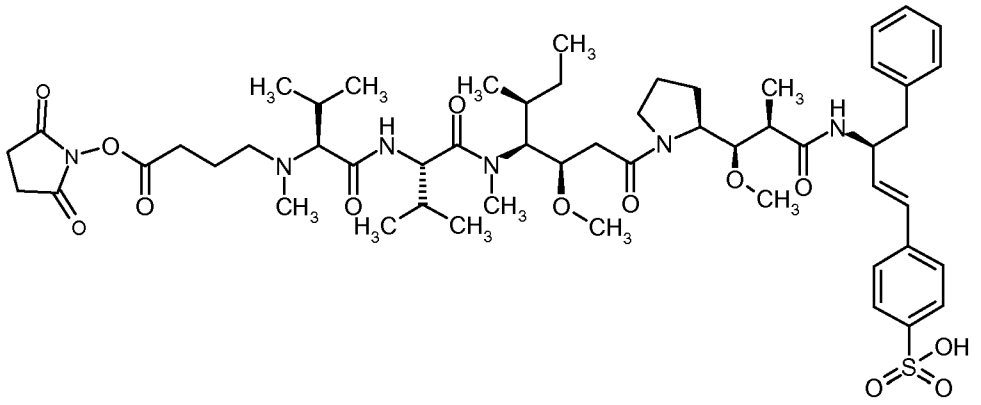
Es wurden 8 mg (7.5 µmol) N-(3-Carboxypropyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(2S,3E)-1-phenyl-4-(4-sulfophenyl)but-3-en-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid, 2.8 mg (8.2 µmol) 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid-Trifluoracetat, 3.4 mg (9 µmol) HATU sowie 3.9 µL Hünig-Base in 0.77 mL DMF 20h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch per präp. HPLC gereinigt.

Es wurden 3 mg (31% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.90 min; MS (ESIpos): m/z = 1164 $(M+H)^+$

Intermediat 185

N-{4-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-4-oxobutyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(2S,3E)-1-phenyl-4-(4-sulfophenyl)but-3-en-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid

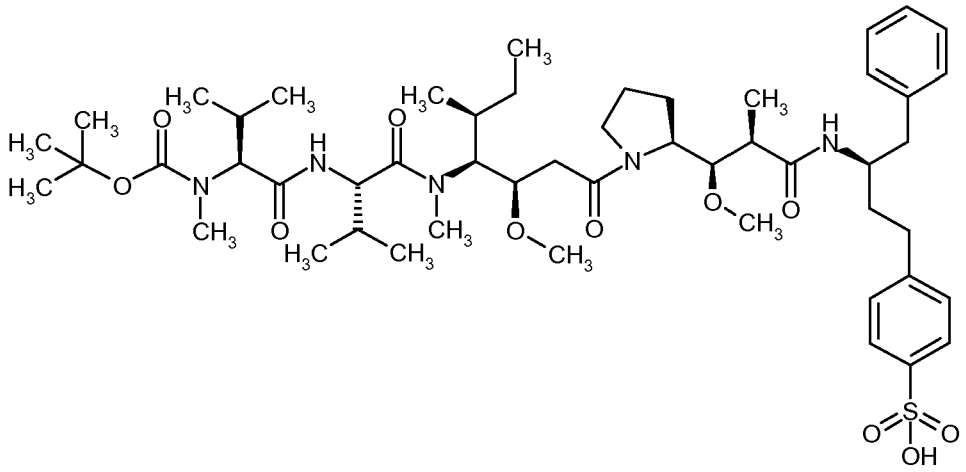


Zu einer Lösung von 8 mg (7.5 µmol) N-(3-Carboxypropyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(2S,3E)-1-phenyl-4-(4-sulfophenyl)but-3-en-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid in 2 mL DMF wurden 8.6 mg (74.8 µmol) N-Hydroxysuccinimid, 8.5 mg (22.4 µmol) EDCI und 0.1 mg (0.75 µmol) DMAP gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 20h bei RT gerührt. Anschließend wurden 1.3 µL (7.5 µmol) Hünig-Base zugegeben und 1h nachgerührt. Das Reaktionsgemisch wurde dann per präp. HPLC gereinigt. Es wurden 2.6 mg (72% Reinheit; 21% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.89 min; MS (ESIpos): m/z = 1054 $(M+H)^+$

Intermediat 186

N-(tert.-Butoxycarbonyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(2R)-1-phenyl-4-(4-sulfophenyl)butan-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid

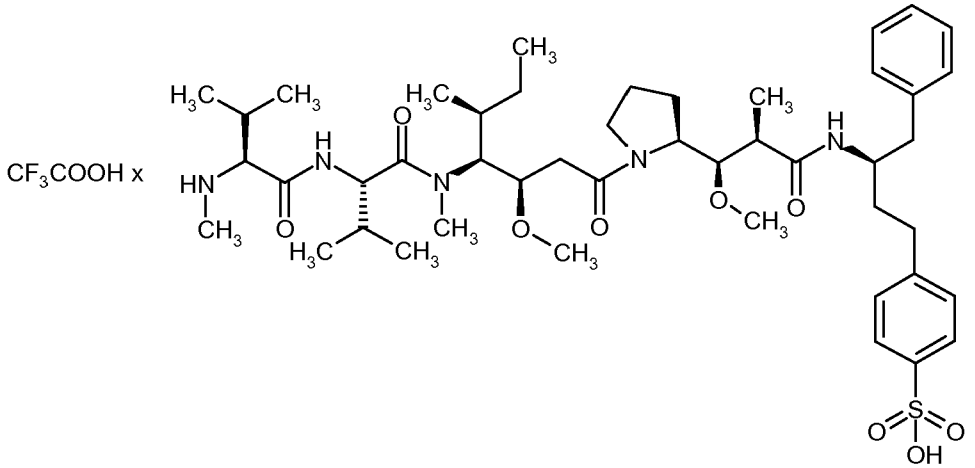


Zu einer Lösung von 43 mg (0.06 mmol) N-(tert.-Butoxycarbonyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid in 1.9 mL DMF wurden 29 mg (0.07 mmol) HATU und 33 µL (0.19 mmol) Hünig-Base gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min. bei RT gerührt und anschließend mit 29 mg (0.07 mmol) 4-[(3R)-3-Amino-4-phenylbutyl]benzolsulfonsäure-Trifluoracetat versetzt. Nach Rühren über Nacht wurde das Reaktionsgemisch per präp. HPLC gereinigt. Es wurden so 58 mg eines 45:55-Gemisches der Titelverbindung und des bereits entschützten Amins erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.09 min; MS (ESIpos): m/z = 973 $(M+H)^+$; R_t = 0.87 min; MS (ESIpos): m/z = 873 $(M+H)^+$ für die entschützte Verbindung.

Intermediat 187

N-Methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(2R)-1-phenyl-4-(4-sulfophenyl)butan-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



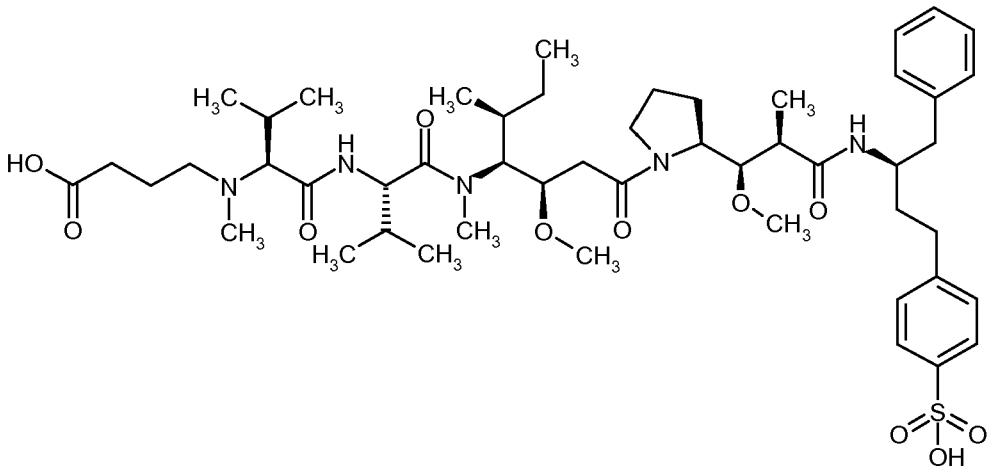
58 mg Intermediat 186 wurden in 4.1 mL Dichlormethan gelöst, mit 0.41 mL Trifluoressigsäure versetzt und 30 min. bei RT gerührt. Nach Einengen im Vakuum wurde das Rohprodukt per präp. HPLC gereinigt.

Es wurden 50 mg (90%-ige Reinheit; 85% d.Th.) Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.87 min; MS (ESIpos): m/z = 873 $(M+H)^+$

Intermediat 188

N-(3-Carboxypropyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(2R)-1-phenyl-4-(4-sulfophenyl)butan-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



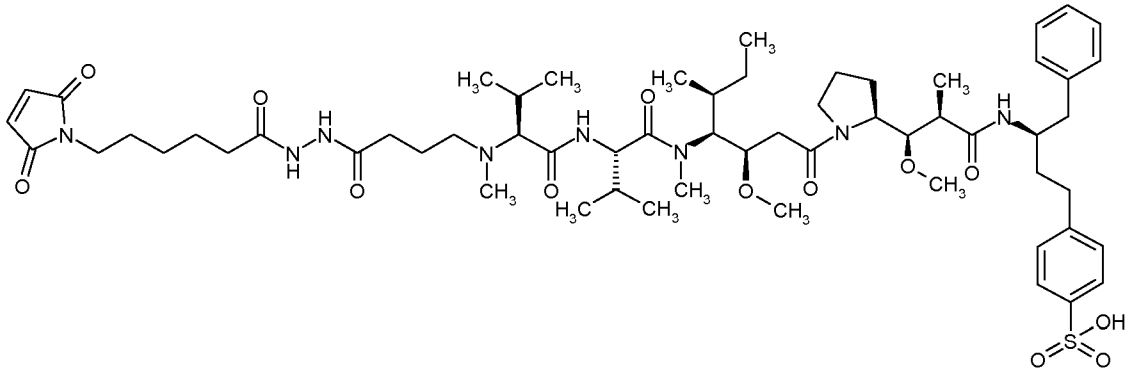
Es wurden 171 µL (0.26 mmol) einer 15%igen wässrigen Bernsteinaldehyd-Lösung in 2.5 mL Methanol vorgelegt und mit 50 mg (0.05 mmol) N-Methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(2R)-1-phenyl-4-(4-sulfophenyl)butan-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat sowie 11.6 µL (0.2 mmol) Essigsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 5 min. bei RT gerührt und anschließend mit 30 µL (0.24 mmol) Boran-Pyridin-Komplex versetzt. Nach 24stündigem Rühren wurde ein weiteres Äquivalent Boran-Pyridin-Komplex zugegeben und 2h nachgerührt. Das Reaktionsgemisch wurde dann per präp. HPLC gereinigt.

Es wurden 40 mg (90%-ige Reinheit; 66% d.Th.) Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.91 min; MS (ESIpos): m/z = 959 $(M+H)^+$

Intermediat 189

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(2R)-1-phenyl-4-(4-sulfophenyl)butan-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



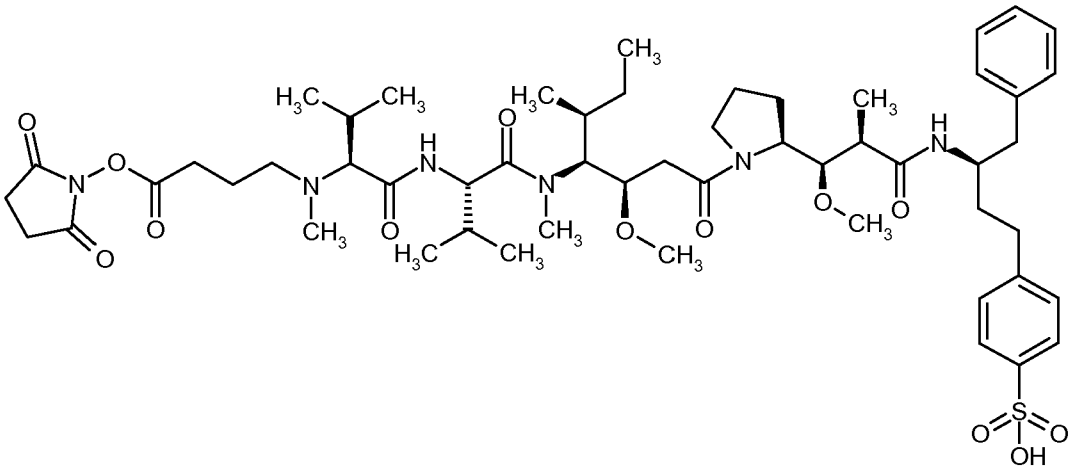
Es wurden 10 mg (9.3 µmol) N-(3-Carboxypropyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(2R)-1-phenyl-4-(4-sulfophenyl)butan-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid, 3.5 mg (10.3 µmol) 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid-Trifluoracetat, 4.3 mg (11.2 µmol) HATU sowie 4.9 µL (28 µmol) Hünig-Base in 1 mL DMF 20h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch per präp. HPLC gereinigt.

Es wurden 4.2 mg (92%-ige Reinheit; 33% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.91 min; MS (ESIpos): m/z = 1166 $(M+H)^+$

Intermediat 190

N-{4-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-4-oxobutyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(2R)-1-phenyl-4-(4-sulfophenyl)butan-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



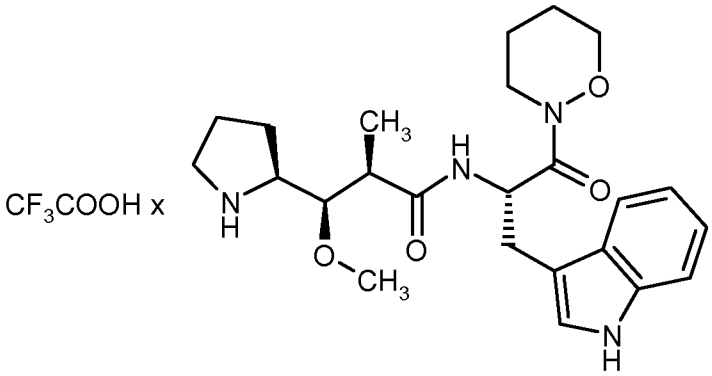
Zu einer Lösung von 10 mg (9.3 µmol) N-(3-Carboxypropyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(2R)-1-phenyl-4-(4-sulfophenyl)butan-2-yl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid in 2.5 mL DMF wurden 10.7 mg (93 µmol) N-Hydroxysuccinimid, 10.6 mg (28 µmol) EDCI sowie 0.12 mg (0.9 µmol) DMAP gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 20h bei RT gerührt und anschließend per präp. HPLC gereinigt.

Es wurden 3.8 mg (72%-ige Reinheit; 25% d.Th.) Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.90 min; MS (ESIpos): m/z = 1055 $(M+H)^+$

Intermediat 191

(2*R*,3*R*)-*N*-[(2*S*)-3-(1*H*-Indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanamid-Trifluoracetat



Die Titelverbindung wurde in Analogie zur Synthese von Intermediat 7 über zwei Stufen aus Ausgangsverbindung 1 und (2*S*)-2-Amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)propan-1-on Trifluoracetat (Intermediat 99) hergestellt.

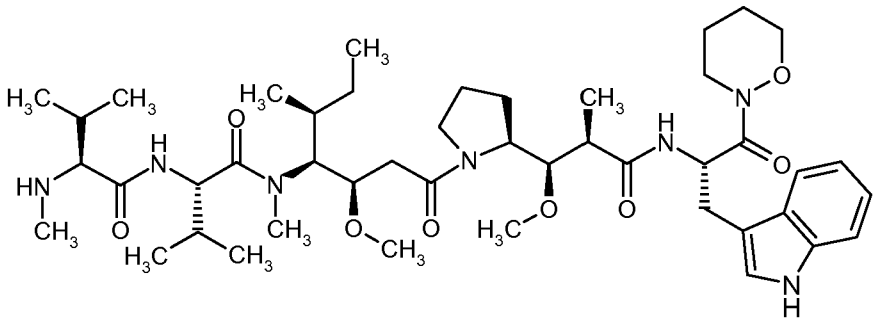
Ausbeute über 2 Stufen: 62 mg (67% d. Th.)

HPLC (Methode 6): R_t = 1.65 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.7 min; MS (ESIpos): m/z = 443 $(M+H)^+$.

Intermediat 192

N-Methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



1015 mg (1.59 mmol) *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 4) wurden in 50 ml DMF aufgenommen, mit 654 mg (2.39 mmol) 2-Brom-1-ethylpyridinium-Tetrafluoroborat (BEP) und 2.8 ml *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt und 10 min bei RT gerührt. Dann wurden 1083 mg (1.75 mmol) (2*R*,3*R*)-*N*-[(2*S*)-3-(1*H*-Indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanamid-Trifluoracetat (Intermediat 191) zugegeben und die Mischung anschließend 30 min im Ultraschallbad bei RT behandelt. Das Reaktionsgemisch wurde dann im Vakuum eingeengt und der Rückstand in 300 ml Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wurde nacheinander mit 5%-iger wässriger Zitronensäure-Lösung und 5%-iger wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Das so erhaltene Rohprodukt (1684 mg) wurde ohne weitere Reinigung in 20 ml Acetonitril aufgenommen, mit 2 ml Piperidin versetzt und das Reaktionsgemisch anschließend 10 min bei RT gerührt. Dann wurde im Vakuum eingeengt und der Rückstand mit Diethylether versetzt. Das Lösungsmittel wurde erneut eingedampft und der Rückstand durch Flashchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol/17%iger wässriger Ammoniak-Lösung 15:1:0.1 -> 15:2:0.2) gereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden vereinigt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand aus Acetonitril/Wasser lyophilisiert. So wurden 895 mg (67% über 2 Stufen) der Titelverbindung erhalten.

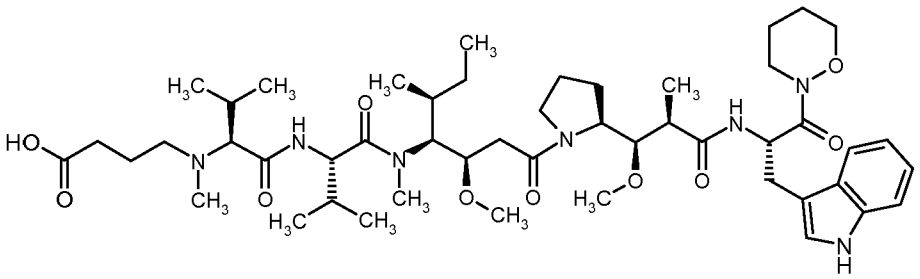
HPLC (Methode 12): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.84 min; MS (ESIpos): m/z = 840 $(M+H)^+$.

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ = 10.8 (d, 1H), 8.3 und 8.05 (2d, 1H), 8.0 (d, 1H), 7.5 (m, 1H), 7.3 (m, 1H), 7.15 und 7.08 (2s, 1H) 7.05-6.9 (m, 2H), 5.12 und 4.95 (2m, 1H), 4.65 (m, 1H), 4.55 (m, 1H), 4.1-3.8 (m, 4H), 3.75 (d, 1H), 3.23, 3.18, 3.17, 3.12, 2.95 und 2.88 (6s, 9H), 3.1-3.0 und 2.85 (2m, 2H), 2.65 (d, 1H), 2.4-2.2 (m, 3H), 2.15 (m, 3H), 1.95 (br. m, 2H), 1.85-0.8 (br. m, 11H), 1.08 und 1.04 (2d, 3H), 0.9-0.75 (m, 15H), 0.75-0.65 (dd, 3H) [weitere Signale unter H_2O-Peak verborgen].

Intermediat 193

N-(3-Carboxypropyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



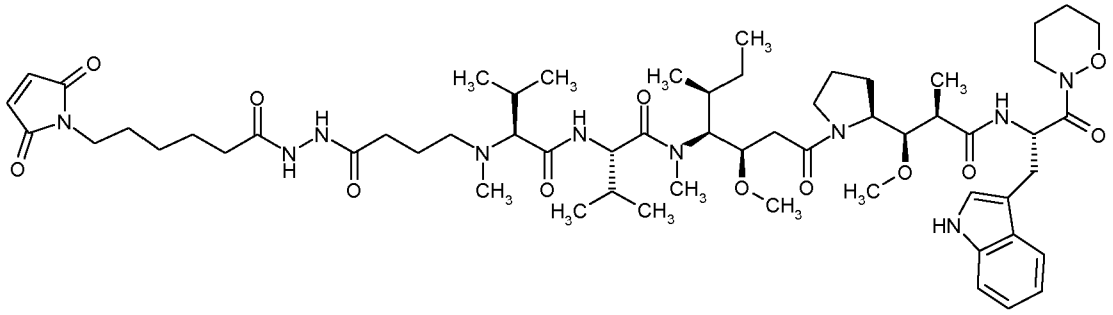
50 mg (0.052 mmol) N-Methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid (Intermediat 192) und 204µl einer 15%igen wässrigen Lösung von 4-Oxobutansäure wurden in 2 ml Methanol zusammengegeben und mit 23.4 mg (0.252 mmol) Boran-Pyridin-Komplex und 6µl Essigsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Einengen der entsprechenden Fraktionen wurden 38 mg (78% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 9): R_t = 4.7 min; MS (ESIpos): m/z = 926 $(M+H)^+$.

Intermediat 194

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde in Analogie zur in Intermediat 157 beschriebenen Synthese aus 10 mg (11µmol) N-(3-Carboxypropyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid und kommerziell erhältlichem 6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanhydrazid hergestellt.

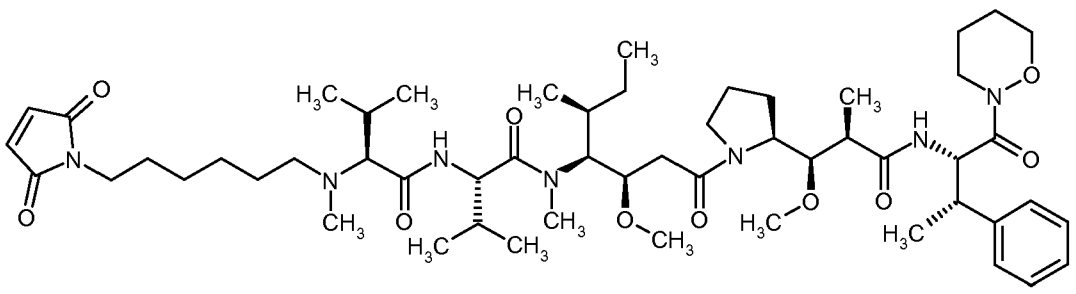
Ausbeute: 4.4 mg (35% d.Th.)

HPLC (Methode 5): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.90 min; MS (ESIpos): m/z = 1133 $(M+H)^+$.

Intermediat 195

N-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2S,3S)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 166 ausgehend von 9 mg (0.010 mmol) Intermediat 170 hergestellt.

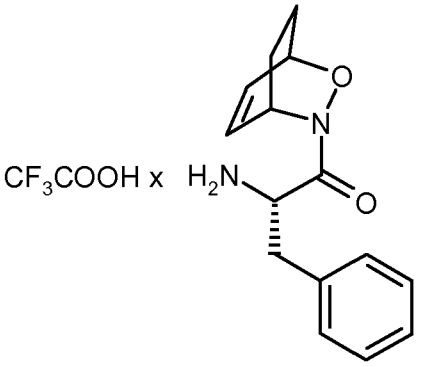
Ausbeute: 1.1 mg (10% d.Th.)

HPLC (Methode 12): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.99 min; MS (ESIpos): m/z = 994 $(M+H)^+$.

Intermediat 196

(2*S*)-2-Amino-1-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)-3-phenylpropan-1-on-Trifluoracetat



41 mg (0.37 mmol) 2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl-*N*-(*tert.*-butoxycarbonyl)-L-phenylalaninat wurden in 10 ml DMF aufgenommen und mit 149 mg (0.41 mmol) 2-Oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en (Ausgangsverbindung 6) sowie 72 µl (0.41 mmol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde 1 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde danach im Vakuum entfernt, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und mit 5%-iger wässriger Zitronensäure-Lösung und anschließend mit 5%-iger wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde eingeengt und der Rückstand durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Toluol/Ethanol 10:1 als Eluent gereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden vereinigt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Trocknen des Rückstands im Hochvakuum wurden so 69 mg (47% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats *tert.*-Butyl-[(2*S*)-1-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]carbamat als Diastereomerengemisch erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.1 min; MS (ESIpos): m/z = 359 $(M+H)^+$.

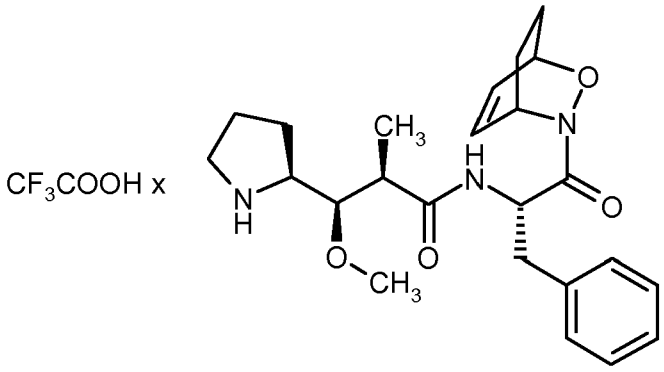
64 mg (0.18 mmol) dieses Intermediats wurden in 10 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 1 ml Trifluoressigsäure versetzt und 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingeengt und der verbliebene Rückstand aus Wasser/Dioxan lyophilisiert. Auf diese Weise wurden 66 mg (quant.) der Titelverbindung als Schaum erhalten.

HPLC (Methode 6): R_t = 1.45 min;

LC-MS (Methode 3): R_t = 1.12 min; MS (ESIpos): m/z = 259 $(M+H)^+$.

Intermediat 197

(2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-*N*-[(2*S*)-1-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanamid-Trifluoracetat



Zunächst wurde (2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert.*-Butoxycarbonyl)pyrrolidin-2-yl]-3-methoxy-2-methylpropansäure (Ausgangsverbindung 1) aus 83 mg (0.18 mmol) ihres Dicyclohexylamin-Salzes durch Aufnehmen in Ethylacetat und Ausschütteln mit 5%-iger wässriger Kaliumhydrogensulfat-Lösung freigesetzt. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Der Rückstand wurde in 10 ml DMF aufgenommen und nacheinander mit 66 mg (0.18 mmol) (2*S*)-2-Amino-1-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)-3-phenylpropan-1-on-Trifluoracetat (Intermediat 196), 101 mg (0.266 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-Hexafluorophosphat (HATU) sowie 93 µl (0.53 mmol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde 30 min bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde danach eingeengt und der Rückstand durch präparative HPLC gereinigt. Man erhielt so 52 mg (56% d. Th.) des Boc-geschützten Intermediats *tert.*-Butyl-(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-carboxylat.

HPLC (Methode 6): R_t = 2.13 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.13 min; MS (ESIpos): m/z = 528 $(M+H)^+$.

52 mg (0.1 mmol) dieses Intermediats wurden in 10 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 1 ml Trifluoressigsäure versetzt und 20 min bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingeengt und der verbliebene Rückstand mit 20 ml Diethylether verrührt. Nach 10 min wurde abfiltriert und

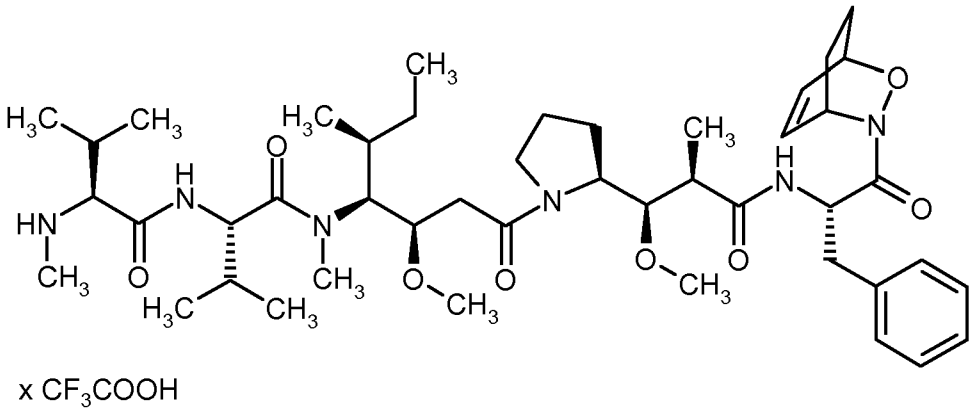
der Filter-Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Auf diese Weise wurden 39 mg (72% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 6): R_t = 1.62 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.68 min; MS (ESIpos): m/z = 428 $(M+H)^+$.

Intermediat 198

N-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



x CF_3COOH

44.5 mg (0.071 mmol) *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 4) wurden in 10 ml DMF aufgenommen und nacheinander mit 38.6 mg (0.071 mmol) (2*R*,3*R*)-3-Methoxy-2-methyl-*N*-[(2*S*)-1-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanamid-Trifluoracetat (Intermediat 197), 32.5 mg (0.086 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetramethyluronium-Hexafluorophosphat (HATU) sowie 41 µl (0.235 mmol) *N*,*N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde 1 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde dann im Vakuum eingeengt und der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wurde nacheinander mit 5%-iger wässriger Zitronensäure-Lösung und 5%-iger wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. Es wurden so 73 mg (98% d. Th.) des Fmoc-geschützten Intermediats *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*)-1-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid erhalten.

HPLC (Methode 6): R_t = 2.78 min;

LC-MS (Methode 3): R_t = 2.96 min; MS (ESIpos): m/z = 1047 $(M+H)^+$.

73 mg (0.071 mmol) dieses Intermediats wurden in 5 ml DMF gelöst. Nach Zugabe von 0.5 ml Piperidin wurde das Reaktionsgemisch 10 min bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingeengt und der Rückstand mehrfach mit Diethylether digeriert. Nach Abdekantieren des Diethylethers wurde der Rückstand durch präparative HPLC gereinigt (Eluent: Acetonitril / 0.1% aq. TFA). Es wurden 16 mg (26% d. Th.) der Titelverbindung als Schaum erhalten.

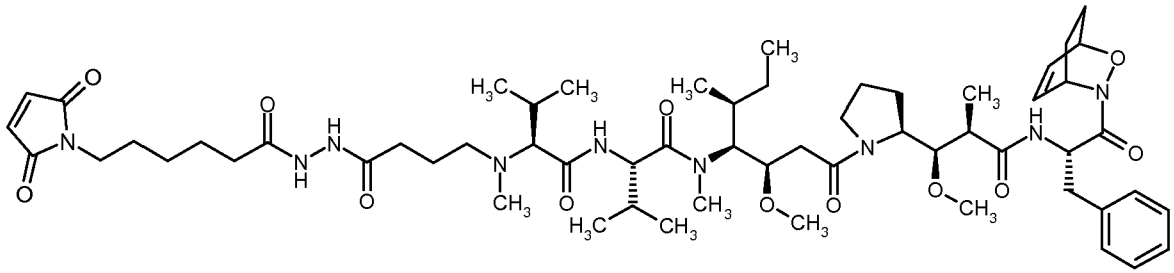
HPLC (Methode 6): R_t = 1.94 min;

LC-MS (Methode 3): R_t = 1.71 min; MS (ESIpos): m/z = 825 $(M+H)^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 8.9-8.6 (m, 3H), 8.4, 8.3, 8.1 und 8.0 (4d, 1H), 7.3-7.1 (m, 5H), 6.7-6.5 (m, 2H), 5.2-4.8 (m, 3H), 4.75-4.55 (m, 3H), 4.05-3.95 (m, 1H), 3.7-3.4 (m, 4H), 3.22, 3.17, 3.15, 3.05, 3.02 und 2.95 (6s, 9H), 3.0 und 2.7 (2 br. m, 2H), 2.46 (m, 3H), 2.4-1.2 (br. m, 13H), 1.1-0.85 (m, 18H), 0.75 (m, 3H) [weitere Signale unter H_2O-Peak verborgen].

Intermediat 199

N-(4-{2-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2S)-1-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



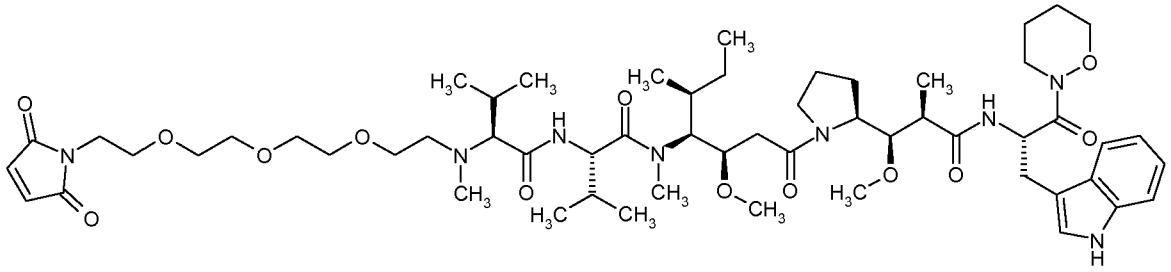
Die Titelverbindung wurde in Analogie zu den Intermediaten 193 und 194 ausgehend von 23 mg (24µmol) N-Methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2S)-1-(2-oxa-3-azabicyclo[2.2.2]oct-5-en-3-yl)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]-pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat (Intermediat 198) hergestellt.

HPLC (Methode 12): Rt = 1.9 min;

LC-MS (Methode 2): Rt = 2.1 min; MS (ESIpos): m/z = 1118 (M+H)+.

Intermediat 200

N-[2-(2-{2-[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)ethoxy]ethoxy}ethoxy)ethyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



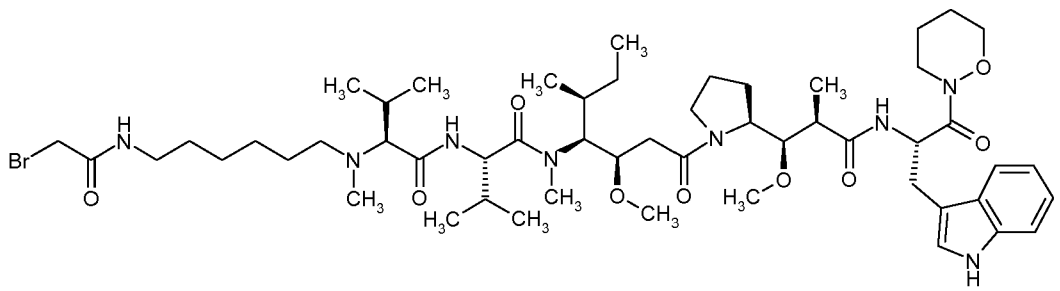
Die Herstellung erfolgte in Analogie zu den Intermediaten 174 und 175 beginnend mit der reduktive Alkylierung von Intermediat 192 mit Intermediat 172, anschließender Entschützung und Aufbau des Maleinimids.

HPLC (Methode 12): Rt = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): Rt = 0.86 min; MS (ESIpos): m/z = 1025 (M+H)+.

Intermediat 201

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



22 mg (0.023 mmol) N-(6-Aminohexyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid (Intermediat 101) wurden in 9.5 ml THF gelöst und bei 0°C wird mit 4.2 µl Triethylamin versetzt. Eine

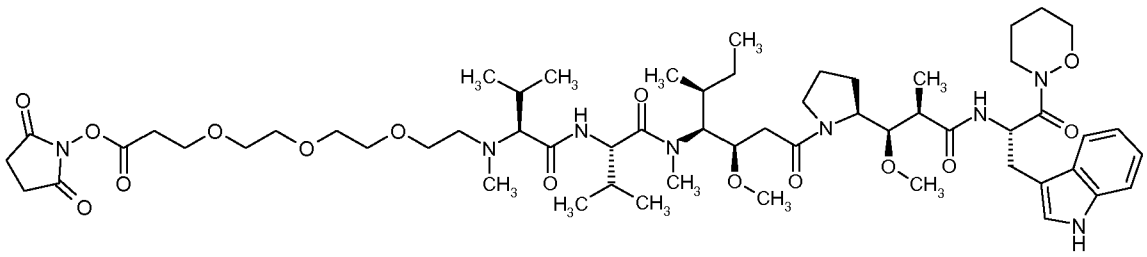
Lösung aus Bromacetylchlorid in THF wurde zutropft und das Reaktionsgemisch 30 min bei 0°C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde eingeengt und der Rückstand durch präparative HPLC gereinigt. So wurden 6.9 mg (26% d.Th.) der Titelverbindung als Schaum erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.9 min; MS (ESIpos): m/z = 1059 und 1061 $(M+H)^+$.

Intermediat 202

N-{2-[2-(2-{3-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-3-oxopropoxy}ethoxy)ethoxy]ethyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Die Herstellung erfolgte zunächst in Analogie zu Intermediat 168 beginnend mit der reduktiven Alkylierung von Intermediat 192 mit Intermediat 167 und anschließender hydrogenolytischer Spaltung des Benzylesters zu N-(2-{2-[2-(2-Carboxyethoxy)ethoxy]ethoxy}ethyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid.

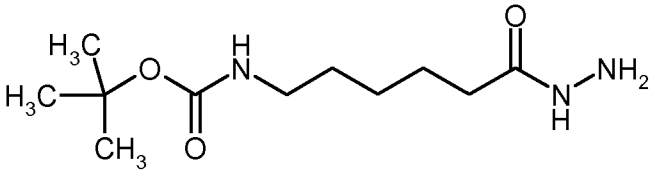
13 mg (10 µmol) dieses Intermediats wurden in 5 ml DMF gelöst und mit 2.1 mg (20 mmol) 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion, 6.5 µl *N,N*-Diisopropylethylamin und 7.1 mg (0.02 mmol) HATU versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation aus Acetonitril/Wasser wurden 9.2 mg (62% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 2): R_t = 2.1 min; MS (ESIpos): m/z = 1141 $(M+H)^+$.

Intermediat 203

tert.-Butyl-(6-hydrazino-6-oxohexyl)carbamat

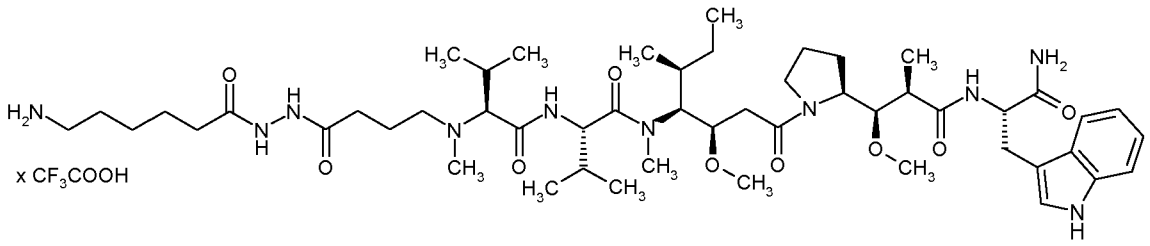


Diese Verbindung wurde nach Standardmethoden der Peptidchemie hergestellt durch Kupplung von 6-[(*tert.*-Butoxycarbonyl)amino]hexansäure mit Benzylhydrazincarboxylat in Gegenwart von EDCI und HOBT und anschließender hydrogenolytischer Spaltung der Benzyloxycarbonylschutzgruppe.

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.59 min; MS (ESIpos): m/z = 246 $(M+H)^+$.

Intermediat 204

N-{4-[2-(6-Aminohexanoyl)hydrazino]-4-oxobutyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-1-amino-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



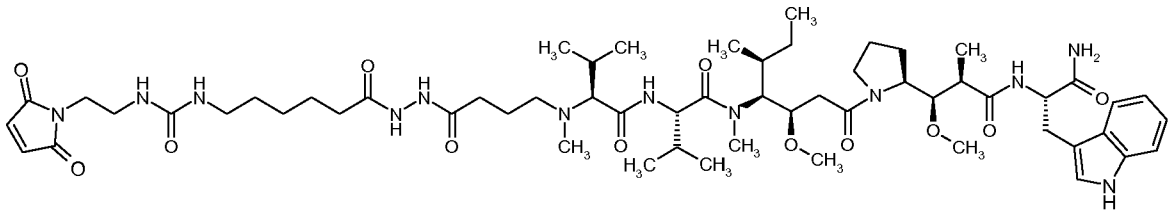
146 mg (50 µmol) (N-(3-Carboxypropyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-1-amino-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid wurden in 5 ml DMF gelöst und anschließend mit 30.6 mg (80 µmol) O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-Hexafluorophosphat, 19 µL N,N-Diisopropylethylamin sowie mit 22.4 mg (60 µmol) von *tert.*-Butyl-(6-hydrazino-6-oxohexyl)carbamat versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 1.5 h bei RT gerührt. Anschließend wurde im Hochvakuum eingeengt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC aufgereinigt. So wurden 43 mg (68 % d.Th.) des geschützten Intermediats erhalten, welche dann in 10 ml Dichlormethan aufgenommen wurden und mit 1 ml Trifluoressigsäure entschützt wurden. Das Reaktionsgemisch wurde eingeengt und der Rückstand mit Dichlormethan verrührt und das Lösungsmittel erneut im Vakuum entfernt. So wurden 45 mg (68% d.Th. über 2 Stufen) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.6 min;

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.66 min; MS (ESIpos): m/z = 983 $(M+H)^+$.

Intermediat 205

N-(4-{2-[6-({[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)ethyl]carbamoyl}amino)hexanoyl] hydrazino}-4-oxobutyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-1-amino-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 114 ausgehend von den Intermediaten 50 und 204 hergestellt.

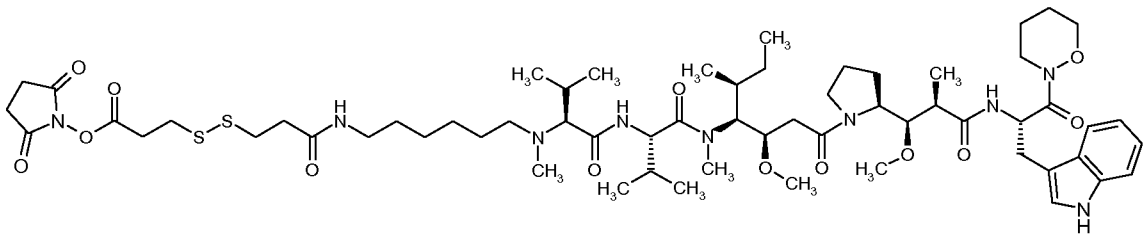
Ausbeute: 4 mg (78% d.Th.)

HPLC (Methode 12): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.73 min; MS (ESIpos): m/z = 1149 $(M+H)^+$.

Intermediat 206

N-(6-{[3-({3-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-3-oxopropyl}disulfanyl)propanoyl]amino}hexyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



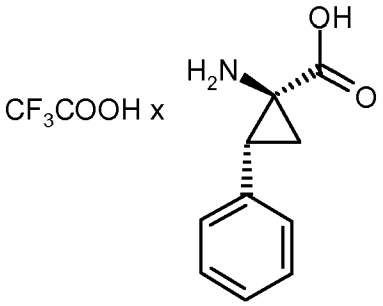
8 mg (10 µmol) von Intermediat 101 wurden in 2 ml DMF gelöst und mit 8.6 mg (20 µmol) 1,1'-{Disulfandiylbis[(1-oxopropan-3,1-diyl)oxy]}dipyrrolidin-2,5-dion und 3.7 µl *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2 h bei RT gerührt und anschließend das Lösungsmittel im Vakuum abgedampft und der Rückstand durch präparative HPLC gereinigt. Es wurden 7.2 mg (68% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.94 min; MS (ESIpos): m/z = 615 [½ ($M+2H^+$]

Intermediat 207

(1S,2R)-1-Amino-2-phenylcyclopropancarbonsäure-Trifluoracetat

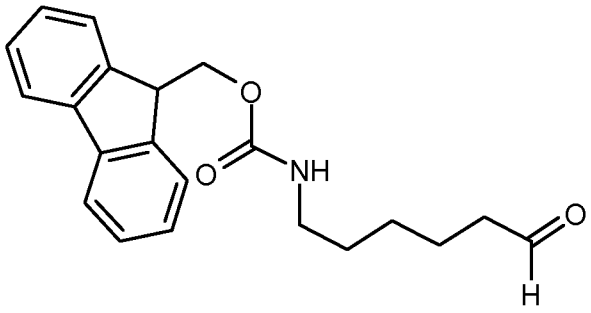


Die Titelverbindung wurde durch Entschützung von 210 mg (0.76 mmol) kommerziell erhältlicher (1*S*,2*R*)-1-[(*tert.*-Butoxycarbonyl)amino]-2-phenylcyclopropancarbonsäure mit Trifluoressigsäure in quantitativer Ausbeute erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.23 min; MS (ESIpos): m/z = 178 $(M+H)^+$.

Intermediat 208

9H-Fluoren-9-ylmethyl-(6-oxohexyl)carbamat



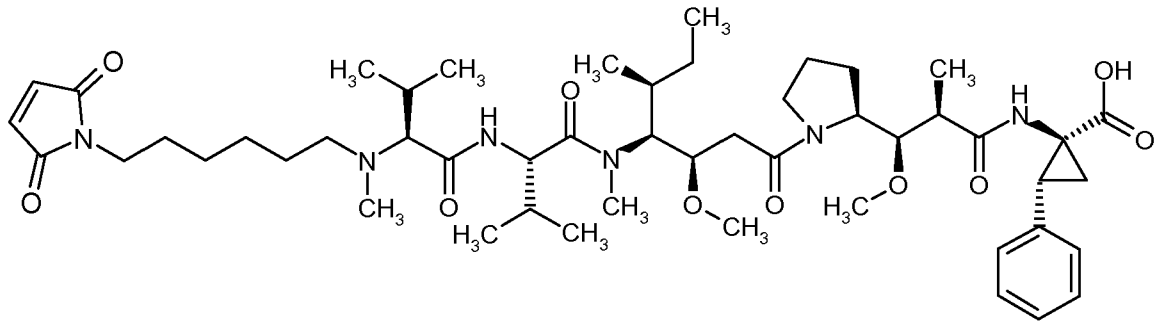
Die Titelverbindung wurde aus 1 g (2.95 mmol) von kommerziell erhältlichem 9H-Fluoren-9-ylmethyl-(6-hydroxyhexyl)carbamat nach Standardbedingungen durch Oxidation mit Schwefeltrioxid-Pyridin-Komplex hergestellt. Es wurden 840 mg (85% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.1 min; MS (ESIpos): m/z = 338 $(M+H)^+$.

Intermediat 209

N-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(1S,2R)-1-carboxy-2-phenylcyclopropyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 75 beschriebenen Synthese durch Kupplung von N-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) und (1S,2R)-1-Amino-2-phenylcyclopropancarbonsäure-Trifluoracetat (Intermediat 207) in Gegenwart von O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-Hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure die Amin-Verbindung N-Methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(1S,2R)-1-carboxy-2-phenylcyclopropyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat hergestellt.

Zu 22 mg (0.026 mmol) dieser Verbindung in 10 ml Methanol wurden dann 17 mg (0.05 mmol) 9H-Fluoren-9-ylmethyl-(6-oxohexyl)carbamat (Intermediat 208) und 2.3 mg Essigsäure sowie 11.4 mg (0.12 mmol) Boran-Pyridin-Komplex zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt. Dann wurden nochmals die gleichen Mengen Boran-Pyridin-Komplex und Essigsäure sowie 8 mg Fluoren-9-ylmethyl-(6-oxohexyl)carbamat zugegeben und das Reaktionsgemisch weitere 24h bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingeengt und der Rückstand mittels präparativer

HPLC gereinigt. Nach Einengen der entsprechenden Fraktionen wurde das Produkt sofort in die nächste Stufe eingesetzt.

33 mg des noch verunreinigten Intermediats wurden in 5 ml DMF aufgenommen und mit 1 ml Piperidin versetzt. Nach 15 min Rühren bei RT wurde das Reaktionsgemisch eingeengt und der erhaltene Rückstand durch präparative HPLC gereinigt. So wurden 11 mg (55% d.Th. über 2 Stufen) des Aminocarbonsäure-Intermediats erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.7 min; MS (ESIpos): m/z = 843 $(M+H)^+$.

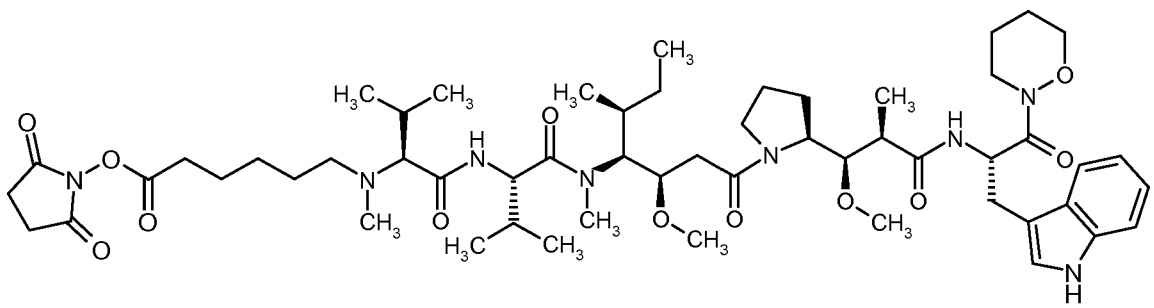
6 mg (7.12 µmol) dieses Intermediats wurden in 1 ml Dioxan aufgenommen und anschließend mit 6.6 mg (42.7 µmol) Methyl-2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-carboxylat sowie mit 5µl gesättigter wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 1h bei RT gerührt. Dann wurden nochmals 3 Portionen von jeweils 50 µl der gesättigten wässrigen Natrium-hydrogencarbonatlösung zugegeben und das Reaktionsgemisch weitere 30 min bei RT gerührt. Dann wurde das Reaktionsgemisch mit Trifluoressigsäure auf pH 2 angesäuert und anschließend im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation aus Acetonitril/Wasser wurden 4 mg (60% d.Th.) der Titelverbindung als Schaum erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.88 min; MS (ESIpos): m/z = 923 $(M+H)^+$.

Intermediat 210

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



Zunächst wurde 6-Oxohexansäure nach Literaturvorschrift hergestellt (J.Org.Chem. 58, 1993, 2196-2200).

80 mg (0.08 mmol) N-Methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid (Intermediat 192) und 65.4 mg (0.5 mmol) 6-Oxohexansäure wurden in 9 ml Methanol zusammengegeben und mit 10 µl Essigsäure und 37.4 mg (0.4 mmol) Boran-Pyridin-Komplex versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingeengt und der Rückstand in Acetonitril/Wasser 1:1 aufgenommen und mit Trifluoressigsäure auf pH 2 gebracht. Das Reaktionsgemisch wurde erneut eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Einengen der entsprechenden Fraktionen wurden 70 mg (86% d. Th.) N-(5-Carboxypentyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.87 min; MS (ESIpos): m/z = 955 $(M+H)^+$.

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6, charakteristische Signale): δ = 12.0 (br. M, 1H), 10.8 (s, 1H), 9.4 (m, 1H), 8.9 und 8.8 (2d, 1H), 8.3 und 8.02 (2d, 1H), 7.5 (m, 1H), 7.3 (m, 1H), 7.15 und 7.1 (2s, 1H) 7.05-6.9 (m, 2H), 5.12 und 4.95 (2m, 1H), 4.7-4.5 (m, 2H), 4.1-3.8 (m, 4H), 3.75 (d, 1H), 3.25, 3.2, 3.18, 3.13, 2.98 und 2.88 (6s, 9H), 2.8 (m, 3H), 1.08 und 1.04 (2d, 3H), 0.95-0.8 (m, 15H), 0.8-0.65 (dd, 3H).

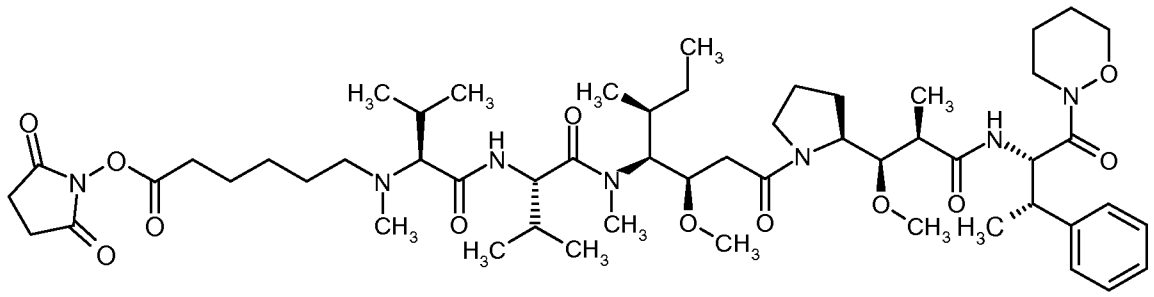
22 mg (23 µmol) dieses Intermediats wurden in 1.8 ml Dichlormethan gelöst und mit 13.2 mg (70 µmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid, 26.5 mg (230 µmol) 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion sowie 0.28 mg (2 µmol) Dimethylaminopyridin versetzt und das Reaktionsgemisch 2h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation aus Acetonitril/Wasser wurden 21.3 mg (88% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.94 min; MS (ESIpos): m/z = 1052 $(M+H)^+$.

Intermediat 211

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2S,3S)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



15 mg (20 µmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2*S*,3*S*)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino}-3-oxopropyl] pyrrolidin-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat (Intermediat 15) wurden in Analogie zu Intermediat 210 mit 6-Oxohexansäure reduktiv alkyliert.

Ausb.: 9.2 mg (61% d.Th.)

HPLC (Methode 12): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.87 min; MS (ESIpos): m/z = 929 $(M+H)^+$.

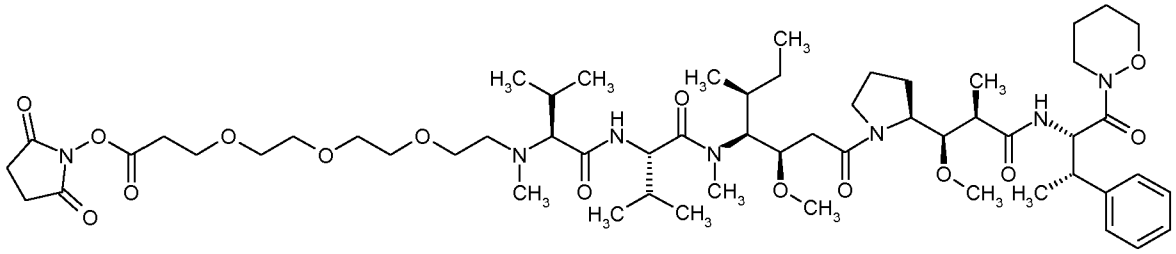
9 mg (10 µmol) dieses Intermediats wurden in 3 ml DMF gelöst und mit 5.6 mg (48 µmol) 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion, 5 µl *N,N*-Diisopropylethylamin und 5.5 mg (0.015 mmol) HATU versetzt und das Reaktionsgemisch 6 h im Ultraschallbad behandelt. Dabei wurden stündlich 5.5 mg HATU nachgesetzt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt, der Rückstand in Acetonitril/Wasser aufgenommen und mit Trifluoressigsäure auf pH 2 gebracht. Nach erneutem Einengen im Vakuum wurde der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation aus Acetonitril/Wasser wurden 5.8 mg (57 % d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.95 min; MS (ESIpos): m/z = 1027 $(M+H)^+$.

Intermediat 212

N-{2-[2-(2-{3-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-3-oxopropoxy}ethoxy)ethoxy]ethyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2S,3S)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Die Herstellung erfolgte zunächst in Analogie zu Intermediat 168 beginnend mit der reduktiven Alkylierung von Intermediat 15 mit Intermediat 167 und anschließender hydrogenolytischer Spaltung des Benzylesters zu N-(2-{2-[2-(2-Carboxyethoxy)ethoxy]ethoxy}ethyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(2S,3S)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxo-3-phenylbutan-2-yl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid.

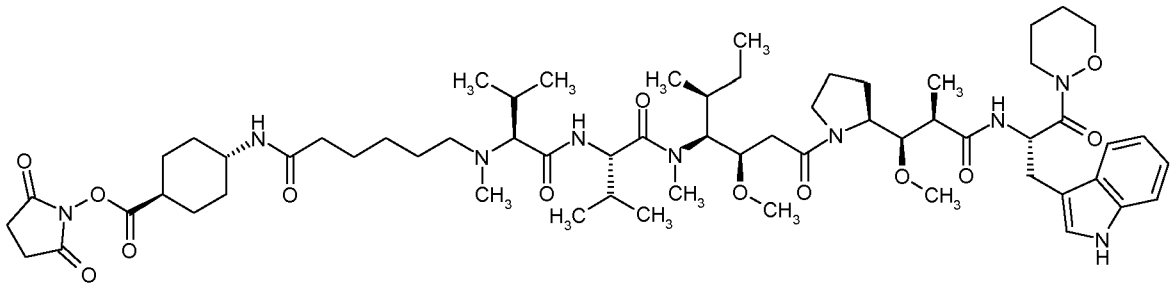
8.4 mg (8 µmol) dieses Intermediats wurden in 3 ml DMF gelöst und mit 9.5 mg (80 µmol) 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion, 10 µl *N,N*-Diisopropylethylamin und 9.4 mg (25 µmol) HATU versetzt und das Reaktionsgemisch über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Vakuum eingeengt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt, der Rückstand in Acetonitril/Wasser aufgenommen und mit Trifluoressigsäure auf pH 2 gebracht. Nach erneutem Einengen im Vakuum wurde der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation aus Acetonitril/Wasser wurden 4 mg (32% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.96 min; MS (ESIpos): m/z = 1117 $(M+H)^+$.

Intermediat 213

N-{6-[(trans-4-{[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]carbonyl}cyclohexyl)amino]-6-oxohexyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



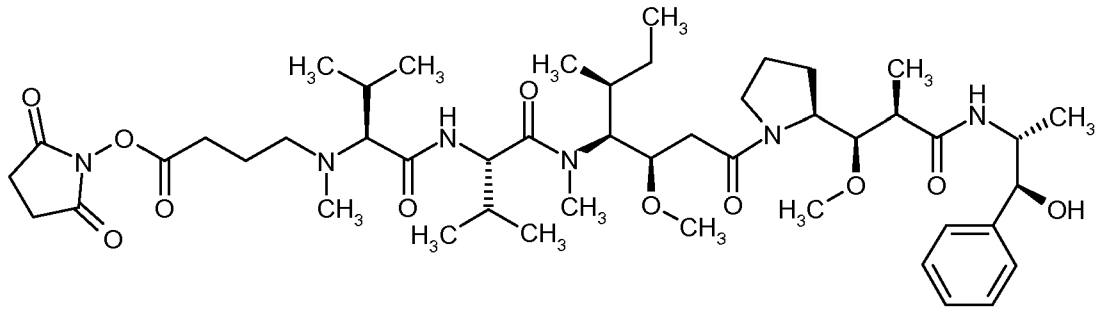
Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 104 ausgehend von N-(5-Carboxypentyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid, dessen Synthese unter Intermediat 210 beschrieben wurde, hergestellt. Es wurden 9.3 mg der Titelverbindung (37% d.Th. über 3 Stufen) erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.9 min; MS (ESIpos): m/z = 1177 $(M+H)^+$.

Intermediat 214

N-{4-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-4-oxobutyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(1S,2R)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



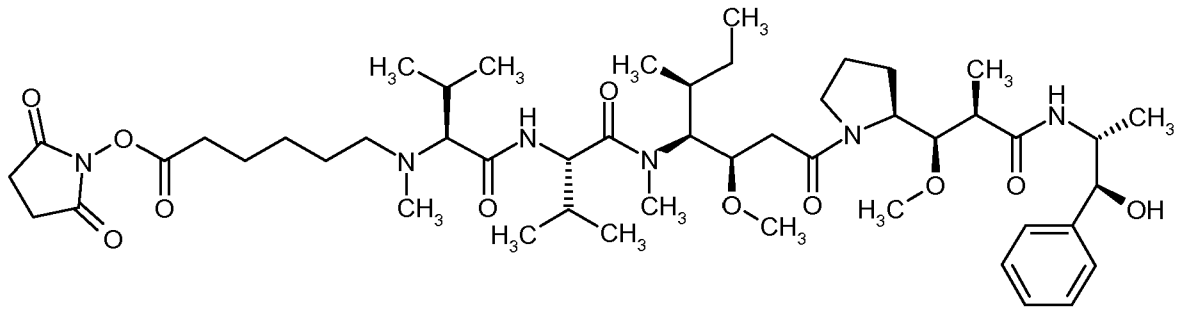
Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 210 durch Überführung von Intermediat 92 in den Aktivester hergestellt.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.6 min;

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.82 min; MS (ESIpos): m/z = 901 $(M+H)^+$.

Intermediat 215

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(1S,2R)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



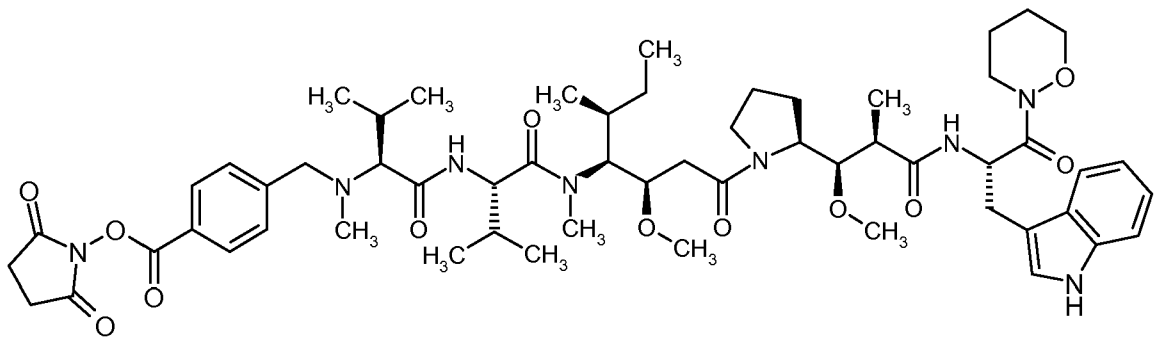
Zunächst wurde aus Intermediat 40 in Analogie zu Intermediat 183 mit Boran-Pyridin-Komplex N-(5-Carboxypentyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(1S,2R)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid hergestellt. Aus dieser Verbindung wurde dann in Analogie zu Intermediat 210 der Aktivester generiert. Es wurden 34 mg (36% d.Th. über 2 Stufen) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.6 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.85 min; MS (ESIpos): m/z = 930 $(M+H)^+$.

Intermediat 216

N-(4-{[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]carbonyl}benzyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



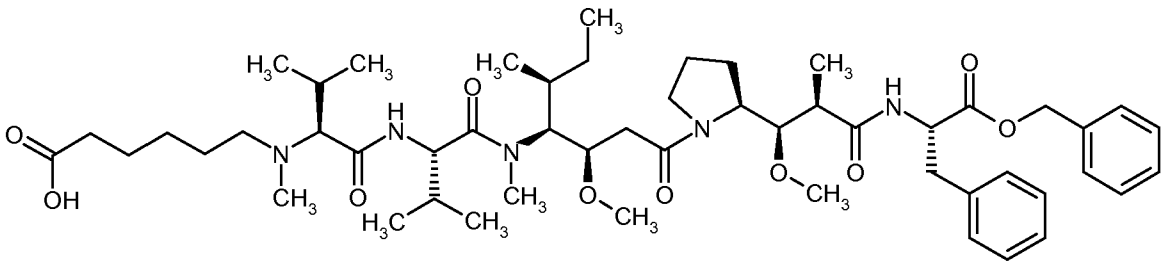
Zunächst wurde in Analogie zur Herstellung von Intermediat 183 Intermediat 192 mit 4-Formylbenzoesäure mit Boran-Pyridin-Komplex zu N-(4-Carboxybenzyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid umgesetzt. Aus dieser Verbindung wurden dann in Analogie zu Intermediat 210 11 mg (68% d. Th.) der Titelverbindung generiert.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.13 min; MS (ESIpos): m/z = 1072 $(M+H)^+$.

Intermediat 217

N-(5-Carboxypentyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



53 mg (84 µmol) *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxy-2-methoxy-4-methylhexan-3-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 4) und 45 mg (84 µmol) Benzyl-*N*-{(2*R*,3*R*)-3-methoxy-2-methyl-3-[(2*S*)-pyrrolidin-2-yl]propanoyl}-L-phenylalaninat-Trifluoracetat (Intermediat 12) wurden in 2 ml DMF aufgenommen, mit 19 µl *N*,*N*-Diisopropylethylamin, 14 mg (92 µmol) HOBt sowie 17.6 mg (92 µmol) EDC versetzt und dann über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden so 59 mg (68% d. Th.) des Fmoc-geschützten Intermediats *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]-pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.55 min; m/z = 1044 $(M+H)^+$.

57 mg (0.055 mmol) dieses Intermediats wurden zur Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe mit 1.2 ml Piperidin in 5 ml DMF behandelt. Nach Einengen und Reinigung mittels präparativer HPLC wurden

39 mg (76% d. Th.) des freien Amin-Intermediats *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid als Trifluoracetat erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.01 min; m/z = 822 $(M+H)^+$.

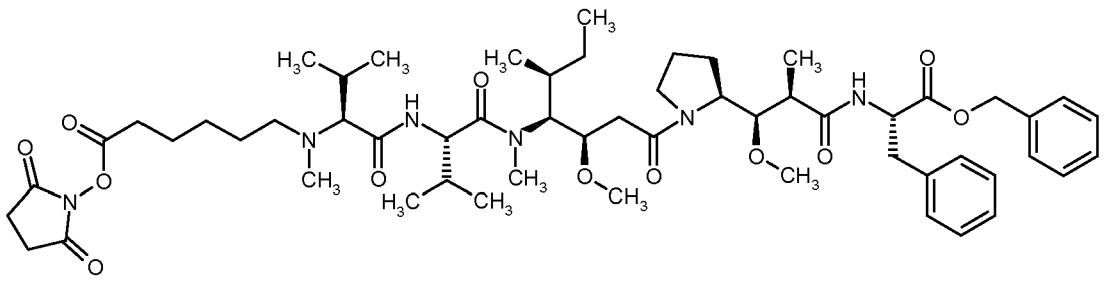
60 mg (0.06 mmol) dieses Intermediats wurden in Analogie zu Intermediat 210 mit 6-Oxohexansäure in Gegenwart von Boran-Pyridin-Komplex umgesetzt. Es wurden 45 mg (75% d. Th.) der Titelverbindung als Schaums erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.97 min; MS (ESIpos): m/z = 9936 $(M+H)^+$.

Intermediat 218

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-1-(benzyloxy)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde durch Überführung von 42 mg (0.05 mmol) von Intermediat 217 in den Aktivester hergestellt.

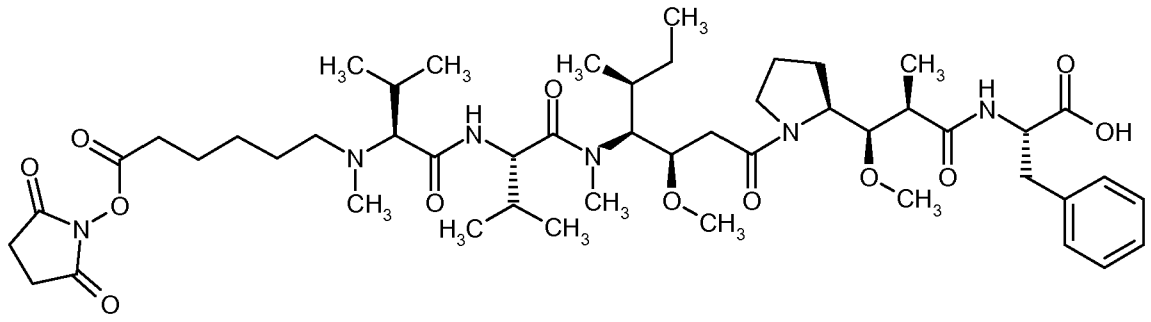
Ausbeute: 26 mg (54%)

HPLC (Methode 5): R_t = 2.1 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.01 min; MS (ESIpos): m/z = 1034 $(M+H)^+$.

Intermediat 219

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(1S)-1-carboxy-2-phenylethyl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



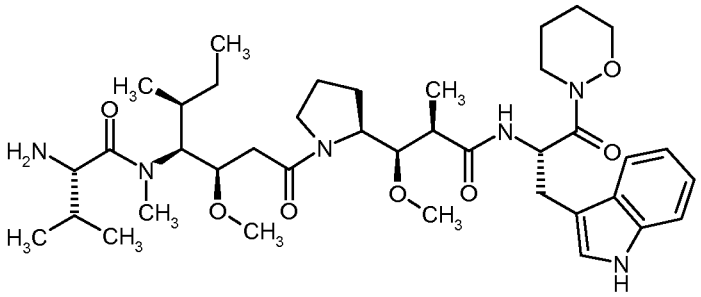
20 mg (0.02 mol) der Verbindung aus Intermediat 218 wurden in 2.4 ml Methanol aufgenommen und über 5%-igem Palladium auf Aktivkohle 30 min lang bei RT unter Wasserstoff-Normaldruck hydriert. Der Katalysator wurde danach abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde aus Acetonitri/Wasser 1:1 lyophilisiert. Man erhielt 14 mg (92% d.Th.) der Titelverbindung als farblosen Schaum.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.86 min; MS (ESIpos): m/z = 944 $(M+H)^+$.

Intermediat 220

N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-Indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



500 mg dieses Zwischenproduktes wurden in 20 ml DMF gelöst und mit 466 mg (3.8 mmol) von Intermediat 191, 382 mg (1.01 mmol) O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) sowie 440 µL (2.5 mmol) N,N-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde 1 h bei RT gerührt und danach eingeengt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan

aufgenommen und zuerst zweimal mit 5%-iger wässriger Zitronensäure-Lösung und dann mit gesättigter wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde eingeengt und der Rückstand durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan/Methanol 95:5 als Eluent gereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden vereinigt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Trocknen des Rückstands im Hochvakuum wurden 562 mg (65% d. Th. über 2 Stufen) des Z-geschützten Intermediats erhalten.

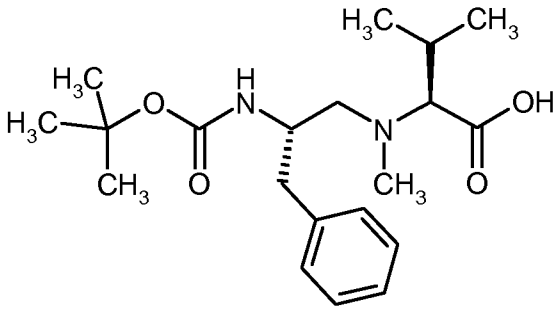
562 mg (0.57 mmol) dieser Zwischenstufe wurden in 50 ml Methanol aufgenommen und mit 155 mg 10%-igem Palladium auf Aktivkohle 20 min lang bei RT unter Wasserstoff-Normaldruck hydriert. Der Katalysator wurde danach abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde durch präparative HPLC gereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden vereinigt, das Lösungsmittel im Vakuum abgedampft und der Rückstand aus Dioxan lyophilisiert. Man erhielt 361 mg (87% d.Th.) der Titelverbindung als Schaum.

HPLC (Methode 5): Doppelpeak mit Rt = 1.75 und 1.86 min;

LC-MS (Methode 1): Doppelpeak bei Rt = 0.84 min und 0.91 min mit gleicher Masse; MS (ESIpos): m/z = 944 $(M+H)^+$.

Intermediat 221

N-{(2S)-2-[(*tert.*-Butoxycarbonyl)amino]-3-phenylpropyl}-N-methyl-L-valin



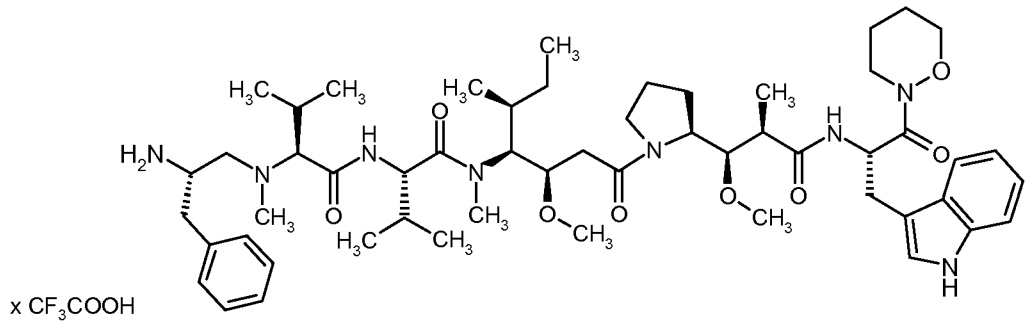
100 mg (0.76 mmol) von kommerziell erhältlichem N-Methyl-L-valin und 285 mg (1.14 mmol) von kommerziell erhältlichem *tert.*-Butyl-[(2S)-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]carbamat wurden in 22 ml Methanol zusammengegeben und mit 340 mg (3.66 mmol) Boran-Pyridin-Komplex und 70 µL Essigsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingeengt und der Rückstand durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan/Methano/17%iger wässriger Ammoniak-Lösung als Eluent gereinigt. Nach Einengen der entsprechenden Fraktionen und Lyophilisation aus Dioxan/Wasser 1:1 wurden 259 mg (93%d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.6 min;

LC-MS (Methode 11): R_t = 0.76 min; MS (ESIpos): m/z = 365 $(M+H)^+$.

Intermediat 222

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



40 mg (0.11 mmol) N-{(2S)-2-[(tert-Butoxycarbonyl)amino]-3-phenylpropyl}-N-methyl-L-valin (Intermediat 221) wurden in 5 ml DMF gelöst und mit 80 mg (0.11 mmol) N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-Indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid (Intermediat 220), 50 mg (0.13 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyl-uronium-hexafluorophosphat (HATU) sowie 57 µL (2.5 mmol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde 1 h bei RT gerührt und danach eingeengt. Der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und zuerst mit 5%-iger wässriger Zitronensäure-Lösung und dann mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden vereinigt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 60 mg (50% d. Th.) des geschützten Intermediats erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.2 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.17 min; MS (ESIpos): m/z = 1073 $(M+H)^+$.

60 mg (0.05 mmol) dieses Intermediats wurden in 10 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 2 ml Trifluoressigsäure versetzt und das Reaktionsgemisch 1.5 h bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Die entsprechenden Farktionen wurden vereinigt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt

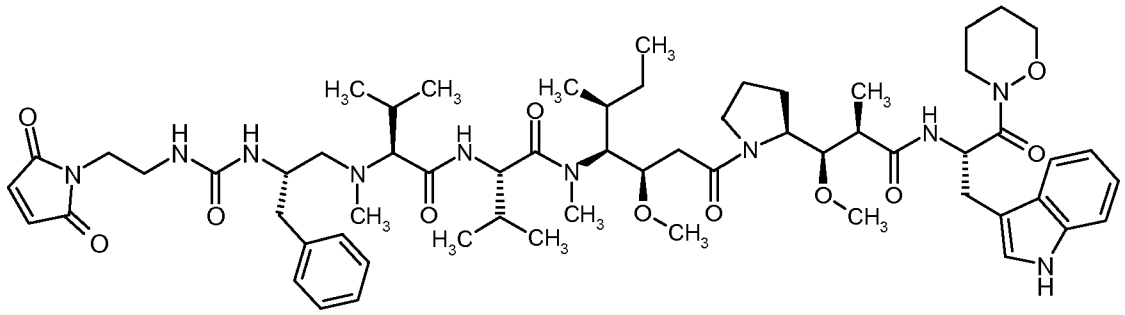
und der Rückstand aus Dioxan/Wasser lyophilisiert. Auf diese Weise wurden 25 mg (42% d.Th.) der Titelverbindung als Schaum erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.95 min; MS (ESIpos): m/z = 974 $(M+H)^+$.

Intermediat 223

N-[(2S)-2-({[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)ethyl]carbamoyl}amino)-3-phenylpropyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



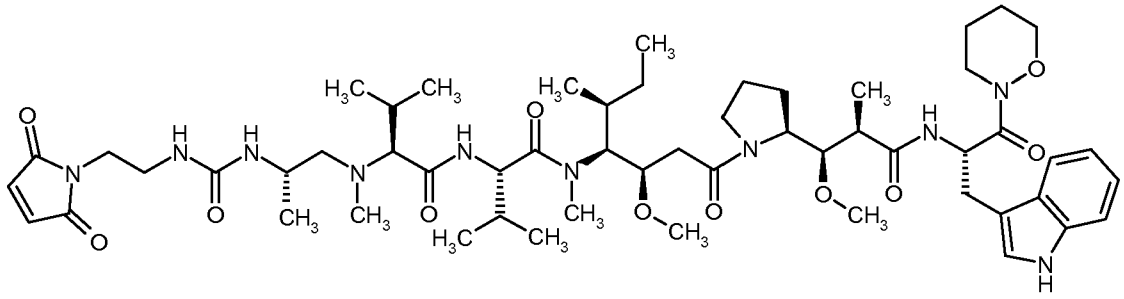
Die Herstellung erfolgte in Analogie zur Synthese von Intermediat 134 ausgehend von 5 mg (4.6 µmol) von Intermediat 222. Es wurden 3.4 mg (65% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.99 min; MS (ESIpos): m/z = 1140 $(M+H)^+$.

Intermediat 224

N-[(2S)-2-({[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)ethyl]carbamoyl}amino)propyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



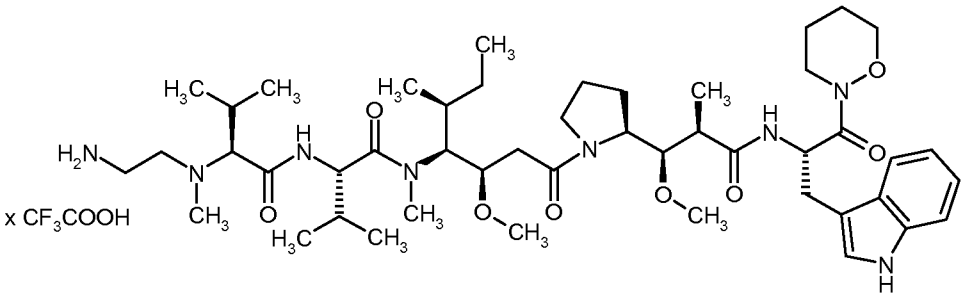
Die Herstellung erfolgte in Analogie zur Synthese von Intermediat 223.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.92 min; MS (ESIpos): m/z = 1064 $(M+H)^+$.

Intermediat 225

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



100 mg (0.76 mmol) von kommerziell erhältlichem N-Methyl-L-valin und 182 mg (1.14 mmol) von kommerziell erhältlichem *tert.*-Butyl-(2-oxoethyl)carbamat wurden in 20 ml Methanol zusammengegeben und mit 340 mg (3.66 mmol) Boran-Pyridin-Komplex und 65 µL Essigsäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingeengt und der Rückstand durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan/Methano/17%iger wässriger Ammoniak-Lösung (15/4/0.5) als Eluent gereinigt. Nach Einengen der entsprechenden Fraktionen und Lyophilisation aus Dioxan/Wasser 1:1 wurden 190 mg in 39%-iger Reinheit (35% d.Th.) des Intermediats erhalten, das ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt wurde.

50 mg (0.07 mmol) dieses Intermediats wurden in 10 ml DMF gelöst und mit 52 mg (0.07 mmol) N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-Indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-

yl]-N-methyl-L-valinamid (Intermediat 220), 32 mg (0.09 mmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-Hexafluorophosphat (HATU) sowie 37 µL (0.2 mmol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und danach eingeengt. Der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und zuerst mit 5%-iger wässriger Zitronensäure-Lösung und dann mit Wasser ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden vereinigt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 53 mg (76% d. Th.) des geschützten Intermediats erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.02 min; MS (ESIpos): m/z = 984 $(M+H)^+$.

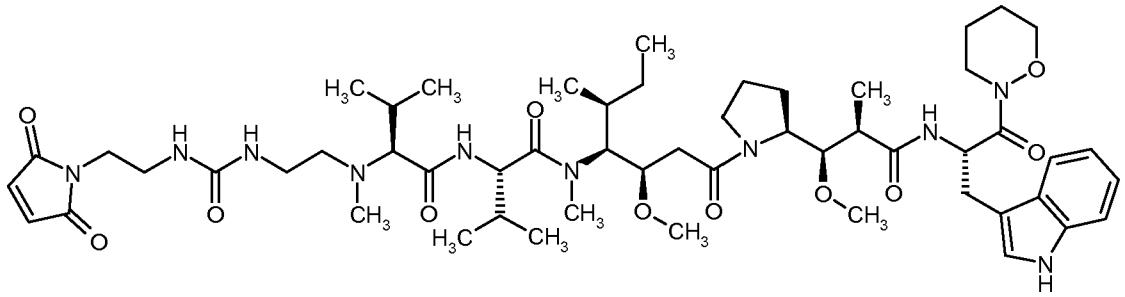
53 mg (0.05 mmol) dieses Intermediats wurden in 10 ml Dichlormethan aufgenommen, mit 2 ml Trifluoressigsäure versetzt und das Reaktionsgemisch 30 min bei RT gerührt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt und der verbliebene Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Die entsprechenden Farktionen wurden vereinigt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand aus Dioxan/Wasser lyophilisiert. Auf diese Weise wurden 21 mg (40% d.Th.) der Titelverbindung in 65%-iger Reinheit erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.87 min; MS (ESIpos): m/z = 884 $(M+H)^+$.

Intermediat 226

N-[2-({[2-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)ethyl]carbamoyl}amino)ethyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



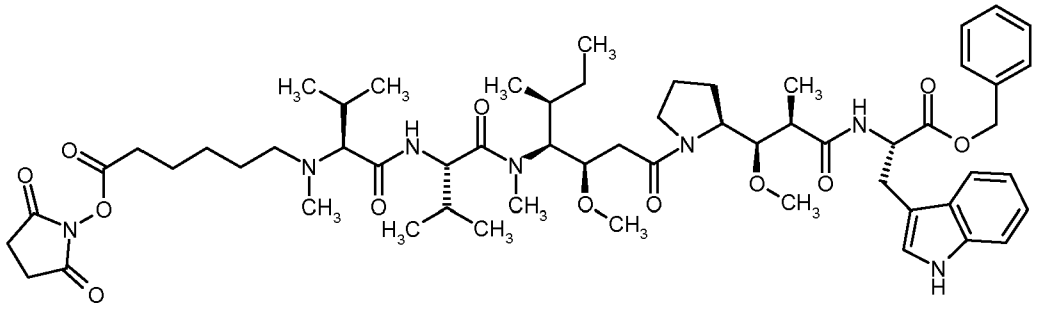
Die Herstellung erfolgte ausgehend von Intermediat 225 in Analogie zur Synthese von Intermediat 134. Es wurden 11.6 mg (59% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.90 min; MS (ESIpos): m/z = 1050 $(M+H)^+$.

Intermediat 227

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-1-(benzyloxy)-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde analog zu Intermediat 218 durch Überführung in den Aktivester hergestellt.

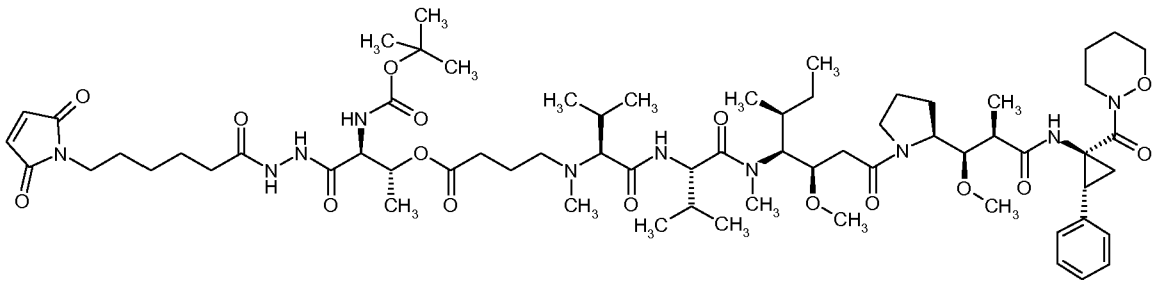
Ausbeute: 18 mg (51% d. Th.)

HPLC (Methode 5): R_t = 2.1 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.98 min; MS (ESIpos): m/z = 1073 $(M+H)^+$.

Intermediat 228

(2R,3S)-3-[(*tert.*-Butoxycarbonyl)amino]-4-{2-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutan-2-yl-(3R,4S,7S,10S)-4-[(2S)-butan-2-yl]-7,10-diisopropyl-3-(2-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1S,2R)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-2-oxoethyl)-5,11-dimethyl-6,9-dioxo-2-oxa-5,8,11-triazapentadecan-15-oat



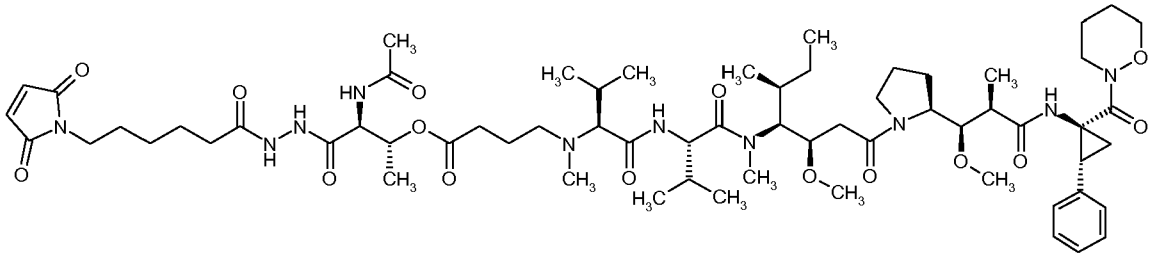
Die Titelverbindung wurde als Zwischenstufe bei der Synthese von Intermediat 154 erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.1 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.97 min; MS (ESIpos): m/z = 1308 $(M+H)^+$.

Intermediat 229

(2R,3S)-3-Acetamido-4-{2-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutan-2-yl-(3R,4S,7S,10S)-4-[(2S)-butan-2-yl]-7,10-diisopropyl-3-(2-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1S,2R)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-2-oxoethyl)-5,11-dimethyl-6,9-dioxo-2-oxa-5,8,11-triazapentadecan-15-oat



Die Titelverbindung wurde aus 7.5 mg (2.5 µmol) von Intermediat 154 durch Acetylierung mit 2.3 µl Acetanhydrid in 1 ml DMF in Gegenwart von 0.4 µl *N,N*-Diisopropylethylamin hergestellt.

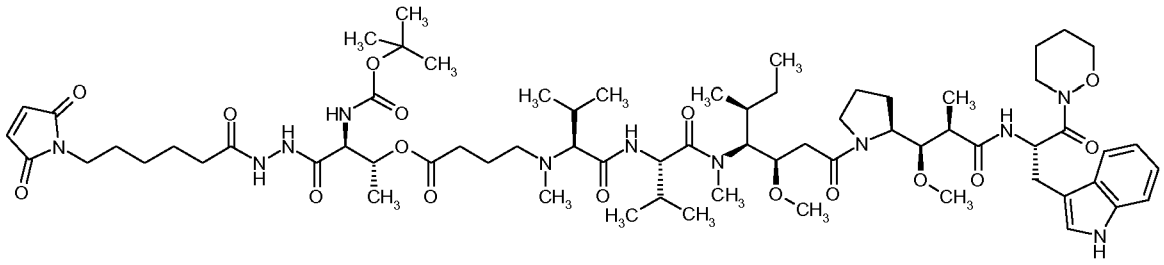
Ausbeute: 1.4 mg (40% d. Th.)

HPLC (Methode 12): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.86 min; MS (ESIpos): m/z = 1250 $(M+H)^+$.

Intermediat 230

(2R,3S)-3-[(*tert.*-Butoxycarbonyl)amino]-4-{2-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutan-2-yl-(3R,4S,7S,10S)-4-[(2S)-butan-2-yl]-3-(2-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-2-oxoethyl)-7,10-diisopropyl-5,11-dimethyl-6,9-dioxo-2-oxa-5,8,11-triazapentadecan-15-oat



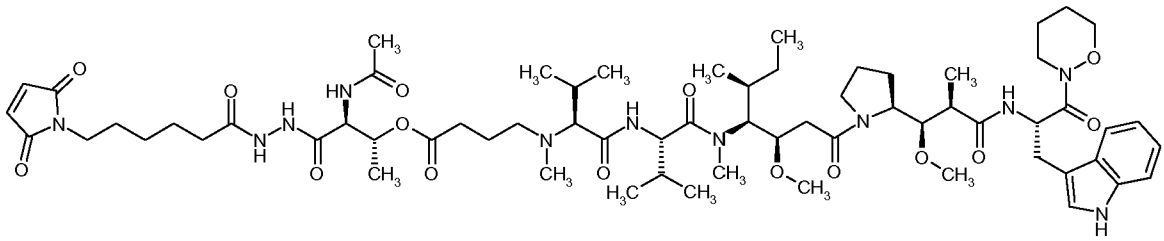
Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 229 ausgehend von Intermediat 193 hergestellt. Es wurden 16 mg (30% d. Th. über 3 Stufen) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.0 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.02 min; MS (ESIpos): m/z = 1335 $(M+H)^+$.

Intermediat 231

(2R,3S)-3-Acetamido-4-{2-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexanoyl]hydrazino}-4-oxobutan-2-yl-(3R,4S,7S,10S)-4-[(2S)-butan-2-yl]-3-(2-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-2-oxoethyl)-7,10-diisopropyl-5,11-dimethyl-6,9-dioxo-2-oxa-5,8,11-triazapentadecan-15-oat



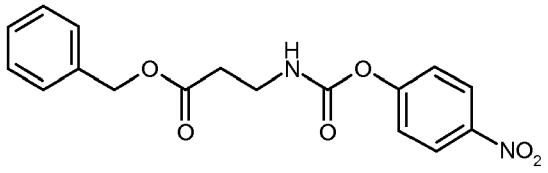
Diese Verbindung wurde aus 8 mg (6 µmol) von Intermediat 230 zunächst durch Entschützung mit Trifluoressigsäure und nachfolgende Acetylierung mit Acetanhydrid in DMF in Gegenwart von *N,N*-Diisopropylethylamin hergestellt. Es wurden 2 mg (37% d. Th. über 2 Stufen) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.88 min; MS (ESIpos): m/z = 1277 $(M+H)^+$.

Intermediat 232

Benzyl-N-[(4-nitrophenoxy)carbonyl]-beta-alaninat



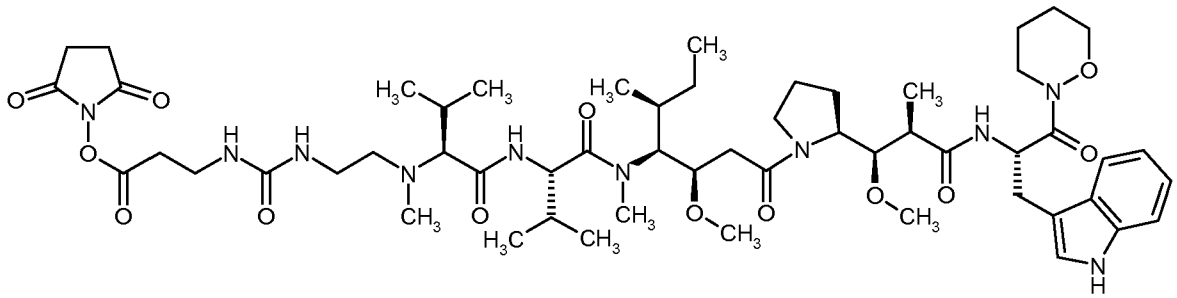
200 mg (0.57 mmol) von kommerziell erhältlichem 4-Methylbenzolsulfonsäure-benzyl-beta-alaninat sowie 229 mg (1.14 mmol) 4-Nitrophenylchlorocarbonat wurden in 15 ml Tetrahydrofuran aufgenommen und das Reaktionsgemisch dann 30min zum Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Einengen der entsprechenden Fraktionen und Trocknen des Rückstandes im Hochvakuum wurden 86 mg (44% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.07 min; MS (ESIpos): m/z = 345 $(M+H)^+$.

Intermediat 233

N-{2-[({3-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-3-oxopropyl}carbamoyl)amino]ethyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



13 mg (10 µmol) von Intermediat 225 und 6.7 mg (20 µmol) von Intermediat 232 wurden in 3 ml DMF gelöst und anschließend mit 7 µL N,N-Diisopropylethylamin versetzt. Die Mischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Hochvakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Nach Einengen der entsprechenden Fraktionen und Trocknen des Rückstandes im Hochvakuum wurden 5.4 mg (38% d.Th.) des geschützten Intermediats erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 2.1 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0. 6in; MS (ESIpos): m/z = 1089 $(M+H)^+$.

5.4 mg (5 µmol) dieses Intermediats wurden in 5 ml Methanol gelöst und nach Zugabe von 2 mg 10%-igem Palladium auf Aktivkohle 20 min lang bei RT unter Wasserstoff-Normaldruck hydriert. Der Katalysator wurde danach abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Trocknen des Rückstands im Hochvakuum wurden 5 mg (quant.) des Säure-Intermediats erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.84 min; MS (ESIpos): m/z = 999 $(M+H)^+$.

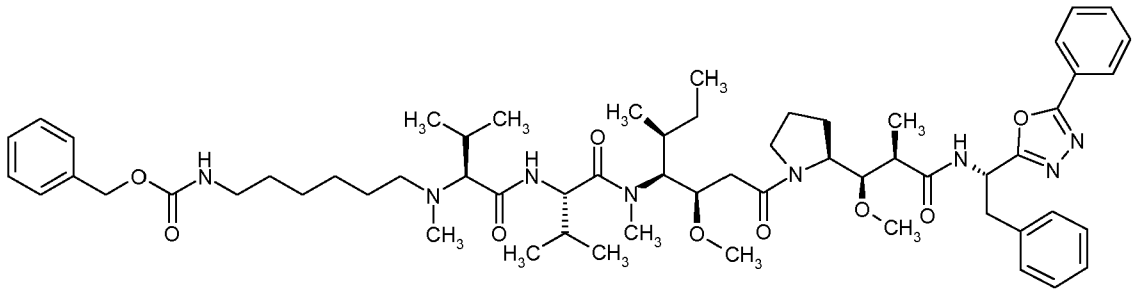
5 mg (10 µmol) dieses Intermediats wurden in 1 ml DMF gelöst und mit 5.8 mg (50 mmol) 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion und anschließend mit 2.6 µl *N,N*-Diisopropylethylamin und 3.8 mg (10 µmol) HATU versetzt. Nach 20 h Rühren bei RT wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation aus Dioxan/Wasser 1:1 wurden 1.1 mg (20% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.87 min; MS (ESIpos): m/z = 1096 $(M+H)^+$.

Intermediat 234

N-(6-{[(Benzyloxy)carbonyl]amino}hexyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1S)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



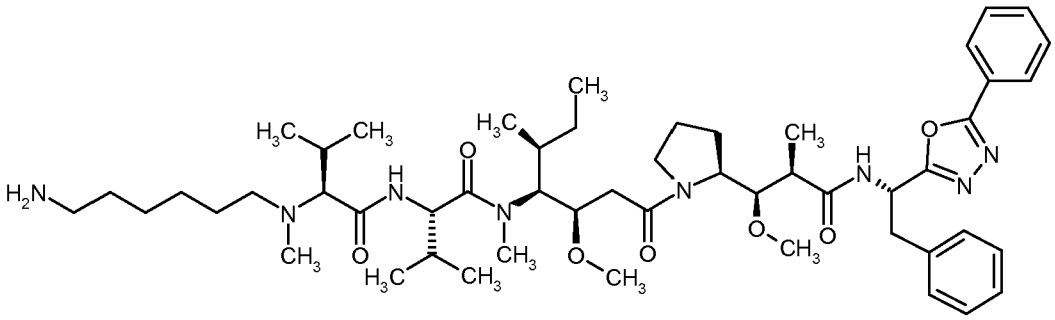
25 mg (30 µmol) N-Methyl-*L*-valyl-N-[(*3R,4S,5S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1*S*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-*L*-valinamid (Intermediat 55) und 45 mg (180 µmol) Benzyl-(6-oxohexyl)carbamat wurden in 3 ml Methanol aufgenommen und mit Essigsäure sauer gestellt. Bei Raumtemperatur wurden anschliessend 15 µl (144 µmol; 9.4M) Boran-Pyridin-Komplex zugegeben. Der Ansatz wurde anschliessend für 24 h bei RT gerührt, wobei nach 8 h erneut Essigsäure sowie 15 µl (144 µmol; 9.4M) Boran-Pyridin-Komplex zugegeben wurden. Das

Reaktionsgemisch wurde anschliessend mit TFA auf pH 2 eingestellt und mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die Produktfraktionen wurden vereinigt, eingeengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es wurden so 15 mg (46% d. Th.) der Titelverbindung als Schaum erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.03 min; m/z = 1066 $(M+H)^+$.

Intermediat 235

N-(6-Aminohexyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1S)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid

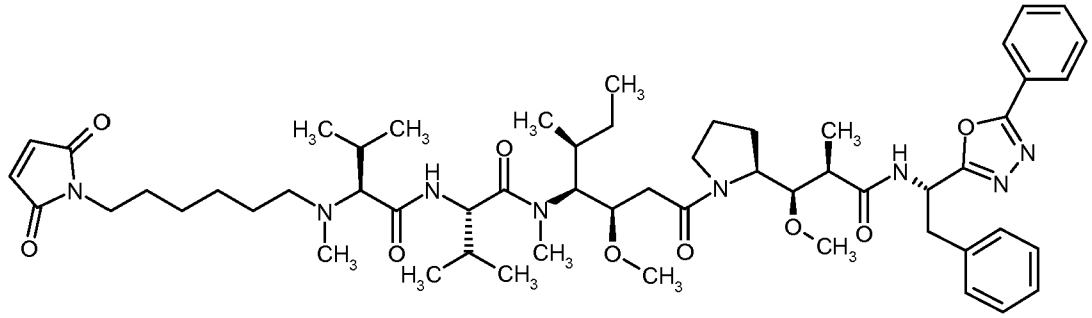


15 mg (14 µmol) N-(6-{[(Benzyloxy)carbonyl]amino}hexyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1S)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid (Intermediat 234) wurden in 3 ml Methanol aufgenommen und 1.8 mg Palladium auf Kohle (5%) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde anschliessend 2 h bei RT unter Wasserstoff-Normaldruck hydriert. Der Katalysator wurde danach abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde aus Acetonitril/Wasser 1:1 lyophilisiert. Es wurden 11 mg (86% d. Th.) der Titelverbindung als Schaum erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.81 min; m/z = 932 $(M+H)^+$.

Intermediat 236

N-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1S)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid

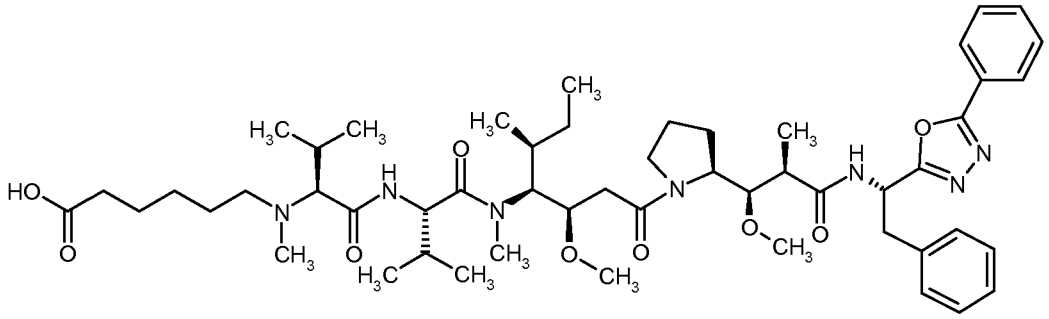


11 mg (12 µmol) N-(6-Aminohexyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1S)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid (Intermediat 235) wurden in 500 µl Dioxan/Wasser 1:1 aufgenommen und mit 253 µl 1M wässriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung und anschließend mit 2.8 mg (18 µmol) Methyl-2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-carboxylat versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min bei RT gerührt und danach mit Trifluoressigsäure sauer gestellt. Das Reaktionsgemisch wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 0.8 mg (7% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.01 min; m/z = 1012 $(M+H)^+$.

Intermediat 237

N-(5-Carboxypentyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1S)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



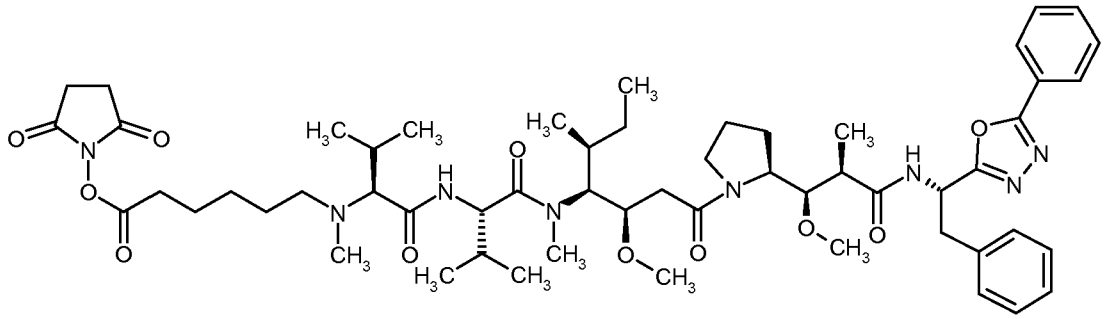
25 mg (30 µmol) N-Methyl-*L*-valyl-N-[(*3R,4S,5S*)-3-methoxy-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1*S*)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-*L*-valinamid (Intermediat 55)) und 23 mg (180 µmol) 6-Oxohexansäure wurden in 3 ml Methanol aufgenommen und mit Essigsäure sauer gestellt. Bei Raumtemperatur wurden anschliessend 15 µl (144 µmol; 9.4M) Boran-Pyridin-Komplex zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde anschliessend für 20 h bei RT gerührt, wobei nach 8 h erneut

Essigsäure sowie 15 µl (144 µmol; 9.4M) Boran-Pyridin-Komplex zugegeben wurden. Das Reaktionsgemisch wurde anschliessend mit Trifluoressigsäure auf pH 2 eingestellt und mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die Produktfraktionen wurden vereinigt, eingeengt und der Rückstand lyophilisiert. Es wurden so 21 mg (74% d. Th.) der Titelverbindung als Schaum erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.91 min; m/z = 947 $(M+H)^+$.

Intermediat 238

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1S)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid

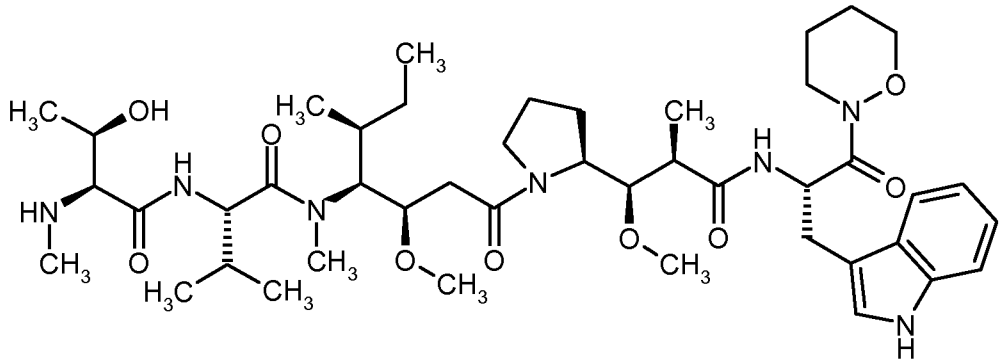


21 mg (22 µmol) von Intermediat 237 wurden in 1 ml DMF gelöst und mit 38 mg (333 µmol) 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion und anschließend mit 2.4 mg (10 µmol) O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) und 19 µl N,N-Diisopropylethylamin versetzt. Nach 2 h Rühren bei RT wurde das Reaktionsgemisch mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 22 mg (96% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.95 min; m/z = 1044 $(M+H)^+$.

Intermediat 239

N-Methyl-L-threonyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl] pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



Zunächst wurde *N*-[(Benzyloxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-threonin aus 237 mg (0.887 mmol) seines Dicyclohexylamin-Salzes durch Aufnehmen in Ethylacetat und Ausschütteln mit 5%-iger wässriger Schwefelsäure freigesetzt. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und eingeengt. 14.7 mg (0.055 mmol) von *N*-[(Benzyloxy)carbonyl]-*N*-methyl-L-threonin wurden in 3 ml DMF aufgenommen und nacheinander mit 40 mg (0.055 mmol) von Intermediat 220, 12.7 mg (0.066 mmol) 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid und 10 mg (0.066 mmol) 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol-Hydrat versetzt. Die Mischung wurde anschließend 2 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde danach im Vakuum entfernt und der Rückstand durch präparative HPLC gereinigt. Es wurden so 29 mg (54% d. Th.) des Z-geschützten Intermediats erhalten.

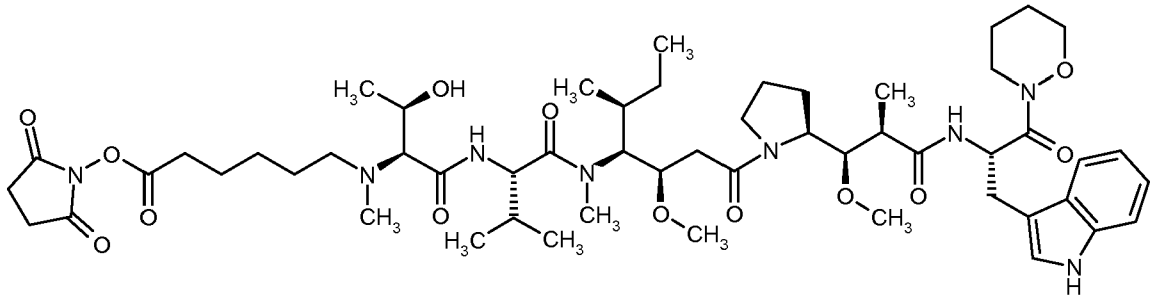
LC-MS (Methode 1): R_t = 1.15 min; MS (ESIpos): m/z = 976 $(M+H)^+$.

29 mg (0.003 mmol) dieses Intermediats wurden in 5 ml Methanol gelöst und bei RT und Normaldruck 1 h lang über 5 mg 5% Palladium/Kohle hydriert. Der Katalysator wurde anschließend abfiltriert und das Lösungsmittel abgedampft. Der verbliebene Rückstand wurde durch präparative HPLC gereinigt. Es wurden 17 mg (54% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.77 min; MS (ESIpos): m/z = 842 $(M+H)^+$.

Intermediat 240

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-N-methyl-L-threonyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



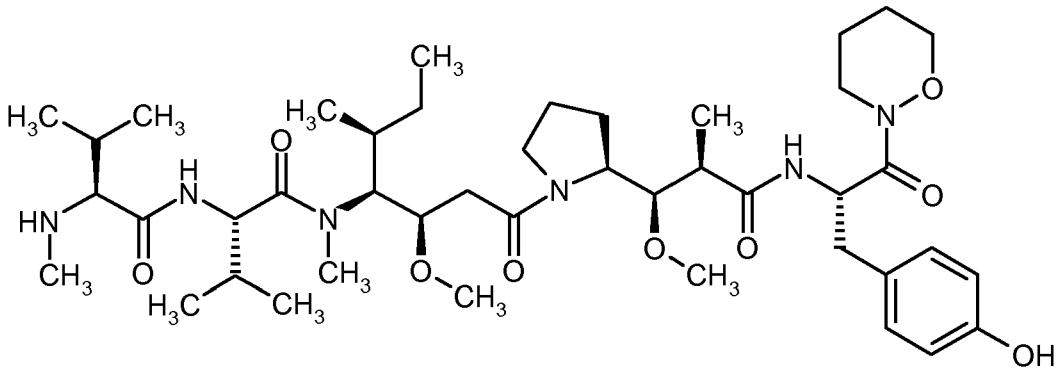
Diese Verbindung wurde in Analogie zu Intermediat 210 aus 15.6 mg (0.016 mmol) Intermediat 239 hergestellt. Es wurden 10.8 mg (67% d. Th. über 2 Stufen) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0. 85 min; MS (ESIpos): m/z = 1053 $(M+H)^+$.

Intermediat 241

N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(4-hydroxyphenyl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



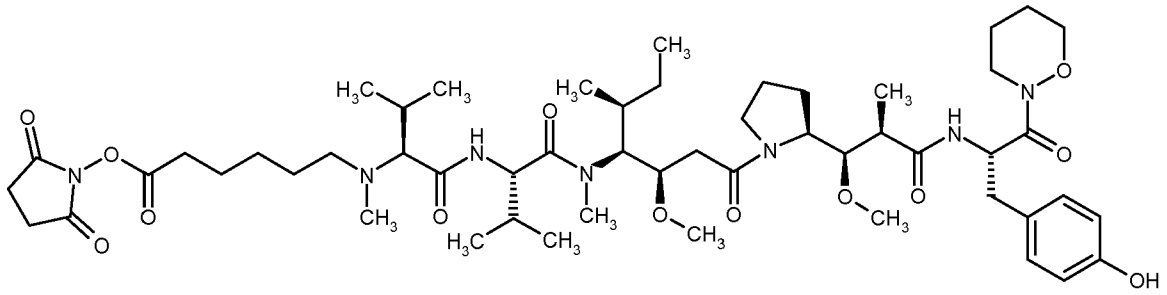
Zunächste wurde in Analogie zu Intermediat 5 Trifluoressigsäure--(2S)-2-amino-3-(4-hydroxyphenyl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)propan-1-on(1:1) hergestellt. Aus diesem Baustein wurde dann in Analogie zu der in Intermediat 75 beschriebenen Synthese durch Kupplung mit *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) in Gegenwart von O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure die Titelverbindung hergestellt.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0. 75 min; MS (ESIpos): m/z = 817 $(M+H)^+$.

Intermediat 242

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(4-hydroxyphenyl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



50 mg (0.05 mmol) von Intermediat 241 wurden in Analogie zu Intermediat 210 mit 6-Oxohexansäure in Gegenwart von Boran-Pyridin-Komplex umgesetzt. Anschließend wurden 22.5 mg (0.02 mmol) der erhaltenen Säure in den aktivierten Ester überführt. Es wurden 13.5 mg (36% d. Th. über 2 Stufen) der Titelverbindung erhalten.

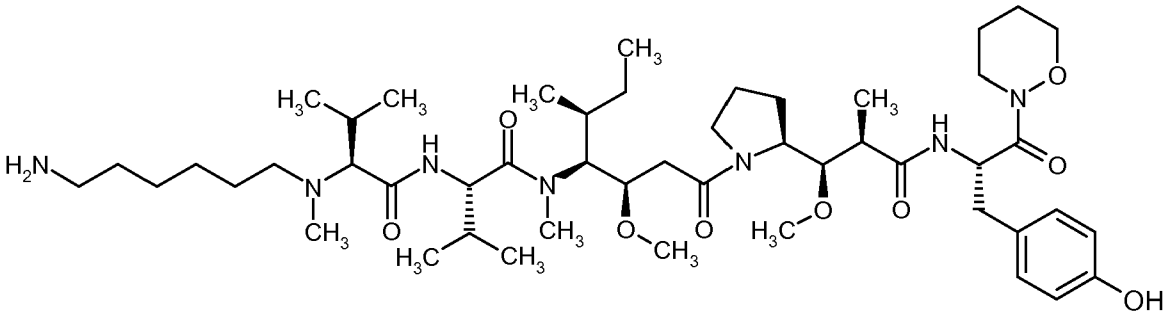
HPLC (Methode 12): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0. 86 min; MS (ESIpos): m/z = 1028 $(M+H)^+$.

Alternativ kann die Titelverbindung auch durch einstündige katalytische Hydrierung von Intermediat 250 bei Raumtemperatur in Methanol über 10%-igem Palladium auf Aktivkohle unter Wasserstoff-Normaldruck erhalten werden.

Intermediat 243

N-(6-Aminohexyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(4-hydroxyphenyl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Die Herstellung erfolgte in Analogie zu Intermediat 78 durch reduktive Alkylierung von Intermediat 241 mit Benzyl-(6-oxohexyl)carbamat und Boran-Pyridin-Komplex und anschließender Hydrierung in Methanol als Lösungsmittel.

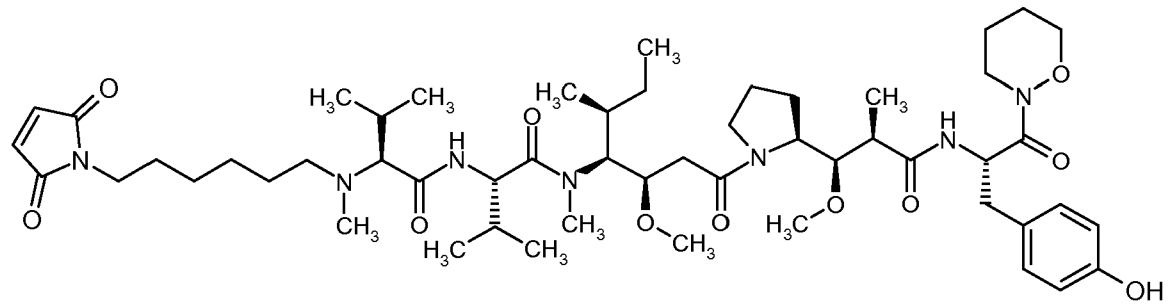
Ausbeute: 17.5 mg (34% d.Th. über 2 Stufen)

HPLC (Methode 12): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.63 min; MS (ESIpos): m/z = 916 $(M+H)^+$.

Intermediat 244

N-[6-(2,5-Dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)hexyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(4-hydroxyphenyl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Die Herstellung erfolgte in Analogie zu Intermediat 166 ausgehend von Intermediat 243.

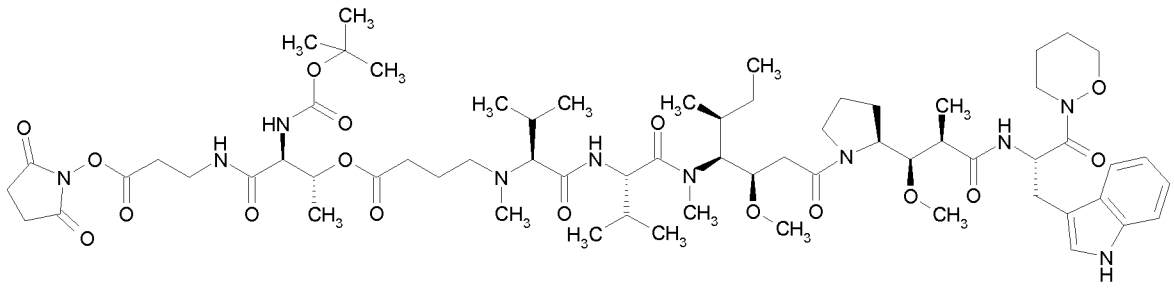
Ausbeute: 1.3 mg (12% d.Th.)

HPLC (Methode 12): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.89 min; MS (ESIpos): m/z = 996 $(M+H)^+$.

Intermediat 245

2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl-O-[(3R,4S,7S,10S)-4-[(2S)-butan-2-yl]-3-(2-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-2-oxoethyl)-7,10-diisopropyl-5,11-dimethyl-6,9,15-trioxo-2-oxa-5,8,11-triazapentadecan-15-yl]-N-(tert-butoxycarbonyl)-L-threonyl-beta-alaninat



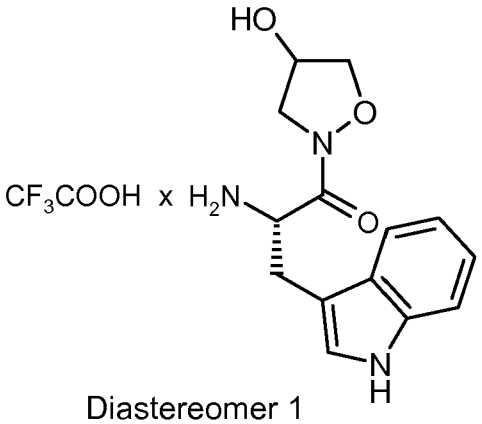
Zunächst wurde Intermediat 193 wie unter Intermediat 154 beschrieben mit Benzyl-N-(tert.-butoxycarbonyl)-L-threoninat umgesetzt und anschließend der Benzylester hydrogenolytisch entfernt. 30 mg (0.027 mmol) von dem so erhaltenen N-[4-({(1S,2R)-1-[(tert-Butoxycarbonyl)amino]-1-carboxypropan-2-yl}oxy)-4-oxobutyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid wurden dann mit 4-Methylbenzolsulfonsäure-benzyl-beta-alaninat(1:1) in Gegenwart von HATU gekuppelt und der Benzylester erneut durch Hydrogenolyse entfernt (Ausbeute: 24 mg (71% d. Th. über 2 Stufen). Schließlich wurden 10 mg (0.008 mmol) der erhaltenen Säure in den aktivierten Ester überführt. Nach HPLC Reinigung wurden 2.7 mg (23% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.9 min;

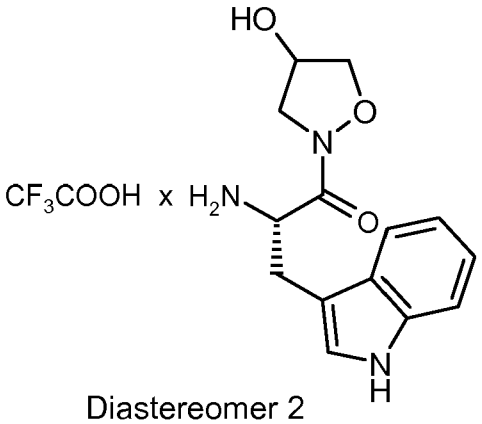
LC-MS (Methode 1): R_t = 1.01 min; MS (ESIpos): m/z = 1295 $(M+H)^+$

Intermediat 246a

Trifluoressigsäure--(2S)-2-amino-1-(4-hydroxy-1,2-oxazolidin-2-yl)-3-(1H-indol-3-yl)propan-1-on(1:1) Diastereomer 1



Diastereomer 1



Diastereomer 2

1.6 g (3.982 mmol) 2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl-N-(tert.-butoxycarbonyl)-L-tryptophanat wurden in 15 ml DMF gelöst und mit 500 mg (3.982 mmol) 1,2-Oxazolidin-4-ol und 100 µl *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt. Dann wurden nochmals 100 µl *N,N*-Diisopropylethylamin hinzugegeben, der Ansatz zunächst 5 h im Ultraschallbad behandelt, dann über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen und zuerst zweimal mit 5%-iger Zitronensäure-Lösung, dann mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und schließlich mit Wasser ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde eingeengt und der Rückstand durch Flash-Chromatographie an Kieselgel mit Dichlormethan/Methanol 95:5 als Eluent in die Diastereomere aufgetrennt. Die entsprechenden Fraktionen von beiden Diastereomeren wurden vereinigt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Trocknen der Rückstände im Hochvakuum wurden 272 mg (18% d.Th.) von Diastereomer 1 (R_f = 0.18 (Dichlormethan/Methanol 95:5) und 236 mg (16% d.Th.) von Diastereomer 2 (R_f = 0.13 (Dichlormethan/Methanol 95:5) sowie 333 mg (22% d.Th.) einer Mischfraktion der Boc-geschützten Intermediate erhalten.

Aus 272 mg (725 µmol) von Diastereomer 1 dieses Intermediats wurde nach Standardbedingungen mit 5 ml Trifluoressigsäure in 20 ml Dichlormethan die Boc-Schutzgruppe abgespalten und nach

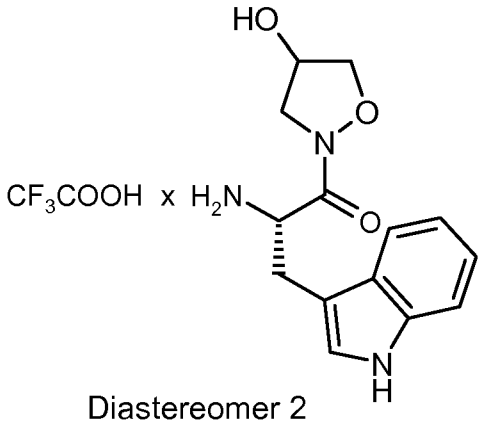
Lyophilisation aus Dioxan/Wasser 290 mg (quant) der Titelverbindung in 75%iger Reinheit erhalten und ohne weitere Aufreinigung in die nächste Stufe eingesetzt..

HPLC (Methode 12): R_t = 1.1 min;

LC-MS (Methode 13): R_t = 1.80 min; MS (ESIpos): m/z = 276 $(M+H)^+$

Intermediat 246b

Trifluoressigsäure--(2S)-2-amino-1-(4-hydroxy-1,2-oxazolidin-2-yl)-3-(1H-indol-3-yl)propan-1-on(1:1) Diastereomer 2



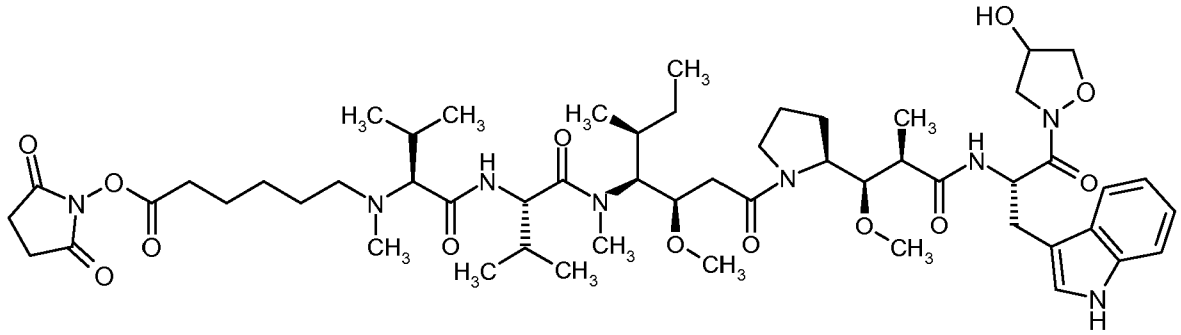
Diastereomer 2

Aus 236 mg (630 µmol) von Diastereomer 2 des unter 246a beschriebenen Intermediats wurden nach Standardbedingungen mit 5 ml Trifluoressigsäure in 20 ml Dichlormethan die Boc-Schutzgruppe abgespalten und nach Einengen, Verrühren mit Diethylether und Trocknen des Rückstandes im Hochvakuum 214 mg (76%) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 13): R_t = 1.84 min; MS (ESIpos): m/z = 276 $(M+H)^+$

Intermediat 247a

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-1-(4-hydroxy-1,2-oxazolidin-2-yl)-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Diastereomer 1

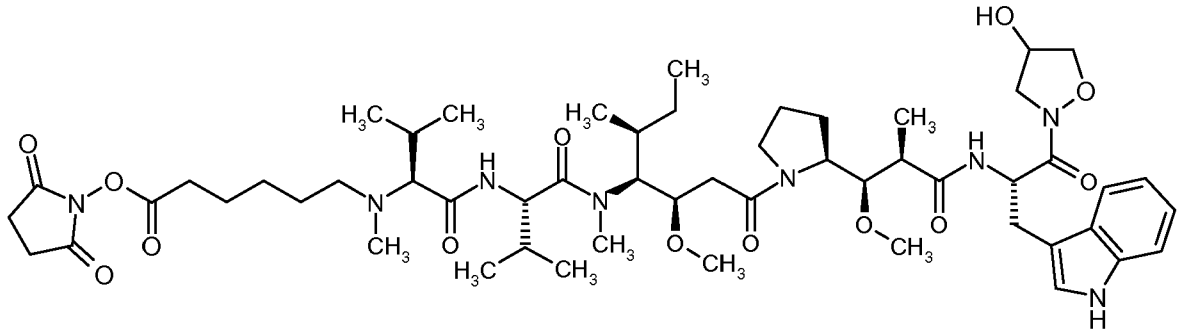
Zur Synthese dieser Verbindung wurde zunächst wie für Intermediat 74 beschrieben die Kupplung der Intermediate 26 und 246a mit anschließender Abspaltung der Boc-Schutzgruppe durchgeführt. Anschließend wurde wie in Intermediat 210 beschrieben die Alkylierung mit 6-Oxohexansäure in Gegenwart von Boran-Pyridin-Komplex und anschließende Überführung der Säure in den Aktivester durchgeführt. Die Titelverbindung wurde durch präparative HPLC gereinigt.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.86 min; MS (ESIpos): m/z = 1053 $(M+H)^+$

Intermediat 247b

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-1-(4-hydroxy-1,2-oxazolidin-2-yl)-3-(1H-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Diastereomer 2

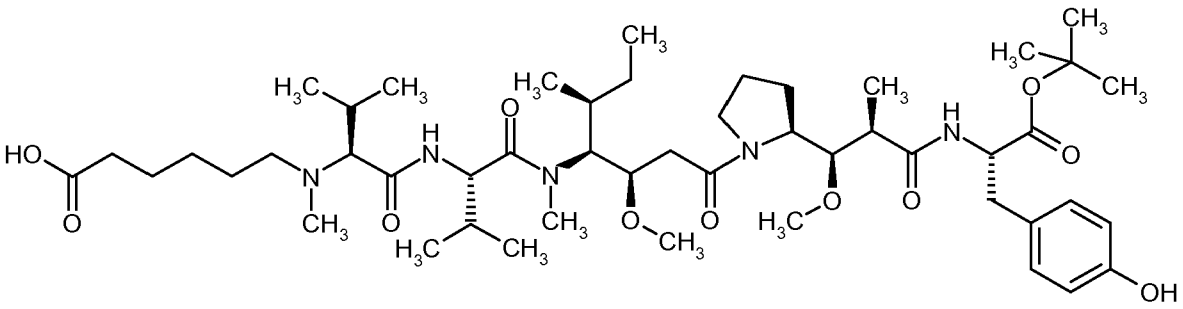
Zur Synthese dieser Verbindung wurde zunächst wie für Intermediat 74 beschrieben die Kupplung der Intermediate 26 und 246b mit anschließender Abspaltung der Boc-Schutzgruppe durchgeführt. Anschließend wurde wie in Intermediat 210 beschrieben die Alkylierung mit 6-Oxohexansäure in Gegenwart von Boran-Pyridin-Komplex und anschließende Überführung der Säure in den Aktivester durchgeführt. Die Titelverbindung wurde durch präparative HPLC gereinigt.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.86 min; MS (ESIpos): m/z = 1053 $(M+H)^+$

Intermediat 248

N-(5-Carboxypentyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-1-tert-butoxy-3-(4-hydroxyphenyl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



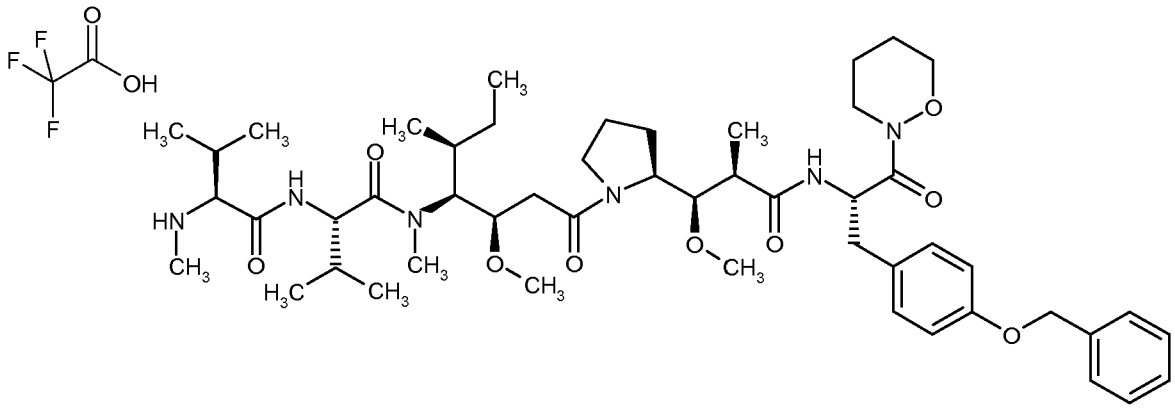
Zunächst wurde in Analogie zu der in Intermediat 86 beschriebenen Synthese durch Kupplung von *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) und tert.-Butyl-L-tyrosinat in Gegenwart von *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure unter Erhalt des tert.-Butylesters (40 min Rühren mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan) die Amin-Verbindung tert-Butyl-N-[(2R,3R)-3-methoxy-3-{(2S)-1-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-5-methyl-4-(methyl{(2S)-3-methyl-2-[(N-methyl-L-valyl)amino]butyl}amino)heptanoyl]pyrrolidin-2-yl}-2-methylpropanoyl]-L-tyrosinat als Trifluoracetat hergestellt. Aus 38 mg (0.04 mmol) dieser Verbindung wurden dann in Analogie zur Herstellung von Intermediat 210 durch Umsetzung mit 4-Oxohexansäure in Gegenwart von Boran-Pyridin-Komplex 31 mg (99% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.88 min; MS (ESIpos): m/z = 918 $(M+H)^+$.

Intermediat 249

Trifluoressigsäure--N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-[4-(benzyloxy)phenyl]-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid(1:1)



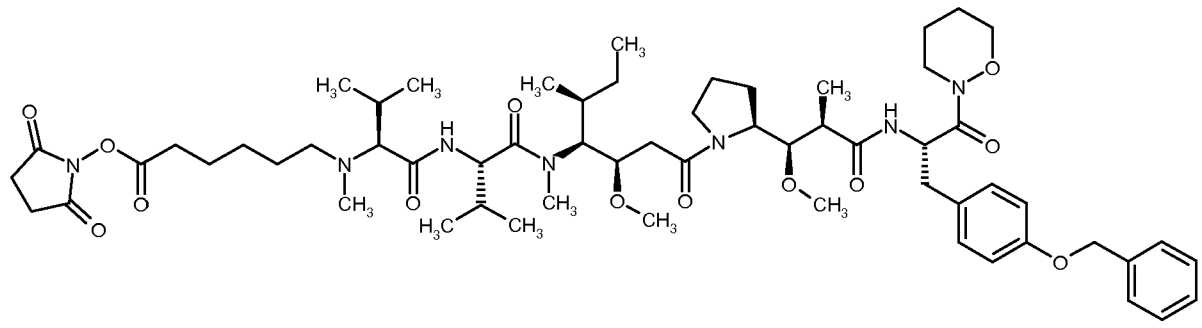
Zunächste wurde in Analogie zu Intermediaten 5 und 6 ausgehend von O-Benzyl-N-(tert-butoxycarbonyl)-L-tyrosin Trifluoressigsäure--(2S)-2-amino-3-[4-(benzyloxy)phenyl]-1-(1,2-oxazinan-2-yl)propan-1-on(1:1) hergestellt. Aus diesem Baustein wurde dann in Analogie zu der in Intermediat 75 beschriebenen Synthese durch Kupplung mit *N*-(*tert.*-Butoxycarbonyl)-*N*-methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxy-1-methoxypropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid (Intermediat 26) in Gegenwart von O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat und anschließende Abspaltung der Boc-Schutzgruppe mittels Trifluoressigsäure die Titelverbindung hergestellt.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.15 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0. 99 min; MS (ESIpos): m/z = 908 $(M+H)^+$.

Intermediat 250

N-{6-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-[4-(benzyloxy)phenyl]-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



100 mg (0.088 mmol) von Intermediat 249 wurden in Analogie zu Intermediat 210 mit 6-Oxohexansäure in Gegenwart von Boran-Pyridin-Komplex umgesetzt. Anschließend wurden 30 mg

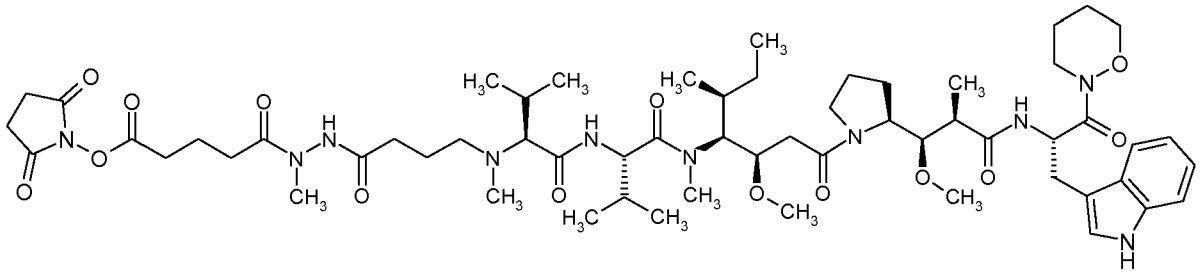
(0.029 mmol) der erhaltenen Säure in den aktivierten Ester überführt. Es wurden 15 mg (40% d. Th. über 2 Stufen) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 2.26 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.05 min; MS (ESIpos): m/z = 1119 $(M+H)^+$.

Intermediat 251

N-[4-(2-{5-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-5-oxopentanoyl}-2-methylhydrazino)-4-oxobutyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Zunächst wurden 30 mg (0.032 mmol) von Intermediat 193 in den aktivierten N-Hydroxysuccinimidester überführt. 10.3 mg (0.009mmol) von diesem Aktivester wurden in 2 ml DMF gelöst und mit 2.7 mg (0.018 mmol) tert-Butyl-1-methylhydrazincarboxylat und 8 µL *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt und 16 h bei RT gerührt. Dieser Prozess wurde wiederholt, der Ansatz dann eingeengt und der verbliebene Rückstand durch präparative HPLC gereinigt. Nach Einengen der entsprechenden Fraktionen und Trocknen im Hochvakuum wurden 5.4 mg (43%) des Intermediats erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0. 99 min; MS (ESIpos): m/z = 1054 $(M+H)^+$.

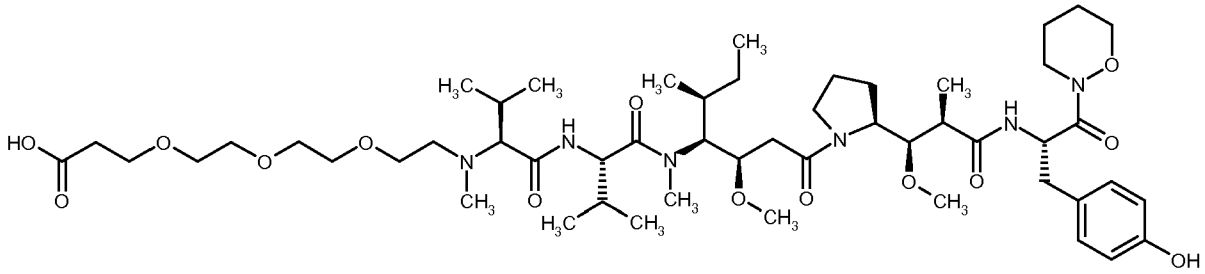
Aus 3.5 mg (0.002 mmol) von diesem Intermediat wurde mit Trifluoressigsäure in Dichlormethan die Boc-Schutzgruppe entfernt. Nach Einengen und Trocknen im Hochvakuum wurde der Rückstand in 4 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 1,1'-[(1,5-Dioxopentan-1,5-diyl)bis(oxy)]dipyrrolidin-2,5-dion und 2 µl *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Nach 1 h Rühren bei RT wurde der Ansatz eingeengt und der verbliebene Rückstand durch präparative HPLC gereinigt. Nach Einengen der entsprechenden Fraktionen und Trocknen im Hochvakuum wurden 1.4 mg (44%) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.6 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.88 min; MS (ESIpos): m/z = 1166 $(M+H)^+$.

Intermediat 252

N-(2-{2-[2-(2-Carboxyethoxy)ethoxy]ethoxy}ethyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(4-hydroxyphenyl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



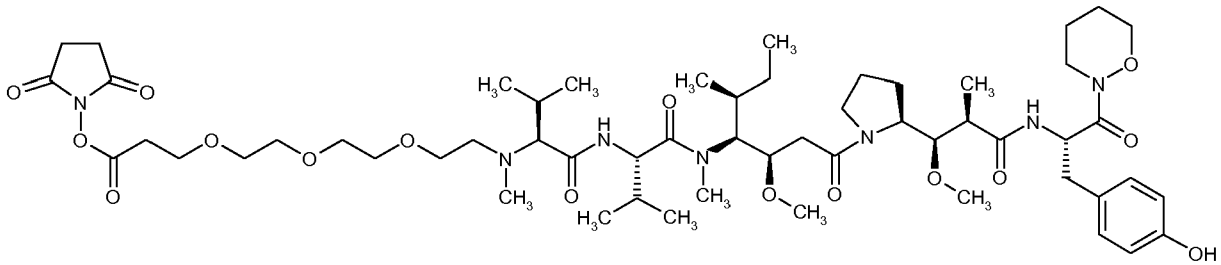
100 mg (0.088 mmol) von Intermediat 249 und 109 mg (0.350 mmol) von Intermediat 167 wurden in 10 ml Methanol zusammengegeben und mit 39 mg (0.42 mmol) Boran-Pyridin-Komplex und 15 µl Essigsäure versetzt. Der Ansatz wurde über Nacht bei RT gerührt. Dann wurden nochmals die gleichen Mengen Boran-Pyridin-Komplex und Essisäure zugegeben und der Ansatz weitere 24h bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Einengen der entsprechenden Fraktionen und Lyophilisation aus Dioxan/Wasser 1:1 wurden 98 mg (93%d.Th.) des Bis-Benzyl-Intermediats erhalten. Dieses wurde in 18.5 ml Methanol aufgenommen und 1h bei Raumtemperatur unter Wasserstoff-Normaldruck über 5%-igem Palladium auf Aktivkohle einer katalytischen Hydrierung unterzogen. Nach Filtration, Einengen und Lyophilisation des Rückstandes aus Dioxan wurden 73mg (87% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.85 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.84 min; MS (ESIpos): m/z = 1021 $(M+H)^+$.

Intermediat 253

N-{2-[2-(2-{3-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-3-oxopropoxy}ethoxy)ethoxy]ethyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(4-hydroxyphenyl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



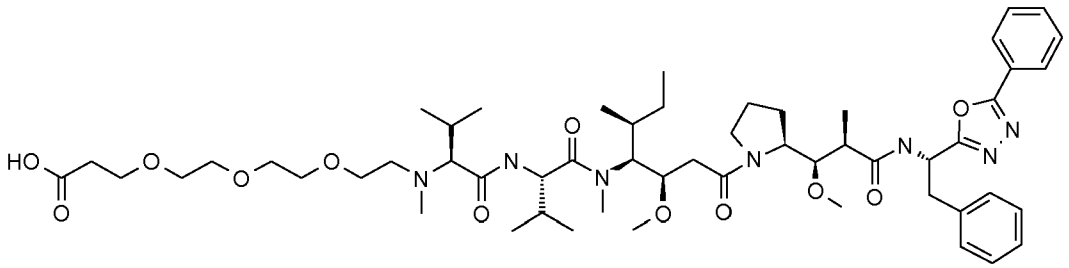
22 mg (22 µmol) von Intermediat 252 wurden in 8.5 ml DMF gelöst und mit 25 mg (215 µmol) 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion und anschließend mit 12.3 mg (32 µmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) und 37 µl N,N-Diisopropylethylamin versetzt. Nach 2 h Rühren bei RT wurde das Reaktionsgemisch mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 16 mg (62% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.57 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.8 min; MS (ESIpos): m/z = 1118 $(M+H)^+$.

Intermediat 254

N-(2-{2-[2-(2-carboxyethoxy)ethoxy]ethoxy}ethyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1S)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamide

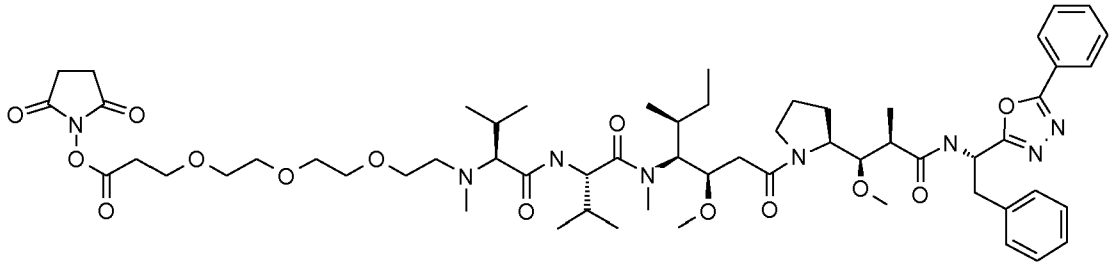


10 mg (0.012 mmol) von Intermediat 55 und 11 mg (0.036 mmol) von Intermediat 167 wurden in 1 ml Methanol zusammengegeben und mit 5.4 mg (0.058 mmol) Boran-Pyridin-Komplex und 1 µl Essigsäure versetzt. Der Ansatz wurde über Nacht bei RT gerührt. Dann wurden nochmals die gleichen Mengen Boran-Pyridin-Komplex und Essisäure zugegeben und der Ansatz weitere 20h bei RT gerührt. Anschließend wurde im Vakuum eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Einengen der entsprechenden Fraktionen und Lyophilisation aus Dioxan/Wasser 1:1 wurden 8 mg (58%d.Th.) des Bis-Benzyl-Intermediats erhalten. Dieses wurde in 2 ml Methanol aufgenommen und 1h bei Raumtemperatur unter Wasserstoff-Normaldruck über 5%-igem Palladium auf Aktivkohle einer katalytischen Hydrierung unterzogen. Nach Filtration, Einengen und Lyophilisation des Rückstandes aus Dioxan wurden 7 mg (95% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.99 min; MS (ESIpos): m/z = 1036 $(M+H)^+$.

Intermediat 255

N-{2-[2-(2-{3-[(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-3-oxopropoxy}ethoxy)ethoxy]ethyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1S)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamide

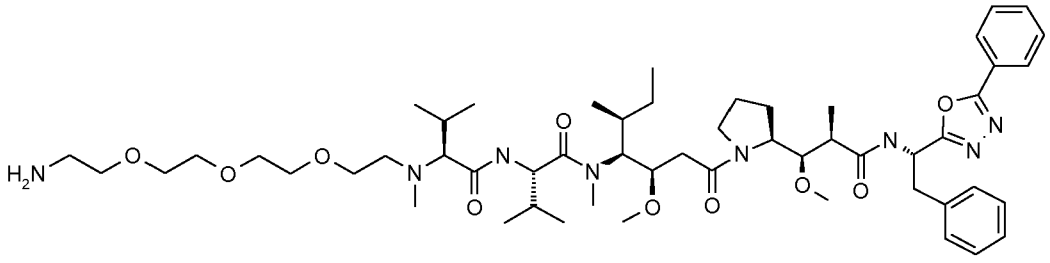


7.3 mg (7 µmol) von Intermediat 254 wurden in 0.3 ml DMF gelöst und mit 12 mg (106 µmol) 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion und anschließend mit 13.5 mg (35 µmol) *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) und 6 µl N,N-Diisopropylethylamin versetzt. Nach 2 h Rühren bei RT wurde das Reaktionsgemisch mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 7.7 mg (79% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.97 min; MS (ESIpos): m/z = 1134 $(M+H)^+$.

Intermediat 256

N-(2-{2-[2-(2-aminoethoxy)ethoxy]ethoxy}ethyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1S)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamide



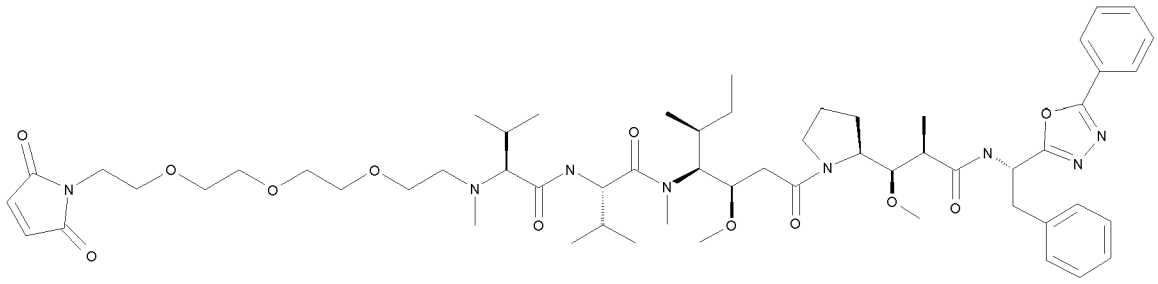
20 mg (0.02 mmol) von Intermediat 55 wurden in Analogie zur Herstellung von Intermediat 254 mit Benzyl-(2-{2-[2-(2-oxoethoxy)ethoxy]ethoxy}ethyl)carbamat (Intermediat 172) in Gegenwart von Boran-Pyridin Komplex reduktiv aminiert. Anschließend wurde die Z-Schutzgruppe

hydrogenolytisch mit 5% Palladium auf Kohle als Katalysator und in Methanol als Lösungsmittel entfernt und 21 mg (85% d.Th. über 2 Stufen) der Titelverbindung hergestellt.

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.85 min; MS (ESIpos): m/z = 1008 $(M+H)^+$.

Intermediat 257

N-[2-(2-{2-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl)ethoxy]ethoxy}ethoxy)ethyl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-oxo-3-{[(1S)-2-phenyl-1-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)ethyl]amino}propyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamide

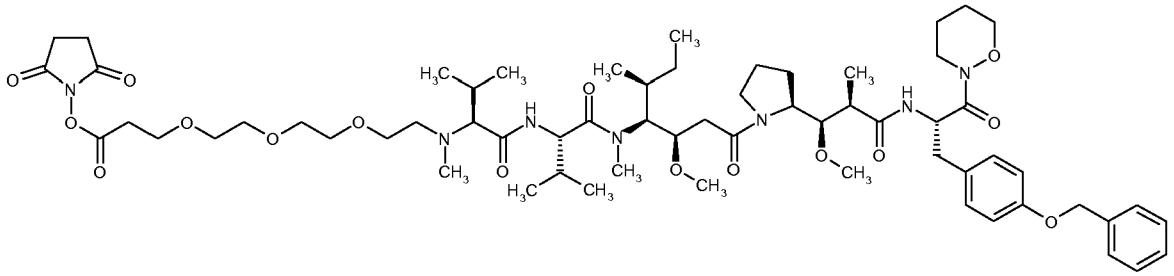


21 mg (20.8 µmol) von Intermediat 256 wurden in 1 ml Dioxan/Wasser 1:1 aufgenommen und anschließend mit 4.9 mg (31.2 µmol) Methyl-2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-carboxylat sowie mit 42µl einer 1M wässrigen Natriumhydrogencarbonat-Lösung versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 30 min bei RT gerührt. Dann wurden nochmals 374 µl der 1M wässrigen Natrium-hydrogencarbonatlösung zugegeben und das Reaktionsgemisch weitere 30 min bei RT gerührt und anschließend im Vakuum eingeengt. Der verbliebene Rückstand wurde mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation wurden 4.5 mg (20% d.Th.) der Titelverbindung als farbloser Schaum erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.04 min; MS (ESIpos): m/z = 1088 $(M+H)^+$.

Intermediat 258

N-{2-[2-(2-{3-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-3-oxopropoxy}ethoxy)ethoxy]ethyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-[4-(benzyloxy)phenyl]-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



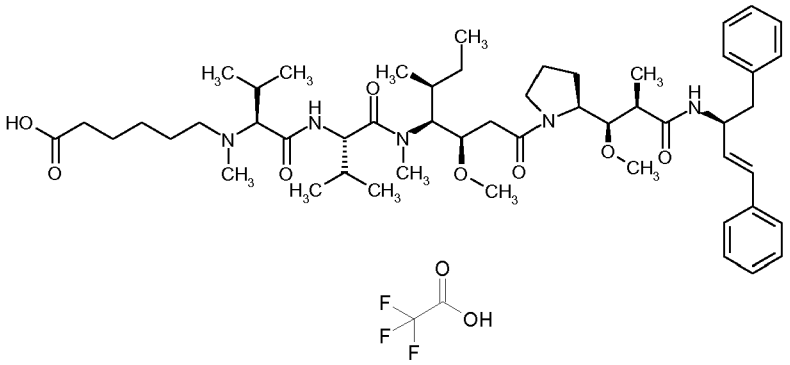
Diese Verbindung wurde ausgehend von Intermediat 249 durch reduktive Alkylierung mit tert-Butyl-3-{2-[2-(2-oxoethoxy)ethoxy]ethoxy}propanoat, anschließender t-Butylester-spaltung und Überführung in den N-Hydroxysuccinimdester hergestellt.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.96 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.11 min; MS (ESIpos): m/z = 1208 $(M+H)^+$.

Intermediat 259

N-(5-carboxypentyl)-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S,3E)-1,4-diphenylbut-3-en-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamide

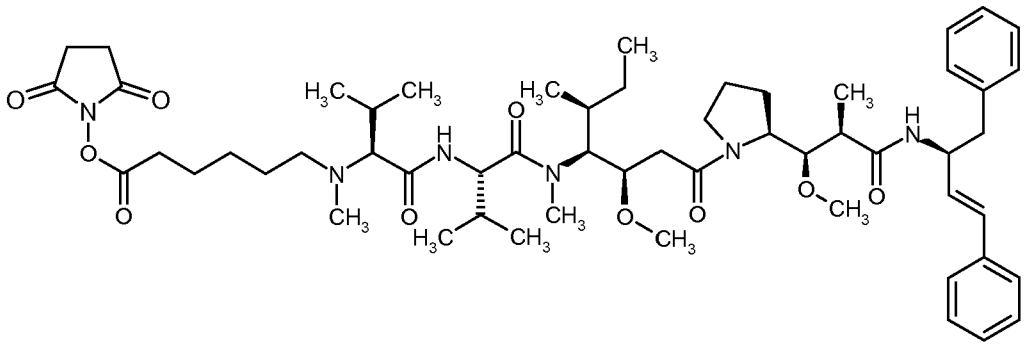


9.6 mg (8.4 µmol) *N*-Methyl-L-valyl-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-{[(2*S*,3*E*)-1,4-diphenylbut-3-en-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-*N*-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat (Intermediat 58) und 6.5 mg (51 µmol) 6-Oxohexansäure wurden in 769 µl Methanol aufgenommen und mit Essigsäure sauer gestellt. Bei Raumtemperatur wurden anschliessend 4 µl (40 µmol) Boran-Pyridin-Komplex zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde anschliessend für 20 h bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde anschliessend mit Trifluoressigsäure auf pH 2 eingestellt und mittels präparativer HPLC aufgereinigt. Die Produktfraktionen wurden vereinigt, eingeengt und der Rückstand lyophilisiert. Es wurden so 8 mg (93% d. Th.) der Titelverbindung als Schaum erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.06 min; m/z = 1019 $(M+H)^+$.

Intermediat 260

N-{6-[(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-6-oxohexyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S,3E)-1,4-diphenylbut-3-en-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamide

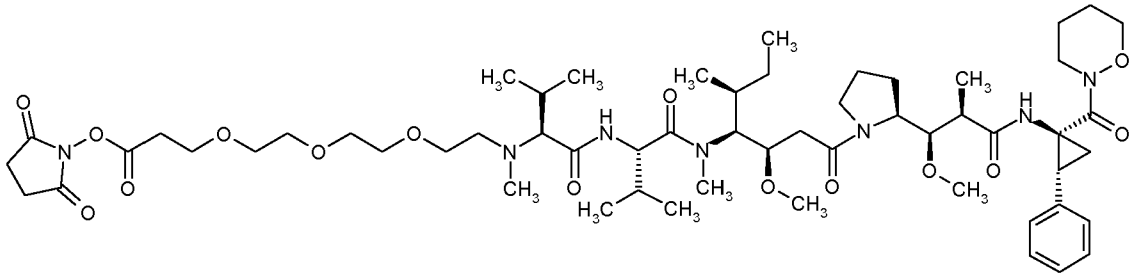


7.5 mg (7.4 µmol) von Intermediat 259 wurden in 332 µl DMF gelöst und mit 12.7 mg (110 µmol) 1-Hydroxypyrrolidin-2,5-dion und anschließend mit 14 mg (37 µmol) O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU) und 6 µl N,N-Diisopropylethylamin versetzt. Nach 2 h Rühren bei RT wurde das Reaktionsgemisch mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation aus Dioxan wurden 4 mg (55% d.Th.) der Titelverbindung erhalten.

LC-MS (Methode 1): R_t = 1.19 min; m/z = 1002 $(M+H)^+$.

Intermediat 261

N-{2-[2-(2-{3-[(2,5-Dioxopyrrolidin-1-yl)oxy]-3-oxopropoxy}ethoxy)ethoxy]ethyl}-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-3-methoxy-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-methoxy-2-methyl-3-{[(1S,2R)-1-(1,2-oxazinan-2-ylcarbonyl)-2-phenylcyclopropyl]amino}-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid



Diese Verbindung wurde ausgehend von Intermediat 16 durch reduktive Alkylierung mit Benzyl-3-{2-[2-(2-oxoethoxy)ethoxy]ethoxy}propanoat, anschließende hydrogenolytische Benzylesterspaltung und Überführung in den N-Hydroxysuccinimdester hergestellt.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.83 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.93 min; MS (ESIpos): m/z = 1114 $(M+H)^+$.

B: Herstellung von Antikörper-Wirkstoff-Konjugaten (ADC)

B-1. Generierung von anti-FGFR2 Antikörpern

Die Isolation der humanen anti-FGFR2 Antikörper M048-D01-hIgG1 und M048-D01-hIgG1-b der vorliegenden Erfindung wurde durch Phage Display Technologie unter Verwendung der naiven Fab Antikörperbibliothek n-CoDeR von Bioinvent International AB (Lund, Schweden; beschrieben in Söderling et al., Nat. Biotech. 2000, 18:853-856) durchgeführt. Ein Screening-Hit war das parentale Fab-Fragment M048-D01. Die variable Region der schweren Kette Vh dieses Fab-Fragments ist durch SEQ ID NO:21 gegeben, die variable Region der leichten Kette Vl ist durch SEQ ID NO:22 gegeben. Nach der Identifizierung des M048-D01-Fab-Fragments wurde dieses unter dem Namen M048-D01-hIgG1-b (SEQ ID NO:10 für die schwere Kette, und SEQ ID NO:9 für die leichte Kette) als humaner IgG exprimiert. Für eine effiziente Klonierung wurden die ersten drei Aminosäuren des N-Terminus der schweren Kette von M048-D01-hIgG1-b [EVQ] alternativ auch als QVE exprimiert. Diese Variation führte zu dem Antikörper M048-D01-hIgG1 (SEQ ID NO:8 für die schwere Kette und SEQ ID NO:7 für die leichte Kette). Die variablen Regionen Vh und Vl von M048-D01-hIgG1 sind durch SEQ ID NO:11 und SEQ ID NO:12 gegeben, die variablen Regionen Vh und Vl von M048-D01-hIgG1-b durch SEQ ID NO:13 und SEQ ID NO:14. Beide Antikörper haben dieselben CDR-Sequenzen, welche durch die SEQ ID NOs: 15 (H-CDR1),16 (H-CDR2),17 (H-CDR3),18 (L-CDR1),19 (L-CDR2) und 20 (L-CDR3) gegeben sind.

Die Antikörper GAL-FR21-mIgG1 und GAL-FR22-mIgG2a sind in WO2010/054265 als mIgG1 (GAL-FR21) und mIgG2b (GAL-FR22) beschrieben. GAL-FR21 ist dort über Vh (SEQ ID NO:4 in WO2010/054265) und über Vl (SEQ ID NO:1 in WO2010/054265) definiert, ebenso wie GAL-22 über Vh (SEQ ID NO:8 in WO2010/054265) und über Vl (SEQ ID NO:7 in WO2010/054265) definiert ist. Für die in der vorliegenden Anmeldung beschriebenen Studien wurden Vl und Vh von GAL-FR21 in das murine IgG1 Format reformatiert, resultierend in dem Antikörper GAL-FR21-mIgG1 (SEQ ID NO: 3 und SEQ ID NO:4 der vorliegenden Anmeldung). Vl und Vh von GAL-FR22 wurden in das murine IgG2a-Format reformatiert, resultierend im Antikörper GAL-FR22-mIgG2a (SEQ ID NO:5 und SEQ ID NO:6 der vorliegenden Anmeldung).

B-2. Expression von anti-FGFR2 Antikörpern

Die Antikörper M048-D01-hIgG1, M048-D01-hIgG1-b, GAL-FR21-mIgG1 und GAL-FR22-mIgG2a wurden transient in Säugerzellkultur produziert.

Die Herstellung der Expressionskonstrukte erfolgte wie folgt beschrieben:

Um die Vh und Vl-Regionen des aus dem pahge display stammenden Fabs M048-D01 ins IgG-Format zu transferieren und um das Expressionssystem von *E. coli* auf Säugerzellen zu wechseln, wurden die Vh- und Vl- Sequenzen aus dem phage display *E.coli* Klon unter Verwendung von PCR-Primern amplifiziert. Die flankierenden Restriktionsenzym-Schnittstellen wurden an den 5'- und 3'-Enden sowohl von Vh als auch von Vl eingeführt. Diese Restriktionsenzymschnittstellen wurden für die Klonierung von Vh und Vl in einen Expressionsvektor verwendet, der das IgG Backbone enthielt.

Die *E. coli*-Zellen wurden in einem Testtube mit 100 µL Wasser bei 95°C für 10 min inkubiert und dann für 5 min auf Eis gestellt. Nach kurzem Vortexieren wurde die Lösung durch Zentrifugation geklärt. Der abgetrennte Überstand wurde für die DNA-Amplifikation verwendet. Die PCR-Reaktionen wurden für Vh und Vl getrennt durchgeführt. Dabei wurden spezifische Primerpaare mit BamHI- und NotI- Schnittstellen für Vl und MfeI und BlpI-Schnittstellen für Vh verwendet. Die PCR-Reaktionen wurden unter Verwendung der AccuPrime Pfx Polymerase (Invitrogen, # 12344-024) nach Herstellerangaben durchgeführt. Die PCR-Produkte wurden auf 1%-igen Agarosegelen analysiert. Um komplatibe Enden zu erhalten, wurden die Expressionsvektoren und PCR-Produkte nach Herstellerangaben für 2h bei 37°C mit den entsprechenden Restriktionsendonukleasen verdaut (siehe Tabelle 1). Der Verdau wurde durch Inkubation bei 70°C für 15 min gestoppt. Die resultierenden Fragmente wurden in den Expressionsvektor ligiert und *E. coli* oder Säugerzellen wurden nach Standardmethoden mit den Konstrukten transformiert.

Die DNA-Sequenzen der Vh und Vl Domänen oder von kompletten leichten Ketten einiger Antikörper (GAL-FR21-mIgG1, GAL-FR22-mIgG2a und M048-D01-hIgG1-b) wurden durch Geneart Gensynthese und GeneOptimizer Technologie für Säuger-Genexpression (life technologies, Grand Island, NY, USA) synthetisiert. Während der Gensynthese wurden die V-Domänen an für ein Säuger-Signalpeptid kodiernde Sequenzen mit vorangehender Kozaki-Sequenz fusioniert. Flankierende Restriktionsschnittstellen wurden an 5' und 3' –Enden der synthetisierten DNA-Konstrukte eingefügt. Diese Restriktionsschnittstellen wurden für die Klonierung der Vh und der Vl oder der leichten Ketten in einen Expressionsvektor verwendet, der die kodierenden konstanten Regionen des IgG enthielt.

Die Expressionsvektoren und die Geneart-Konstrukte wurden nach Herstellerangaben für 2h bei 37 °C mit den jeweiligen Restriktionsendonukleasen verdaut, um kompatible Enden zu erhalten (siehe Tabelle 1). Der Verdau wurde durch Inkubation bei 70 °C für 15 min gestoppt. Die resultierenden Fragmente wurden ligiert und *E. coli* Zellen wurden mit den Ligaten transformiert. Plasmide, die aus diesen Transformanten erhalten wurden, wurden verwendet, um Säugerzellen nach Standardmethoden zu transformieren.

Tabelle1: . Restriktionsschnittstellen für die Klonierung von Vh und Vl oder der leichten Kette in IgG-Expressionsvektoren

Antikörper	Restriktionsschnittstelle für die Klonierung von:	
	VH	VL or Light chain*
GAL-FR21-mIgG1	HindIII – BlpI	XbaI – BsiWI
GAL-FR22-mIgG2a	HindIII – BlpI	XbaI – BsiWI
M048-D01-hIgG1#	MfeI-BlpI	BamHI – NotI*
M048-D01-hIgG1-b	HindIII-BlpI	XbaI – NotI*

* Klonierung der kompletten leichten Kette

Klonierung des PCR-Produkts in EcoRI-BlpI and BamHI-NotI-verdaute Expressionsvektoren.

Die Expression der Antikörper erfolgte transient in Säugerzellkultur, wie es bei Tom et. al beschrieben ist (Tom et al, Kapitel 12 in Methods Express: Expression Systems, Herausgeber Michael R. Dyson und Yves Durocher, Scion Publishing Ltd, 2007): Für die Expression der anti-FGFR2-Antikörper, zum Beispiel M048-D01-hIgG1, GAL-FR21-mIgG1 und GAL-FR22-mIgG2a, wurden HEK293 6E Zellen transient mit einem geeigneten CMV-Promotor basierenden Expressionsplasmid transfiziert. Der Zellkulturmaßstab war entweder bis 1.5 l im Schüttelkolben oder 10 l im „Wave-Bag". Die Expression erfolgte bei 37°C für 5-6 Tage in F17 Medium (Invitrogen) ergänzt mit Tryptone TN1 (Organotechnie) mit 1 % „FCS ultra low IgG" (Invitrogen) und 0.5 mM Valproinsäure.

Alternativ wurden die anti-FGFR2-Antikörper, zum Beispiel M048-D01-hIgG1-b, in einer stabil transfizierten Chinese Hamster Ovary (CHO) Zelllinie exprimiert. Dazu wurde ein Einvektorsystem verwendet. Die Fermentation erfolgte in Bioreaktoren im unterschiedlichen Maßstab im fed-batch Verfahren.

Das zu den M048-D01 basierenden Antikörpern aus dem phage display stammende parentale Fab-Fragment M048-D01 (Vh: SEQ ID NO:21, Vl: SEQ ID NO:22) wurde folgendermaßen exprimiert: 20-50 mL LB-Medium (versetzt mit 0.1 mg/mL Ampicillin und 0.1% Glucose) wurden mit einer Vorkultur eines entsprechenden *E.coli*-Klons inokuliert, welcher den initialen pBif-Vektor enthielt, dem die GeneIII Sequence fehlte, in den aber die M048-D01 Fab-Sequenz kloniert war. Die Produktion des sFabs wurde durch Zugabe von 0.5 mM IPTG (Endkonzentration) gestartet. Die Inkubation fand über Nacht bei 30 °C bei 250 rpm statt.

B-3. Aufreinigung der FGFR-2-Antikörper

Die Antikörper, zum Beispiel M048-D01-hIgG1, M048-D01-hIgG1-b, GAL-FR21-mIgG1 und GAL-FR22-mIgG2a, wurden aus den Zellkulturüberständen gewonnen. Die Zellüberstände wurden durch Zentrifugation von Zellen geklärt. Anschließend wurde der Zellüberstand durch Affinitätschromatographie auf einer MabSelect Sure (GE Healthcare) Chromatographiesäule gereinigt. Dazu wurde die Säule in DPBS pH 7.4 (Sigma/Aldrich) equilibriert, der Zellüberstand aufgetragen und die Säule mit ca 10 Säulenvolumina DPBS pH 7.4 + 500 mM NaCl gewaschen. Die Antikörper wurden in 50 mM Na-Acetat pH 3.5 +

500 mM NaCl eluiert und anschliessend durch Gelfiltrationschromatographie auf einer Superdex 200 Säule (GE Helthcare) in DPBS pH 7.4 weiter gereinigt.

Die Reinigung des in *E.coli* exprimierten parentalen M048-D01 Fab-Fragments wurde folgendermaßen durchgeführt: Die *E. coli* Zellen wurden durch Zentrifugation geerntet und durch Inkubation bei 4°C für 1 h in Lysepuffer (20% Sucrose (w/v), 30 mM TRIS, 1 mM EDTA, pH 8.0, 1 mg/mL Lysozym (Sigma L-6876) und 2.5 U/mL Benzonase (Sigma E1014)) lysiert. Danach wurde das gleiche Volumen PBS hinzugefügt. Anschließend wurde der geklärte Überstand auf Dynabeads für His-Tag-Isolierung (Invitrogen, 101-03D) gegeben und die Mischung für 2 h bei 4°C geschwenkt. Danach wurde die Matrix dreimal mit Puffer1 (50 mM Na-Phosphatpuffer, pH7.4, 300 mM NaCl, 5 mM Imidazol, 0.01% Tween-20) gewaschen. Im Anschluss wurde ein einzelner Waschschritt in Puffer 2 (PBS versetzt mit 0.005% Tween-20) durchgeführt. Zum Abschluss wurden die Fabs mit Puffer E (10 mM Na-Phosphatpuffer, pH 7.4, 300 mM NaCl, 300 mM Imidazol) eluiert und unter Verwendung von PBS-Puffer in Vivaspin 500-Konzentratoren (cut-off 10000, von GE, 28-9322-25) konzentriert.

B-4. Erhebung des Kreuzreaktivitätsprofils der M048-D01-basierenden Antikörper

Die Kreuzreaktivität der humanen Antikörper M048-D01-hIgG1 und M048-D01-hIgG1-b der vorliegenden Anmeldung wurde unter Verwendung des parentalen Fab-Fragments M048-D01 (umfassend Vh: SEQ ID NO: 21 und Vl: SEQ ID NO:22) bestimmt.

Das M048-D01 Fab Fragment wurde in einem ELISA auf Bindung an die in Tabelle 2 aufgeführten verschiedenen FGF Rezeptorevarianten getestet.

Tabelle 2: Liste von rekombinanten Proteinen, die zur Erstellung des Kreuzreaktivitätsprofils der FGFR2-Binder verwendet wurden

Protein	**Herkunft**	**Cat. No. (RnD Systems)**
hFGFR2β-Fc (IIIb)	Mensch	665-FR
mFGFR2β-Fc (IIIb)	Maus	708-MF
hFGFR2α-Fc (IIIb)	Mensch	663-FR
hFGFR2β-Fc (IIIc)	Mensch	684-FR
hFGFR1β-Fc (IIIc)	Mensch	661-FR
hFGFR1β-Fc (IIIb)	Mensch	765-FR

hFGFR3-Fc (IIIc)	Mensch	766-FR
hFGFR3-Fc (IIIb)	Mensch	1264-FR
hFGFR4-Fc	Mensch	685-MF
mFGFR2β-Fc (IIIc)	Maus	716-MF
mFGFR3-Fc (IIIc)	Maus	710-MF
hTRAIL-Fc	Mensch	630-TR

Alle Varianten lagen als Fc-Fusionsproteine in carrierfreien Präparationen vor. Die Proteine wurden nach Herstellerangaben unter Verwendung eines 2-fachen molaren Überschusses an Biotin-LC-NHS (Pierce; Cat. No. 21347) biotinyliert und über Zeba desalting columns (Pierce; Cat No. 89889) entsalzt.

Für den ELISA wurden mit Streptavidin (Pierce, 15500) vorbehandelte 96-well Platten über Nacht bei 4°C mit 1 µg/mL biotinyliertem Protein beladen. Wells, die mit biotinyliertem TRAIL-Fc beladen wurden, dienten als Referenz. Am nächsten Tag wurden die Platten 3x mit PBST (1xPBS versetzt mit 0.05% Tween20 (Sigma, P7949)) gewaschen, mit Blockingpuffer (PBST versetzt mit 3% BSA (Sigma A4503)) behandelt, und nochmals dreimal mit PBST gewaschen. 100 µL des gereingten Fabs (1µg/mL) wurden hinzugefügt und es wurde für 1 h bei Raumtemperatur inkubiert. Nach dreimaligem Waschen mit PBST wurde ein HRP-gekoppelter anti-hIgG (Fab-spezifisch) (1:2500 verdünnt, Sigma, A0293) hinzugefügt und 1 h bei Raumtemperatur inkubiert. Die Farbreaktion wurde durch Zugabe von 50 µL TMB (Invitrogen, 2023) aktiviert und nach 5-15 min durch Zugabe von 50 µL H_2SO_4 (Merck, 1120801000) gestoppt. Die Farbreaktion wurde bei 450 nm in einem Plattenleser (Tecan) verfolgt. Die Signalstärken der Wells, welche TRAIL-Fc enthielten, wurden als Hintergrundwerte verwendet und die Signal-zu-Hintergrund-Verhältnisse wurden wie in Tabelle 3 zusammengefasst kalkuliert.

Tabelle 3: Zusammenfassung der ELISA-Daten zur Kreuzreaktivität von M048-D01

		hFGFR2β-Fc (IIIc)	hFGFR2β-Fc (IIIb)	hFGFR2α-Fc (IIIc)	mFGFR2β-Fc (IIIc)	mFGFR2β-Fc (IIIb)	hFGFR1β-Fc (IIIc)	hFGFR1β-Fc (IIIb)	hFGFR3-Fc (IIIb)	hFGFR3-Fc (IIIc)	mFGFR3-Fc (IIIc)	hFGFR4-Fc

M048-D01		+++	+++	+++	+++	+++	0	0	0	0	0	0

Signal-zu-Hintergrund Verhältnisse: 0: <2; +: 2-3; ++: 3-5; +++: >5

Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, binden die auf M048-D01 basierenden Antikörper M048-D01-hIgG1 und M048-D01-hIgG1-b an humanes und murines FGFR2, und zwar unabhängig davon, ob es sich um alpha oder beta Isoformen, oder um IIIb und IIIc Splice-Formen handelt. Wie ebenfalls aus der Tabelle hervorgeht, binden die auf M048-D01 basierenden Antikörper der Erfindung nicht an FGFR1, FGFR3 und FGFR4.

B-5. Epitopmapping durch CLIPS -Technologie

Um die Bindungscharakteristik der M048-D01 basierenden Antikörper zu testen, wurde ein intensives Epitope-Mapping basierend auf Pepscan`s proprietärer "Chemically Linked peptides on Scaffolds" (CLIPS) Technologie (Timmerman et al., J. Mol. Recognit. 2007, 20:283-99) durchgeführt. Insgesamt wurden 8653 verschiedene CLIPS Peptide von 15Aminosäuren bis 30 Aminosäuren Länge entworfen, welche lineare, konformationale und diskontinuierliche Epitope auf dem humanen FGFR2 abdecken. Die Peptide wurden auf Peptidarrays synthetisiert. Der humane Antikörper M048-D01-hIgG1 wurden auf den Peptidarrays in einem ELISA basierten Verfahren getestet. Die Peptide, die die höchsten ELISA-Werte ergaben, wurden analysiert, um gemeinsame ähnliche Aminosäuresequenzen zu isolieren.

Um diskontinuierliche Epitope des Targetmoleküls zu rekonstruieren, wurde eine Bibliothek von strukturierten Peptiden synthetisiert. Die CLIPS Technologie erlaubt es, Peptide in Einzel-Loops, Doppel-Loops, Dreifach-Loops, Faltblatt-ähnliche Loops, Helix-ähnliche Loops und Kombinationen dieser Strukturelemente zu strukturieren: Dafür werden werden sogenannte CLIPS-Template an Cysteinreste der Peptidarrays gekuppelt. Zum Beispiel wurde eine 0.5 mM Lösung des T2 CLIPS Templats 1,3-bis (bromomethyl) benzol in Ammoniumbicarbonat (20 mM, pH 7.9) / Acetonitril (1:1(v/v)) gelöst. Diese Lösung wurde zu den Peptidarrays gegeben. Das CLIPS-Templat band dabei an die Seitenketten von 2 Cysteinen der in den Peptidarrays vorliegenden Peptide (455 Well Platte mit 3 µl Wells). Die Peptidarrays wurden in der Lösung behutsam für 30 bis 60 min geschwenkt, wobei sie komplett von der Lösung bedeckt waren. Zum Abschluss wurden die Arrays gründlich mit

Wasser im Überschuss gewaschen und in Disrupt-Puffer (1% SDS, 0.1% beta-Mercapto-Ethanol in PBS (pH 7.2)) bei 70°C für 30 min im Ultraschallbad behandelt. Danach wurde die Behandlung im Ultraschallbad in Wasser für weitere 45 min wiederholt. T3 CLIPS tragende Peptide wurden auf einem ähnlichen Weg hergestellt.

Die Bindung der Antikörper an jedes Peptid wurde in einem PEPSCAN-basierten ELISA (Sloostra et al, Molecular Diversity 1996, 1: 87-96) getestet. Die Peptidarrays wurden mit 5% bis 100% Binding-Puffer präinkubiert (1 h, 20 °C). Der Binding-Puffer bestand aus 1% Tween-80, 4 % Pferde-Serum und 5 % Ovalbumin (w/v) gelöst in PBS. Nach einem Waschschritt wurden die Peptidarrays mit Primärantikörperlösung (1 bis 5 µg/mL) in 1% Tween-80 in PBS über Nacht bei 4 °C inkubiert. Nach einem weiteren Waschschritt wurden die Peptidarrays in einer 1/1000-Verdünnung eines Antikörper-Peroxidase-Konjugats (anti-human-IgG) in 100% Binding-Puffer für eine Stunde bei 25 °C inkubiert. Nach einem weiteren Waschschritt wurden das Peroxidasesubstrat 2,2'-azino-di-3-ethylbenzthiazolin sulfonat (ABTS) und 2 µL/mL 3%iges H_2O_2 hinzugefügt. Nach einer Stunde wurde die Farbentwicklung gemessen und mit einer CCD-Kamera und einem Bildbearbeitungssystem quantifiziert.

Als Rohdaten dieser Methode erhält man optische Werte, die von 0-3000 mAU (milli-absorption-units) reichen.

Im Ergebnis binden alle M048-D01 basierenden Antikörper auf einem Epitop, welches aus den 15 N-terminalen Resten von FGFR2 (^{1}RPSFSLVEDTTLEPE^{15}) besteht. Die Analyse von 1257 CLIPS und linearen Peptiden zeigte konsistent hohe ELISA-Werte für N-terminale Peptide.

Die N-terminalen Reste (^{1}RPSFSLVEDTTLEPE^{15}) sind in allen Splicevarianten von humanem FGFR2 vorhanden und zwar unabhängig von alternativem Splicing in Domäne D3, welches in den IIIb und IIIc Isoformen resultiert. Das Epitop ist auch vorhanden, wenn die Domäne D1 aus dem volle-Länge FGFR2 (FGFR2 alpha, SEQ ID NO:1) durch Splicing entfernt ist, was in der kürzeren beta-Form von FGFR2 resultiert (SEQ ID NO:2). In diesem Fall liegt das Epitop direkt vor der Domäne D2.

Von besonderem Interesse ist, dass die N-terminale Sequenz in Mensch, Maus, Ratte und Rhesusaffe konserviert ist. Das ermöglicht die breite inter-Spezies Kreuzreaktivität der M048-D01-Antikörper. Das Bindungsepitop von M048-D01-hIgG1 und M048-D01-hIgG1-b, zweier Beispielantikörper der vorliegenden Erfindung, ist in Abbildung 1 als gestreifte Box markiert.

B-6. Allgemeines Verfahren zur Kupplung an Cystein-Seitenketten

In die Kupplungsreaktionen wurden folgende Antikörper eingesetzt:

M048-D01-hIgG1

M048-D01-hIgG1-b

Zu einer Lösung des entsprechenden Antikörpers in PBS-Puffer im Konzentrationsbereich zwischen 1 mg/ml und 10 mg/ml wurden 3 Äquivalente Tris(2-carboxyethyl)phosphin-Hydrochlorid (TCEP), gelöst in PBS-Puffer, gegeben und 1h bei RT gerührt. Anschließend wurden, je nach angestrebter Beladung, zwischen 2 und 10 Äquivalenten der zu kuppelnden Maleinimid-Vorläufer-Verbindung oder Halogenid-Vorläufer-Verbindung aus den Intermediaten 102, 103, 105-109, 111-114, 117-126, 128, 129, 132-146, 148-155, 157, 159-161, 166, 171, 175-177, 184, 189, 194-195, 199-201, 205, 209, 223-224, 226, 228-231, 236, 244 und 257 als Lösung in DMSO hinzugefügt. Dabei sollte die Menge an DMSO 10% des Gesamtvolumens nicht überschreiten. Der Ansatz wurde 60-120 min bei RT gerührt und anschließend über in PBS equillibierte PD 10-Säulen (Sephadex® G-25, GE Healthcare) gegeben und mit PBS-Puffer eluiert. Gegebenenfalls wurde noch eine Aufkonzentration mittels Ultrazentrifugation durchgeführt.

Üblicherweise wurden, wenn nicht anders angegeben, 5 mg des entsprechenden Antikörpers in PBS Puffer zur Reduktion und der nachfolgenden Kupplung eingesetzt. Nach Aufreinigung über die PD10 Säule wurden so jeweils Lösungen des entsprechenden ADCs in 3.5 ml PBS-Puffer erhalten. Für diese Lösungen wurde dann die jeweils angegebene Proteinkonzentration bestimmt. Weiterhin wurde die Beladung des Antikörpers (Drug/mAb Ratio) nach den unten beschriebenen Methoden ermittelt.

Nach diesem Verfahren wurden die in den Beispielen 1, 3, 5-6, 8, 10-12, 14,15, 27 und 32 dargestellten Immunokonjugate hergestellt.

In den dargestellten Strukturformeln haben dabei AK_{1A} und AK_{1B} die Bedeutung

AK_{1A} = anti-FGFR2 Antikörper M048-D01-hIgG1 (partiell reduziert)- $S§^1$

AK_{1B} = anti-FGFR2 Antikörper M048-D01-hIgG1-b (partiell reduziert)- $S§^1$

wobei

$§^1$ die Verknüpfung mit der Succinimid-Gruppe bedeutet,

und

S für das Schwefelatom eines Cystein-Restes des partiell reduzierten Antikörpers steht.

B-7. Allgemeines Verfahren zur Kupplung an Lysin-Seitenketten:

In die Kupplungsreaktionen wurden folgende Antikörper eingesetzt:

M048-D01-hIgG1

M048-D01-hIgG1-b

GAL-FR21-mIgG1

GAL-FR22-mIgG2a

Zu einer Lösung des entsprechenden Antikörpers in PBS-Puffer im Konzentrationsbereich zwischen 1 mg/ml und 10 mg/ml wurden, je nach angestrebter Beladung, zwischen 2 und 5 Äquivalente der zu kuppelnden Vorläufer-Verbindung aus den Intermediaten 104, 110, 115, 116, 127, 130, 131, 147, 156, 158, 162, 169, 178, 185, 190, 202, 206, 210-216, 218, 219, 227, 233, 238, 240,242, 245, 247a, 247b, 250, 251, 253, 255, 258 und 260-261 als Lösung in DMSO gegeben. Nach 30 min Rühren bei RT wurde nochmals die gleiche Menge an Vorläufer-Verbindung in DMSO hinzugefügt. Dabei sollte die Menge an DMSO 10% des Gesamtvolumens nicht überschreiten. Nach weiteren 30 min Rühren bei RT wurde der Ansatz über PD 10-Säulen (Sephadex® G-25) gegeben und mit PBS-Puffer eluiert. Gegebenenfalls wurde noch eine Aufkonzentration mittels Ultrafiltration durchgeführt. Falls notwendig wurde zur besseren Abtrennung niedermolekularer Bestandteile die Aufkonzentration mittels Ultrafiltration nach Rückverdünnung mit PBS Puffer wiederholt.

Üblicherweise wurden, wenn nicht anders angegeben, 5 mg des entsprechenden Antikörpers in PBS Puffer zur Kupplung eingesetzt. Nach Aufreinigung über die PD10 Säule wurden so jeweils Lösungen des entsprechenden ADCs in 3.5 ml PBS-Puffer erhalten. Für diese Lösungen wurde dann die jeweils angegebene Proteinkonzentration bestimmt sowie die Beladung des Antikörpers (Drug/mAb Ratio) nach den unten beschriebenen Methoden ermittelt.

Nach diesem Verfahren wurden die in den Beispielen 2, 4, 7, 9, 13, 16-17, 25, 26, 28-31 und 33-35 dargestellten Immunokonjugate hergestellt.

In den dargestellten Strukturformeln hat dabei AK_{2A}, AK_{2B}, AK_{2D} und AK_{2E} die Bedeutung

AK_{2A} = anti-FGFR2 Antikörper M048-D01-hIgG1 - NH§^{2}

AK_{2B} = anti-FGFR2 Antikörper M048-D01-hIgG1-b - NH§^{2}

AK_{2D} = anti-FGFR2 Antikörper GAL-FR21-mIgG1 - NH§^{2}

AK_{2E} = anti-FGFR2 Antikörper GAL-FR22-mIgG2a - NH§^{2}

wobei

§^{2} die Verknüpfung mit der Carbonylgruppe bedeutet,

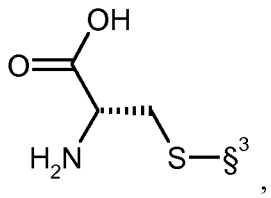
und

NH für die Seitenketten-Aminogruppe eines Lysin-Restes des Antikörpers steht.

B-8. Allgemeines Verfahren zur Herstellung von Cystein-Addukten:

10 µmol der oben beschriebenen Maleinimid-Vorläuferverbindungen wurden in 3 ml DMF aufgenommen und mit 2.1 mg (20 µmol) L-Cystein versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2h bei RT gerührt, anschließend im Vakuum eingeengt und dann mittels präparativer HPLC gereinigt.

In den dargestellten Strukturformeln hat dabei Cys die Bedeutung



,

wobei

§^{3} die Verknüpfung mit der Linker-Toxophor-Einheit bedeutet.

B-9. Allgemeines Verfahren zur Herstellung von Lysin-Addukten:

10 µmol der oben beschriebenen Aktivester-Vorläuferverbindungen wurden in 5 ml DMF aufgenommen und in Gegenwart von 30 µmol *N,N*-Diisopropylethylamin mit α-Amino-geschütztem L-Lysin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2h bei RT gerührt, anschließend im Vakuum eingeengt und dann mittels präparativer HPLC gereinigt. Anschließend wurde die Schutzgruppe nach bekannten Methoden entfernt.

Weitere Aufreinigung und Charakterisierung der erfindungsgemäßen Konjugate

Nach erfolgter Umsetzung wurde in einigen Fällen das Reaktionsgemisch beispielsweise durch Ultrafiltration aufkonzentriert und anschließend mittels Chromatographie, beispielsweise mittels einer Sephadex® G-25, entsalzt und gereinigt. Die Elution erfolgte beispielsweise mit Phosphat-gepufferter Salzlösung (PBS). Anschließend wurde die Lösung sterilfiltriert und eingefroren. Alternativ kann das Konjugat lyophylisiert werden.

B-10. Bestimmung der Toxophorbeladung

Von den erhaltenen Lösungen der in den Ausführungsbeispielen beschriebenen Konjugate in PBS Puffer wurde die Toxophorbeladung wie folgt bestimmt:

Die Bestimmung der Toxophor Beladung von Lysin-verknüpften ADCs erfolgte nach massenspektrometrischer Bestimmung der Molekulargewichte der einzelnen Konjugatspezies. Hierbei wurden vorab die Antikörperkonjugate mittels PNGaseF deglycosyliert, die Probe angesäuert und nach HPLC-Trennung massenspektrometrisch mittels ESI-MicroTof$_Q$ (Bruker Daltonik) analysiert. Alle Spektren über das Signal im TIC (Total Ion Chromatogramm) wurden addiert und das Molekulargewicht der verschiedenen Konjugatspezies auf Basis von MaxEnt Deconvolution kalkuliert. Nach Signal Integration der verschiedenen Spezies wurde dann die DAR (= Drug/Antibody Ratio) berechnet.

Zur Protein Identifizierung wurde neben der Molekulargewichtsbestimmung nach Deglykosilierung und/oder Denaturierung ein tryptischer Verdau durchgeführt, der nach Denaturierung, Reduktion und Derivatisierung die Identität des Proteins anhand der nachgewiesenen tryptischen Peptide bestätigte.

Die Bestimmung der Toxophorbeladung von Cystein-verknüpften Konjugaten wurde über Reversed-Phase-Chromatographie des reduzierten und denaturierten ADCs bestimmt. Zur ADC-Lösung (1mg/mL, 50µL) wurde Guanidinium-Hydrochlorid (GuHCl) (28.6 mg) und eine Lösung von DL-Dithiothreitol (DTT) (500mM, 3 µL) gegeben. Die Mischung wurde für eine Stunde bei 55 °C inkubiert und über HPLC analysiert.

Die HPLC-Analyse wurde auf einem Agilent 1260 HPLC-System mit Detektion bei 220 nm durchgeführt. Es wurde eine Polymer Laboratories PLRP-S Polymeric Reversed Phase Säule (Katalognummer PL1912-3802) (2.1 x150 mm, 8 µm particle size, 1000 Å) bei einer Flussrate von 1 mL/min mit folgendem Gradienten verwendet: 0 min, 25 %B; 3 min, 25 %B; 28 min, 50 %B.

Laufmittel A bestand aus 0.05 % Trifluoressigsäure (TFA) in Wasser, Laufmittel B aus 0.05 % Trifluoressigsäure in Acetonitril.

Die detektierten Peaks wurden durch Retentionszeitvergleich mit der leichten Kette (L0) und der schweren Kette (H0) des nicht konjugierten Antikörpers zugeordnet. Peaks, die ausschließlich in der konjugierten Probe detektiert wurden, wurden der leichten Kette mit einem Toxophor (L1) und den schweren Ketten mit einem, zwei und drei Toxophoren (H1, H2, H3) zugeordnet.

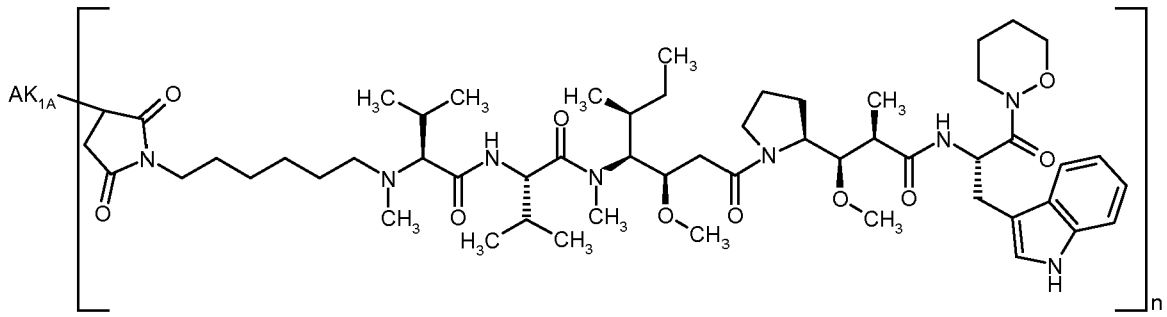
Die durchschnittliche Beladung des Antikörpers mit Toxophoren wurde aus den durch Integration bestimmten Peakflächen wie folgt bestimmt: Die Leichte-Kette-Beladung wurde als die Summe der Toxophor-Anzahl gewichteten Integrationsergebnisse der zu den leichten Ketten gehörenden Peaks geteilt durch die Summe der einfach gewichteten Integrationsergebnisse der zu den leichten Ketten gehörenden Peaks berechnet. Die Schwere-Kette-Beladung wurde als die Summe der Toxophor-Anzahl gewichteten Integrationsergebnisse der zu den schweren Ketten gehörenden Peaks geteilt durch die Summe der einfach gewichteten Integrationsergebnisse der zu den schweren Ketten gehörenden Peaks berechnet. Die durchschnittliche Drug-Load ergibt sich daraus als die zweifache Summe von Leichte-Kette-Beladung und Schwere-Kette-Beladung In vereinzelten Fällen kann es vorkommen, dass die Toxophorbeladung aufgrund von Ko-Elutionen einiger Peaks nicht exakt möglich ist.

B-11. Überprüfung der Antigen-Bindung des ADCs

Die Bindefähigkeit des Binders an das Zielmolekül wurde nach erfolgter Kopplung überprüft. Dazu sind dem Fachmann vielfältige Methoden bekannt, beispielsweise kann die Affinität des Konjugats mittels ELISA Technologie oder Oberflächenplasmonresonanzanalyse (BIAcore™ Messungen) überprüft werden. Die Konjugatkonzentration kann der Fachmann mit gängigen Methoden messen, beispielsweise für Antikörper-Konjugate mittels Proteinbestimmung. (siehe auch Doronina et al.; Nature Biotechnol. 2003; 21:778-784 und Polson et al., Blood 2007; 1102:616-623).

Ausführungsbeispiele Immunkonjugate

Beispiel 1

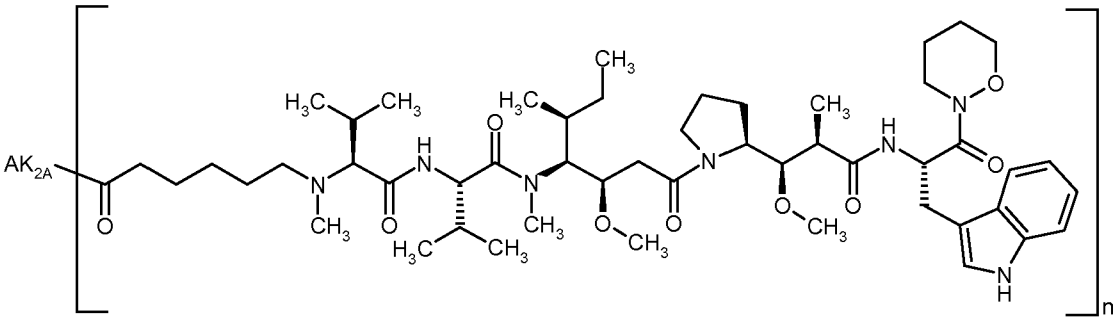


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 30 mg M048-D01-hIgG1 in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert, rückverdünnt mit PBS und erneut aufkonzentriert.

Protein Konzentration: 15.5 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 3.7

Beispiel 2

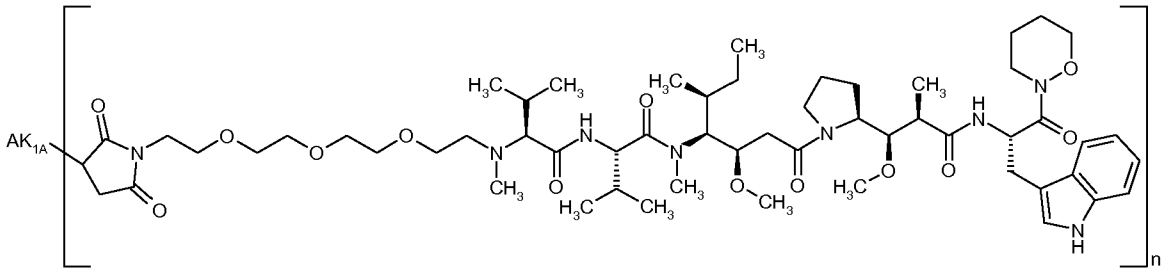


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 32 mg M048-D01-hIgG1 in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert, rückverdünnt mit PBS und erneut aufkonzentriert.

Protein Konzentration: 11.7 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 3.9

Beispiel 3

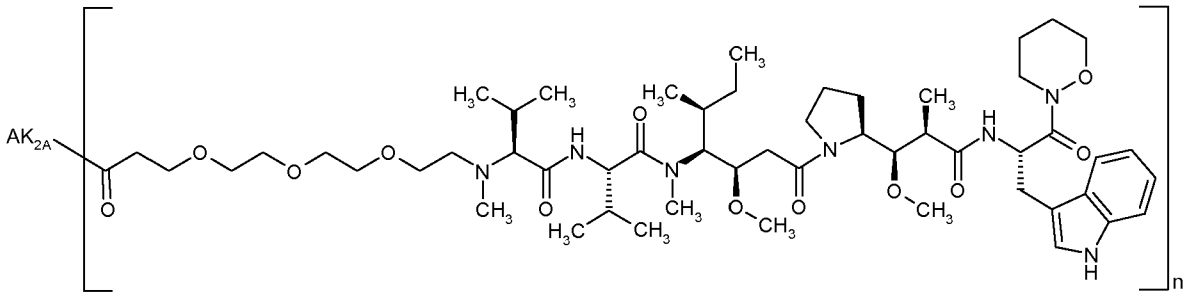


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 30 mg M048-D01-hIgG1 in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert, rückverdünnt mit PBS und erneut aufkonzentriert.

Protein Konzentration: 12.5 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 3.7

Beispiel 4

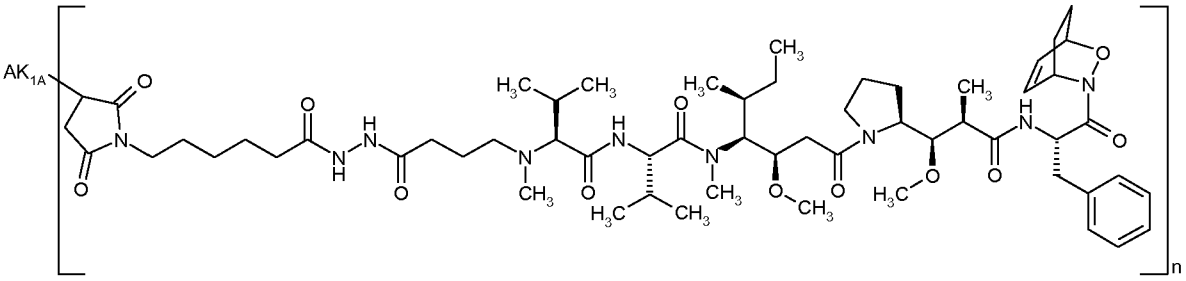


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 2 mg M048-D01-hIgG1 in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt mit PBS.

Protein Konzentration: 1.92 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 3.7

Beispiel 5

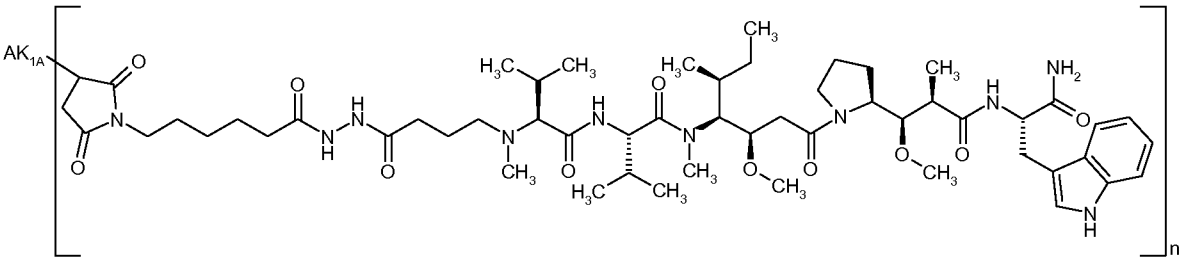


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 3 mg M048-D01-hIgG1 in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 2.54 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 3.1

Beispiel 6

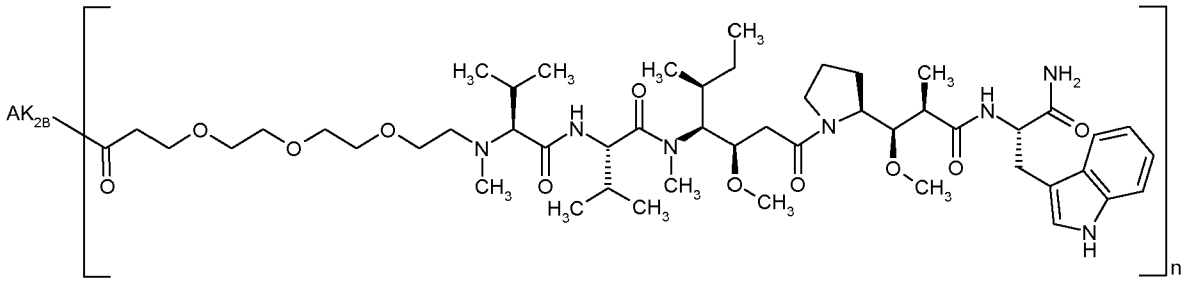


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 4 mg M048-D01-hIgG1 in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.53 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 2.7

Beispiel 7

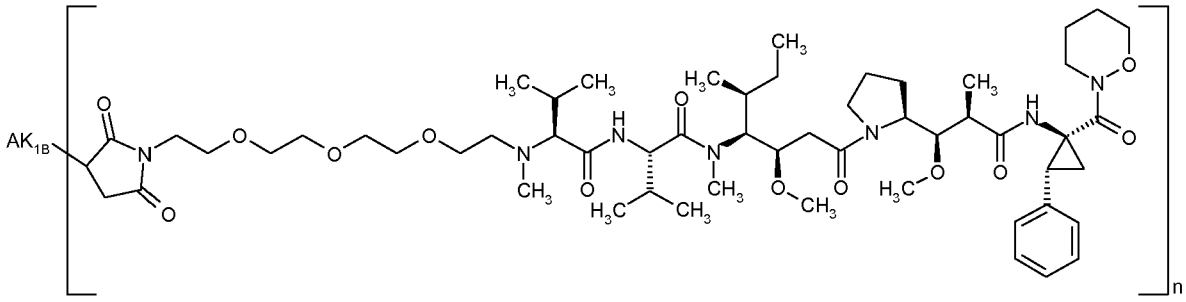


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg M048-D01-hIgG1-b in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.28 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 6.1

Beispiel 8

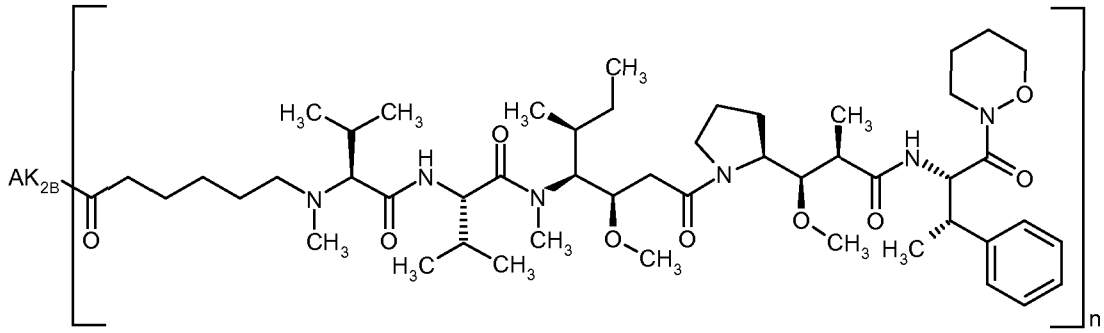


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg M048-D01-hIgG1-b in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.26 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 3.5

Beispiel 9

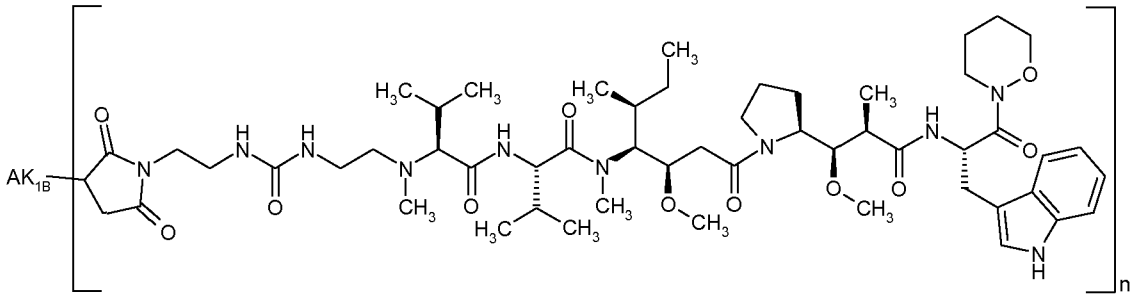


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg M048-D01-hIgG1-b in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.28 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 6.1

Beispiel 10

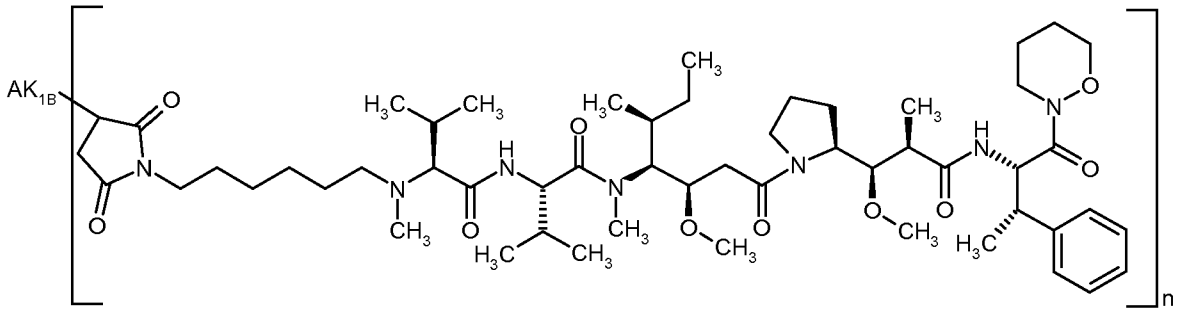


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg M048-D01-hIgG1-b in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.36 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 4.4

Beispiel 11

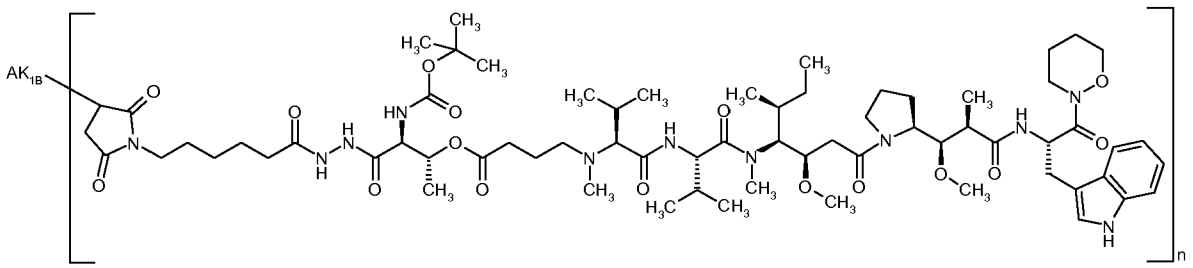


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg M048-D01-hIgG1-b in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.27 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 4.8

Beispiel 12

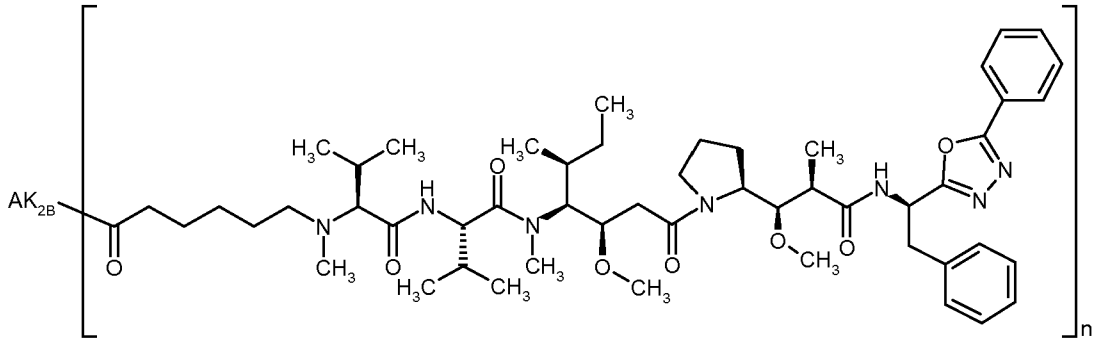


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg M048-D01-hIgG1-b in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Proteinkonzentration: 1.48 mg/ml

Drug/mAb-Ratio: 4.0

Beispiel 13

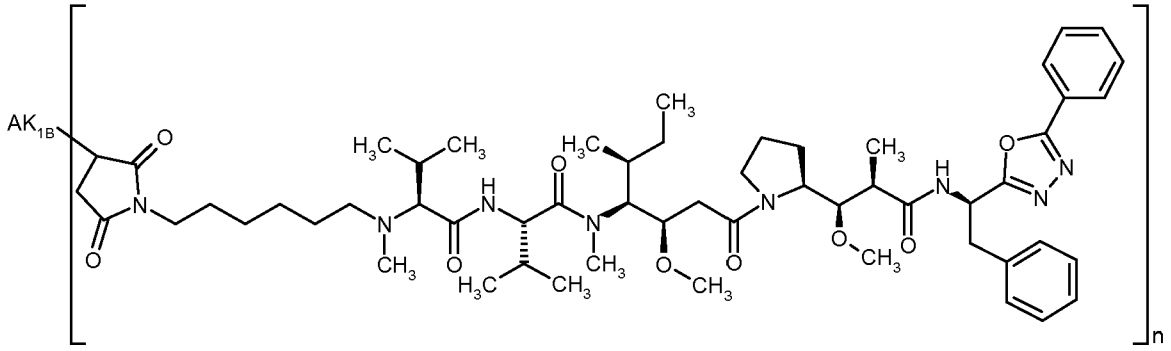


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg M048-D01-hIgG1-b in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Proteinkonzentration: 1.21 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 1.5

Beispiel 14

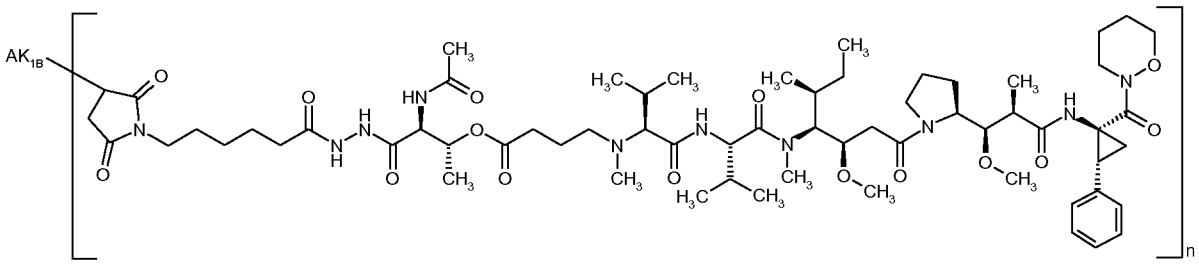


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg M048-D01-hIgG1-b in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Proteinkonzentration: 1.27 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 2.7

Beispiel 15

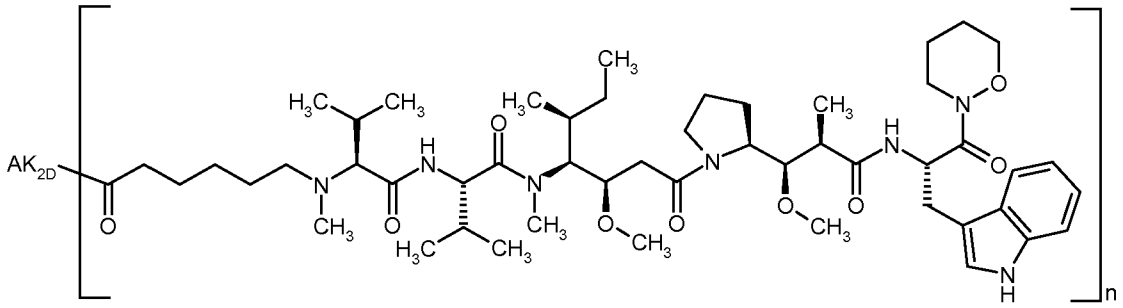


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg M048-D01-hIgG1-b in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt mit PBS.

Proteinkonzentration: 1.37 mg/ml

Drug/mAb-Ratio: 3.9

Beispiel 16

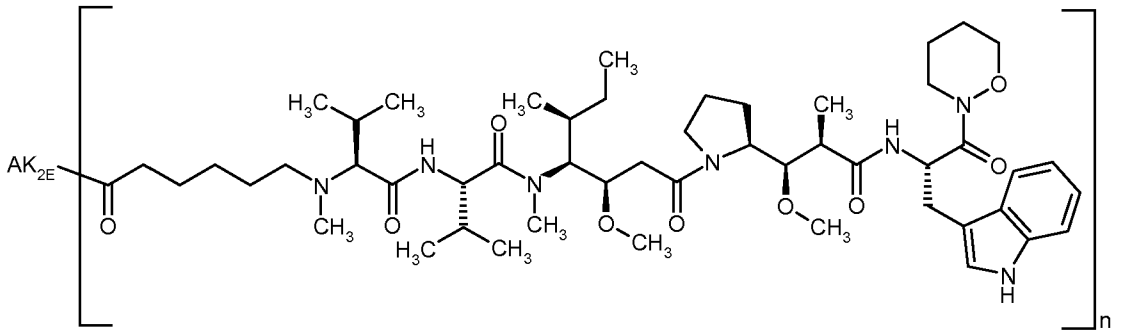


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 4 mg GAL-FR21-mIgG1 in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt mit PBS.

Protein Konzentration: 1.63 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 8.7

Beispiel 17



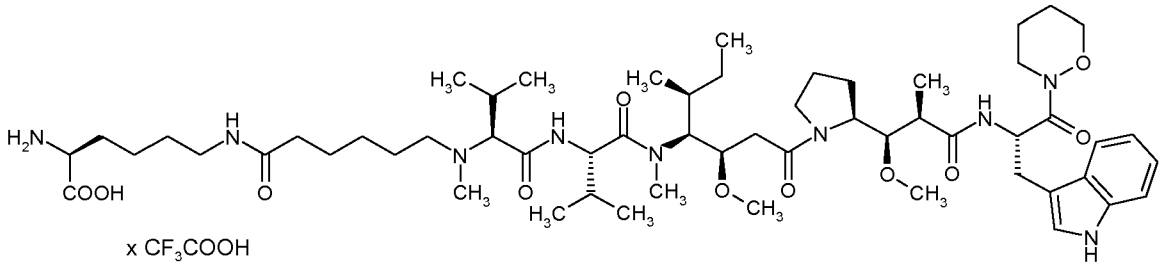
Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 4 mg GAL-FR22-mIgG2a in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt mit PBS.

Protein Konzentration: 1.60 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 8.1

Beispiel 18

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



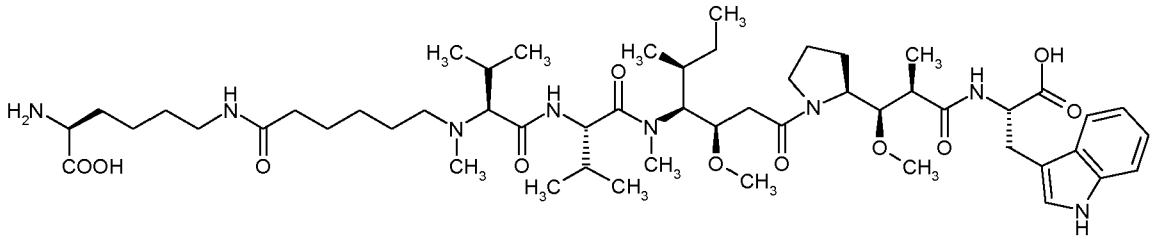
15.5 mg (15 µmol) von Intermediat 210 wurden in 5 ml DMF aufgenommen und mit 4.4 mg (18 µmol) N^2-(tert.-Butoxycarbonyl)-L-lysin sowie 7.7 µL (44 µmol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde dann mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 14 mg (81% d.Th.) des geschützten Intermediats der Titelverbindung erhalten, das anschließend in 1 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 1 ml Trifluoressigsäure entschützt wurde. Der Ansatz wurde eingeengt und nach Lyophilisation des Rückstands aus Acetonitril/Wasser (1:1) wurden 15 mg (97% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.8 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.79 min; MS (ESIpos): m/z = 1083 $(M+H)^+$.

Beispiel 19

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



40 mg (40 µmol) von Intermediat 227 wurden in 5 ml DMF aufgenommen und mit 11.5 mg (40 µmol) N^2-[(Benzyloxy)carbonyl]-L-lysin sowie 13 µL (80 µmol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt, anschließend im Vakuum eingeengt und dann mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 32.5 mg (70% d.Th.) des geschützten Intermediats der Titelverbindung erhalten.

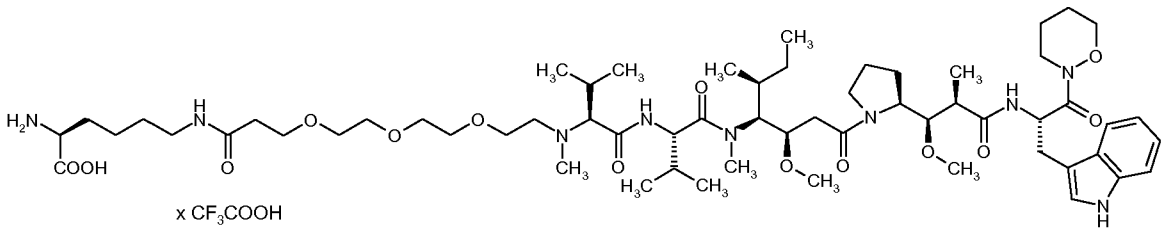
32.5 mg dieses Intermediats wurden in 10 ml Methanol gelöst und nach Zugabe von 2 mg 10%-igem Palladium auf Aktivkohle 30 min lang bei RT unter Wasserstoff-Normaldruck hydriert. Der Katalysator wurde danach abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Nach Lyophilisation des Rückstandes aus Dioxan/Wasser 1:1 wurden 26 mg (99% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.76 min; MS (ESIpos): m/z = 1014 $(M+H)^+$.

Beispiel 20

N-[(18S)-18-Amino-18-carboxy-12-oxo-3,6,9-trioxa-13-azaoctadec-1-yl]-N-methyl-L-valyl-N-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-3-{[(2S)-3-(1H-indol-3-yl)-1-(1,2-oxazinan-2-yl)-1-oxopropan-2-yl]amino}-1-methoxy-2-methyl-3-oxopropyl]pyrrolidin-1-yl}-3-methoxy-5-methyl-1-oxoheptan-4-yl]-N-methyl-L-valinamid-Trifluoracetat



3.5 mg (3 µmol) von Intermediat 202 wurden in 2 ml DMF aufgenommen und mit 0.8 mg (3 µmol) N^2-(tert.-Butoxycarbonyl)-L-lysin sowie 1.6 µL (10 µmol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde in Acetonitril/Wasser (1:1) aufgenommen, mit Trifluoressigsäure auf pH 2 gebracht und dann mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurde 1 mg (25% d.Th.) des geschützten

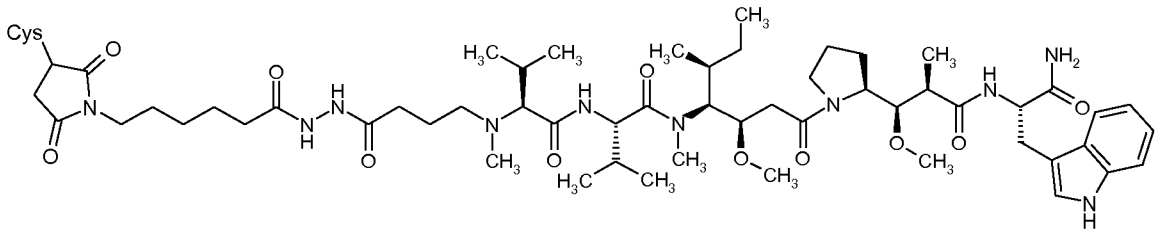
Intermediats der Titelverbindung erhalten, das anschließend in 500µl Dichlormethan aufgenommen und mit 500µl Trifluoressigsäure entschützt wurde. Der Ansatz wurde eingeengt und nach Lyophilisation des Rückstands aus Acetonitril/Wasser (1:1) wurde 1 mg (89% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.9 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.82 min; MS (ESIpos): m/z = 1173 $(M+H)^+$.

Beispiel 21

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



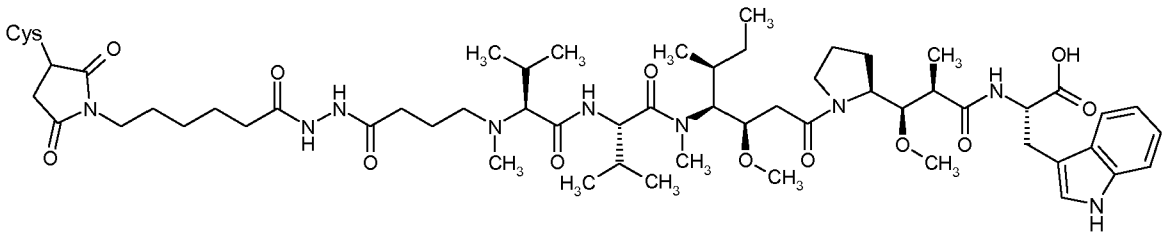
10 mg (10µmol) von Intermediat 157 wurden in 5.2 ml DMF aufgenommen und mit 2.28 mg (20 µmol) L-Cystein versetzt.Das Reaktionsgemisch wurde 2 h bei RT gerührt, anschließend im Vakuum eingeengt und dann mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 5.8 mg (48% d.Th. der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.45 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.74 min; MS (ESIpos): m/z = 1184 $(M+H)^+$.

Beispiel 22

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



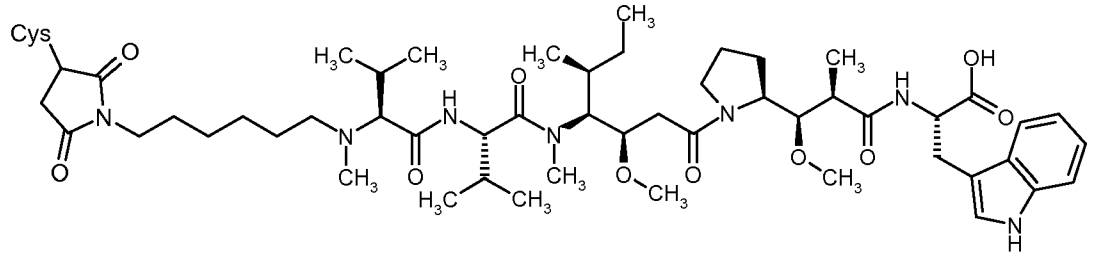
10 mg (10µmol) von Intermediat 113 wurden in 5.2 ml DMF aufgenommen und mit 2.28 mg (20 µmol) L-Cystein versetzt.Das Reaktionsgemisch wurde 2 h bei RT gerührt, anschließend im Vakuum eingeengt und dann mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 6 mg (54% d.Th. der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.5 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.77 min; MS (ESIpos): m/z = 1185 $(M+H)^+$.

Beispiel 23

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



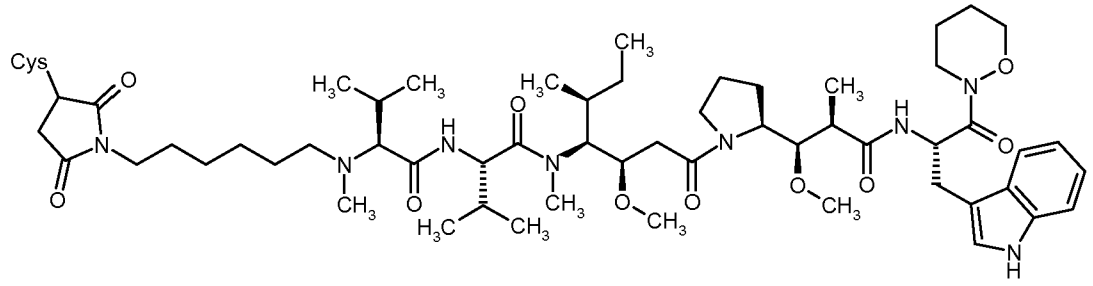
10 mg (10 µmol) von Intermediat 124 wurden in 4 ml DMF aufgenommen und mit 2.5 mg (20 µmol) L-Cystein versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2h bei RT gerührt, anschließend im Vakuum eingeengt und dann mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 7.2 mg (64% d.Th. der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.6 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.8 min; MS (ESIpos): m/z = 1071 $(M+H)^+$.

Beispiel 24

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

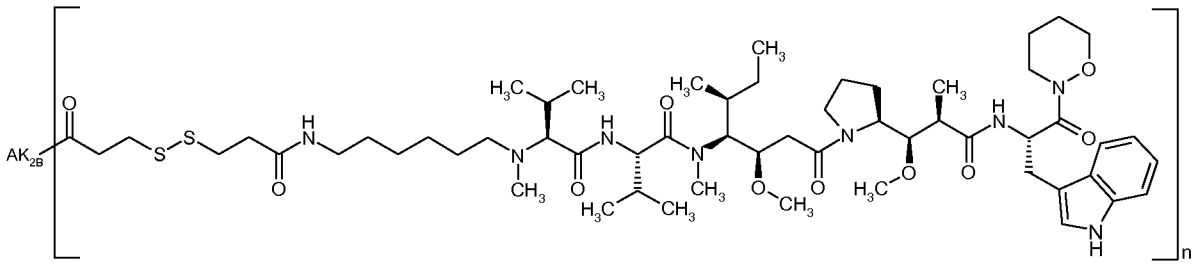


10 mg (10 µmol) von Intermediat 125 wurden in 4 ml DMF aufgenommen und mit 2.4 mg (20 µmol) L-Cystein versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2h bei RT gerührt, anschließend im Vakuum eingeengt und dann mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wurden 7.7 mg (69% d.Th. der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 5): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 2): R_t = 1.91 min; MS (ESIpos): m/z = 1140 $(M+H)^+$.

Beispiel 25

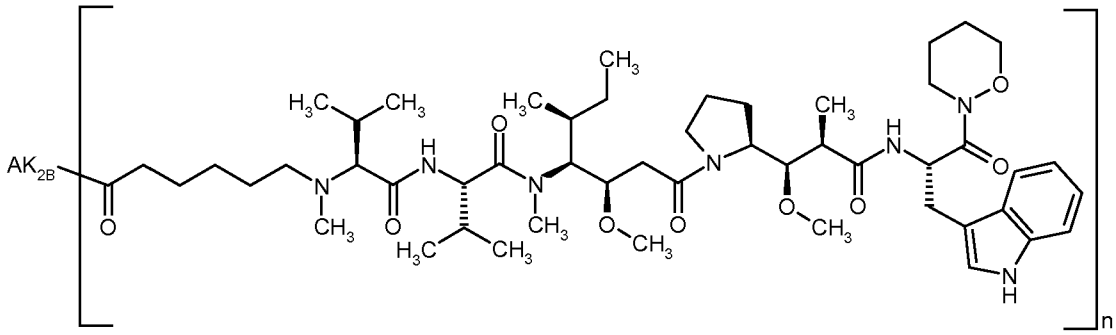


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg M048-D01-hIgG1-b in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.27 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 1.0

Beispiel 26

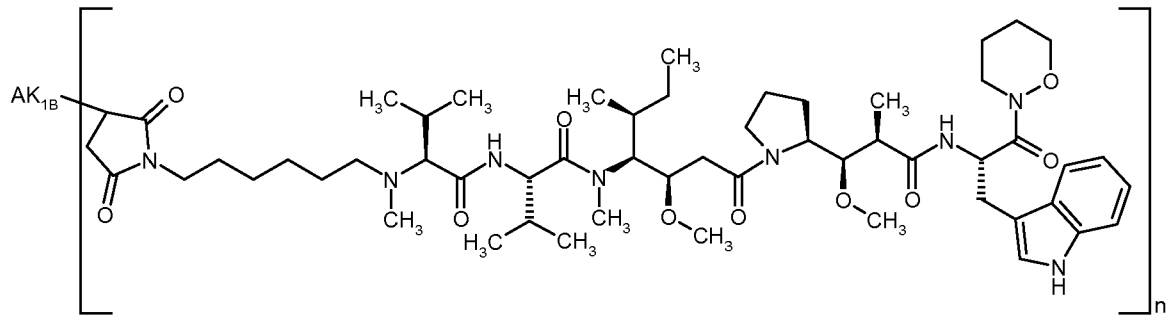


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 35 mg M048-D01-hIgG1-b in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert, rückverdünnt mit PBS und erneut aufkonzentriert.

Protein Konzentration: 11.60 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 3.7

Beispiel 27

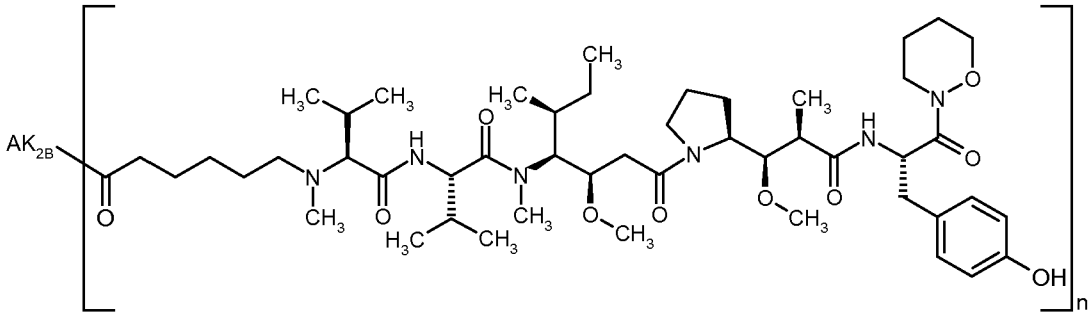


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 35 mg M048-D01-hIgG1-b in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert, rückverdünnt mit PBS und erneut aufkonzentriert.

Protein Konzentration: 11.7 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 4.2

Beispiel 28

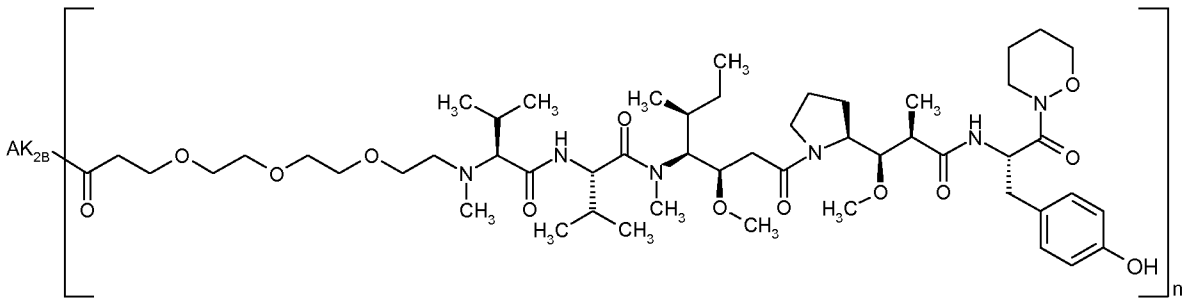


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg M048-D01-hIgG1-b in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt mit PBS.

Protein Konzentration: 1.31 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 3.7

Beispiel 29

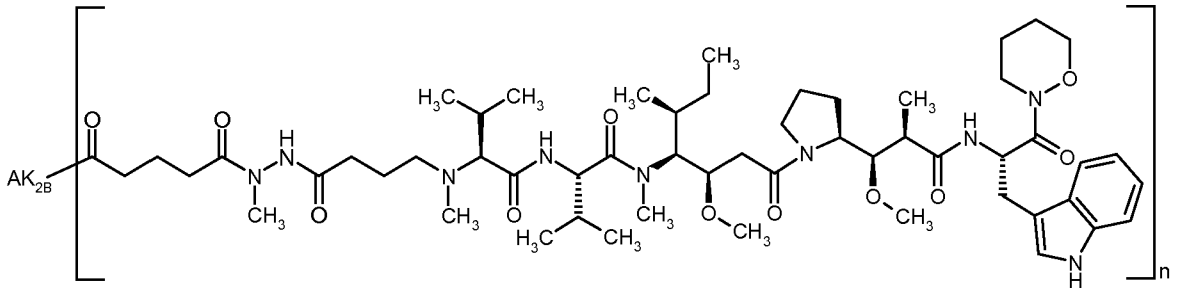


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg M048-D01-hIgG1-b in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt mit PBS.

Protein Konzentration: 1.53 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 1.3

Beispiel 30

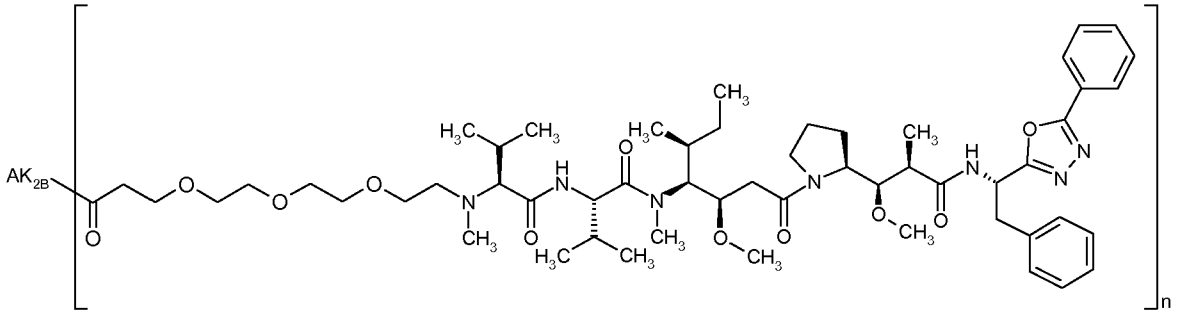


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg M048-D01-hIgG1-b in PBS und der Ansatz wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.61 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 3.9

Beispiel 31

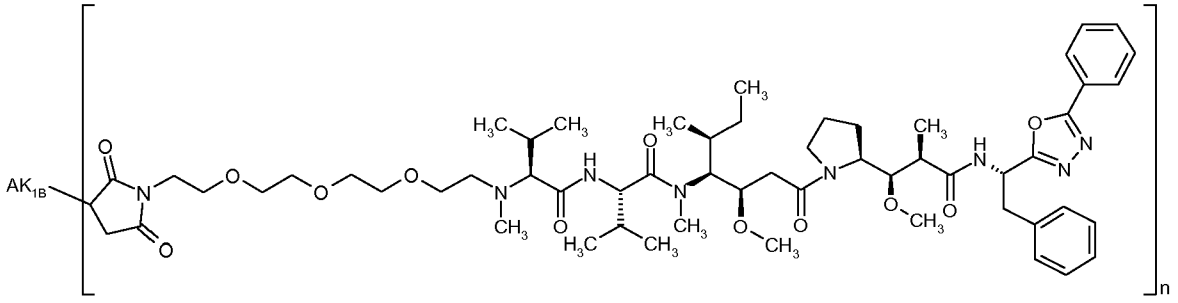


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg M048-D01-hIgG1-b in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.32 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 1.7

Beispiel 32

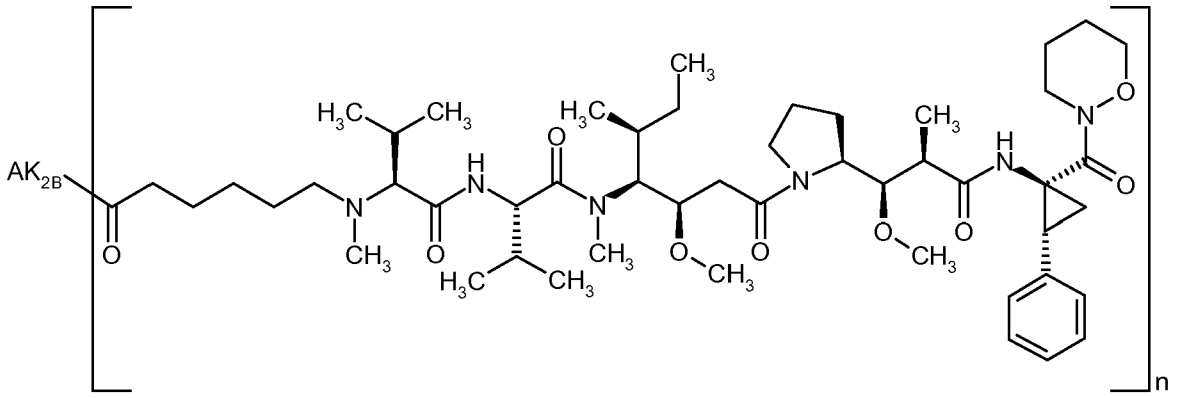


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg M048-D01-hIgG1-b in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.12 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 0.2

Beispiel 33

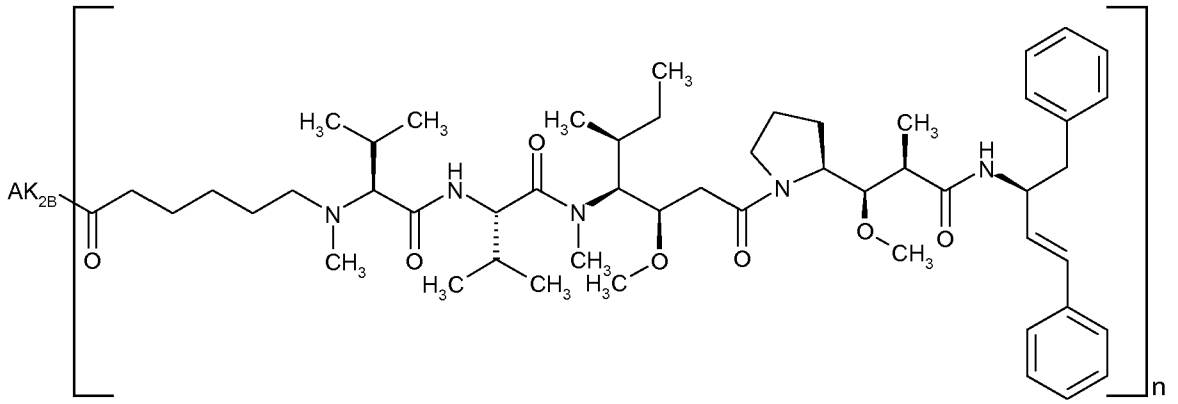


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg M048-D01-hIgG1-b in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.29 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 5.5

Beispiel 34

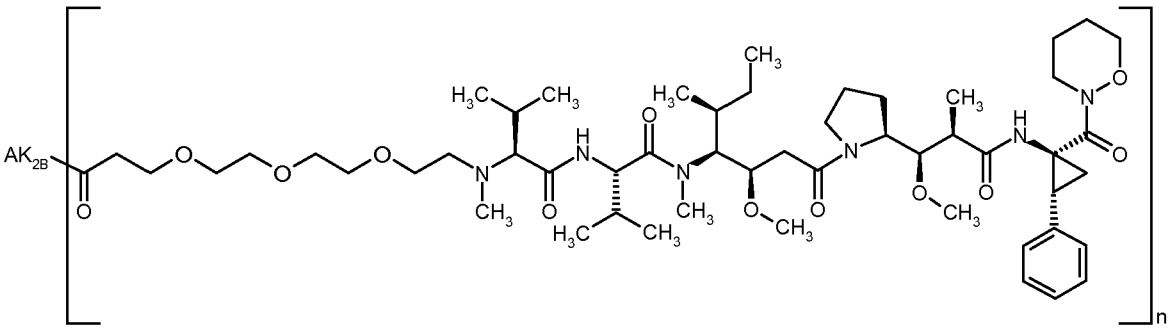


Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg M048-D01-hIgG1-b in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.04 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 0.5

Beispiel 35



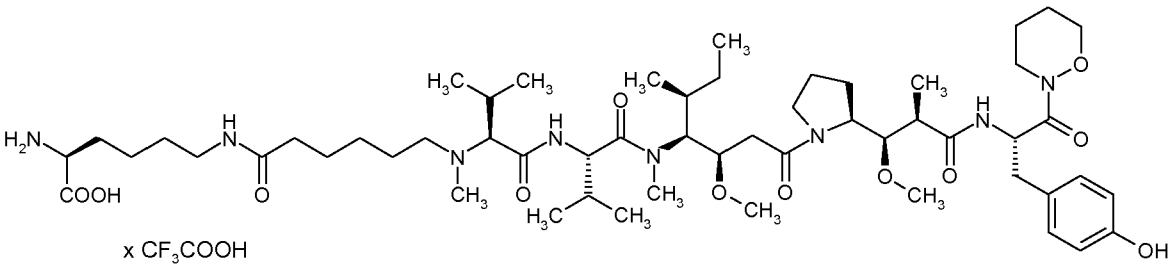
Eingesetzt wurden hier zur Kupplung 5 mg M048-D01-hIgG1-b in PBS und das Reaktionsgemisch wurde nach der Sephadex-Reinigung durch Ultrazentrifugation aufkonzentriert und rückverdünnt.

Protein Konzentration: 1.66 mg/ml

Drug/mAb Ratio: 3.4

Beispiel 36

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



8 mg (8 µmol) von Intermediat 242 wurden in 3 ml DMF aufgenommen und mit 2.9 mg (12 µmol) N^2-(tert.-Butoxycarbonyl)-L-lysin sowie 2.7 µL (16 µmol) *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt, dann nochmals mit den gleichen Mengen N^2-(tert.-Butoxycarbonyl)-L-lysin und *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt und dann weitere 4h bei RT

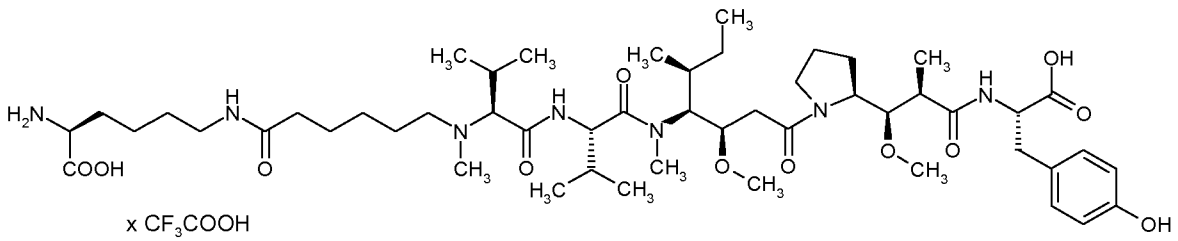
gerührt. Anschließend wurde der Ansatz im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde dann mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation aus Acetonitril/Wasser wurden 6.5 mg (72% d.Th.) des geschützten Intermediats der Titelverbindung erhalten, das anschließend in 5 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 0.75 ml Trifluoressigsäure entschützt wurde. Der Ansatz wurde eingeengt und nach Lyophilisation des Rückstands aus Dioxan/Wasser wurden 5 mg (76% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.7 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.69 min; MS (ESIpos): m/z = 1059 $(M+H)^+$.

Beispiel 37

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



38 mg (41 µmol) von Intermediat 248 wurden zunächst in den N-Hydroxysuccinimid-ester überführt. 72 mg des erhaltenen Rohproduktes wurden in 5 ml DMF aufgenommen und mit 24 mg (100 µmol) N^2-(tert.-Butoxycarbonyl)-L-lysin sowie 23 µL *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei RT gerührt, dann nochmals mit 16 mg N^2-(tert.-Butoxycarbonyl)-L-lysin und 12 µL *N,N*-Diisopropylethylamin versetzt und anschließend weitere 2h im Ultraschallbad behandelt. Dann wurde der Ansatz im Vakuum eingeengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC gereinigt. Nach Lyophilisation aus Acetonitril/Wasser wurden 20 mg (50% d.Th.) des geschützten Intermediats der Titelverbindung erhalten.

15 mg (12 µmol) von diesem Intermediat wurden anschließend in 3 ml Dichlormethan aufgenommen und mit 1 ml Trifluoressigsäure versetzt. Nach 40 min Rühren bei RT wurden weitere 1.5 ml Trifluoressigsäure zugegeben und der Ansatz 1 h im Ultraschallbad behandelt. Danach wurde der Ansatz eingeengt und nach Lyophilisation des Rückstands aus Dioxan/Wasser wurden 13 mg (90% d. Th.) der Titelverbindung erhalten.

HPLC (Methode 12): R_t = 1.5 min;

LC-MS (Methode 1): R_t = 0.68 min; MS (ESIpos): m/z = 990 $(M+H)^+$.

5

C: Bewertung der biologischen Wirksamkeit

Die biologische Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen wurde durch die nachstehend beschriebenen Assays gezeigt:

C-1. Identifizierung von Tumorzellen mit unterschiedlichen FGFR2 Spiegeln an der Zelloberfläche

Zur Bestimmung der für den Antikörper zugänglichen Mengen an FGFR2 auf der Zelloberfläche wurde die Zellbindung des FGFR2-Antikörpers auf unterschiedlichen Tumorzelllinien in der Durchflusszytometrie analysiert. Folgende Zelllinien wurden für die Experimente verwendet. Die Informationen zu Mutationen und Kopienzahl des FGFR2 stammen aus dem Sanger Center Genome Project:

- **SNU-16** humane Magenkarzinomzellen, FGFR2 Genamplifikation (Kopienzahl 14; ATCC-CRL-5974, RPMI 1640 (Biochrom FG1215) + 10% FCS

- **KatoIII** humane Magenkarzinomzellen, FGFR2 Genamplifikation (Kopienzahl 14 ATCC-TCP-1008; Iscove's (Biochrom FG0465) + 20% FCS

- **SUM52-PE** humane Brustkrebszellen, FGFR2 Genamplifikation (Kopienzahl 14; Asterand Lot-Nr: 28062A1-6004; Ham's F12 (Biochrom FG0815) + 5% FCS + 10 mM Hepes Puffer + 1 µg/ml Hydrocortison + 5 µg/ml Insulin

- **MFM-223** humane Brustkrebszellen, FGFR2 Genamplifikation (Kopienzahl 14; ECACC-98050130, MEM Earle (Biochrom F0315) + 10% FCS + 2mM Glutamin

- **NCI-H716** humane Kolorektales Karzinomzellen, FGFR2 Genamplifikation (Kopienzahl: 8; ATCC-CCL-251; RPMI 1640 (Biochrom FG1215) + 10% FCS)

- **MDA-MB-231** humane Brustkrebszellen (keine FGFR2 Genamplifikation, Kopienzahl 3; ATCC-HTB-26, DMEM / HAM´s F12 (Biochrom FG4815) + 10% FCS

Für die Experimente wurden adhärente Zellen zweifach mit PBS (ohne Calcium (Ca^{2+})- und Magnesium (Mg^{2+})-Ionen gewaschen und mit enzymfreiem, PBS basiertem Zelldissoziationspuffer (Invitrogen) abgelöst. Ungefähr 1 x 10^5 Zellen je Well wurden in FACS Puffer (PBS ohne Ca^{2+} und Mg^{2+} mit 3% FCS (Biochrom)) suspendiert, anschließend zentrifugiert (250g, 5 min, 4°C) und der Überstand wurde verworfen. Die Zellen wurden in Antikörperverdünnungen (5 µg/ml in 80 µl) in FACS Puffer resuspendiert und für 1h auf Eis inkubiert. Als nächstes wurden die Zellen einmal mit

100µl kaltem FACS Puffer gewaschen und 80 µl 1:150 verdünnter Sekundärantikörper (PE-gekoppeltes Goat Anti-Mouse IgG, Jackson Immuno Research #115-115-164 für GAL-FR21-mIgG1 bzw. GAL-FR22-mIgG2a und PE-gekoppeltes ZiegeAnti-Human IgG, Dianova #109-115-098 für M048-D01-hIgG1) wurden hinzugefügt.

Nach Inkubation für 1h auf Eis wurden die Zellen wiederum mit kaltem FACS Puffer gewaschen, in 100 µl FACS Puffer resuspendiert und im Durchflusszytometer FACS-Array (BD Biosciences) analysiert. Die Ergebnisse wurden berechnet als geometrischer Mittelwert der Zellpopulation detektiert mit FGFR2-Antikörper abzüglich der Hintergrundfluoreszenz, die durch Inkubation der Zellpopulation nur mit dem Sekundärantikörper gemessen wurde. Die Werte wurden nach folgendem System ausgewertet: Geometrischer Mittelwert FGFR2-Antikörper minus geometrischer Mittelwert nur Sekundärantikörper >10 +, >100 ++, >1000 +++, > 10000 ++++, -: kein Signal. Werte in der Nähe der Kategoriegrenzen werden mit () gekennzeichnet.

Die Bindung von FGFR2-Antikörpern an Tumorzellen ist in Tabelle 4 angegeben:

Tabelle 4

	M048-D01-hIgG1	GAL-FR21-mIgG1	GAL-FR22-mIgG2a
MFM-223	+++	+++	+++
SNU-16	++(+)	++(+)	++
MDA-MB-231	-	nd[1)]	nd[1)]

[1)] nd: nicht bestimmt

Die FGFR2-Antikörper detektieren FGFR2 an der Zelloberfläche von MFM-223 und SNU-16 Krebszellen.

C-2. Bestimmung der cytotoxischen Wirkung der gegen FGFR2 gerichteten ADCs

Die cytototoxische Wirkung der FGFR2-ADCs wurde auf verschiedenen Zelllinien mit unterschiedlichen Expressionsmengen von FGFR2 wie folgt bestimmt:

Die Kultivierung der Zellen erfolgte nach Standardmethode, mit den unter C-1 angegebenen Wachstumsmedien. Zur Durchführung wurden die Zellen mit einer Lösung von Trypsin (0.05%) und EDTA (0.02%) in PBS (Biochrom AG #L2143) abgelöst, pelletiert, in Kulturmedium resuspendiert, gezählt und in eine 96-Loch Kulturplatte mit weissem Boden (Costar #3610) ausgesät (in 75µl/Loch, folgende Zellzahlen je Loch: SNU-16: 3000; MFM-223: 7000; MDA-MB-231: 4000; SUM52-PE: 3000; NCI-H716: 3000; KatoIII: 3000) und im Brutschrank bei 37°C und 5% Kohlendioxid

inkubiert. Nach 24h wurden die Antikörper-Wirkstoffkonjugate in 25µl Kulturmedium (vierfach konzentriert) auf die Zellen gegeben, so dass finale Konzentrationen der Antikörper-Wirkstoffkonjugate von 3 x 10^{-7} M bis 3 x 10^{-11} M auf den Zellen erreicht wurden (Triplikate). Anschließend wurden die Zellen im Brutschrank bei 37°C und 5% Kohlendioxid inkubiert. In einer parallelen Platte wurde die Zellvitalität zu Beginn der Wirkstoffbehandlung (Tag 0) mit dem Cell Titer Glow Luminescent Cell Viability Assay (Promega #G7573 und #G7571) bestimmt. Dazu wurden pro Zellansatz 100µl des Substrats hinzugefügt, die Platten anschließend mit Alufolie abgedeckt, für 2 Minuten mit dem Plattenschüttler bei 180 rpm geschüttelt, für 8 Minuten auf der Laborbank stehen gelassen und dann mit einem Luminometer (Victor X2, Perkin Elmer) gemessen. Das Substrat detektiert den ATP-Gehalt in den lebenden Zellen, wobei ein Lumineszenz Signal erzeugt wird, dessen Höhe direkt proportional zur Vitalität der Zellen ist. Nach 72h Inkubation mit den Antikörper-Wirkstoffkonjugaten wurde nun auch in diesen Zellen die Vitalität mit dem Cell Titer Glow Luminescent Cell Viability Assay wie oben beschrieben bestimmt. Aus den gemessenen Daten wurde die IC_{50} der Wachstumshemmung im Vergleich zum Tag 0 mit der Laborsoftware MTS (entwickelt durch Schering AG und Bayer Business Services 1999-2009) anhand einer 4-Parameter Anpassung berechnet.

In der folgenden Tabelle 5 sind die IC_{50}-Werte [1)] repräsentativer Ausführungsbeispiele aus diesem Assay aufgeführt:

Tabelle 5

Beispiel	SNU-16, IC50, 72 hr [nM]	MFM-223, IC50, 72 hr [nM]	MDA-MB-231, IC50, 72 hr [nM]	SUM52-PE, IC50, 72 hr [nM]	NCI-H716, IC50, 72 hr [nM]	KatoIII, IC50, 72 hr [nM]
1	0.214	0.0907	>300			
2	1.19	0.86	>300			
3	0.15	0.195	>300			
4	0.567	1.47	>300			
5	0.496	4.00	>300			
6	0.497	6.85	>300			
7	0.209	0.628	>300			
8	2.06	8.67	256			
9	2.05	4.78	230			

10	0.519	10.3	>300			
11	0.614	0.581	80.9			
12	0.389	0.145	>300			
13	0.254	0.431	6.61			
14	0.914	1.91	67.5			
15	16.6	16.9	>300			
16	<0.03	0.0788	>300			
17	0.0616	0.278	>300			
26	0.455	na	>248	<0.097	4.69	na
27	0.159	0.109	>248	<0.053	0.517	0.198
28	0.277	na	na	0.101	na	na
29	1.70	na	na	0.106	na	na
30	1,84	9,16	>248	0,244	na	na
31	5.88	na	na	na	na	na
32	>300	na	na	na	na	na
33	8.50	na	128	0.104	na	0.920
34	7.41	na	>248	3.37	na	na
35	na	na	>248	0.105	na	0.523

[1)] Die angegebenen Wirkdaten beziehen sich auf die im vorliegenden experimentellen Teil beschriebenen Ausführungsbeispiele mit den angegebenen Drug/mAB-Quotienten. Die Werte können bei anderen Drug/mAB-Quotienten gegebenenfalls abweichen.

Das Ausführungsbeispiel 1 hemmte die Proliferation der SNU-16 und MFM-223 Krebszelllinien, die FGFR2 an der Zelloberfläche exprimiert, mit einer IC50 im subnanomolaren Konzentrationsbereich. Das Ausführungsbeispiel 1 hemmte die Proliferation der MDA-MB-231 Krebszelllinie, die FGFR2 nicht an der Zelloberfläche exprimieren, mit einer IC50 von 300 nM. Wie aus den Daten hervorgeht, hemmen alle getesteten Antikörper-Wirkstoffkonjugate (Ausführungsbeispiele 1-31, 33-35) selektiv die Proliferation von FGFR2-exprimierenden Krebszelllinien (SNU-16, MFM-223, SUM52-PE, KatoIII oder NCI-H716).

C-3. Bestimmung des Einflusses auf die Tubulinpolymerisation

Krebszellen sind entartete Zellen, die häufig auch durch eine gesteigerte Zellteilung zu einer Tumorbildung führen. Microtubuli bilden die Spindelfasern des Spindelapparates und sind ein essentieller

Bestandteil des Zellzyklus. Der geregelte Auf- und Abbau von Microtubuli ermöglicht die genaue Aufteilung der Chromosomen auf die Tochterzellen und stellt einen kontinuierlich dynamischen Prozess dar. Eine Störung dieser Dynamik führt zu einer fehlerhaften Zellteilung und letztlich zum Zelltod. Die gesteigerte Zellteilung von Krebszellen macht diese jedoch auch besonders empfänglich gegenüber Spindelfasergiften, die einen festen Bestandteil der Chemotherapie darstellen. Spindelfasergifte wie Paclitaxel oder Epothilon führen zu einer stark erhöhten Polymerisationsgeschwindigkeit der Microtubuli, während Vinca-Alkaloide oder auch Monomethylauristatin E (MMAE) zu einer stark reduzierten Polymerisationsgeschwindigkeit der Microtubuli führen. In beiden Fällen ist die notwendige Dynamik des Zellzyklus empfindlich gestört.

Zur Untersuchung der Tubulinpolymerisation wurde das "Fluorescence-based Microtubule Polymerisation Assay Kit" der Firma Cytoskeleton (Denver, Colorado, USA; Bestellnummer: BK011) verwendet. Bei diesem Assay wird unpolymerisiertem Tubulin GTP zugesetzt, womit die Polymerisation spontan stattfinden kann. Der Assay beruht auf der Bindung des Fluorophors 4',6-Diamidino-2-phenylindol (DAPI) an Tubulin. Freies und gebundenes DAPI können aufgrund unterschiedlicher Emissionsspektra differenziert werden. Da DAPI eine deutlich höhere Affinität gegenüber polymerisiertem im Vergleich zu nicht-polymerisiertem Tubulin zeigt, läßt sich die Tubulinpolymerisation über die Zunahme der Fluoreszenz gebundener DAPI-Fluorophore verfolgen.

Zur Durchführung dieses Assays wurden die in DMSO gelösten erfindungsgemäßen Verbindungen von ihrer Ausgangskonzentration von 10 mM auf 1 µM in Wasser verdünnt. Neben der Puffer-Kontrolle wurde als Assay-Kontrolle auch polymerisationssteigernd Paclitaxel und andererseits polymerisationshemmend Vinblastin mitgeführt. Für die Messung wurden 96-well-Lochplatten mit halber Bodenfläche verwendet. Die Kinetik der Tubulinpolymerisation wurde 1 h lang bei 37°C in einem Fluorimeter verfolgt. Die Anregungswellenlänge betrug 355 nm, die Emission wurde bei 460 nm verfolgt. Für den Bereich des linearen Anstiegs innerhalb der ersten 10 Minuten wurde die Fluoreszenzänderung pro Minute (ΔF/min) berechnet, welche die Polymerisationsgeschwindigkeit der Microtubuli darstellt. Die Potenz der Testsubstanzen wurde anhand der jeweiligen Reduktion der Polymerisationsgeschwindigkeit quantifiziert. In der folgenden Tabelle 6 sind Daten zum Einfluss repräsentativer Ausführungsbeispiele auf die Tubulinpolymerisation aufgeführt:

Tabelle 6: Blockade der Tubulin Polymerisation durch ausgewählte Beispiele der Toxophor Varianten .

Ausführungs-beispiel	Konzentration Toxophor [µM]	Tubulinpolymerisation in Gegenwart von Toxophor in [%]. Tubulin-polymerisationsgeschwindigkeit bei 1µM MMAF gesetzt auf 100%
MMAF	1	100
MMAF	10	34
MMAF	100	0
18	1	45
18	10	1
19	1	80
19	10	14
20	1	60
20	10	0
21	1	88
21	10	25
22	1	109
22	10	27
24	1	121
24	10	35
36	1	88
36	10	21
37	1	90
37	10	17

Das Toxophor MMAF und die Ausführungsbeispiele hemmen konzentrationsabhängig die Tubulinpolymerisation. Bei 100 µM MMAF ist die Tubulinpolymerisation vollständig gehemmt. Die im Rahmen der vorliegenden Erfindung untersuchten Verbindungen führen zu einer reduzierten Polymerisationsgeschwindigkeit der Microtubuli. Die Ausführungsbeispiele 18 – 21 hemmen die Tubulinpolymerisation bei 1 µM auf 45-88 % des Wertes der bei 1 µM MMAF gemessen wird.

C-4. In vitro Tests zur Bestimmung der Zell-Permeabilität

Die Zell-Permeabilität einer Substanz kann mittels *in vitro*-Testung in einem Flux-Assay unter Verwendung von Caco-2-Zellen untersucht werden [M.D. Troutman und D.R. Thakker, *Pharm. Res.* 20 *(8)*, 1210-1224 (2003)]. Hierzu wurden die Zellen auf 24-Loch-Filterplatten für 15-16 Tage kultiviert. Zur Bestimmung der Permeation wurde das jeweilige Ausführungsbeispiel in einem HEPES-Puffer entweder apikal (A) oder basal (B) auf die Zellen gegeben und für 2 h inkubiert. Nach 0 h und nach 2 h wurden Proben aus den Cis- und Transkompartimenten entnommen. Die Proben wurden mittels HPLC (Agilent 1200, Böblingen, Deutschland) unter Verwendung von reverse phase-Säulen aufgetrennt. Das HPLC-System war über ein Turbo Ion Spray-Interface an ein Triple Quadropol-Massenspektrometer API 4000 (Applied Biosystems Applera, Darmstadt, Deutschland) gekoppelt. Die Permeabilität wurde anhand eines P_{app}-Wertes bewertet, welcher mittels der von Schwab *et al.* publizierten Formel berechnet wurde [D. Schwab *et al.*, *J. Med. Chem.* 46, 1716-1725 (2003)].

Von entscheidender Bedeutung für Toxophore, die intrazellulär freigesetzt werden, ist die Permeabilität von B nach A [P_{app} (B-A)]: Je niedriger diese Permeabilität ist, desto länger ist die Verweilzeit des Ausführunsbeispiels in der Zelle nach intrazellulärer Freisetzung und damit auch die Zeit, die für eine Interaktion mit dem biochemischen Target (hier: Tubulin) zur Verfügung steht.

In der folgenden Tabelle 7 sind Permeabilitätsdaten repräsentativer Ausführungsbeispiele aus diesem Assay aufgeführt:

Tabelle 7

Ausführungsbeispiel	**P_{app} (B-A) [nm/s]**
18	2
19	1
21	2
22	2
23	1
36	1.5

Ausführungsbeispiel	P_{app} (B-A) [nm/s]
37	0.9

Die Ausführungsbeispiele weisen eine niedrige Permeabilität von B nach A [P_{app} (B-A) auf und haben daher eine lange Verweildauer in den CaCo-2-Zellen. Im Vergleich hierzu weisen Monomethylauristatin E (MMAE) und Monomethylauristatin F (MMAF) in diesem Test einen P_{app} (B-A)-Wert von 73 nm/s auf und haben damit eine deutlich kürzere Verweildauer in den Caco-2 Zellen.

C-5. In vitro Tests zur Bestimmung der Substrateigenschaften für P-Glycoprotein (P-gp)

Viele Tumorzellen exprimieren Transporterproteine für Wirkstoffe, was häufig mit einer Resistenzentwicklung gegenüber Cytostatika einhergeht. Substanzen, die keine Substrate von solchen Transporterproteinen wie beispielsweise P-Glycoprotein (P-gp) oder BCRP sind, könnten somit ein verbessertes Wirkprofil aufzeigen.

Die Substrateigenschaften einer Substanz für P-gp (ABCB1) wurden mittels eines Flux-Assays unter Verwendung von LLC-PK1-Zellen, die P-gp überexprimieren (L-MDR1-Zellen), bestimmt [A.H. Schinkel *et al.*, *J. Clin. Invest.* 96, 1698-1705 (1995)]. Hierzu wurden die LLC-PK1- oder L-MDR1-Zellen auf 96-Loch-Filterplatten für 3-4 Tage kultiviert. Zur Bestimmung der Permeation wurde die jeweilige Testsubstanz allein oder in Gegenwart eines Inhibitors (wie z.B. Ivermectin oder Verapamil) in einem HEPES-Puffer entweder apikal (A) oder basal (B) auf die Zellen gegeben und für 2 h inkubiert. Nach 0 h und nach 2 h wurden Proben aus den Cis- und Transkompartimenten entnommen. Die Proben wurden mittels HPLC unter Verwendung von reverse phase-Säulen aufgetrennt. Das HPLC-System war über ein Turbo Ion Spray-Interface an ein Triple Quadropol-Massenspektrometer API 3000 (Applied Biosystems Applera, Darmstadt, Deutschland) gekoppelt. Die Permeabilität wurde anhand eines P_{app}-Wertes bewertet, welcher mittels der von Schwab *et al.* publizierten Formel berechnet wurde [D. Schwab *et al.*, *J. Med. Chem.* 46, 1716-1725 (2003)].

Von entscheidender Bedeutung für Toxophore, die intrazellulär freigesetzt werden, ist die Permeabilität von B nach A [P_{app} (B-A)]: Je niedriger diese Permeabilität ist, desto länger ist die Verweilzeit des Ausführunsbeispiels in der Zelle nach intrazellulärer Freisetzung und damit auch die Zeit, die für eine Interaktion mit dem biochemischen Target (hier: Tubulin) zur Verfügung steht.

In der folgenden Tabelle 8 sind Permeabilitätsdaten repräsentativer Ausführungsbeispiele aus diesem Assay, welches in L-MDR1-Zellen durchgeführt wurde, aufgeführt:

Tabelle 8

Ausführungsbeispiel	P_{app} (B-A) [nm/s]
18	6
19	4
21	3
22	4
23	4

Die Ausführungsbeispiele weisen eine niedrige Permeabilität von B nach A [P_{app} (B-A) auf und haben daher eine lange Verweildauer in den L-MDR1-Zellen.

C-6. Pharmakokinetik im SNU-16 Tumormodell

Nach i.v. Applikation verschiedener ADCs werden die Plasma- und Tumorkonzentrationen von ADC sowie potentiell auftretenden Metaboliten gemessen und die pharmakokinetischen Parameter wie Clearance (CL), Fläche unter der Kurve (AUC) und Halbwertszeit ($t_{1/2}$) berechnet.

Analytik zur Quantifizierung der potentiell auftretenden Metabolite

Die Messung der Verbindungen in Plasma und Tumor erfolgt nach Fällung der Proteine mit Methanol durch eine Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC) gekoppelt an ein Tandem-Massenspektrometer (MS).

Zur Aufarbeitung von 100 µL Plasma werden diese mit 400 µL Methanol und 10 µL internem Standard (ISTD, 50 ng/mL in Methanol) versetzt und für 10 Sekunden geschüttelt. Nach dem 5minütigen Zentrifugieren bei 16000 g werden 250 µL Überstand in ein Autosampler-Vial überführt, mit 250 µL Ammoniumacetat-Puffer (AAC, 10 mM, pH 6.8) aufgefüllt und erneut geschüttelt.

Bei der Aufarbeitung eines Tumors wird dieser mit der 4fachen Menge an Methanol versetzt. Im Tissuelyser II (Qiagen) wird die Probe 6 Minuten bei 30 Schlägen pro Minute zerkleinert und

anschließend 5 Minuten bei 16000 g abzentrifugiert. 50 µL des Überstandes wird in ein Autosampler-Vial überführt und mit 50 µL Ammoniumacetat-Puffer (10 mM, pH 6.8), sowie 5 µL ISTD aufgefüllt. Nach erneutem Schütteln ist die Tumorprobe messfertig.

Die Messung beider Matrixproben erfolgt schließlich mit Hilfe eines HPLC gekoppelten atmospheric pressure ionization/tandem Massenspektrometer mittels TurboIonspray interface (TISP) auf einem API4000-Gerät der Firma SCIEX.

Die HPLC/LC-MSMS (TISP)-Analytik läuft auf einer HP1100-Pumpe (Agilent) mit der Säule Gemini (5µm C18 110 A, 50 x 3 mm, Phenomenex).

C-7. Wirksamkeitstest in vivo

Die Wirksamkeit der erfindungsgemäßen Konjugate wurde *in vivo* beispielsweise mittels Xenograft-Modellen getestet. Der Fachmann kennt Methoden im Stand der Technik, wie die Wirksamkeit eines erfindungsgemäßen Konjugats getestet werden kann (siehe z.B. WO 2005/081711; Polson et al., Cancer Res. 2009 Mar 15;69(6):2358-64). Beispielsweise wurden hierzu Nagern (z.B. Mäusen) eine Tumorzelllinie, welche das Zielmolekül des Binders exprimiert, implantiert. Anschließend wurde diesen Tumor-tragenden Nagern entweder ein erfindungsgemäßes Konjugat oder ein Kontrollantikörper-Konjugat oder isotonische Salzlösung appliziert. Die Applikation erfolgte einmalig oder öfters. Das Tumorwachstum wurde mittels einer Schieblehre zwei Mal wöchentlich ermittelt. Nach einem Tumorwachstum von mehreren Wochen wurde die Tumorgröße von Konjugat-behandelten Tieren und der Kontrollgruppe verglichen. Die Konjugat-behandelten Tiere zeigten eine signifikant geringere Tumorgröße.

C-7a. Testung von ADCs in experimentellen Tumoren in der Maus

Humane Tumorzellen, die FGFR2 exprimieren, wurden subkutan in die Flanke von immunsupprimierten Mäusen inokuliert, beispielsweise Nude- oder SCID-Mäusen. 1-10 Millionen Zellen werden aus der Zellkultur abgelöst, zentrifugiert und mit 100 µl Medium, 50% Medium / 50% Matrigel oder 100% Matrigel resuspendiert. Die Zellsuspension wurde unter die Haut der Maus gespritzt.

Innerhalb von einigen Tagen wuchs ein Tumor heran. Mit der Behandlung wurde frühestens bei einer Tumorgröße von 20-25 mm^2 nach Tumoretablierung begonnen.

Die Behandlung mit Konjugat erfolgte über die intravenöse Route in die Schwanzvene der Maus. Das Konjugat wurde in PBS gelöst und mit einem Volumen von 5-10 ml /kg appliziert.

Das Behandlungsschema richtete sich nach der Pharmakokinetik des Antikörpers. Als Standard wurde drei Mal in Folge jeden vierten Tag oder jeden siebten Tag behandelt. Die Behandlung kann aber auch weiter fortgesetzt werden oder es kann sich zu einem späteren Zeitpunkt ein zweiter Zyklus mit drei Behandlungstagen anschließen.

Standardmäßig wurden 8 Tiere pro Behandlungsgruppe eingesetzt. Diese Zahl kann sich erhöhen, wenn besonders starke Schwankungen beim Tumorwachstum oder nach der Behandlung zu erwarten sind. Neben den Gruppen, die die Wirksubstanzen bekommen, wurde eine Gruppe als Kontrollgruppe nur mit dem Puffer nach dem gleichen Schema behandelt.

Im Verlauf des Experiments wurde die Tumorfläche regelmäßig mit einer Schieblehre in zwei Dimensionen (Länge / Breite) gemessen. Die Tumorfläche wurde mittels der Formel Länge x Breite berechnet.

Am Ende des Experiments wurden die Tumoren entnommen und gewogen. Der Quotient der mittleren Tumorgewichte der Therapiegruppe (T) mit der Kontrollgruppe (C) wurde als T/C angegeben. Wurden Kontroll- und Behandlungsgruppen zu unterschiedlichen Zeitpunkten beendet, so wurde der T/C Wert anhand der Tumorflächen der letzten gemeinsamen Messung aller Behandlungs- und Kontrollgruppen errechnet.

C-7b. Testung von FGFR2-ADC im SNU-16 Xenograftmodell in der Maus

2 Mio SNU-16 Magenkarzinom-Zellen wurden subkutan in die Flanke von weiblichen NODscid Mäusen inokuliert.

Die intravenöse Behandlung mit den Konjugaten wurde bei einer mittleren Tumorgröße von 20-30 mm^2 begonnen. Als die Kontrollgruppen die maximal zulässige Größe erreicht hatten, wurden diese Gruppen beendet. Die Versuchsgruppen, die mit FGFR2-Konjugaten behandelt wurden, wurden beendet, als die Tumoren erneut zu wachsen begannen. Die Wirksamkeit der Konjugate wurde an Tag 31 bestimmt, dem letzten Zeitpunkt an dem die Vehikel-Kontrolle noch im Versuch war. Alle getesteten FGFR2-Konjugate hemmten Dosis-abhängig das Tumorwachstum. In der Dosis von 5 mg/kg erreichte Beispiel 1 einen T/C von 0.08, Beispiel 3 einen T/C von 0.06 und Beispiel 26 einen T/C von 0,10. Bei allen behandelten Tieren war der Tumor zu diesem Zeitpunkt kleiner als zu Behandlungsbeginn (partielle Regression des Tumors). Bei einer Dosierung von 2,5 mg/kg erreichte Beispiel 26 einen T/C von 0,14. In dieser Dosis führte Beispiel 26 in 40% der Tiere zu einer partiellen Regression. Bei der Dosierung mit 1 mg/kg erzielte Beispiel 1 einen T/C von 0.15 und Beispiel 3 von 0.36. Beispiel 1 führt auch bei dieser Dosis zu einer partiellen Regression bei allen behandelten Tieren, während bei Beispiel 3 keine partiellen Regressionen erzielt wurden. Signifikante

Anti-Tumor Wirkung im Vergleich zur Kontrolle konnte für alle getesteten Konjugate bis zu einer Dosis von 1 mg/kg erreicht werden. Die korrespondierenden Kontrollantikörper-Konjugate zeigten keinerlei Wirksamkeit in diesem Modell in den gleichen Dosen.

C7c Testung von FGFR2-ADC im MFM-223 Xenograftmodell in der Maus

10 Mio MFM-223 Brustkarzinom-Zellen wurden subkutan in die Flanke von weiblichen NMRI nu/nu Mäusen inokuliert. Diese Mäuse wurden zuvor mir Estradiol-Pellets supplementiert.

Die intravenöse Behandlung mit den Konjugaten wurde bei einer mittleren Tumorgröße von 30-35 mm^2 begonnen. Als die Kontrollgruppen an Tag 40 die maximal zulässige Größe erreicht hatten, wurden alle Behandlungs-Gruppen beendet und die Tumorgewichte ermittelt. Beispiel 26 erreichte mit einer Dosis von 10 mg/kg einen T/C von 0.09, mit einer Dosis von 5 mg/kg einen T/C von 0.13 und mit einer Dosis von 1 mg/kg einen T/C von 0,26. Signifikante Anti-Tumor Wirkung im Vergleich zur Kontrolle konnte für alle drei getestetn Dosierungen erreicht werden. Das korrespondierende Kontrollantikörper-Konjugat zeigte nur in der Dosis von 10 mg/kg eine signifikante unspezifische Wirkung in diesem Modell.

C7d Testung von FGFR2-2 ADC im NCI-H716 Xenograftmodell in der Maus

1,5 Mio NCI-H716 Darmkarzinom-Zellen wurden subkutan in die Flanke von weiblichen NMRI nu/nu Mäusen inokuliert.

Die intravenöse Behandlung mit den Konjugaten wurde bei einer mittleren Tumorgröße von 25-30 mm^2 begonnen. Als die Kontrollgruppen an Tag 36 die maximal zulässige Größe erreicht hatten, wurden alle Behandlungs-Gruppen beendet und die Tumorgewichte ermittelt. Behandlung mit Beispiel 26 resultierte in signifikanter Reduktion des Tumorgewichtes und erzielte einen T/C von 0.24 bei 5 mg/kg. Das korrespondierende Kontroll-Konjugat hatte in dieser Dosis keinerlei Wirksamkeit in diesem Modell.

D. Ausführungsbeispiele für pharmazeutische Zusammensetzungen

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können folgendermaßen in pharmazeutische Zubereitungen überführt werden:

i.v.-Lösung:

Die erfindungsgemäße Verbindung wird in einer Konzentration unterhalb der Sättigungslöslichkeit in einem physiologisch verträglichen Lösungsmittel (z.B. isotonische Kochsalzlösung, D-PBS, oder einer Formulierung mit Glycin und Natriumchlorid in Citratpuffer unter Zusatz von Polysorbat 80) gelöst. Die Lösung wird steril filtriert und in sterile und pyrogenfreie Injektionsbehältnisse abgefüllt.

i.v.-Lösung:

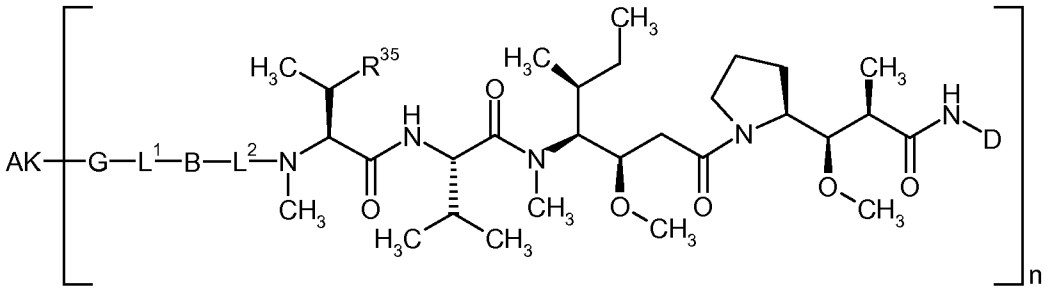
Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in die angeführten Applikationsformen überführt werden. Dies kann in an sich bekannter Weise durch „Mischen mit" bzw. „Lösen in" inerten, nichttoxischen, pharmazeutisch geeigneten Hilfsstoffen (z.B. Puffersubstanzen, Stabilisatoren, Lösungsvermittler, Konservierungsmittel) geschehen. Z.B können enthalten sein: Aminosäuren (Glycin, Histidin, Methionin, Arginin, Lysin, Leucin, Isoleucin, Threonin, Glutaminsäure, Phenylalanin und weitere), Zucker und verwandte Stoffe (Glucose, Saccharose, Mannitol, Trehalose, Sucrose, Mannose, Lactose, Sorbitol), Glycerin, Natrium-, Kalium, Ammonium-, und Calciumsalze (z.B. Natriumchlorid, Kaliumchlorid oder Dinatriumhydrogenphosphat und v.a. mehr), Acetat/Essigsäure - Puffersysteme, Phosphatpuffersysteme, Zitronensäure u. Citratpuffersysteme, Trometamol (TRIS und TRIS-Salze), Polysorbate (z.B. Polysorbat 80 und Polysorbat 20), Poloxamere (z.B. Poloxamer 188 und Poloxamer 171), Macrogole (PEG-Derivate, z.B. 3350), Triton X-100, EDTA-Salze, Glutathion, Albumine (z.B. human), Harnstoff, Benzylalkohol, Phenol, Chlorocresol, Metacresol, Benzalkoniumchlorid und viele andere mehr.

Lyophilisat zur späteren Überführung in eine i.v., s.c. oder i.m.-Lösung:

Alternativ können die erfindungsgemäßen Verbindungen in ein stabiles Lyophilisat (e.v. durch Mithilfe von oben genannten Hilfstoffen) überführt werden und vor Applikation mit einem geeigneten Lösungsmittel (z.B. Wasser für Injektionszwecke, isoton. Kochsalzlösung) rekonstituiert und appliziert werden.

Ansprüche

1. Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia)



(Ia),

in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 50 steht,

AK für einen Binder steht, der an FGFR2 bindet,

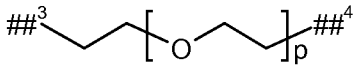
die Gruppe §-G-L^1-B-§§ für einen Linker steht,

wobei

§ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe AK kennzeichnet und

§§ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

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



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

^{3} die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

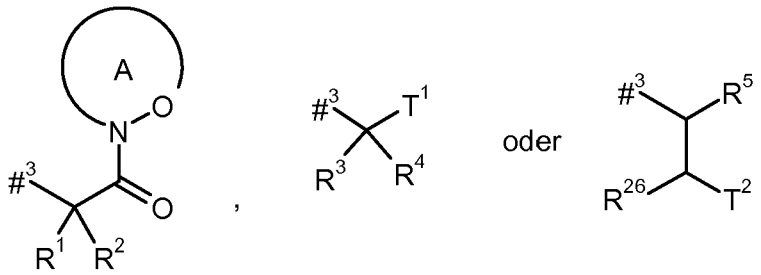
^{4} die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

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

und

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

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

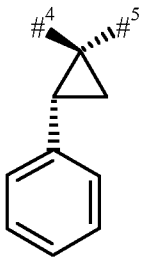
$\#^3$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^2 für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

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

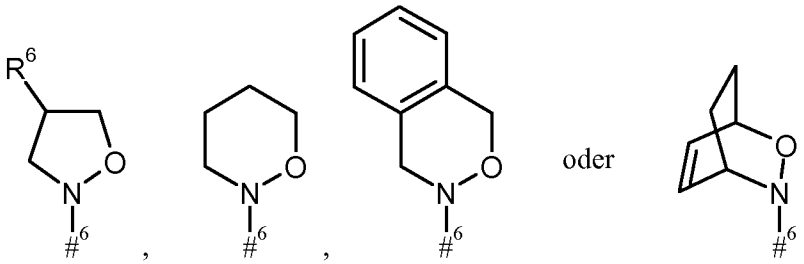


bilden, worin

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

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

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



steht, worin

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

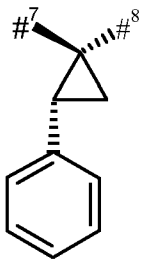
R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R^3 für Wasserstoff oder Methyl steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

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

worin

R^7 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R^8 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^9 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

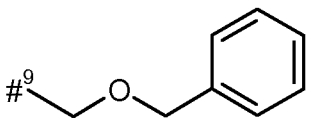
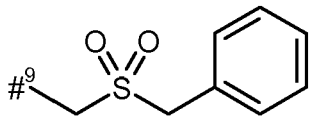
oder

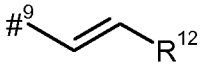
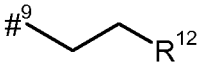
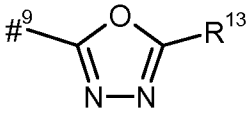
R^8 und R^9 bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R^{10} für Benzoyl steht,

R^{11} für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R^5 für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel


,

,


,

oder


steht, worin

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

R^{12} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-S(O)_2OH$ substituiert sein kann,

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

R^{26} für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

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

R^{35} für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

2. Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia) gemäß Anspruch 1, in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 50 steht,

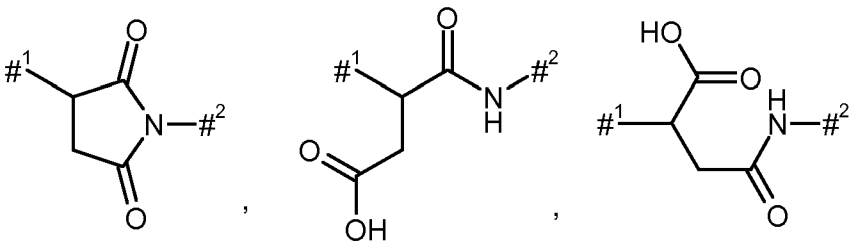
AK für AK_1 oder AK_2 steht

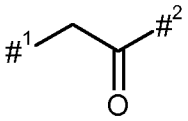
wobei

AK_1 für einen Binder steht, der an FGFR2 bindet und der über ein Schwefelatom des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

AK_2 für einen Binder steht, der an FGFR2 bindet und, der über ein Stickstoffatom des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

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



oder 

steht, wobei

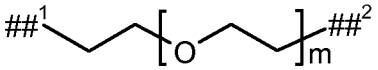
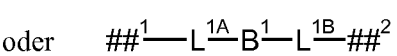
$\#^1$ die Verknüpfungsstelle mit dem Schwefelatom des Binders kennzeichnet,

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

oder

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

L^1 für eine Bindung, lineares (C_1-C_{10})-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel

 oder 

steht, wobei

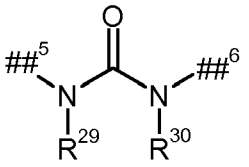
m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

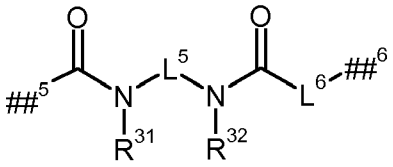
$\#\#^1$ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

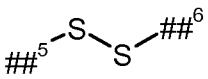
$\#\#^2$ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

L^{1A} für lineares (C_2-C_{10})-Alkandiyl steht,

B^1 für eine Gruppe der Formel



,


oder 

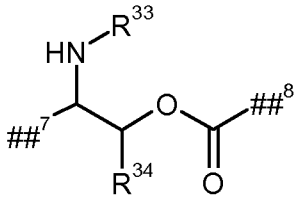
steht, worin

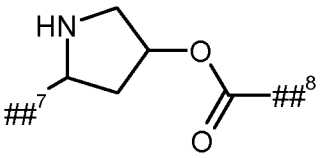
[5] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1A} kennzeichnet,

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

L^5 für eine Bindung oder $(C_2$-$C_4)$-Alkandiyl steht,

L^6 für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



oder 

steht, worin

[7] die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

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

R^{33} für Wasserstoff, $(C_1$-$C_4)$-Alkylcarbonyl, tert.-Butyloxycarbonyl oder Benzyloxycarbonyl steht,

R^{34} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{29} für Wasserstoff oder $(C_1$-$C_4)$-Alkyl steht,

R^{30} für Wasserstoff oder $(C_1$-$C_4)$-Alkyl steht,

oder

R^{29} und R^{30} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R^{31} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{32} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

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

L^{1B} für lineares (C_2-C_{10})-Alkandiyl steht,

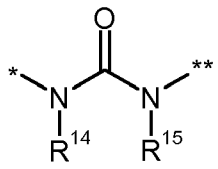
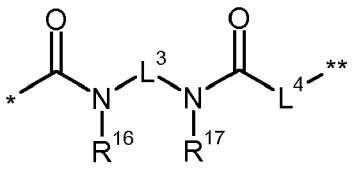
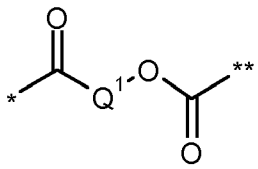
und

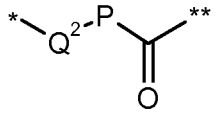
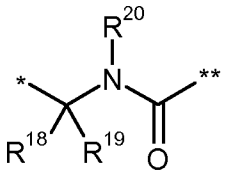
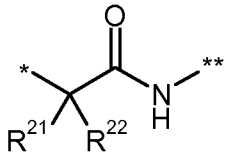
wobei (C_1-C_{10})-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substiuiert sein kann,

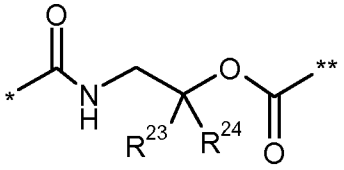
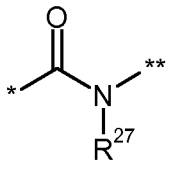
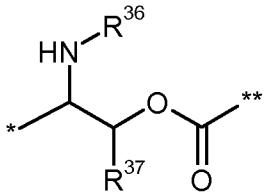
und

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

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel


,

,

,


,

,

,


,

oder


steht, wobei

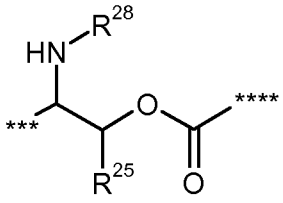
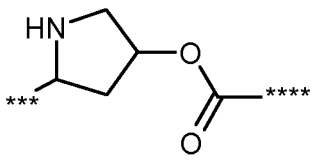
* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

P für O oder NH steht,

L^3 für eine Bindung oder $(C_2\text{-}C_4)$-Alkandiyl steht,

L^4 für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel


oder


steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

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

R^{25} für Wasserstoff oder Methyl steht,

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

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

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

R^{14} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{15} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

R^{14} und R^{15} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R^{16} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{17} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

R^{16} und R^{17} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R^{18} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{19} für Wasserstoff oder die Seitengruppe einer natürlichen α-Aminosäure oder ihrer Homologe oder Isomere steht,

R^{20} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

R^{19} und R^{20} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinylring bilden,

R^{21} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{22} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

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

R^{23} für $(C_1\text{-}C_4)$-Alkyl steht,

R^{24} für Wasserstoff oder $(C_1\text{-}C_4)$-Alkyl steht,

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

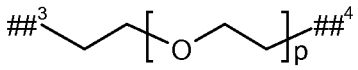
R^{36} für Wasserstoff, $(C_1\text{-}C_4)$-Alkylcarbonyl, tert.-Butyloxycarbonyl oder Benzyloxycarbonyl steht,

R^{37} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

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

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



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

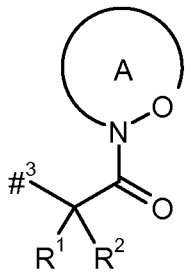
##4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

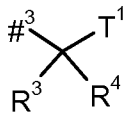
wobei $(C_2\text{-}C_{10})$-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substiuiert sein kann,

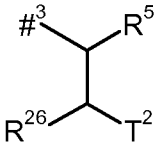
und

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

D für eine Gruppe der Formel



,


oder


steht, wobei

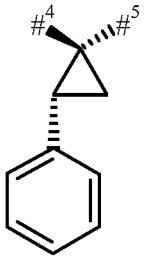
$\#^3$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^2 für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

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

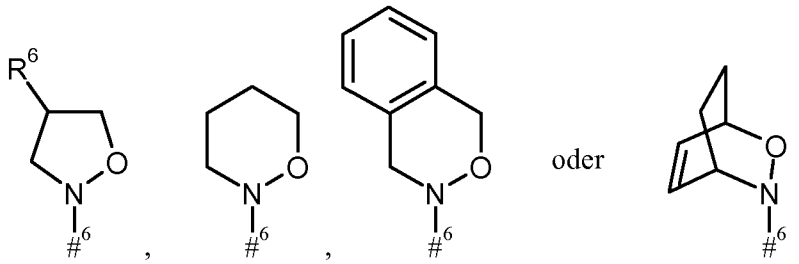


bilden, worin

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

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

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



steht, worin

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

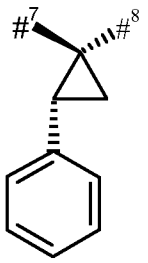
R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R^3 für Wasserstoff oder Methyl steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

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

worin

R^7 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R^8 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^9 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

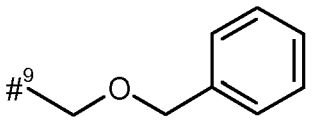
oder

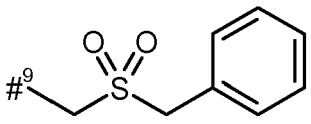
R^8 und R^9 bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R^{10} für Benzoyl steht,

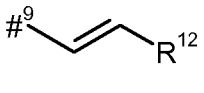
R^{11} für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

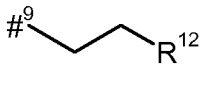
R^5 für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel

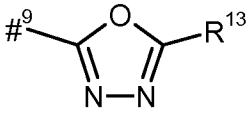


,


,



,


oder


steht, worin

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

R^{12} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-S(O)_2OH$ substituiert sein kann,

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

R^{26} für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

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

R^{35} für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

3. Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia) gemäß Anspruch 1 oder 2, in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 20 steht,

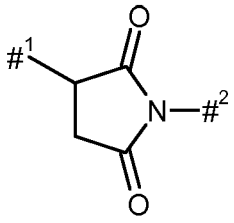
AK für AK_1 oder AK_2 steht

wobei

AK_1 für einen Binder steht, der an FGFR2 bindet und über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

AK_2 für Binder steht, der an FGFR2 bindet und über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

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



steht, wobei

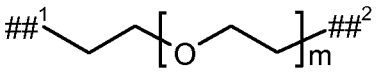
$\#^1$ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

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

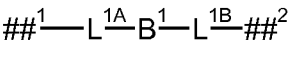
oder

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

L^1 für eine Bindung, lineares (C_2-C_6)-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel



oder



steht, wobei

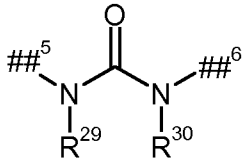
m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

1 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

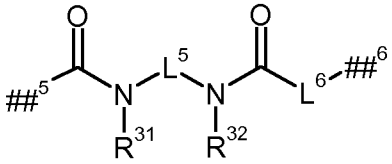
##2 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

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

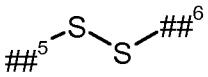
B^1 für eine Gruppe der Formel



,



oder



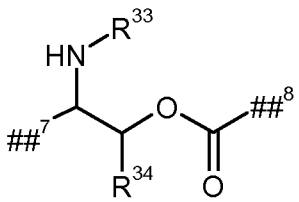
steht, worin

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

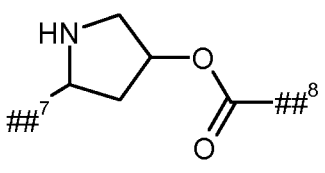
6 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe L^{1B} kennzeichnet,

L^5 für eine Bindung steht,

L^6 für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



oder



steht, worin

[7] die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

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

R^{33} für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

R^{34} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{29} für Wasserstoff steht,

R^{30} für Wasserstoff steht,

R^{31} für Wasserstoff oder Methyl steht,

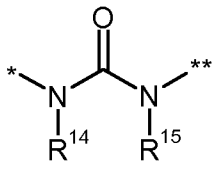
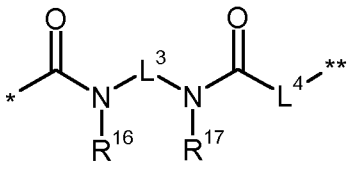
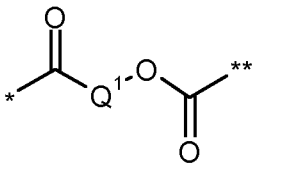
R^{32} für Wasserstoff oder Methyl steht,

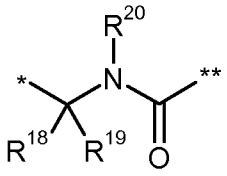
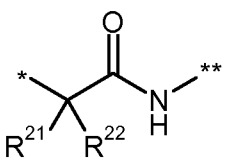
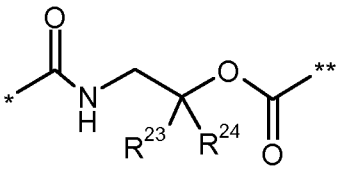
L^{1B} für lineares (C_2-C_6)-Alkandiyl steht,

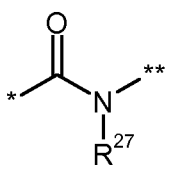
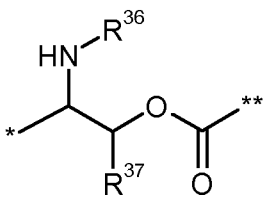
und

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

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel


,

,

,


,

,

,


oder


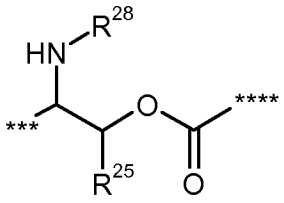
steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

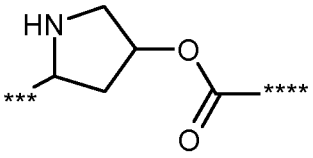
** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

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

L^4 für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



oder



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

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

R^{25} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{28} für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

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

R^{14} für Wasserstoff steht,

R^{15} für Wasserstoff steht,

R^{16} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{17} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

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

R^{18} für Wasserstoff steht,

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

R^{20} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

R^{19} und R^{20} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinylring bilden,

R^{21} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{22} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

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

R^{23} für Methyl steht,

R^{24} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{27} für Wasserstoff steht,

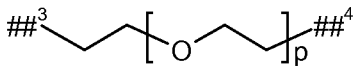
R^{36} für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

R^{37} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

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

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



steht, wobei

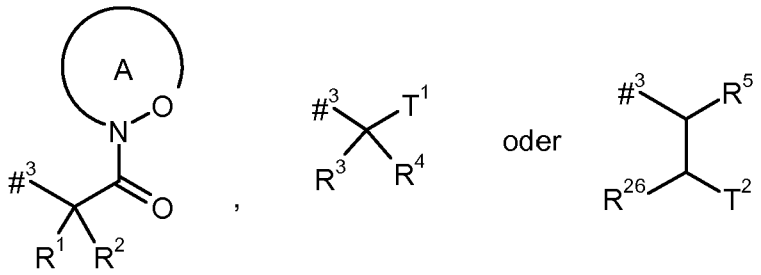
p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

[3] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##[4] die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

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

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

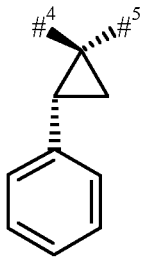
#[3] die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff steht,

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

oder

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

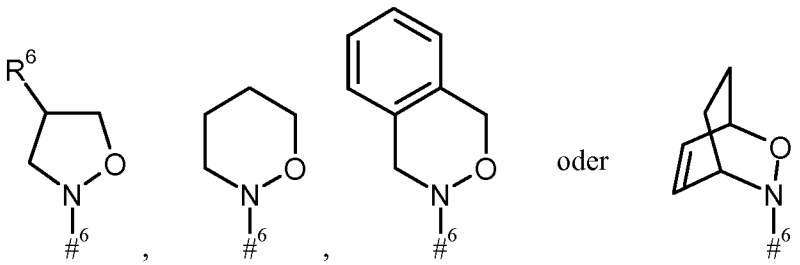


bilden, worin

#[4] die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

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

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



steht, worin

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

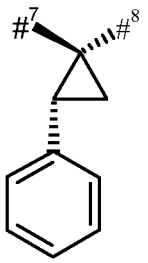
R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R^3 für Wasserstoff steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

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

worin

R^7 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R^8 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^9 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

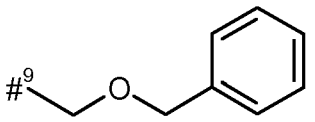
oder

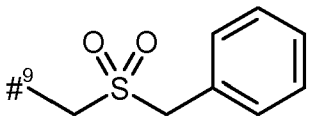
R^8 und R^9 bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R^{10} für Benzoyl steht,

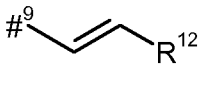
R^{11} für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

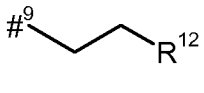
R^5 für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel

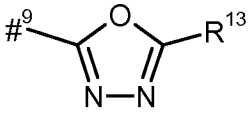


,


,



,


oder


steht, worin

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

R^{12} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel –$S(O)_2OH$ substituiert sein kann,

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

R^{26} für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

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

R^{35} für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

4. Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia) gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 10 steht,

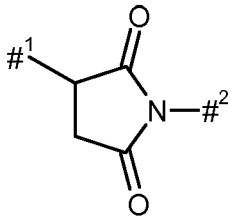
AK für AK_1 oder AK_2 steht

wobei

AK_1 für einen Binder steht, der FGFR2 bindet und der über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

AK_2 für einen Binder steht, der FGFR2 bindet und der über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

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



steht, wobei

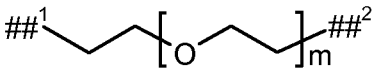
$\#^1$ die Verknüpfungsstelle mit dem Cystein-Rest des Binders kennzeichnet,

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

oder

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

L^1 für eine Bindung, lineares (C_2-C_6)-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel



steht, wobei

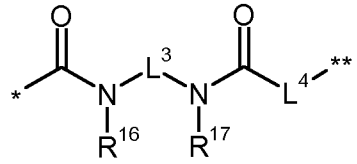
m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

[1] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

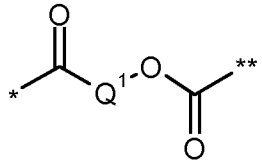
##[2] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

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

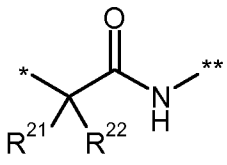
B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



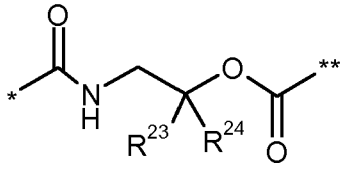
,



,



oder



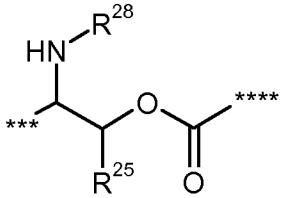
steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

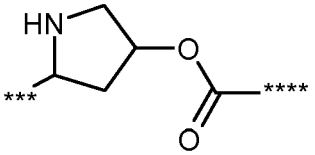
** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

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

L^4 für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



oder



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

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

R^{25} für Methyl steht,

R^{28} für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

Q^1 für Piperidin-1,4-diyl steht,

R^{16} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{17} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

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

R^{21} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{22} für Wasserstoff oder Methyl steht,

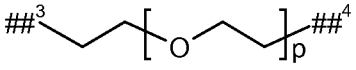
oder

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

R^{23} für Methyl steht,

R^{24} für Wasserstoff steht,

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



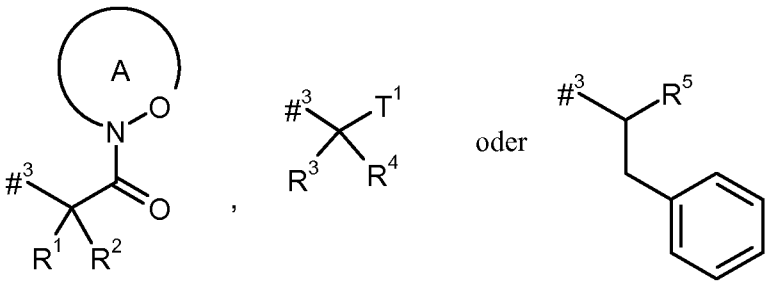
steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

[3] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##[4] die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

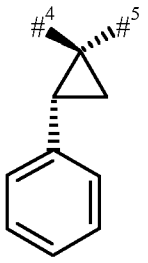
#[3] die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff steht,

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

oder

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

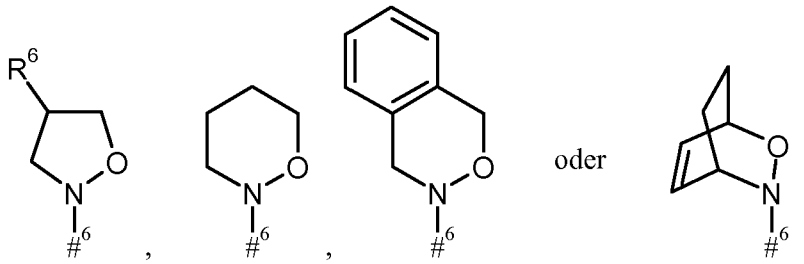


bilden, worin

#[4] die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

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

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



steht, worin

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

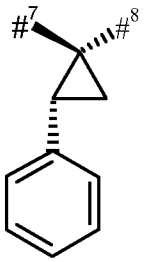
R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R^3 für Wasserstoff steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

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

worin

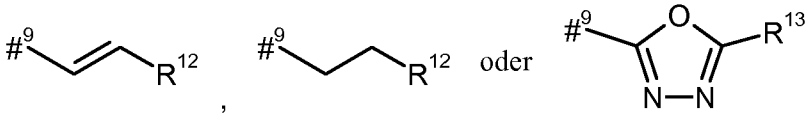
R^7 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R^8 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^9 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

R^{11} für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R^5 für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

$\#^9$ die Verknüpfungsstelle mit –$CHCH_2$Phenyl kennzeichnet,

R^{12} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel –$S(O)_2OH$ substituiert sein kann,

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

R^{35} für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

5. Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia) gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4, in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 10 steht,

AK für AK_2 steht

wobei

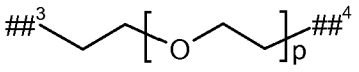
AK_2 für einen Binder steht, der FGFR2 bindet und der über die NH-Seitengruppe eines Lysin-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für Carbonyl steht,

L^1 für eine Bindung, steht,

B für eine Bindung steht,

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



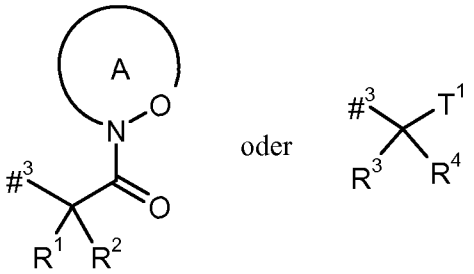
steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

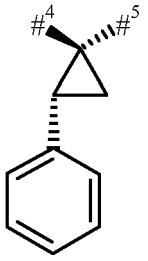
#3 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff steht,

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

oder

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

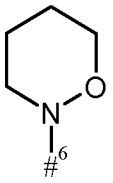


bilden, worin

#4 die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

#5 die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

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



steht, worin

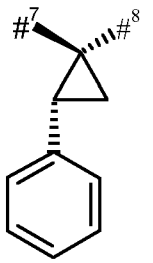
#6 die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R^3 für Wasserstoff steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

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

worin

R^7 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R^8 für Wasserstoff steht,

R^9 für Wasserstoff oder Benzyl steht,

R^{35} für Methyl steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

6. Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia) gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5, in welcher

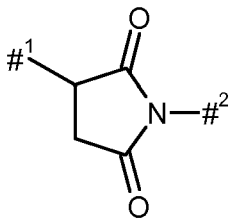
n für eine Zahl von 1 bis 10 steht,

AK für AK_1 steht

wobei

AK_1 für einen Binder steht, der FGFR2 bindet und der über das Schwefelatom eines Cystein-Restes des Binders an die Gruppe G gebunden ist,

G für eine Gruppe der Formel

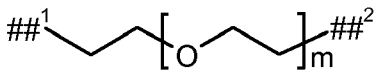


steht, wobei

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

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

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



steht, wobei

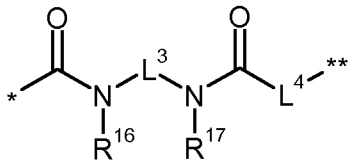
m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

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

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

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

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



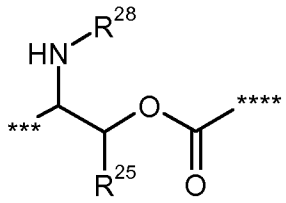
steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

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

L^4 für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

*** die Verknüpfungsstelle mit der Carbonylgruppe kennzeichnet,

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

R^{25} für Methyl steht,

R^{28} für Wasserstoff, Methylcarbonyl oder tert.-Butyloxycarbonyl steht,

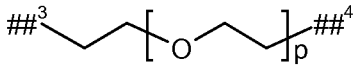
R^{16} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{17} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

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

L^2 für lineares (C_3-C_5)-Alkandiyl oder für eine Gruppe der Formel



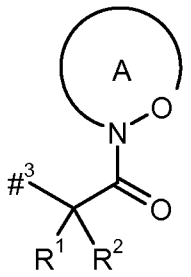
steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

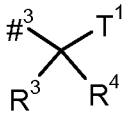
^{3} die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

^{4} die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



oder



steht, wobei

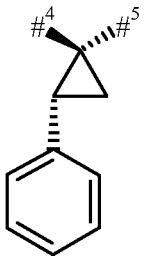
$\#^3$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff steht,

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

oder

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

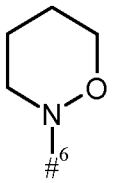


bilden, worin

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

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

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



steht, worin

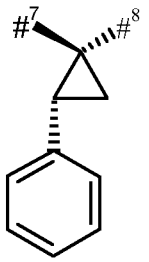
$\#^6$ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R^3 für Wasserstoff steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

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

worin

R^7 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

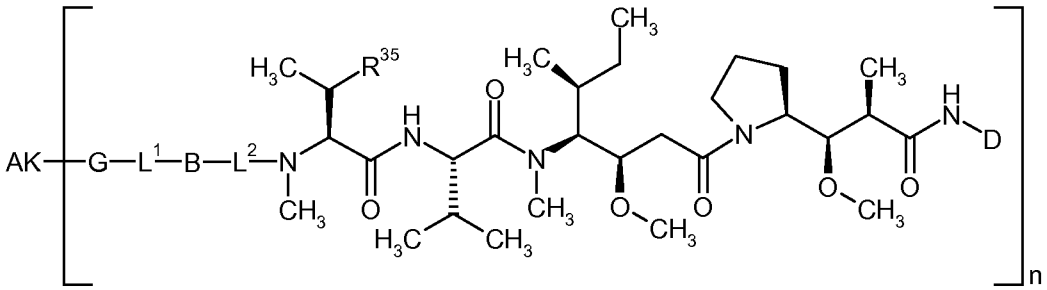
R^8 für Wasserstoff steht,

R^9 für Wasserstoff oder Benzyl steht,

R^{35} für Methyl steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

7. Binder-Wirkstoff Konjugate der allgemeinen Formel (Ia)



(Ia),

in welcher

n für eine Zahl von 1 bis 50 steht,

AK für einen Binder steht, der an FGFR2 bindet,

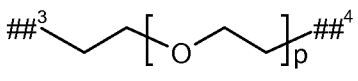
die Gruppe §-G-L^1-B-§§ für einen Linker steht,

wobei

§ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe AK kennzeichnet und

§§ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

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



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

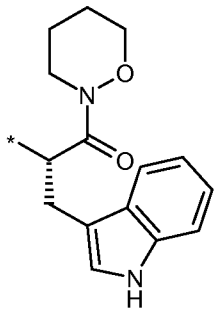
##4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

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

und

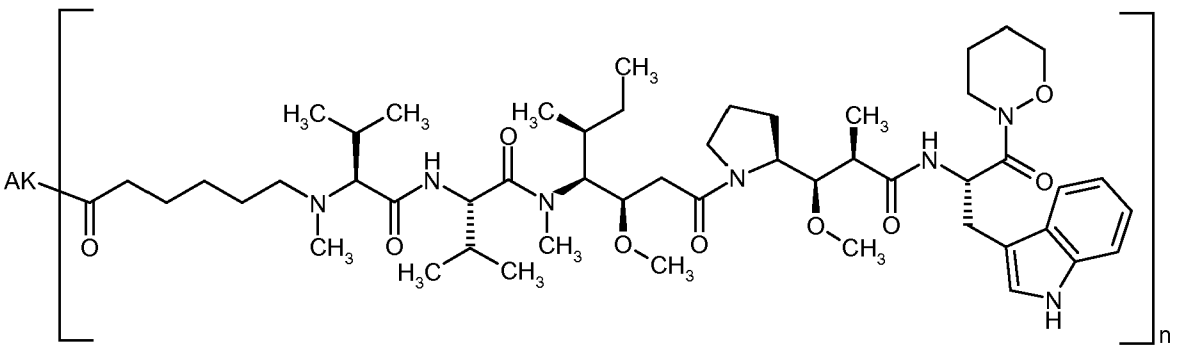
wobei zwei Kohlenstoffatome der Alkandiyl-Kette in 1,2-, 1,3- oder 1,4-Relation zueinander unter Einbezug der gegebenenfalls zwischen ihnen liegenden Kohlenstoffatome zu einem (C_3-C_6)-Cycloalkyl-Ring oder einem Phenyl-Ring verbrückt sein können,

D für ein Gruppe der folgenden Formel steht, wobei * für die Anknüpfungsstelle an das Stickstoffatom steht



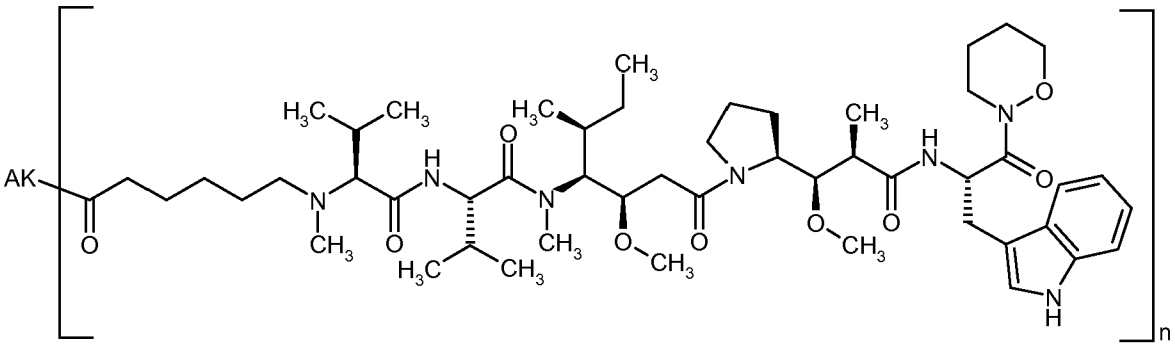
sowie deren Salze, Solvate und Solvate der Salze.

8. Verbindungen der folgenden Formel



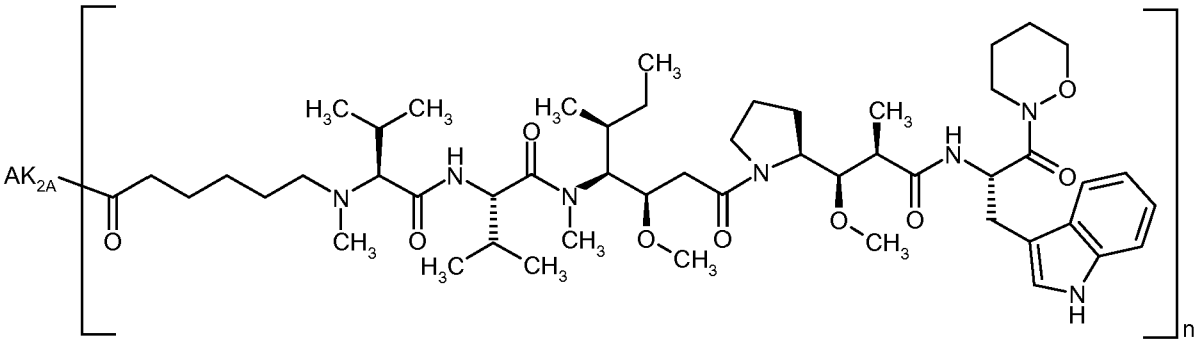
wobei AK einen Binder steht, der FGFR2 bindet und n für eine Zahl von 1 bis 10 steht, sowie deren Salze, Solvate und Solvate der Salze.

9. Verbindungen der folgenden Formel



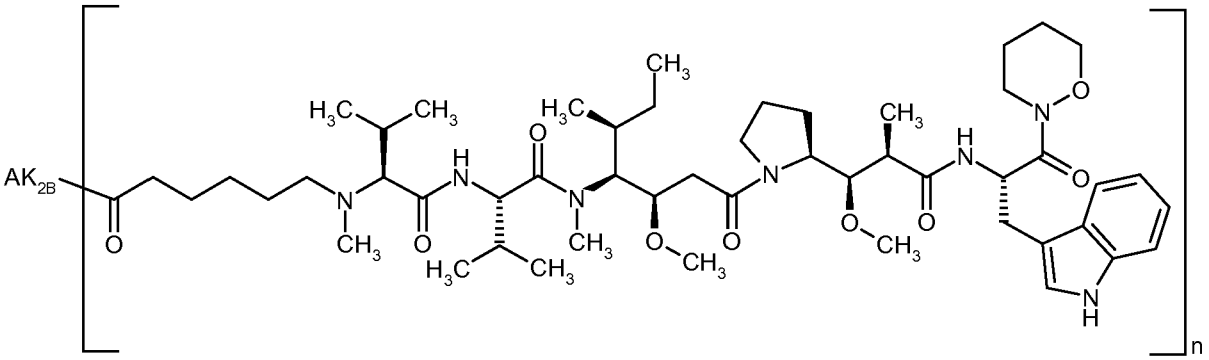
wobei AK einen Antikörper oder ein Antikörperfragment steht, der bzw. das FGFR2 bindet und n für eine Zahl von 1 bis 10 steht, sowie deren Salze, Solvate und Solvate der Salze.

10. Verbindung der folgenden Formel



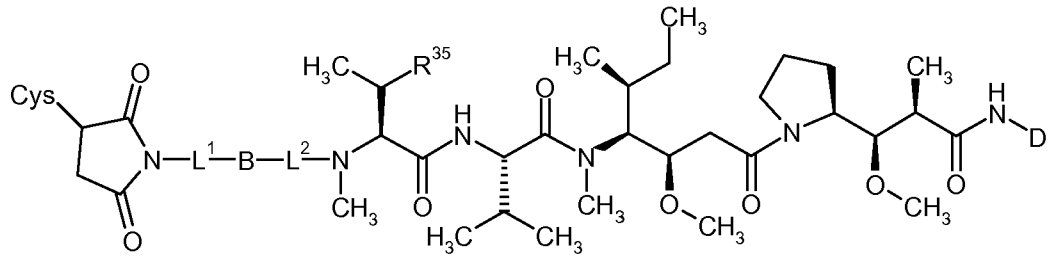
wobei AK2A für M048-D01-hIgG1 steht und n für eine Zahl von 1 bis 10 steht, sowie deren Salze, Solvate und Solvate der Salze.

11. Verbindung der folgenden Formel



wobei AK2B für M048-D01-hIgG1-b steht und n für eine Zahl von 1 bis 10 steht, sowie deren Salze, Solvate und Solvate der Salze.

12. Verbindungen der Formel (XXXa)

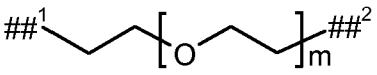
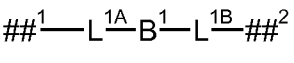


(XXXa),

in welcher

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

L^1 für eine Bindung, lineares (C_1-C_{10})-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel

 oder 

steht, wobei

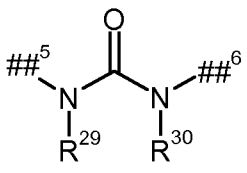
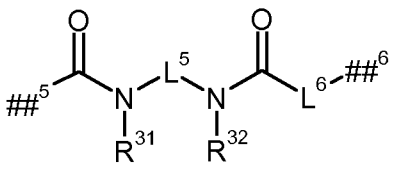
m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

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

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

L^{1A} für lineares (C_2-C_{10})-Alkandiyl steht,

B^1 für eine Gruppe der Formel

 oder 

steht, worin

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

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

L^5 für eine Bindung oder $(C_2$-$C_4)$-Alkandiyl steht,

L^6 für eine Bindung steht,

R^{29} für Wasserstoff oder $(C_1$-$C_4)$-Alkyl steht,

R^{30} für Wasserstoff oder $(C_1$-$C_4)$-Alkyl steht,

oder

R^{29} und R^{30} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R^{31} für Wasserstoff oder $(C_1$-$C_4)$-Alkyl steht,

R^{32} für Wasserstoff oder $(C_1$-$C_4)$-Alkyl steht,

oder

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

L^{1B} für lineares $(C_2$-$C_{10})$-Alkandiyl steht,

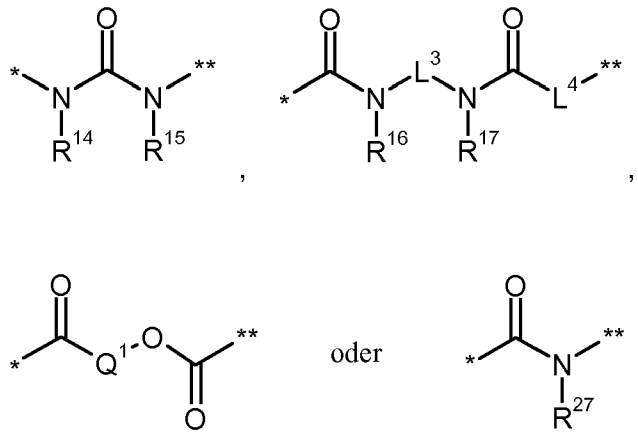
und

wobei $(C_1$-$C_{10})$-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substiuiert sein kann,

und

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

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

P für O oder NH steht,

L^3 für eine Bindung oder $(C_2\text{-}C_4)$-Alkandiyl steht,

L^4 für eine Bindung steht,

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

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

R^{14} für Wasserstoff oder $(C_1\text{-}C_4)$-Alkyl steht,

R^{15} für Wasserstoff oder $(C_1\text{-}C_4)$-Alkyl steht,

oder

R^{14} und R^{15} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R^{16} für Wasserstoff oder $(C_1\text{-}C_4)$-Alkyl steht,

R^{17} für Wasserstoff oder $(C_1\text{-}C_4)$-Alkyl steht,

oder

R^{16} und R^{17} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R^{18} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{19} für Wasserstoff oder die Seitengruppe einer natürlichen α-Aminosäure oder ihrer Homologe oder Isomere steht,

R^{20} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

R^{19} und R^{20} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinylring bilden,

R^{21} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{22} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

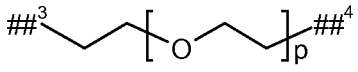
R^{21} und R^{22} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 3- bis 7-gliedrigen Carbocyclus bilden,

R^{23} für (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{24} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

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

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



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

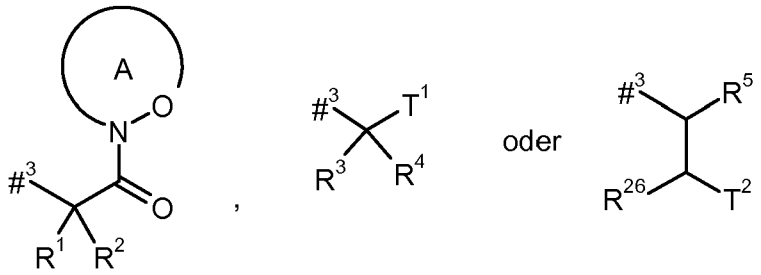
##4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

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

und

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

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

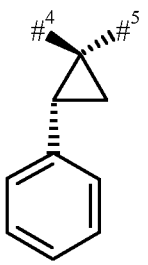
$\#^3$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^2 für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

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

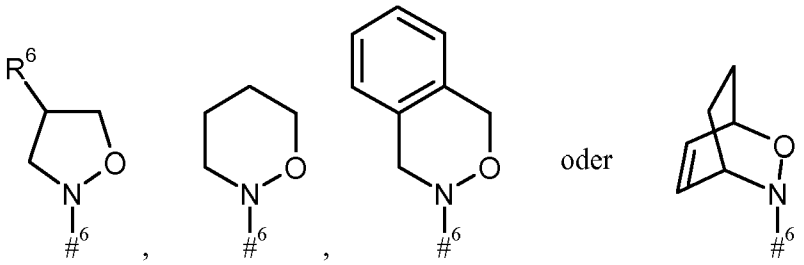


bilden, worin

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

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

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



steht, worin

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

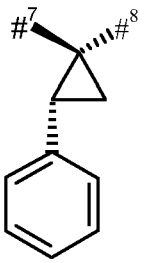
R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R^3 für Wasserstoff oder Methyl steht,

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

oder

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



bilden, worin

#7 die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

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

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

worin

R^7 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R^8 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^9 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

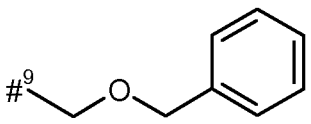
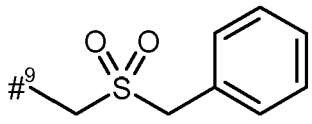
oder

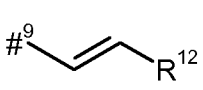
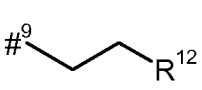
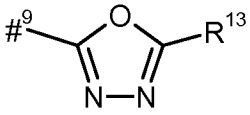
R^8 und R^9 bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R^{10} für Benzoyl steht,

R^{11} für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R^5 für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel


,

,


,

oder


steht, worin

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

R^{12} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-S(O)_2OH$ substituiert sein kann,

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

R^{26} für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

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

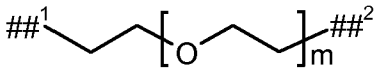
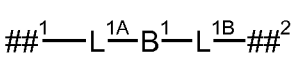
R^{35} für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

13. Verbindungen der Formel (XXXa) gemäß Anspruch 12, in welcher

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

L^1 für eine Bindung, lineares (C_2-C_6)-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel


oder


steht, wobei

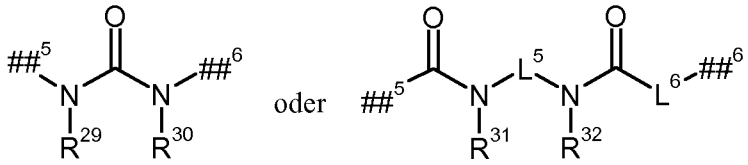
m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

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

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

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

B^1 für eine Gruppe der Formel



steht, worin

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

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

L^5 für eine Bindung steht,

L^6 für eine Bindung steht,

R^{29} für Wasserstoff steht,

R^{30} für Wasserstoff steht,

R^{31} für Wasserstoff oder Methyl steht,

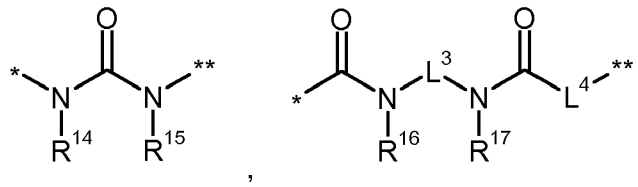
R^{32} für Wasserstoff oder Methyl steht,

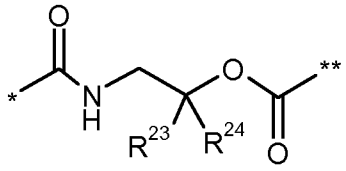
L^{1B} für lineares (C_2-C_6)-Alkandiyl steht,

und

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

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



oder 

steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

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

L^4 für eine Bindung steht,

R^{14} für Wasserstoff steht,

R^{15} für Wasserstoff steht,

R^{16} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{17} für Wasserstoff oder Methyl steht,

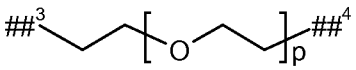
oder

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

R^{23} für Methyl steht,

R^{24} für Wasserstoff oder Methyl steht,

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



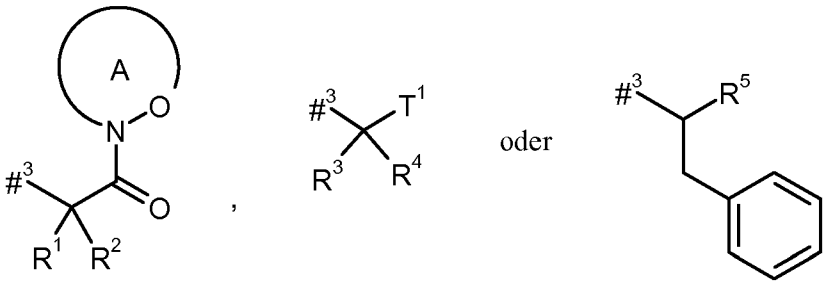
steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

[3] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##[4] die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

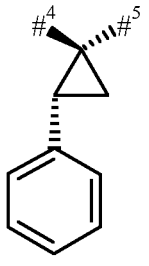
#[3] die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff steht,

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

oder

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

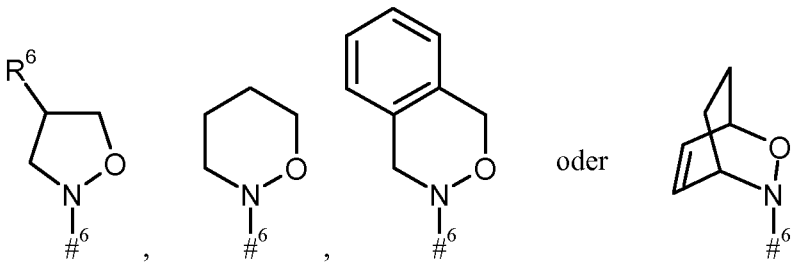


bilden, worin

#[4] die Verknüpfungsstelle mit dem angrenzenden Stickstoffatom kennzeichnet,

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

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



steht, worin

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

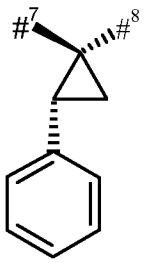
R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R^3 für Wasserstoff steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

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

worin

R^7 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R^8 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^9 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

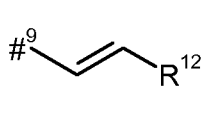
oder

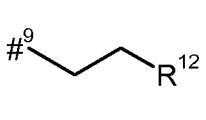
R^8 und R^9 bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

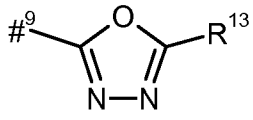
R^{10} für Benzoyl steht,

R^{11} für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R^5 für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



,


oder


steht, worin

$\#^9$ die Verknüpfungsstelle mit –CHCH_2Phenyl kennzeichnet,

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

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

R^{35} für Methyl oder Hydroxy steht,

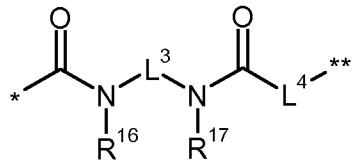
sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

14. Verbindungen der Formel (XXXa) gemäß einem der Ansprüche 12 oder 13, in welcher

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

L^1 für eine Bindung oder lineares (C_2-C_6)-Alkandiyl steht,

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

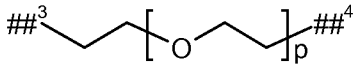
L^3 für eine Bindung steht,

L^4 für eine Bindung steht,

R^{16} für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^{17} für Wasserstoff oder Methyl steht,

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



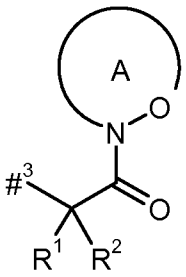
steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

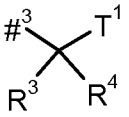
^{3} die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

##^{4} die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

D für eine Gruppe der Formel



oder



steht, wobei

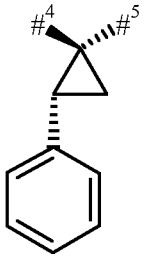
$\#^3$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff steht,

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

oder

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

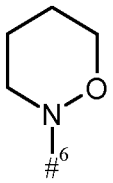


bilden, worin

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

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

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



steht, worin

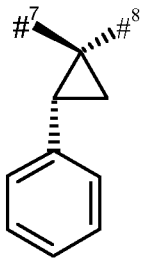
$\#^6$ die Verknüpfungsstelle mit der Carbonyl-Gruppe kennzeichnet,

R^3 für Wasserstoff steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

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

worin

R^7 für Wasserstoff steht,

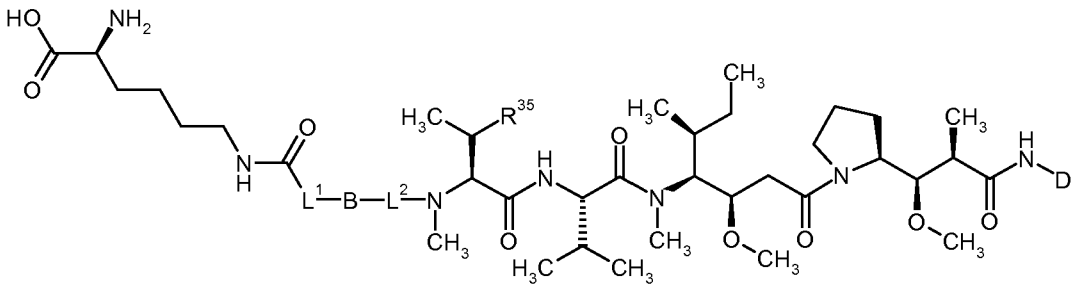
R^8 für Wasserstoff steht,

R^9 für Wasserstoff steht,

R^{35} für Methyl steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

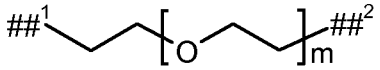
15. Verbindungen der Formel (XXXI)



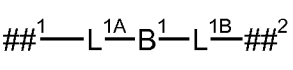
(XXXI),

in welcher

L^1 für eine Bindung, lineares (C_1-C_{10})-Alkandiyl, eine Gruppe der Formel



oder



steht, wobei

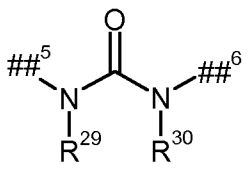
m für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

^{1} die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

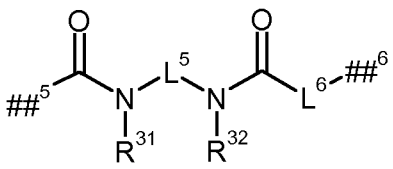
^{2} die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

L^{1A} für lineares (C_2-C_{10})-Alkandiyl steht,

B^1 für eine Gruppe der Formel



oder



steht, worin

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

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

L^5 für eine Bindung oder (C_2-C_4)-Alkandiyl steht,

L^6 für eine Bindung steht,

R^{29} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{30} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

R^{29} und R^{30} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen 5- oder 6-gliedrigen Heterocyclus bilden,

R^{31} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{32} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

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

L^{1B} für lineares (C_2-C_{10})-Alkandiyl steht,

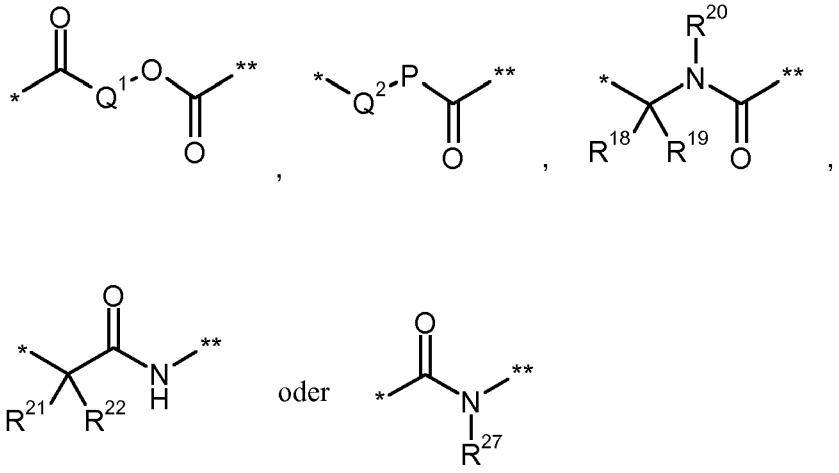
und

wobei (C_1-C_{10})-Alkandiyl mit 1 bis 4 Substituenten unabhängig voneinander ausgewählt aus der Gruppe Methyl, Hydroxy und Benzyl substiuiert sein kann,

und

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

B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

P für O oder NH steht,

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

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

R^{18} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

R^{19} für Wasserstoff oder die Seitengruppe einer natürlichen α-Aminosäure oder ihrer Homologe oder Isomere steht,

R^{20} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

R^{19} und R^{20} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinylring bilden,

R^{21} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

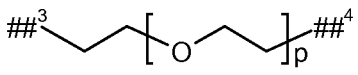
R^{22} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

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

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

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



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 bis 6 steht,

3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

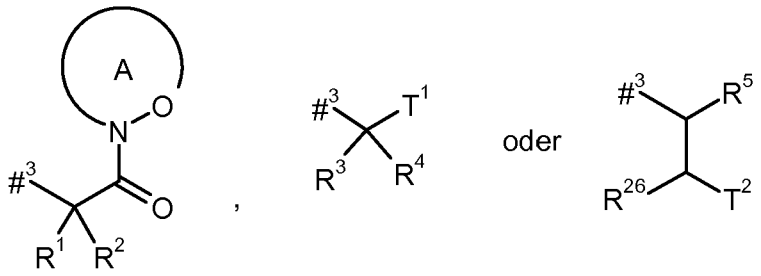
##4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

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

und

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

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

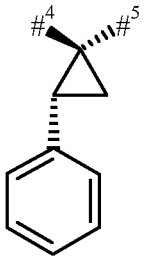
#3 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^2 für Isopropyl, Isobutyl, *sec.*-Butyl, *tert.*-Butyl, Phenyl, Benzyl, 1-Hydroxyethyl, 4-Hydroxybenzyl, 4-Hydroxy-3-nitrobenzyl, 4-Hydroxy-3-aminobenzyl, 1-Phenylethyl, Diphenylmethyl, 1*H*-Imidazol-4-ylmethyl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

oder

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

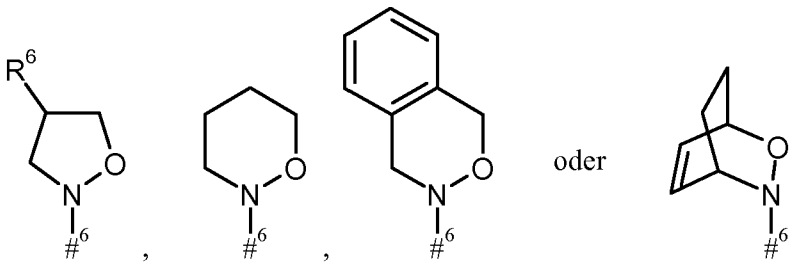


bilden, worin

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

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

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



steht, worin

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

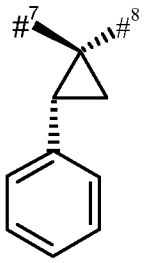
R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R^3 für Wasserstoff oder Methyl steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

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

worin

R^7 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R^8 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^9 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

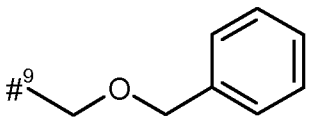
oder

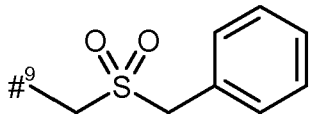
R^8 und R^9 bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R^{10} für Benzoyl steht,

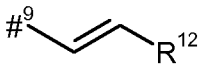
R^{11} für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

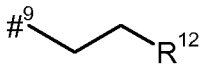
R^5 für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel

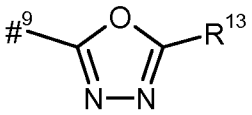


,


,



,


oder


steht, worin

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

R^{12} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-S(O)_2OH$ substituiert sein kann,

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

R^{26} für Wasserstoff oder Hydroxy steht,

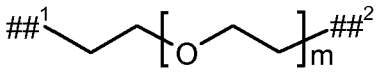
T^2 für Phenyl, Benzyl, 1*H*-Indol-3-yl oder 1*H*-Indol-3-ylmethyl steht,

R^{35} für Methyl oder Hydroxy steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

16. Verbindungen der Formel (XXXI) gemäß Anspruch 15, in welcher

L^1 für eine Bindung, lineares (C_2-C_6)-Alkandiyl oder eine Gruppe der Formel



steht, wobei

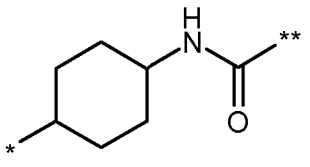
m für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

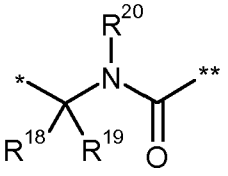
[1] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe G kennzeichnet,

##[2] die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

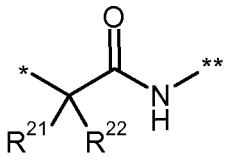
wobei (C_2-C_6)-Alkandiyl mit 1 oder 2 Substituenten Methyl substiuiert sein kann,

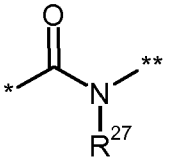
B für eine Bindung oder eine Gruppe der Formel



,


,



oder


steht, wobei

* die Verknüpfungsstelle mit L^1 kennzeichnet,

** die Verknüpfungsstelle mit L^2 kennzeichnet,

R^{18} für Wasserstoff steht,

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

R^{20} für Wasserstoff oder (C_1-C_4)-Alkyl steht,

oder

R^{19} und R^{20} zusammen mit den Atomen, an die sie gebunden sind, einen Pyrrolidinylring bilden,

R^{21} für Wasserstoff oder Methyl steht,

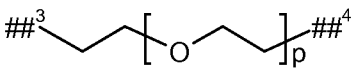
R^{22} für Wasserstoff oder Methyl steht,

oder

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

R^{27} für Wasserstoff oder Methyl steht,

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



steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

3 die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

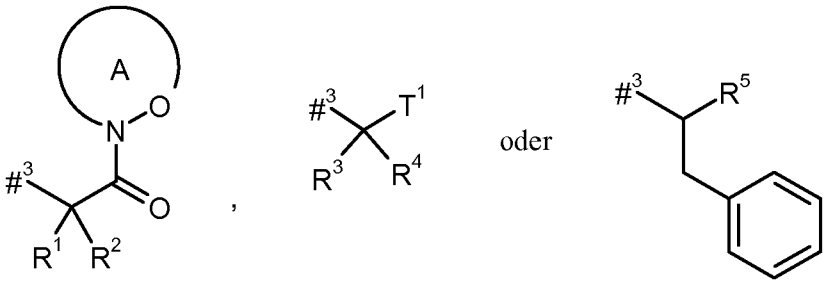
##4 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

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

und

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

D für eine Gruppe der Formel



steht, wobei

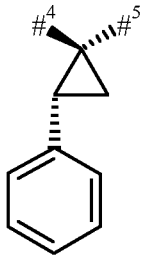
#3 die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff steht,

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

oder

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

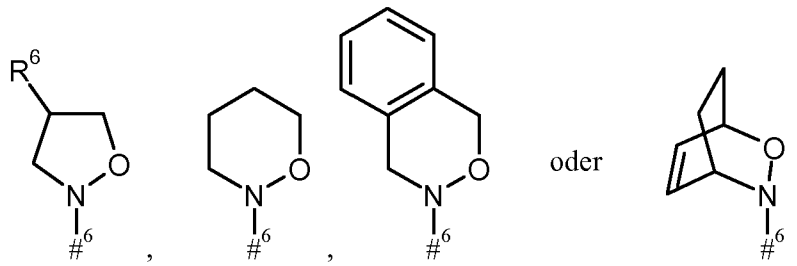


bilden, worin

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

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

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



steht, worin

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

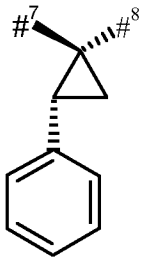
R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R^3 für Wasserstoff steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

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

worin

R^7 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl, *tert.*-Butyl, Benzyl oder Adamantylmethyl steht,

R^8 für Wasserstoff oder Methyl steht,

R^9 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, *n*-Propyl oder Benzyl steht,

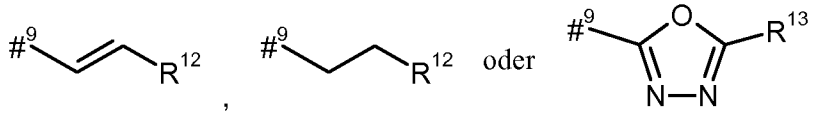
oder

R^8 und R^9 bilden zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, einen 4- bis 7-gliedrigen Heterocyclus,

R^{10} für Benzoyl steht,

R^{11} für Benzyl, das in der Phenylgruppe mit Methoxycarbonyl oder Carboxyl substituiert sein kann, steht,

R^5 für Wasserstoff, Methyl oder eine Gruppe der Formel



steht, worin

$\#^9$ die Verknüpfungsstelle mit $-CHCH_2$Phenyl kennzeichnet,

R^{12} für Phenyl steht, das mit Methoxycarbonyl, Carboxyl oder einer Gruppe der Formel $-S(O)_2OH$ substituiert sein kann,

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

R^{35} für Methyl oder Hydroxy steht,

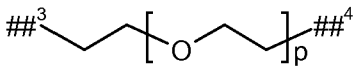
sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

17. Verbindungen der Formel (XXXI) gemäß einem der Ansprüche 15 oder 16, in welcher

L^1 für eine Bindung steht,

B für eine Bindung steht,

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



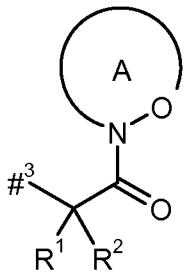
steht, wobei

p für eine Zahl von 2 oder 3 steht,

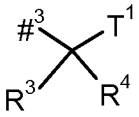
$\#\#^3$ die Verknüpfungsstelle mit der Gruppe B kennzeichnet,

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

D für eine Gruppe der Formel



oder



steht, wobei

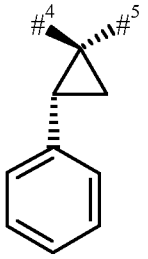
$\#^3$ die Verknüpfungsstelle mit dem Stickstoffatom kennzeichnet,

R^1 für Wasserstoff steht,

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

oder

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

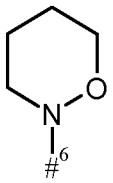


bilden, worin

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

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

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



steht, worin

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

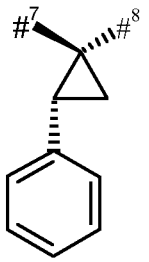
R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Benzyloxy steht,

R^3 für Wasserstoff steht,

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

oder

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



bilden, worin

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

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

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

worin

R^7 für Wasserstoff steht,

R^8 für Wasserstoff steht,

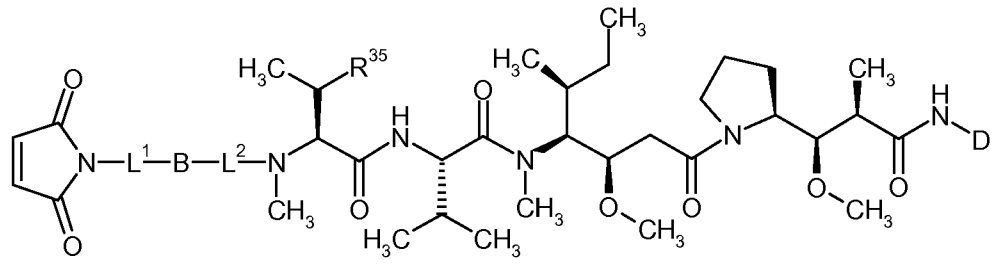
R^9 für Wasserstoff steht,

R^{35} für Methyl steht,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

18. Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 11, der allgemeinen Formel (Ia), dadurch gekennzeichnet, dass man eine Lösung des Binders in einem Puffer

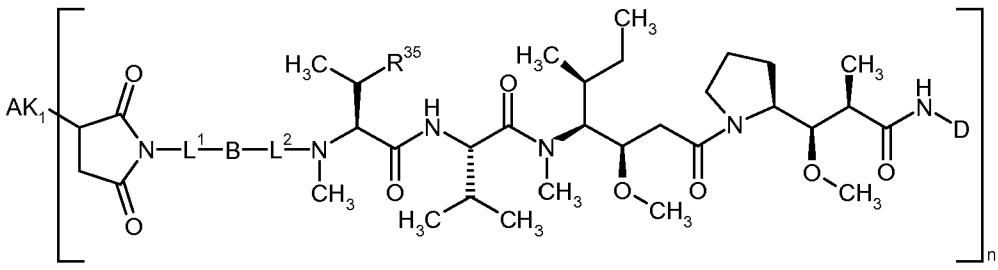
[A] mit einem geeigneten Reduktionsmittel, wie beispielsweise Dithiothreitol oder Tris(2-carboxyethyl)phosphin-Hydrochlorid, versetzt, und anschließend mit einer Verbindung der Formel (II)



(II),

in welcher D, L^1, B, L^2 und R^{35} jeweils die in den Ansprüchen 1 bis 11 angegebenen Bedeutungen haben,

zu einer Verbindung der Formel (I-A)



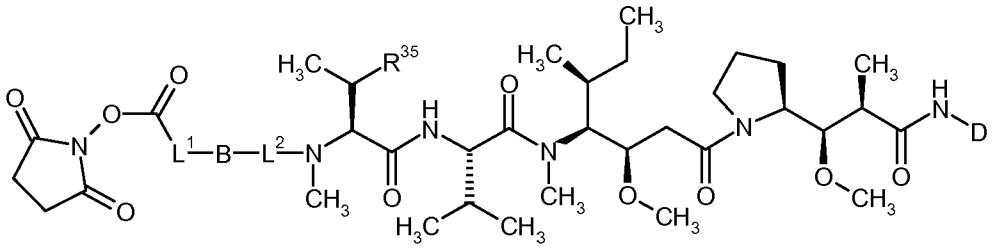
(I-A),

in welcher n, AK_1, D, L^1, B, L^2 und R^{35} jeweils die in den Ansprüchen 1 bis 11 angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt,

oder

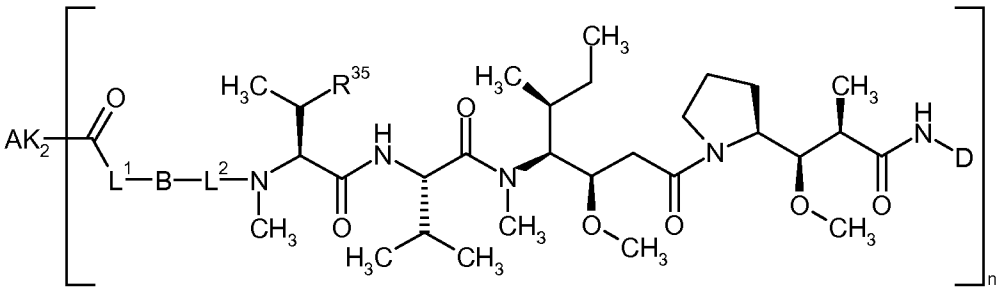
[B] mit einer Verbindung der Formel (III)



(III),

in welcher D, L^1, B, L^2 und R^{35} jeweils die in den Ansprüchen 1 bis 11 angegebenen Bedeutungen haben,

zu einer Verbindung der Formel (I-B)



(I-B),

in welcher n, AK_2, D, L^1, B, L^2 und R^{35} jeweils die in den Ansprüchen 1 bis 11 angegebenen Bedeutungen haben,

umsetzt.

19. Verbindungen hergestellt nach dem Verfahren in Anspruch 18, wobei AK_1 und AK_2 für einen Antikörper steht, der die sechs CDR-Sequenzen des Antikörpers M048-D01-hIgG1 oder M048-D01-hIgG1-b, die variable leichte und variable schwere Kette des Antikörpers M048-D01-hIgG1 oder M048-D01-hIgG1-b, oder die leichte und schwere Kette des Antiköpers M048-D01-hIgG1 oder M048-D01-hIgG1-b umfasst,

sowie ihre Salze, Solvate und Solvate der Salze.

20. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei der Binder spezifisch an FGFR2 bindet.

21. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei der Binder an die extrazelluläre Domäne von FGFR2 bindet.

22. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei FGFR2 FGFR2 alpha und/oder FGFR2 beta ist.

23. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei der Binder an das extrazelluläre N-terminale Epitop (^{1}RPSFSLVEDTTLEPE^{15}) von FGFR2 bindet.

24. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei der Binder neben humanem FGFR2 auch an das murine FGFR2 bindet.

25. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei der Binder nach Bindung an FGFR2 auf der Zielzelle durch die Bindung von der Zielzelle internalisiert wird.

26. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei der Binder ein Bindeprotein ist.

27. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei der Binder ein Antikörper oder ein antigen-bindendes Antikörperfragment davon ist.

28. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei der Binder ein monklonaler Antikörper oder ein antigen-bindendes Antikörperfragment davon ist.

29. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei der Binder ein humaner, humanisierter oder chimärer Antikörper oder ein antigen-bindendes Antikörperfragment davon ist.

30. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei der Binder ein IgG Antikörper oder ein antigen-bindendes Antikörperfragment davon ist.

31. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei der Binder ein IgG1 Antikörper oder ein antigen-bindendes Antikörperfragment davon ist.

32. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der vorheringen Ansprüche, wobei der Binder in der Bindung an das Krebs-Zielmoleküls FGFR2 mit dem GAL-FR21, GAL-FR22 oder M048-D01-hIgG1 Antikörper kompetiert.

33. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei der Binder die Aminosäuresequenz der CDR Sequenzen der variablen leichten und schweren Kette des Antikörpers M048-D01-hIgG1 wiedergegeben in SEQ ID NO:15 (H-CDR1), SEQ ID NO:16 (H-CDR2), SEQ ID NO:17 (H-CDR3), SEQ ID NO:18 (L-CDR1), SEQ ID NO:19 (L-CDR2) und SEQ ID NO:20 (L-CDR3),

die Aminosäuresequenz der variablen leichten und schweren Ketten des Antikörpers M048-D01-hIgG1, wiedergegeben in SEQ ID NO:12 (Vl) und SEQ ID NO:11 (Vh),

die Aminosäuresequenz der variablen leichten und schweren Ketten des Antikörpers M048-D01-hIgG1-b, wiedergegeben in in SEQ ID NO:14 (Vl) und SEQ ID NO:13 (Vh),

die Aminosäuresequenz der leichten und schweren Kette des Antikörpers M048-D01-hIgG1-b wiedergegeben in SEQ ID NO: 9 (leichte Kette) und SEQ ID NO:10 (schwere Kette),

die Amniosäuresequenz der leichten und schweren Kette des Antikörpers M048-D01-hIgG1 wiedergegeben in SEQ ID NO: 7 (leichte Kette) und SEQ ID NO:8 (schwere Kette), oder

die Aminosäuresequenz der variablen leichten und schweren Ketten des Antikörpers GAL-FR21 oder GAL-FR22 umfasst.

34. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der vorherigen Ansprüche, wobei der Binder die Aminosäuresequenz der variablen leichten und schweren Ketten des Antikörpers M048-D01-hIgG1-b, wiedergegeben in in SEQ ID NO:14 (Vl) und SEQ ID NO:13 (Vh),

die Aminosäuresequenz der leichten und schweren Kette des Antikörpers M048-D01-hIgG1-b wiedergegeben in SEQ ID NO: 9 (leichte Kette) und SEQ ID NO:10 (schwere Kette) umfasst.

35. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat oder Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 34 zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten.

36. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat oder eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 34, zur Verwendung in einem Verfahren zur Behandlung und/ oder Prophylaxe von hyperproliferativen und/oder angiogenen Erkrankungen.

37. Ein Binder-Wirkstoff-Konjugat nach einem der Ansprüche 1 bis 34 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung und/oder Prophylaxe von hyperproliferativen und/oder angiogenen Erkrankungen.

38. Arzneimittel enthaltend ein Binder-Wirkstoff-Konjugat oder eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 34, in Kombination mit einem inerten, nicht-toxischen, pharmazeutisch geeigneten Hilfsstoff.

39. Arzneimittel enthaltend ein Binder-Wirkstoff-Konjugat oder eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 34 in Kombination mit einer oder mehreren anti-hyperproliferativen, zytostatischen oder zytotoxischen Substanzen.

40. Arzneimittel nach Anspruch 38 oder 39 zur Behandlung und/oder Prophylaxe von hyperproliferativen und/oder angiogenen Erkrankungen.

41. Verfahren zur Behandlung und/oder Prophylaxe von hyperproliferativen und/oder angiogenen Erkrankungen bei Menschen und Tieren unter Verwendung einer wirksamen Menge mindestens eines Binder-Wirkstoff-Konjugates oder eine Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 34, oder eines Arzneimittels, wie in einem der Ansprüche 39 und 40 definiert.