

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 045942

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.01.22

(21) Номер заявки
202192003

(22) Дата подачи заявки
2020.03.13

(51) Int. Cl. C07D 519/00 (2006.01)
C07K 5/06 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/5513 (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01)

(54) АЗЕТИДОБЕНЗОДИАЗЕПИНОВЫЕ ДИМЕРЫ И КОНЬЮГАТЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ИХ, ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАКА

(31) 1903541.9; 2000121.0

(32) 2019.03.15; 2020.01.06

(33) GB

(43) 2021.12.28

(86) PCT/EP2020/056761

(87) WO 2020/187721 2020.09.24

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
МЕДИМБЬОН ЛИМИТЕД (GB)

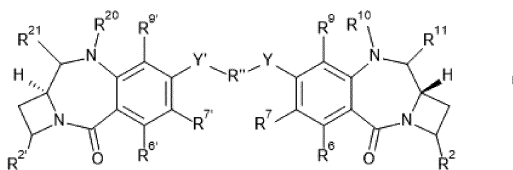
(72) Изобретатель:
Ховард Филип Уилсон, Кайо Таис
(GB)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) WO-A1-2018192944
WO-A1-2014057122

BOSE, D.S. ET AL. "Stereospecific Synthesis of a Novel Azetido[2,1-c][1,4]-benzodiazepine (ABD) Ring System with DNA Recognition Potential", TETRAHEDRON LETTERS, vol. 38, no. 33, 1997, pages 5839-5842, XP004085888, ISSN: 0040-4039, DOI:10.1016/S0040-4039(97)01297-5, cited in the application, the whole document

(57) Соединение формулы IV:



а также лекарства-линкеры и конъюгаты, содержащие указанное соединение, и применение указанных конъюгатов для лечения рака.

B1

045942

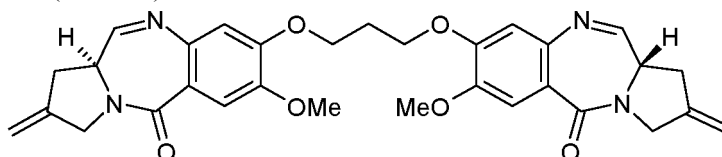
045942

B1

Изобретение относится к азетидобензодиазепиновым (ABD) димерам, конъюгатам, содержащим указанные димеры и линкеры предшественника лекарственного соединения, используемые для получения таких конъюгатов.

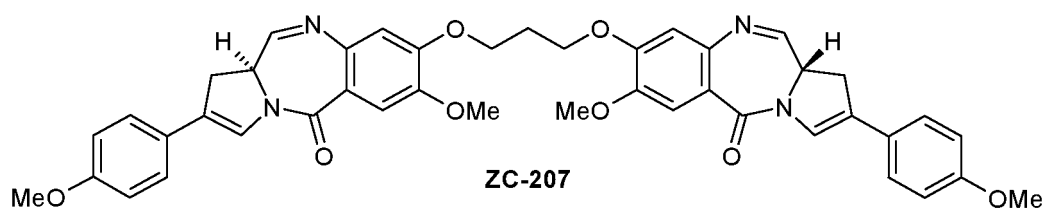
Уровень техники

Показано, что пирролобензодиазепиновые (PBD) димеры являются цитотоксичными соединениями. Например, SG2000 (SJG-136):

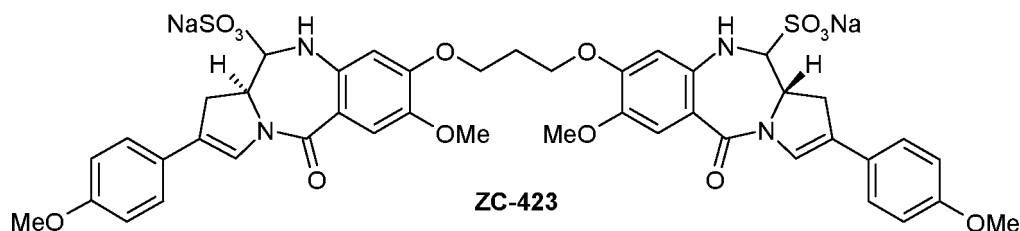


(Gregson, S.J., et al., *Chem. Commun.*, 1999, 797-798. doi: 10.1039/A809791G; (Gregson, S., et al., *J. Med. Chem.*, 44, 737-748 (2001); Alley, M.C., et al., *Cancer ResearCH*, 64, 6700-6706 (2004); и Hartley, J.A., et al., *Cancer ResearCH*, 64, 6693-6699 (2004)) исследовали в клинических испытаниях в качестве отдельного агента, например, NCT02034227, изучая его применение при лечении острого миелоидного лейкоза и хронического лимфоцитарного лейкоза (см.: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02034227>).

Димерные PBD соединения, содержащие C2 арильные заместители вблизи эндо-ненасыщенности, такие как SG2202 (ZC-207), описаны в WO 2005/085251:



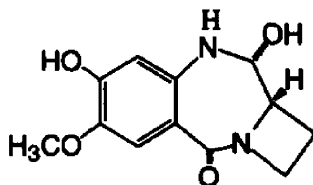
а в WO2006/111759 описаны бисульфиты таких PBD соединений, например, SG2285 (ZC-423):



Было показано, что данные соединения являются весьма подходящими цитотоксическими агентами (Howard, P.W., et al., *Bioorg. Med. Chem.* (2009), doi: 10.1016/j.bmc.2009.09.012).

Димерные соединения PBD, содержащие линкерные группы для связывания с клеточно-связывающим агентом, таким как антитело, описаны в WO 2011/130598. Линкер в таких соединениях присоединен к одному из доступных положений N10, и обычно расщепляется под действием фермента на данную линкерную группу. В WO 2014/057074 и WO 2015/052322 описаны два специфических димерных конъюгата PBD, связанных через положение N10 в одном мономере.

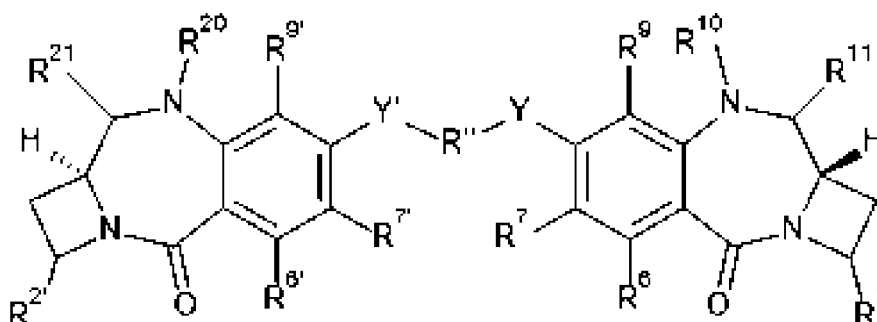
На относительно ранней стадии развития PBD как искомым молекул, в 1997 году описано (Bose, D.S., et al., *Tetrahedron Letters*, 38(33), 5839-5842, 1997; doi: 10.1016/S0040-4039(97)01297-5), что следующее соединение:



синтезировано и подлежит оценке в качестве потенциального ДНК-связывающего лиганда и цитотоксических агентов. Никаких дополнительных публикаций об этом соединении сделано не было, поэтому похоже, что они были либо нестабильны для тестирования, либо неактивны.

Описание сущности изобретения

В первом аспекте данного изобретения предложено соединение формулы IV:



и его соли и сольваты, где:

R^2 и $R^{2'}$ представляют собой H;

R^6 и R^9 независимо выбраны из H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', нитро, Me₃Sn и галогена;

где R и R' независимо выбраны из необязательно замещенных C₁₋₁₂ алкильных, C₃₋₂₀ гетероциклических и C₆₋₂₀ арильных групп; либо

(a) R^7 выбран из H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', нитро, Me₃Sn и галогена; R^7 выбран из H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', нитро, Me₃Sn и галогена; либо

(b) R^7 и $R^{7'}$ вместе образуют группу, которая представляет собой: (i) -O-(CH₂)_n-O-, где n равен от 7 до 16; или (ii) -O-(CH₂CH₂O)_m-, где m равен от 2 до 5;

R'' представляет собой C₃₋₁₂ алкиленовую группу, цепь которой может прерываться одним или более гетероатомами, например, O, S, NR^{N2} (где R^{N2} представляет собой H или C₁₋₄ алкил), и/или ароматические кольца, например, бензол или пиридин;

Y и Y' выбраны из O, S или NH;

R^6 и R^9 выбраны из тех же групп, что и R^6 и R^9 , соответственно; либо

(i-a) R^{10} и R^{11} вместе образуют двойную связь между атомами N и C, с которыми они связаны; или

(i-b) R^{10} представляет собой H, и R^{11} выбран из OH и OR^A, причем R^A представляет собой C₁₋₄ алкил; или

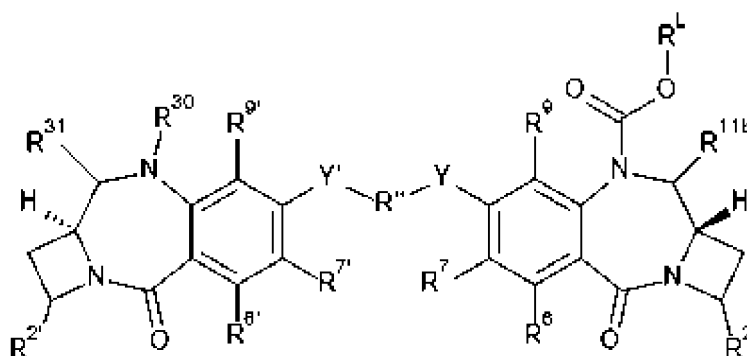
(i-c) оба R^{10} и R^{11} представляют собой H; либо

(ii-a) R^{20} и R^{21} вместе образуют двойную связь между атомами N и C, с которыми они связаны; или

(ii-b) R^{20} представляет собой H, и R^{21} выбран из OH и OR^B, причем R^B представляет собой C₁₋₄ алкил; или

(ii-c) оба R^{20} и R^{21} представляют собой H.

Второй аспект данного изобретения включает соединение формулы I:

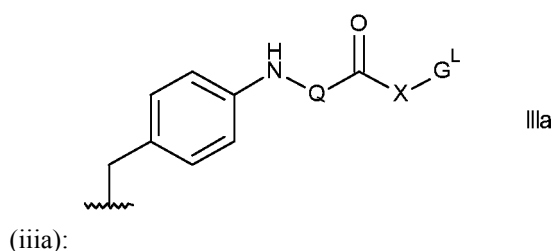


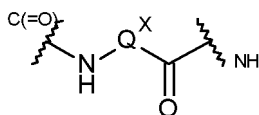
и его соли и сольваты, где:

Y, Y', R'', R², R^{2'}, R⁶, R^{6'}, R⁷, R^{7'}, R⁹ и R^{9'} являются такими, как определено в первом аспекте данного изобретения;

R^{11b} выбран из OH, OR^A, где R^A представляет собой C₁₋₄ алкил; и

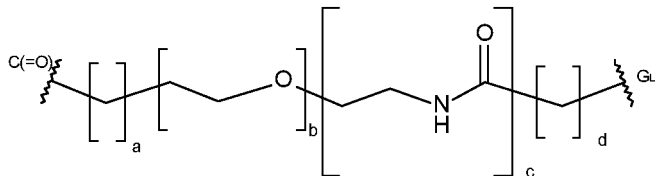
R^L представляет собой линкер для связывания с клеточносвязывающим агентом, который выбран из:





где Q представляет собой:

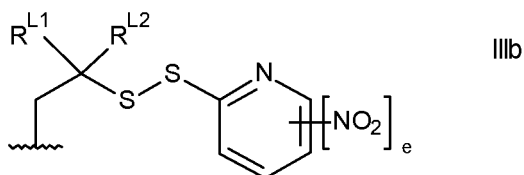
где Q^X является таким, что Q представляет собой аминокислотный остаток, дипептидный остаток или трипептидный остаток;



X представляет собой:

где $a=0-5$, $b=0-16$, $c=0$ или 1, $d=0-5$;

G^1 представляет собой линкер для связывания со звеном лиганда; и



(iii b):

где R^{L1} и R^{L2} независимо выбраны из H и метила, или вместе с атомом углерода, с которым они связаны, образуют циклопропиленовую или циклобутиленовую группу;

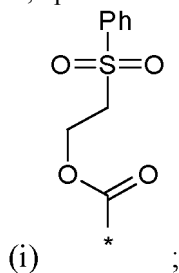
и e равен 0 или 1; либо:

(a) R^{30} и R^{31} вместе образуют двойную связь между атомами N и C, с которыми они связаны; или

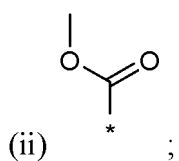
(b) R^{30} представляет собой H, и R^{31} выбран из OH и OR^B , причем R^B представляет собой C_{1-4} алкил;

(c) оба R^{30} и R^{31} представляют собой H; или

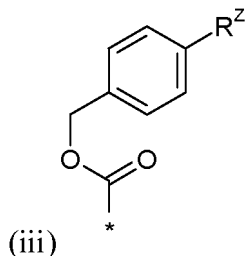
(d) R^{31} представляет собой OH или OR^B , причем R^B представляет собой C_{1-4} алкил, и R^{30} выбран из:



(i) ;

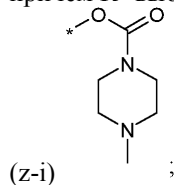


(ii) ;



(iii) ;

причем R^Z выбран из:



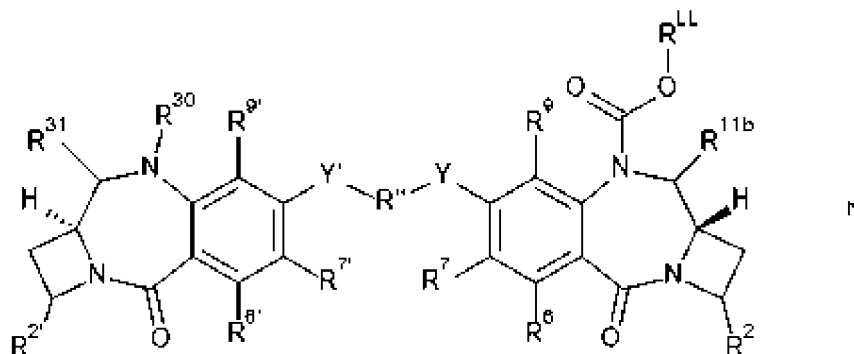
(z-i) ;

(z-ii) OC(=O)CH_3 ;
 (z-iii) NO_2 ;
 (z-iv) OMe ;
 (z-v) глюкуронида;
 (z-vi) $\text{NH-C(=O)-X}_1\text{-NHC(=O)X}_2\text{-NH-C(=O)-R}^{\text{ZC}}$, где $-\text{C(=O)-X}_1\text{-NH-}$ и $-\text{C(=O)-X}_2\text{-NH-}$ представляют собой остатки природных аминокислот, и R^{ZC} выбран из Me , OMe , $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OMe}$ и $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2\text{Me}$.

В третьем аспекте данного изобретения предложены конъюгаты формулы II:

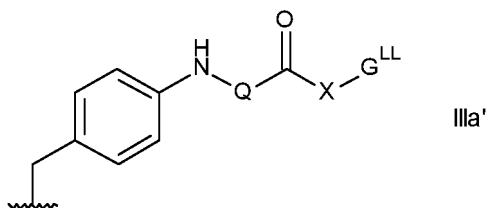


где L представляет собой звено лиганда (т.е. нацеливающий агент), D^{L} представляет собой звено линкера лекарственного соединения формулы I':



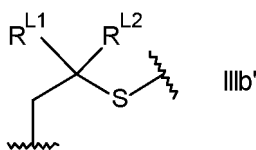
где R^2 , $\text{R}^{2'}$, R^6 , R^7 , R^9 , R^{11b} , Y , R'' , Y' , $\text{R}^{6'}$, $\text{R}^{7'}$, $\text{R}^{9'}$, R^{30} и R^{31} являются такими, как определено во втором аспекте данного изобретения;

R^{LL} представляет собой линкер для связывания с клеточносвязывающим агентом, который выбран из:



(iii a):

где Q и X являются такими, как определено в первом аспекте, и G^{LL} представляет собой линкер, связанный со звеном лиганда; и



(iii b):

где R^{L1} и R^{L2} являются такими, как определено в первом аспекте; где p представляет собой целое число от 1 до 20.

Звено лиганда, более подробно описанное ниже, представляет собой нацеливающий агент, который связывается с фрагментом-мишенью. Звено лиганда может, например, специфически связываться с клеточным компонентом (клеточносвязывающим агентом) или с другими требуемыми молекулами-мишенями. Звено лиганда может представлять собой, например, белок, полипептид или пептид, такой как антитело, антигенсвязывающий фрагмент антитела или другой связывающий агент, такой как белок слияния Fc.

В четвертом аспекте данного изобретения предложено применение конъюгата по третьему аспекту данного изобретения в производстве лекарственного средства для лечения пролиферативного заболевания. В четвертом аспекте также предложен конъюгат по третьему аспекту данного изобретения для применения для лечения пролиферативного заболевания. В четвертом аспекте также предложен способ лечения пролиферативного заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества конъюгата по второму аспекту данного изобретения пациенту, нуждающемуся в этом.

Специалисты в данной области техники могут без труда определить, подходит или не подходит потенциальный конъюгат для лечения пролиферативного состояния для любого конкретного типа клеток. Например, анализы, которые можно удобно использовать для оценки активности, обеспечиваемой кон-

кретным соединением, описаны ниже в примерах.

В пятом аспекте данного изобретения предложен синтез конъюгата по третьему аспекту данного изобретения, включающий конъюгацию соединения (линкера лекарственного соединения) по второму аспекту данного изобретения со звеном лиганда.

Соединения формулы IV представляют собой активные группы, высвобождаемые конъюгатами по третьему аспекту.

Определения

Заместители

Выражение «необязательно замещенный» в данном контексте относится к исходной группе, которая может быть незамещенной или которая может быть замещенной.

Если не указано иное, термин "замещенный" в данном контексте относится к исходной группе, которая содержит один или более заместителей. Термин "заместитель" в данном контексте использован в обычном смысле и относится к химическому фрагменту, который ковалентно присоединен или, если это уместно, конденсирован с исходной группой. Известно множество заместителей, и хорошо известны также способы их получения и внедрения в различные исходные группы.

Примеры заместителей более подробно описаны ниже.

C₁₋₁₂ алкил: Термин "C₁₋₁₂ алкил" в данном контексте относится к одновалентному фрагменту, полученному посредством удаления атома водорода от атома углерода углеводородного соединения, содержащему от 1 до 12 атомов углерода, который может быть алифатическим или алициклическим, и который может быть насыщенным или ненасыщенным (например, частично ненасыщенным, полностью ненасыщенным). Термин "C₁₋₄ алкил" в данном контексте относится к одновалентному фрагменту, полученному посредством удаления атома водорода от атома углерода углеводородного соединения, содержащему от 1 до 4 атомов углерода, который может быть алифатическим или алициклическим, и который может быть насыщенным или ненасыщенным (например, частично ненасыщенным, полностью ненасыщенным). Термин "алкил" включает подклассы алкенила, алкинила, циклоалкила и т.д., рассмотренные ниже.

Примеры насыщенных алкильных групп включают, но не ограничиваясь ими, метил (C₁), этил (C₂), пропил (C₃), бутил (C₄), пентил (C₅), гексил (C₆) и гептил (C₇).

Примеры насыщенных линейных алкильных групп включают, но не ограничиваясь ими, метил (C₁), этил (C₂), н-пропил (C₃), н-бутил (C₄), н-пентил (амил) (C₅), н-гексил (C₆) и н-гептил (C₇).

Примеры насыщенных разветвленных алкильных групп включают изо-пропил (C₃), изо-бутил (C₄), втор-бутил (C₄), трет-бутил (C₄), изо-пентил (C₅) и нео-пентил (C₅).

C₂₋₁₂ алкенил: Термин "C₂₋₁₂ алкенил" в данном контексте относится к алкильной группе, содержащей одну или более двойных углерод-углеродных связей.

Примеры ненасыщенных алкенильных групп включают, но не ограничиваясь ими, этенил (винил, -CH=CH₂), 1-пропенил (-CH=CH-CH₃), 2-пропенил (аллил, -CH=CH-CH₂), изопропенил (1-метилвинил, -C(CH₃)=CH₂), бутенил (C₄), пентенил (C₅) и гексенил (C₆).

C₂₋₁₂ алкинил: Термин "C₂₋₁₂ алкинил" в данном контексте относится к алкильной группе, содержащей одну или более тройных углерод-углеродных связей.

Примеры ненасыщенных алкинильных групп включают, но не ограничиваясь ими, этинил (-C≡CH) и 2-пропинил (пропаргил, -CH₂-C≡CH).

C₃₋₁₂ циклоалкил: Термин "C₃₋₁₂ циклоалкил" в данном контексте относится к алкильной группе, которая также является циклической группой; то есть к одновалентному фрагменту, полученному посредством удаления атома водорода от атома алициклического кольца циклического углеводородного (карбоциклического) соединения, причем указанный фрагмент содержит от 3 до 7 атомов углерода, включая от 3 до 7 кольцевых атомов.

Примеры циклоалкильных групп включают, но не ограничиваясь ими, группы, полученные из:

насыщенных моноциклических углеводородных соединений:

циклопропана (C₃), циклобутана (C₄), циклопентана (C₅), циклогексана (C₆), циклогептана (C₇), метилциклопропана (C₄), диметилциклопропана (C₅), метилциклобутана (C₅), диметилциклобутана (C₆), метилциклопентана (C₆), диметилциклопентана (C₇) и метилциклогексана (C₇);

ненасыщенных моноциклических углеводородных соединений:

циклопропена (C₃), циклобутена (C₄), циклопентена (C₅), циклогексена (C₆), метилциклопропена (C₄), диметилциклопропена (C₅), метилциклобутена (C₅), диметилциклобутена (C₆), метилциклопентена (C₆), диметилциклопентена (C₇) и метилциклогексена (C₇); и

насыщенных полициклических углеводородных соединений: норкарана (C₇), норпинана (C₇), норборнана (C₇).

C₃₋₂₀ гетероциклил: Термин "C₃₋₂₀ гетероциклил" в данном контексте относится к одновалентному фрагменту, полученному посредством удаления атома водорода от кольцевого атома гетероциклического соединения, причем указанный фрагмент содержит от 3 до 20 кольцевых атомов, из которых от 1 до 10 являются кольцевыми гетероатомами. Предпочтительно, каждое кольцо содержит от 3 до 7 кольцевых атомов, из которых от 1 до 4 являются кольцевыми гетероатомами.

В данном контексте приставки (например, C₃₋₂₀, C₃₋₇, C₅₋₆ и т.д.) означают количество кольцевых атомов или диапазон количества кольцевых атомов, будь то атомы углерода или гетероатомы. Например, термин "C₅₋₆ гетероцикл" в данном контексте относится к гетероциклической группе, содержащей 5 или 6 кольцевых атомов.

Примеры моноциклических гетероциклических групп включают, но не ограничиваясь ими, группы, полученные из:

N₁: азиридина (C₃), азетидина (C₄), пирролидина (тетрагидропиррола) (C₅), пирролина (например, 3-пирролина, 2,5-дигидропиррола) (C₅), 2Н-пиррола или 3Н-пиррола (изопиррола, изоазола) (C₅), пиперидина (C₆), дигидропиридина (C₆), тетрагидропиридина (C₆), азепина (C₇);

O₁: оксирана (C₃), оксетана (C₄), оксолана (тетрагидрофурана) (C₅), оксола (дигидрофурана) (C₅), оксана (тетрагидропирана) (C₆), дигидропирана (C₆), пирана (C₆), окспейна (C₇);

S₁: тирана (C₃), тиетана (C₄), тиолана (тетрагидротиофена) (C₅), тиана (тетрагидропирана) (C₆), тиепана (C₇);

O₂: диоксолана (C₅), диоксана (C₆) и диоксепана (C₇);

O₃: триоксана (C₆);

N₂: имидазолидина (C₅), пиразолидина (диазолидина) (C₅), имидазолина (C₅), пиразолина (дигидропиразола) (C₅), пиперазина (C₆);

N₁O₁: тетрагидрооксазола (C₅), дигидрооксазола (C₅), тетрагидроизоксазола (C₅), дигидроизоксазола (C₅), морфолина (C₆), тетрагидрооксазина (C₆), дигидрооксазина (C₆), оксазина (C₆);

N₁S₁: тиазолина (C₅), тиазолидина (C₅), тиоморфолина (C₆);

N₂O₁: оксадиазина (C₆);

O₁S₁: оксатиола (C₅) и оксатиана (тиоксана) (C₆); и

N₁O₁S₁: оксатиазина (C₆).

Примеры замещенных моноциклических гетероциклических групп включают группы, полученные из сахаридов в циклической форме, например, фураноз (C₅), таких как арабинофураноза, ликсофураноза, рибофураноза и ксилофураноза, и пираноз (C₆), таких как аллопираноза, альтропираноза, глюкопираноза, маннопираноза, гулопираноза, идопираноза, галактопираноза и талопираноза.

C₆₋₂₀ арил: Термин "C₆₋₂₀ арил" в данном контексте относится к одновалентному фрагменту, полученному посредством удаления атома водорода от ароматического кольцевого атома ароматического соединения, причем указанный фрагмент содержит от 6 до 20 кольцевых атомов. Термин "C₆₋₇ арил" в данном контексте относится к одновалентному фрагменту, полученному посредством удаления атома водорода от ароматического кольцевого атома ароматического соединения, причем указанный фрагмент содержит от 6 до 7 кольцевых атомов, и термин "C₆₋₁₀ арил" в данном контексте относится к одновалентному фрагменту, полученному посредством удаления атома водорода от ароматического кольцевого атома ароматического соединения, причем указанный фрагмент содержит от 6 до 10 кольцевых атомов. Предпочтительно, каждое кольцо содержит от 6 до 7 кольцевых атомов.

В данном контексте приставки (например, C₆₋₇, C₆₋₁₀ и т.д.) означают количество кольцевых атомов или диапазон количества кольцевых атомов, будь то атомы углерода или гетероатомы. Например, термин "C₆ арил" в данном контексте относится к арильной группе, содержащей 6 кольцевых атомов.

Все кольцевые атомы могут быть атомами углерода, как в "карбоарильных группах". Примеры карбоарильных групп включают, но не ограничиваясь ими, группы, полученные из бензола (т.е. фенил) (C₆), нафталина (C₁₀), азулена (C₁₀), антрацена (C₁₄), фенантрена (C₁₄), нафтацена (C₁₈) и пирена (C₁₆).

Примеры арильных групп, которые содержат конденсированные кольца, по меньшей мере одно из которых является ароматическим кольцом, включают, но не ограничиваясь ими, группы, полученные из индана (например, 2,3-дигидро-1Н-индена) (C₉), индена (C₉), изоиндена (C₉), тетралина (1,2,3,4-тетрагидронафталина) (C₁₀), аценафтена (C₁₂), флуорена (C₁₃), феналена (C₁₃), ацефенантрена (C₁₅) и ацеантрена (C₁₆).

Кольцевые атомы могут содержать один или более гетероатомов в случае "гетероарильных групп". Примеры моноциклических гетероарильных групп включают, но не ограничиваясь ими, группы, полученные из:

N₁: пиррола (азола) (C₅), пиридина (азина) (C₆);

O₁: фурана (оксола) (C₅);

S₁: тиофена (тиола) (C₅);

N₁O₁: оксазола (C₅), изоксазола (C₅), изоксазина (C₆);

N₂O₁: оксадиазола (фуразана) (C₅);

N₃O₁: оксатриазола (C₅);

N₁S₁: тиазола (C₅), изотиазола (C₅);

N₂: имидазола (1,3-диазола) (C₅), пиразола (1,2-диазола) (C₅), пиридазина (1,2-диазина) (C₆), пири-мидина (1,3-диазина) (C₆) (например, цитозина, тимина, урацила), пиразина (1,4-диазина) (C₆);

N₃: триазола (C₅), триазина (C₆); и

N₄: тетразола (C₅).

Примеры гетероарила, который содержит конденсированные кольца, включают, но не ограничива-

ясь ими:

C_9 (с 2 конденсированными кольцами), полученные из бензофурана (O_1), изобензофурана (O_1), индола (N_1), изоиндола (N_1), индолизина (N_1), индолина (N_1), изоиндолина (N_1), пурина (N_4) (например, аденина, гуанина), бензимидазола (N_2), индазола (N_2), бензоксазола (N_1O_1), бензоизоксазола (N_1O_1), бензодиоксиола (O_2), бензофуразана (N_2O_1), бензотриазола (N_3), бензотиофурана ($S1$), бензотиазола (N_1S_1), бензотиадиазола (N_2S);

C_{10} (с 2 конденсированными кольцами), полученные из хромена (O_1), изохромена (O_1), хромена (O_1), изохромена (O_1), бензодиоксана (O_2), хинолина (N_1), изохинолина (N_1), хинолизина (N_1), бензоксазина (N_1O_1), бензодиазина (N_2), пиридопиридина (N_2), хиноксалина (N_2), хинолизина (N_2), циннолина (N_2), фталазина (N_2), нафтиридина (N_2), птерицина (N_4);

C_{11} (с 2 конденсированными кольцами), полученные из бензодиазепина (N_2);

C_{13} (с 3 конденсированными кольцами), полученные из карбазола (N_1), дибензофурана (O_1), дибензотиофена (S_1), карболина (N_2), перимидина (N_2), пиридоиндола (N_2); и

C_{14} (с 3 конденсированными кольцами), полученные из акридина (N_1), ксантена (O_1), тиоксантена (S_1), оксантена (O_2), феноксагиина (O_1S_1), феназина (N_2), феноксазина (N_1O_1), фенотиазина (N_1S_1), тиантрена (S_2), фенантридина (N_1), фенантролина (N_2), феназина (N_2).

Указанные выше группы, отдельно или как часть другого заместителя, сами могут быть необязательно замещены одной или более группами, выбранными из них самих и дополнительных заместителей, перечисленных ниже.

Галоген: -F, -Cl, -Br и -I.

Гидроксильная группа: -OH.

Простой эфир: -OR, где R представляет собой заместитель простого эфира, например, C_{1-7} алкильную группу (также упоминается как C_{1-7} алкоксигруппа, которая рассмотрена ниже), C_{3-20} гетероциклическую группу (также упоминается как C_{3-20} гетероциклилоксигруппа), или C_{6-20} арильную группу (также упоминается как C_{6-20} арилоксигруппа), предпочтительно C_{1-7} алкильную группу.

Алкокси: -OR, где R представляет собой алкильную группу, например, C_{1-7} алкильную группу. Примеры C_{1-7} алкоксигрупп включают, но не ограничиваясь ими, -OMe (метокси), -OEt (этокси), -O(nPr) (н-пропокси), -O(iPr) (изопропокси), -O(nBu) (н-бутокси), -O(sBu) (втор-бутокси), -O(tBu) (изобутокси) и -O(tBu) (трет-бутокси).

Ацеталь: -CH(OR¹)(OR²), где R¹ и R² независимо представляют собой заместители ацеталей, например, C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{6-20} арильную группу, предпочтительно C_{1-7} алкильную группу, или в случае "циклической" ацетальной группы R¹ и R² вместе с двумя атомами кислорода, к которым они присоединены, и атомами углерода, к которым они присоединены, образуют гетероциклическое кольцо, содержащее от 4 до 8 кольцевых атомов. Примеры ацетальных групп включают, но не ограничиваясь ими, -CH(OMe)₂, -CH(OEt)₂ и -CH(OMe)(OEt).

Полуацеталь: -CH(OH)(OR¹), где R¹ представляет собой заместитель полуацеталей, например, C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{6-20} арильную группу, предпочтительно C_{1-7} алкильную группу. Примеры полуацетальных групп включают, но не ограничиваясь ими, -CH(OH)(OMe) и -CH(OH)(OEt).

Кеталь: -CR(OR¹)(OR²), где R¹ и R² являются такими, как определено для ацеталей, и R представляет собой заместитель кеталей, отличный от водорода, например, C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{6-20} арильную группу, предпочтительно C_{1-7} алкильную группу. Примеры кетальных групп включают, но не ограничиваясь ими, -C(Me)(OMe)₂, -C(Me)(OEt)₂, -C(Me)(OMe)(OEt), -C(Et)(OMe)₂, -C(Et)(OEt)₂ и -C(Et)(OMe)(OEt).

Полукеталь: -CR(OH)(OR¹), где R¹ является таким, как определено для полуацеталей, и R представляет собой заместитель полукеталей, отличный от водорода, например, C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{6-20} арильную группу, предпочтительно C_{1-7} алкильную группу. Примеры полуацетальных групп включают, но не ограничиваясь ими, -C(Me)(OH)(OMe), -C(Et)(OH)(OMe), -C(Me)(OH)(OEt) и -C(Et)(OH)(OEt).

Оксо (кето, -он): =O.

Тион (тиокетон): =S.

Имино (имин): =NR, где R представляет собой заместитель иминогруппы, например, водород, C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{6-20} арильную группу, предпочтительно водород или C_{1-7} алкильную группу. Примеры сложноэфирных групп включают, но не ограничиваясь ими, =NH, =NMe, =NEt и =NPh.

Формил (карбальдегид, карбоксальдегид): -C(=O)H.

Ацил (кето): -C(=O)R, где R представляет собой заместитель ацила, например, C_{1-7} алкильную группу (также упоминается как C_{1-7} алкилацил или C_{1-7} алканойл), C_{3-20} гетероциклическую группу (также упоминается как C_{3-20} гетероциклилацил) или C_{6-20} арильную группу (также упоминается как C_{6-20} арилацил), предпочтительно C_{1-7} алкильную группу. Примеры ацильных групп включают, но не ограничиваясь ими, -C(=O)CH₃ (ацетил), -C(=O)CH₂CH₃ (пропионил), -C(=O)C(CH₃)₃ (трет-бутирил) и -C(=O)Ph (бензоил, фенол).

Карбокси (карбоновая кислота): $-C(=O)OH$.

Тиокарбокси (тиокарбоновая кислота): $-C(=S)SH$.

Тиолокарбокси (тиолокарбоновая кислота): $-C(=O)SH$.

Тионокрбокси (тионокрбоновая кислота): $-C(=S)OH$.

Имидокислота: $-C(=NH)OH$.

Гидроксамавая кислота: $-C(=NOH)OH$.

Сложный эфир (карбоксилат, сложный эфир карбоновой кислоты, оксикарбонил): $-C(=O)OR$, где R представляет собой заместитель сложного эфира, например, C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{6-20} арильную группу, предпочтительно C_{1-7} алкильную группу. Примеры сложноэфирных групп включают, но не ограничиваясь ими, $-C(=O)OCH_3$, $-C(=O)OCH_2CH_3$, $-C(=O)OC(CH_3)_3$ и $-C(=O)OPh$.

Ацилокси (обратный сложный эфир): $-OC(=O)R$, где R представляет собой заместитель ацилокси-группы, например, C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{6-20} арильную группу, предпочтительно C_{1-7} алкильную группу. Примеры ацилокси-групп включают, но не ограничиваясь ими, $-OC(=O)CH_3$ (ацетокси), $-OC(=O)CH_2CH_3$, $-OC(=O)C(CH_3)_3$, $-OC(=O)Ph$ и $-OC(=O)CH_2Ph$.

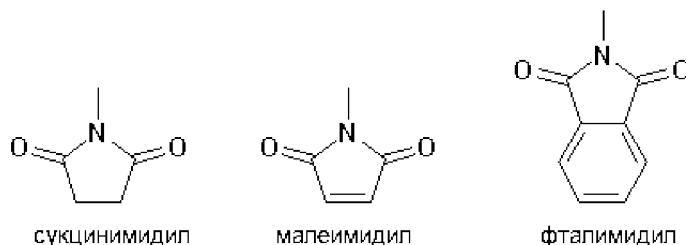
Оксикарбоилокси: $-OC(=O)OR$, где R представляет собой заместитель сложного эфира, например, C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{6-20} арильную группу, предпочтительно C_{1-7} алкильную группу. Примеры сложноэфирных групп включают, но не ограничиваясь ими, $-OC(=O)OCH_3$, $-OC(=O)OCH_2CH_3$, $-OC(=O)OC(CH_3)_3$ и $-OC(=O)OPh$.

Амино: $-NR^1R^2$, где R^1 и R^2 независимо представляют собой заместители аминогруппы, например, водород, C_{1-7} алкильную группу (также упоминается C_{1-7} алкиламино или ди- C_{1-7} алкиламино), C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{6-20} арильную группу, предпочтительно H или C_{1-7} алкильную группу, или в случае "циклической" аминогруппы R^1 и R^2 вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют гетероциклическое кольцо, содержащее от 4 до 8 кольцевых атомов. Аминогруппы могут быть первичными ($-NH_2$), вторичными ($-NHR^1$) или третичными ($-NHR^1R^2$), и в катионной форме могут быть четвертичными ($-NR^1R^2R^3$). Примеры аминогрупп включают, но не ограничиваясь ими, $-NH_2$, $-NHCH_3$, $-NHC(CH_3)_2$, $-N(CH_3)_2$, $-N(CH_2CH_3)_2$ и $-NHPh$. Примеры циклических аминогрупп включают, но не ограничиваясь ими, азиридино, азетидино, пирролидино, пиперидино, пиперазино, морфолино и тиоморфолино.

Амидо (карбамоил, карбамил, аминокрбонил, карбоксаид): $-C(=O)NR^1R^2$, где R^1 и R^2 независимо представляют собой заместители аминогруппы, определенные для аминогрупп. Примеры амидо-групп включают, но не ограничиваясь ими, $-C(=O)NH_2$, $-C(=O)NHCH_3$, $-C(=O)N(CH_3)_2$, $-C(=O)NHCH_2CH_3$ и $-C(=O)N(CH_2CH_3)_2$, а также амидогруппы, в которых R^1 и R^2 вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют гетероциклическую структуру, как, например, в пиперидинокарбониле, морфолинокарбониле, тиоморфолинокарбониле и пиперазинокарбониле.

Тиоамидо (тиокарбамил): $-C(=S)NR^1R^2$, где R^1 и R^2 независимо представляют собой заместители аминогруппы, определенные для аминогрупп. Примеры тиоамидогрупп включают, но не ограничиваясь ими, $-C(=S)NH_2$, $-C(=S)NHCH_3$, $-C(=S)N(CH_3)_2$ и $-C(=S)NHCH_2CH_3$.

Ациламидо (ациламино): $-NR^1C(=O)R^2$, где R^1 представляет собой заместитель амида, например, водород, C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{6-20} арильную группу, предпочтительно водород или C_{1-7} алкильную группу, и R^2 представляет собой заместитель ацила, например, C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{6-20} арильную группу, предпочтительно водород или C_{1-7} алкильную группу. Примеры ациламинидных групп включают, но не ограничиваясь ими, $-NHC(=O)CH_3$, $-NHC(=O)CH_2CH_3$ и $-NHC(=O)Ph$. R^1 и R^2 могут вместе образовывать циклическую структуру, как, например, в сукцинимидиле, малеимидиле и фталиимидиле:



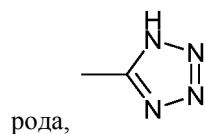
Аминокрбонилокси: $-OC(=O)NR^1R^2$, где R^1 и R^2 независимо представляют собой заместители аминогруппы, определенные для аминогрупп. Примеры аминокрбонилокси-групп включают, но не ограничиваясь ими, $-OC(=O)NH_2$, $-OC(=O)NHMe$, $-OC(=O)NMe_2$ и $-OC(=O)NEt_2$.

Уреидо: $-N(R^1)CONR^2R^3$, где R^2 и R^3 независимо представляют собой заместители аминогруппы, как определено для аминогрупп, и R^1 представляет собой заместитель уреидо-группы, например, водород, C_{1-7} алкильную группу, C_{3-20} гетероциклическую группу или C_{6-20} арильную группу, предпочтительно водород или C_{1-7} алкильную группу. Примеры уреидо-групп включают, но не ограничиваясь ими, $-NHCONH_2$, $NHCONHMe$, $-NHCONHEt$, $-NHCONMe_2$, $-NHCONEt_2$, $-NMeCONH_2$, $NMeCONHMe$,

-NMeCONHEt, -NMeCONMe₂ и -NMeCONEt₂.

Гуанидино: -NH-C(=NH)NH₂.

Тетразолил: пятичленное ароматическое кольцо, содержащее четыре атома азота и один атом угле-



Имино: =NR, где R представляет собой заместитель имино-группы, например, водород, C₁₋₇ алкильную группу, C₃₋₂₀ гетероциклическую группу или C₆₋₂₀ арильную группу, предпочтительно H или C₁₋₇ алкильную группу. Примеры имино-групп включают, но не ограничиваясь ими, =NH, =NMe и =NEt.

Амидин (амидино): -C(=NR)NR₂, где каждый R представляет собой заместитель амидина, например, водород, C₁₋₇ алкильную группу, C₃₋₂₀ гетероциклическую группу или C₆₋₂₀ арильную группу, предпочтительно H или C₁₋₇ алкильную группу. Примеры амидиновых групп включают, но не ограничиваясь ими, -C(=NH)NH₂, -C(=NH)NMe₂ и -C(=NMe)NMe₂.

Нитро: -NO₂.

Нитрозо: -NO.

Азидо: -N₃.

Циано (нитрил, карбонитрил): -CN.

Изоциано: -NC.

Цианато: -OCN.

Изоцианато: -NCO.

Тиоциано (тиоцианато): -SCN.

Изотиоциано (изотиоцианато): -NCS.

Сульфгидрил (тиол, меркапто): -SH.

Простой тиоэфир (сульфид): -SR, где R представляет собой заместитель простого тиоэфира, например, C₁₋₇ алкильную группу (также упоминается как C₁₋₇ алкилтиогруппа), C₃₋₂₀ гетероциклическую группу или C₆₋₂₀ арильную группу, предпочтительно C₁₋₇ алкильную группу. Примеры C₁₋₇ алкилтиогрупп включают, но не ограничиваясь ими, -SCH₃ и -SCH₂CH₃.

Дисульфид: -SS-R, где R представляет собой заместитель дисульфида, например, C₁₋₇ алкильную группу, C₃₋₂₀ гетероциклическую группу или C₆₋₂₀ арильную группу, предпочтительно C₁₋₇ алкильную группу (также упоминается в данном документе как C₁₋₇ алкилдисульфид). Примеры C₁₋₇ алкилдисульфидных групп включают, но не ограничиваясь ими, -SSCH₃ и -SSCH₂CH₃.

Сульфин (сульфинил, сульфоксид): -S(=O)R, где R представляет собой заместитель сульфина, например, C₁₋₇ алкильную группу, C₃₋₂₀ гетероциклическую группу или C₆₋₂₀ арильную группу, предпочтительно C₁₋₇ алкильную группу. Примеры сульфиновых групп включают, но не ограничиваясь ими, -S(=O)CH₃ и -S(=O)CH₂CH₃.

Сульфон (сульфонил): -S(=O)₂R, где R представляет собой заместитель сульфона, например, C₁₋₇ алкильную группу, C₃₋₂₀ гетероциклическую группу или C₆₋₂₀ арильную группу, предпочтительно C₁₋₇ алкильную группу, включая, например, фторированную или перфторированную C₁₋₇ алкильную группу. Примеры сульфоновых групп включают, но не ограничиваясь ими, -S(=O)₂CH₃ (метансульфонил, мезил), -S(=O)₂CF₃ (трифлил), -S(=O)₂CH₂CH₃ (эзил), -S(=O)₂C₆F₉ (нонафил), -S(=O)₂CH₂CF₃ (трезил), -S(=O)₂CH₂CH₂NH₂ (таурил), -S(=O)₂Ph (фенилсульфонил, безил), 4-метилфенилсульфонил (тозил), 4-хлорфенилсульфонил (клозил), 4-бромфенилсульфонил (брозил), 4-нитрофенил (нозил), 2-нафталинсульфонат (напсил) и 5-диметиламинонафталин-1-илсульфонат (дансил).

Сульфиновая кислота (сульфино): -S(=O)OH, -SO₂H.

Сульфоновая кислота (сульфо): -S(=O)₂OH, -SO₃H.

Сульфинат (сложный эфир сульфиновой кислоты): -S(=O)OR; где R представляет собой заместитель сульфината, например, C₁₋₇ алкильную группу, C₃₋₂₀ гетероциклическую группу или C₆₋₂₀ арильную группу, предпочтительно C₁₋₇ алкильную группу. Примеры сульфинатных групп включают, но не ограничиваясь ими, -S(=O)OCH₃ (метоксисульфинил; метилсульфинат) и -S(=O)OCH₂CH₃ (этоксисульфинил; этилсульфинат).

Сульфонат (сложный эфир сульфоновой кислоты): -S(=O)₂OR; где R представляет собой заместитель сульфоната, например, C₁₋₇ алкильную группу, C₃₋₂₀ гетероциклическую группу или C₆₋₂₀ арильную группу, предпочтительно C₁₋₇ алкильную группу. Примеры сульфонатных групп включают, но не ограничиваясь ими, -S(=O)₂OCH₃ (метоксисульфонил; метилсульфонат) и -S(=O)₂OCH₂CH₃ (этоксисульфонил; этилсульфонат).

Сульфинилокси: -OS(=O)R, где R представляет собой заместитель сульфинилоксигруппы, например, C₁₋₇ алкильную группу, C₃₋₂₀ гетероциклическую группу или C₆₋₂₀ арильную группу, предпочтительно C₁₋₇ алкильную группу. Примеры сульфинилоксигрупп включают, но не ограничиваясь ими, -OS(=O)CH₃ и -OS(=O)CH₂CH₃.

Сульфонилокси: -OS(=O)₂R, где R представляет собой заместитель сульфонилоксигруппы, напри-

мер, C₁₋₇ алкильную группу, C₃₋₂₀ гетероциклическую группу или C₆₋₂₀ арильную группу, предпочтительно C₁₋₇ алкильную группу. Примеры сульфонилосигрупп включают, но не ограничиваясь ими, -OS(=O)₂CH₃ (мезилат) и -OS(=O)₂CH₂CH₃ (эзилат).

Сульфат: -OS(=O)₂OR, где R представляет собой заместитель сульфата, например, C₁₋₇ алкильную группу, C₃₋₂₀ гетероциклическую группу или C₆₋₂₀ арильную группу, предпочтительно C₁₋₇ алкильную группу. Примеры сульфатных групп включают, но не ограничиваясь ими, -OS(=O)₂OCH₃ и -SO(=O)₂OCH₂CH₃.

Сульфамил (сульфамоил; амид сульфоновой кислоты; сульфинамид): -S(=O)NR¹R², где R¹ и R² независимо представляют собой заместители аминогруппы, определенные для аминогрупп. Примеры сульфамильных групп включают, но не ограничиваясь ими, -S(=O)NH₂, -S(=O)NH(CH₃), -S(=O)N(CH₃)₂, -S(=O)NH(CH₂CH₃), -S(=O)N(CH₂CH₃)₂ и -S(=O)NHPh.

Сульфонамидо (сульфинамоил; амид сульфоновой кислоты; сульфонамид): -S(=O)₂NR¹R², где R¹ и R² независимо представляют собой заместители аминогруппы, определенные для аминогрупп. Примеры сульфонамидогрупп включают, но не ограничиваясь ими, -S(=O)₂NH₂, -S(=O)₂NH(CH₃), -S(=O)₂N(CH₃)₂, -S(=O)₂NH(CH₂CH₃), -S(=O)₂N(CH₂CH₃)₂ и -S(=O)₂NHPh.

Сульфамино: -NR¹S(=O)₂OH, где R¹ представляет собой заместитель аминогруппы, определенный для аминогрупп. Примеры сульфаминогрупп включают, но не ограничиваясь ими, -NHS(=O)₂OH и -N(CH₃)S(=O)₂OH.

Сульфонамино: -NR¹S(=O)₂R, где R¹ представляет собой заместитель аминогруппы, определенный для аминогрупп, и R представляет собой заместитель сульфонаминогруппы, например, C₁₋₇ алкильную группу, C₃₋₂₀ гетероциклическую группу или C₆₋₂₀ арильную группу, предпочтительно C₁₋₇ алкильную группу. Примеры сульфонаминогрупп включают, но не ограничиваясь ими, -NHS(=O)₂CH₃ и -N(CH₃)S(=O)₂C₆H₅.

Сульфинамино: -NR¹S(=O)R, где R¹ представляет собой заместитель аминогруппы, определенный для аминогрупп, и R представляет собой заместитель сульфинаминогруппы, например, C₁₋₇ алкильную группу, C₃₋₂₀ гетероциклическую группу или C₆₋₂₀ арильную группу, предпочтительно C₁₋₇ алкильную группу. Примеры сульфинаминогрупп включают, но не ограничиваясь ими, -NHS(=O)CH₃ и -N(CH₃)S(=O)C₆H₅.

Фосфино (фосфин): -PR₂, где R представляет собой заместитель фосфино-группы, например, -H, C₁₋₇ алкильную группу, C₃₋₂₀ гетероциклическую группу или C₆₋₂₀ арильную группу, предпочтительно -H, C₁₋₇ алкильную группу или C₆₋₂₀ арильную группу. Примеры фосфино-групп включают, но не ограничиваясь ими, -PH₂, -P(CH₃)₂, -P(CH₂CH₃)₂, -P(t-Bu)₂ и -P(Ph)₂.

Фосфо: -P(=O)₂.

Фосфинил (фосфиноксид): -P(=O)R₂, где R представляет собой заместитель фосфинила, например, C₁₋₇ алкильную группу, C₃₋₂₀ гетероциклическую группу или C₆₋₂₀ арильную группу, предпочтительно C₁₋₇ алкильную группу или C₆₋₂₀ арильную группу. Примеры фосфинильных групп включают, но не ограничиваясь ими, -P(=O)(CH₃)₂, -P(=O)(CH₂CH₃)₂, -P(=O)(t-Bu)₂ и -P(=O)(Ph)₂.

Фосфоновая кислота (фосфоно): -P(=O)(OH)₂.

Фосфонат (сложный фосфоновый эфир): -P(=O)(OR)₂, где R представляет собой заместитель фосфоната, например, -H, C₁₋₇ алкильную группу, C₃₋₂₀ гетероциклическую группу или C₆₋₂₀ арильную группу, предпочтительно -H, C₁₋₇ алкильную группу или C₆₋₂₀ арильную группу. Примеры фосфонатных групп включают, но не ограничиваясь ими, -P(=O)(OCH₃)₂, -P(=O)(OCH₂CH₃)₂, -P(=O)(O-t-Bu)₂ и -P(=O)(OPh)₂.

Фосфорная кислота (фосфонокси): -OP(=O)(OH)₂.

Фосфат (сложный фосфонокси-эфир): -OP(=O)(OR)₂, где R представляет собой заместитель фосфата, например, -H, C₁₋₇ алкильную группу, C₃₋₂₀ гетероциклическую группу или C₆₋₂₀ арильную группу, предпочтительно -H, C₁₋₇ алкильную группу или C₆₋₂₀ арильную группу. Примеры фосфатных групп включают, но не ограничиваясь ими, -OP(=O)(OCH₃)₂, -OP(=O)(OCH₂CH₃)₂, -OP(=O)(O-t-Bu)₂ и -OP(=O)(OPh)₂.

Фосфористая кислота: -OP(OH)₂.

Фосфит: -OP(OR)₂, где R представляет собой заместитель фосфита, например, -H, C₁₋₇ алкильную группу, C₃₋₂₀ гетероциклическую группу или C₆₋₂₀ арильную группу, предпочтительно -H, C₁₋₇ алкильную группу или C₆₋₂₀ арильную группу. Примеры фосфитных групп включают, но не ограничиваясь ими, -OP(OCH₃)₂, -OP(OCH₂CH₃)₂, -OP(O-t-Bu)₂ и -OP(OPh)₂.

Фосфорамидит: -OP(OR¹)-NR²₂, где R¹ и R² представляют собой заместители фосфорамидита, например, -H, (необязательно замещенную) C₁₋₇ алкильную группу, C₃₋₂₀ гетероциклическую группу или C₆₋₂₀ арильную группу, предпочтительно -H, C₁₋₇ алкильную группу или C₆₋₂₀ арильную группу. Примеры фосфорамидитных групп включают, но не ограничиваясь ими, -OP(OCH₂CH₃)-N(CH₃)₂, -OP(OCH₂CH₃)-N(i-Pr)₂ и -OP(OCH₂CH₂CN)-N(i-Pr)₂.

Фосфорамидат: -OP(=O)(OR¹)-NR²₂, где R¹ и R² представляют собой заместители фосфорамидата, например, -H, (необязательно замещенную) C₁₋₇ алкильную группу, C₃₋₂₀ гетероциклическую группу или C₆₋₂₀ арильную группу, предпочтительно -H, C₁₋₇ алкильную группу или C₆₋₂₀ арильную группу. Примеры фосфорамидатных групп включают, но не ограничиваясь ими, -OP(=O)(OCH₂CH₃)-N(CH₃)₂,

$-\text{OP}(=\text{O})(\text{OCH}_2\text{CH}_3)-\text{N}(\text{i-Pr})_2$ и $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN})-\text{N}(\text{i-Pr})_2$.

Алкилен

C_{3-12} алкилен: Термин " C_{3-12} алкилен" в данном контексте относится к бидентатному фрагменту, полученному посредством удаления двух атомов водорода, либо обоих от одного и того же атома углерода, либо по одному от каждого из двух различных атомов углерода в углеводородном соединении, содержащем от 3 до 12 атомов углерода (если не указано иное), который может быть алифатическим или алициклическим, и который может быть насыщенным, частично ненасыщенным или полностью ненасыщенным. Таким образом, термин "алкилен" включает подклассы алкенилена, алкинилена, циклоалкилена и т.д., рассмотренные ниже.

Примеры линейных насыщенных C_{3-12} алкиленовых групп включают, но не ограничиваясь ими, $-(\text{CH}_2)_n-$, где n представляет собой целое число от 3 до 12, например, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ (пропилен), $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ (бутилен), $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ (пентилен) и $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ (гептилен).

Примеры разветвленных насыщенных C_{3-12} алкиленовых групп включают, но не ограничиваясь ими, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ и $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2-$.

Примеры линейных частично ненасыщенных C_{3-12} алкиленовых групп (C_{3-12} алкениленовых и алкиниленовых групп) включают, но не ограничиваясь ими, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ и $-\text{CH}_2-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_2-$.

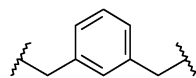
Примеры разветвленных частично ненасыщенных C_{3-12} алкиленовых групп (C_{3-12} алкениленовых и алкиниленовых групп) включают, но не ограничиваясь ими, $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-$, $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ и $-\text{C}=\text{C}-\text{CH}(\text{CH}_3)-$.

Примеры алициклических насыщенных C_{3-12} алкиленовых групп (C_{3-12} циклоалкиленов) включают, но не ограничиваясь ими, циклопентилен (например, циклопент-1,3-илен) и циклогексилен (например, циклогекс-1,4-илен).

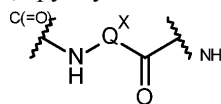
Примеры алициклических частично ненасыщенных C_{3-12} алкиленовых групп (C_{3-12} циклоалкиленов) включают, но не ограничиваясь ими, циклопентенилен (например, 4-циклопентен-1,3-илен), циклогексенилен (например, 2-циклогексен-1,4-илен; 3-циклогексен-1,2-илен; 2,5-циклогексадиен-1,4-илен).

Если C_{3-12} алкиленовая группа прерывается гетероатомом, то нижний индекс относится к количеству атомов в цепи, включая гетероатомы. Например, цепь $-\text{C}_2\text{H}_4-\text{O}-\text{C}_2\text{H}_4-$ представляет собой C_5 группу.

Если C_{3-12} алкиленовая группа прерывается ароматическим кольцом, то нижний индекс относится к количеству атомов непосредственно в цепи, включая ароматическое кольцо. Например, цепь



представляет собой C_5 группу.



Обозначения связей: В формуле обозначения, записанные в верхнем индексе, $\text{C}(=\text{O})$ и NH обозначают группу, с которой связаны указанные атомы. Например, группа NH показана как связанная с карбонилем (который не является частью изображенного фрагмента), а карбонил показан как связанный с группой NH (которая не является частью изображенного фрагмента).

Звено лиганда

Звено лиганда может быть любого вида и включает белковый, полипептидный, пептидный и непептидный агент, который специфически связывается с молекулой-мишенью. В некоторых вариантах реализации звено лиганда может представлять собой белок, полипептид или пептид. В некоторых вариантах реализации звено лиганда может представлять собой циклический полипептид. Указанные звенья лиганда могут включать антитела или фрагмент антитела, который содержит по меньшей мере один сайт, связывающийся с молекулой-мишенью, лимфокины, гормоны, факторы роста или любую другую клеточно-связывающую молекулу или вещество, которое может специфически связываться с мишенью.

Термины "специфически связывается" и "специфическое связывание" относятся к связыванию антитела или другого белка, полипептида или пептида с заданной молекулой (например, антигеном). Обычно антитело или другая молекула связывается с аффинностью по меньшей мере около $1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$, и связывается с заданной молекулой с аффинностью, которая по меньшей мере в два раза выше, чем ее аффинность в отношении связывания с неспецифической молекулой (например, BSA, казеином), отличной от заданной молекулы или близкородственной молекулы.

Примеры звеньев лиганда включают агенты, описанные для применения в публикации WO 2007/085930, включенной в данный документ.

В некоторых вариантах реализации звено лиганда представляет собой клеточно-связывающий агент, который связывается с внеклеточной мишенью на клетке. Такой клеточно-связывающий агент может представлять собой белок, полипептид, пептид или непептидный агент. В некоторых вариантах реализа-

ции клеточносвязывающий агент может представлять собой белок, полипептид или пептид. В некоторых вариантах реализации клеточносвязывающий агент может представлять собой циклический полипептид. Клеточносвязывающий агент также может представлять собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела. Так, в одном варианте реализации данного изобретения предложен конъюгат антитела и лекарственного соединения (ADC).

Клеточносвязывающий агент

Клеточносвязывающий агент может быть любого вида и включает пептиды и непептидные соединения. Они могут включать антитела или фрагмент антитела, который содержит по меньшей мере один связывающий сайт, лимфокины, гормоны, миметики гормонов, витамины, факторы роста, молекулы, переносящие питательные вещества, или любую другую клеточносвязывающую молекулу или вещество.

Пептиды

В одном варианте реализации клеточносвязывающий агент представляет собой линейный или циклический пептид, содержащий 4-30, предпочтительно 6-20 последовательных аминокислотных остатков. В данном варианте реализации предпочтительно, что один клеточносвязывающий агент связан с одним мономерным или димерным азетидобензодиазепиновым соединением.

В одном варианте реализации клеточносвязывающий агент содержит пептид, который связывает интегрин $\alpha_v\beta_6$. Пептид может быть селективным в отношении $\alpha_v\beta_6$ по сравнению с XYS.

В одном варианте реализации клеточносвязывающий агент содержит полипептид A20FMDV-Cys. A20FMDV-Cys имеет последовательность: NAVPNLRGDLQVLAQKVARTC.

Альтернативно, можно использовать вариант последовательности A20FMDV-Cys, в котором один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять аминокислотных остатков замещены другим аминокислотным остатком. Более того, полипептид может иметь последовательность NAVXXXXXXXXXXXXXXXXXRTC.

Антитела

Термин "антитело" использован в данном контексте в самом широком смысле и включает, в частности, моноклональные антитела, поликлональные антитела, димеры, мультимеры, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела), поливалентные антитела и фрагменты антител, при условии, что они проявляют требуемую биологическую активность (Miller et al. (2003) *Jour. of Immunology* 170:4854-4861). Антитела могут быть мышинными, человеческими, гуманизированными, химерными или полученными из других биологических видов. Антитело представляет собой белок, созданный иммунной системой, который способен распознавать и связываться со специфическим антигеном. (Janeway, C, Travers, P., Walport, M., ShlomCHik (2001) *Immuno Biology*, 5-e изд., Garland Publishing, Нью-Йорк). Антиген мишени обычно имеет множество связывающих сайтов, также называемых эпитопами, которые распознаются определяющими комплементарность областями (CDR) различных антител. Каждое антитело, которое специфически связывается с другим эпитопом, имеет другую структуру. Так, один антиген может иметь более одного соответствующего антитела. Антитело включает полноразмерную молекулу иммуноглобулина или иммунологически активную часть полноразмерной молекулы иммуноглобулина, т.е. молекулу, которая содержит антигенсвязывающий сайт, который иммуноспецифически связывается с антигеном рассматриваемой мишени или его частью, и такие мишени включают, но не ограничиваются ими, раковые клетки или клетки, которые вырабатывают аутоиммунные антитела, связанные с аутоиммунным заболеванием. Иммуноглобулин может быть любого типа (например, IgG, IgE, IgM, IgD и IgA), класса (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или подкласса иммуноглобулиновых молекул. Иммуноглобулины могут быть получены из любых видов животных, включая человека, мышей или кроликов.

"Фрагменты антител" содержат часть полноразмерного антитела, обычно его антигенсвязывающую или вариабельную область. Примеры фрагментов антител включают фрагменты Fab, Fab', F(ab')₂ и scFv; диатела; линейные антитела; фрагменты, полученные экспрессионной библиотекой Fab, анти-идиотипические (анти-Id) антитела, CDR (определяющую комплементарность область) и эпитопсвязывающие фрагменты любых вышеперечисленных, которые иммуноспецифически связываются с антигенами раковых клеток, вирусными антигенами или микробными антигенами, одноцепочечными молекулами антител; и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

Термин "моноклональное антитело" в данном контексте относится к антителу, полученному из популяции по существу однородных антител, т.е. отдельные антитела, образующие указанную популяцию, идентичны, за исключением возможных природных мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела являются высокоспецифическими, направленными против одного антигенного сайта. Кроме того, в отличие от препаратов поликлональных антител, которые содержат различные антитела, направленные против различных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело направлено против одной детерминанты на антигене. Помимо их специфичности, моноклональные антитела имеют то преимущество, что их можно синтезировать без примеси других антител. Модификатор "моноклональное" указывает на характер антитела как полученный из по существу однородной популяции антител, и его не следует толковать как требующий получения указанного антитела каким-либо конкретным способом. Например, моноклональные антитела, подходящие для при-

менения по данному изобретению, можно получать гибридным способом, впервые описанным авторами Kohler et al. (1975) Nature 256:495, или можно получать способами рекомбинантных ДНК (см. US 4816567). Моноклональные антитела можно также выделять из библиотек фаговых антител с применением технологий, описанных в публикации Clackson et al. (1991) Nature, 352:624-628; Marks et al. (1991) J. Mol. Biol, 222:581-597, или из трансгенных мышей, несущих полностью человеческую иммуноглобулиновую систему (Lonberg (2008) Curr. Opin. 20(4):450-459).

Моноклональные антитела в данном контексте включают, в частности, химерные антитела, гуманизированные антитела и человеческие антитела.

Примеры клеточносвязывающих агентов включают агенты, описанные для применения в WO 2007/085930, включенном в данный документ.

Опухолеассоциированные антигены и когнатные антитела для применения в вариантах реализации данного изобретения перечислены ниже и более подробно описаны на страницах 14-86 публикации WO 2017/186894, включенной в данный документ.

- (1) BMPRIВ (рецептор костного морфогенетического белка типа IB) (2) E16 (LAT1, SLC7A5)
- (3) STEAP1 (шестой трансмембранный эпителиальный антиген предстательной железы)
- (4) 0772P (CA125, MUC16)
- (5) MPF (MPF, MSLN, SMR, фактор стимуляции мегакариоцитов, мезотелин)
- (6) Napi3b (NAPI-3B, NPTIb, SLC34A2, семейство носителей растворенных веществ 34 (фосфат натрия), член 2, тип II, натрийзависимый фосфатный транспортер 3b)
- (7) Sema 5b (FLJ10372, KIAA1445, Mm.42015, SEMA5B, SEMAG, Hlog семафорина 5b, домен sema 25, из семи тромбоспондиновых повторов (типа 1 и подобных типу 1), трансмембранный домен (TM) и короткий цитоплазматический домен, (семафорин) 5B)
- (8) PSCA hlg (2700050C12Rik, C530008O16Rik, кДНК RIKEN 2700050C12, кДНК RIKEN, ген 2700050C12)
- (9) ETBR (рецептор эндотелина типа B) (10) MSG783 (RNF124, гипотетический белок FLJ20315)
- (11) STEAP2 (HGNC8639, IPCA-1, PCANAP1, STAMP1, STEAP2, STMP, ассоциированный с раком предстательной железы ген 1, ассоциированный с раком предстательной железы белок 1, шестой трансмембранный эпителиальный антиген предстательной железы 2, шестой трансмембранный белок предстательной железы)
- (12) TrpM4 (BR22450, FLJ20041, TRPM4, TRPM4B, катионный канал тразиторного рецепторного потенциала 5, подсемейство M, член 4)
- (13) CRIPTO (CR, CR1, CRGF, CRIPTO, TDGF1, фактор роста, полученный из тератокарциномы)
- (14) CD21 (CR2 (рецептор комплемента 2) или C3DR (C3d/рецептор вируса Эпштейна-Барра) или Hs.73792)
- (15) CD79b (CD79B, CD79p, Igb (иммуноглобулин-ассоциированный, бета), B29)
- (16) FcRH2 (IFGP4, IRTA4, SPAP1A (домен SH2, содержащий якорный белок фосфатазы 1a), SPAP1B, SPAP1C)
- (17) HER2 (ErbB2)
- (18) NCA (CEACAM6)
- (19) MDP(DPEP1)
- (20) IL20R-alpha (IL20Ra, ZCYTOR7)
- (21) Brevican (BCAN, BEHAV)
- (22) EphB2R (DRT, ERK, Nek5, EPHT3, Tyro5)
- (23) ASLG659 (B7h)
- (24) PSCA (предшественник антигена стволовых клеток предстательной железы)
- (25) GEDA
- (26) BAFF-R (рецептор фактора активации В-клеток, рецептор BLyS3, BR3)
- (27) CD22 (изоформа В CD22 рецептора В-клеток, BL-CAM, Lyb-8, Lyb8, SIGLEC-2, FLJ22814)
- (27a) CD22 (молекула CD22)
- (28) CD79a (CD79A, CD79альфа), иммуноглобулин-ассоциированный альфа, специфичный к В-клеткам белок, который ковалентно взаимодействует с Ig бета (CD79B) и образует комплекс на поверхности с молекулами Ig M, передает сигнал, участвующий в дифференцировке В-клеток), pI: 4,84, MM: 25028 TM: 2 [P] Хромосома гена: 19q13.2).
- (29) CXCR5 (рецептор 1 лимфомы Беркитта, рецептор, связанный с белком G, который активируется хемокином CXCL13, участвует в миграции лимфоцитов и гуморальной защите, играет 10 роль в инфекции ВИЧ-2 и возможно развитии СПИДа, лимфомы, миеломы и лейкоза); 372 aa, pI: 8,54 MM: 41959 TM: 7 [P] Хромосома гена: 11q23.3,
- (30) HLA-DOB (бета-субъединица молекулы II класса MHC (антиген Ia), которая связывает пептиды и 20 предоставляет их в лимфоциты CD4+ T); 273 aa, pI: 6,56, MM: 30820.TM: 1 [P] Хромосома гена: 6p21.3)
- (31) P2X5 (лиганд-управляемый ионный канал пуриnergического рецептора P2X, ионный канал, управляемый внеклеточной АТФ, может участвовать в синаптической трансмиссии и нейрогенезе, дефи-

цит может способствовать патофизиологии идиопатической нестабильности детрузора); 422 aa, pI: 7.63, MM: 47206 TM: 1 [P] Хромосома гена: 17p13.3).

(32) CD72 (антиген дифференцировки В-клеток CD72, Lyb-2); 359 aa, pI: 8,66, MM: 40225, TM: 1 5 [P] Хромосома гена: 9p13.3).

(33) LY64 (лимфоцитарный антиген 64 (RP105), мембранный белок I типа семейства с высоким содержанием лейцина (LRR), регулирует активацию и апоптоз В-клеток, потеря функции связана с повышенной активностью заболевания у пациентов с системной красной волчанкой); 661 aa, pI: 6,20, MM: 74147 TM: 1 [P] Хромосома гена: 5q12).

(34) FcRH1 (рецептор-подобный белок 1 Fc, предполагаемый рецептор к домену Fc иммуноглобулина, который содержит Ig-подобный домен типа C2 и домен ITAM, может играть роль в 20 дифференцировке В-лимфоцитов); 429 aa, pI: 5,28, MM: 46925 TM: 1 [P] Хромосома гена: 1q21-1q22)

(35) IRTA2 (рецептор иммуноглобулинового суперсемейства, ассоциированный с транслокацией 2, предполагаемый иммунорецептор с возможным участием в развитии В-клеток и лимфомагенезе; регуляция гена вследствие транслокации происходит при некоторых В-клеточных злокачественных заболеваниях); 977 aa, pI: 6,88, MM: 106468, TM: 1 [P] Хромосома гена: 1q21)

(36) TENB2 (TMEFF2, томорегулин, TPEF, FIPP1, TR, предполагаемый трансмембранный 35 протеогликан, связанный с семейством EGF/гератулина факторов роста и фоллистатина); 374 aa)

(37) PSMA - FOLH1 (Фолатгидролаза (простата-специфический мембранный антиген) 1)

(38) SST (рецептор соматостатина; следует учитывать, что существует 5 подтипов)

(38.1) SSTR2 (рецептор соматостатина 2)

(38.2) SSTR5 (рецептор соматостатина 5)

(38.3) SSTR1

(38.4) SSTR3

(38.5) SSTR4

AvB6 - Обе субъединицы (39+40)

(39) ITGAV (интегрин, альфа V)

(40) ITGB6 (интегрин, бета 6)

(41) CEACAM5 (молекула клеточной адгезии 5, связанная с карциноэмбриональным антигеном)

(42) MET (прото-онкоген met; рецептор фактора роста гепатоцитов)

(43) MUC1 (муцин 1, связанный с клеточной поверхностью)

(44) CA9 (карбонатгидраза IX)

(45) EGFRvIII (рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), транскрипционный вариант 3,

(46) CD33 (молекула CD33)

(47) CD19 (молекула CD19)

(48) IL2RA (рецептор интерлейкина 2, альфа); эталонная последовательность NCBI:NM_000417.2);

(49) AXL (рецепторная тирозинкиназа AXL)

(50) CD30 - TNFRSF8 (8 член суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли)

(51) BCMA (антиген созревания В-клеток) - TNFRSF17 (17 член суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли)

(52) CT Ags - CTA (антигены рака яичек)

(53) CD174 (Льюис Y) - FUT3 (фукозилтрансфераза 3 (галактозид-3(4)-L-фукозилтрансфераза, группа крови Льюиса)

(54) CLEC14A (член А семейства 14 лектиновых доменов С-типа; Genbank, номер доступа NM175060)

(55) GRP78 - HSPA5 (белок 5 теплового шока 70 кДа (глюкозрегулируемый белок, 78 кДа)

(56) CD70 (молекула CD70) L08096

(57) Антигены, специфические для стволовых клеток. Например:

5T4 (см. строку (63) ниже)

CD25 (см. строку (48) ниже)

CD32

LGR5/GPR49

Проминин/CD133

(58) ASG-5

(59) ENPP3 (эктонуклеотидная пирофосфатаза/фосфодиэстераза 3)

(60) PRR4 (пролин-богатый 4 (лакримальный))

(61) GCC - GUCY2C (гуанилатциклаза 2C (рецептор термостабильного энтеротоксина)

(62) Liv-1 - SLC39A6 (6 член семейства носителей растворенных веществ 39 (транспортер цинка))

(63) 5T4, трофобластный гликопротеин, TPBG- TPBG (трофобластный гликопротеин)

(64) CD56 - NCMA1 (молекула адгезии нервных клеток 1)

(65) CanAg (опухлеассоциированный антиген CA242)

(66) FOLR1 (фолатный рецептор 1)

(67) GPNMB (гликопротеин (трансмембранный)nmb)

- (68) TIM-1-HAVCR1 (клеточный рецептор 1 вируса гепатита А)
 (69) RG-1/мишень опухоли предстательной железы Mindin - Mindin/RG-1
 (70) B7-H4-VTCN1 (ингибитор 1 активации Т-клеток, содержащий V-образный домен)
 (71) PTK7 (протеинтирозинкиназа 7 PTK7)
 (72) CD37 (молекула CD37)
 (73) CD138-SDC1 (синдекан 1)
 (74) CD74 (молекула CD74, главный комплекс гистосовместимости, инвариантная цепь II класса)
 (75) Клаудины - CL (клаудины)
 (76) EGFR (рецептор эпидермального фактора роста)
 (77) Her3 (ErbB3) - ERBB3 (гомолог 3 вирусного онкогена эритробластного лейкоза v-erb-b2 (птиц))
 (78) RON - MST1R (макрофаг-стимулирующий рецептор 1 (с-met-родственная тирозинкиназа))
 (79) ERHA2 (EPH рецептор A2)
 (80) CD20-MS4A1 (трансмембранные 4-домены, подсемейство А, член 1)
 (81) Тенасцин С-TNC (тенасцин С)
 (82) FAP (альфа-белок активации фибробластов)
 (83) DKK-1 (Dickkopf 1 гомолог (*Xenopus laevis*))
 (84) CD52 (молекула CD52)
 (85) CS1-SLAMF7 (7 член семейства SLAM)
 (86) Эндоглин - ENG (эндоглин)
 (87) Аннексии A1-ANXA1 (аннексин A1)
 (88) V-CAM (CD106)-VCAM1 (молекула адгезии сосудистого эндотелия 1 типа)
 Дополнительные опухолеассоциированные антигены и когнатные антитела представляют собой:
 (89) ASCT2 (ASC транспортер 2, также известный как SLC1A5).

Антитела ASCT2 описаны в WO 2018/089393, включенном в данный документ посредством ссылки.

Клеточносвязывающий агент может иметь метку, например, для облегчения обнаружения или очистки указанного агента до внедрения в конъюгат или в составе конъюгата. Метка может быть биотиновой меткой. В другом варианте реализации клеточносвязывающий агент может иметь радиоизотопную метку.

Способы лечения

Соединения по данному изобретению можно использовать в способе терапии. Также предложен способ лечения, включающий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, терапевтически эффективного количества конъюгата формулы II. Термин "терапевтически эффективное количество" представляет собой количество, достаточное для обеспечения пользы для пациента. Такой благоприятный эффект может представлять собой облегчение по меньшей мере одного симптома. Фактически введенное количество, а также частота и схема введения зависят от природы и тяжести патологического состояния, подлежащего лечению. Назначение лечения, например, определение дозы, входит в ответственность врачей общей практики и другого медицинского персонала.

Конъюгат можно вводить отдельно или в комбинации с другими способами лечения, одновременно или последовательно, в зависимости от патологического состояния, подлежащего лечению. Примеры способов лечения и терапий включают, но не ограничиваются ими, химиотерапию (введение активных агентов, включая, например, лекарства; хирургические операции; и лучевую терапию).

Фармацевтические композиции по данному изобретению и для применения в соответствии с данным изобретением могут содержать, помимо активного ингредиента, т.е. конъюгата формулы II, фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество, носитель, буфер, стабилизатор или другие материалы, известные специалистам в данной области техники. Такие материалы должны быть нетоксичными и не должны влиять на эффективность активного ингредиента. Точная природа носителя или другого материала зависит от способа введения, который может быть пероральным, или посредством инъекции, например, кожной, подкожной или внутривенной.

Фармацевтические композиции для перорального введения могут быть в форме таблетки, капсулы, порошка или в жидкой форме. Таблетка может содержать твердый носитель или адъювант. Жидкие фармацевтические композиции обычно содержат жидкий носитель, такой как вода, нефтяной, животный или растительный жир, минеральное масло или синтетическое масло. Может быть включен физиологический солевой раствор, раствор декстрозы или другого сахара или гликоли, такие как этиленгликоль, пропиленгликоль или полиэтиленгликоль. Капсула может содержать твердый носитель, такой как желатин.

Для внутривенной, кожной или подкожной инъекции, или инъекции в очаг поражения активный ингредиент должен быть в форме парентерально приемлемого водного раствора, который является апиrogenным и имеет подходящий pH, изотоничность и стабильность. Специалисты в данной области техники могут получить подходящие растворы с применением, например, изотоничных сред, таких как раствор хлорида натрия для инъекций, раствор Рингера для инъекций, лактатный раствор Рингера для инъекций. При необходимости можно добавлять консерванты, стабилизаторы, буферы, антиоксиданты и/или другие добавки.

Указанные конъюгаты можно использовать для лечения пролиферативного заболевания и аутоим-

мунного заболевания. Термин "пролиферативное заболевание" относится к нежелательной или неконтролируемой клеточной пролиферации избыточных или патологических клеток, которые являются нежелательными, такой как неопластический или гиперпластический рост *in vitro* или *in vivo*.

Примеры пролиферативных патологических состояний включают, но не ограничиваются ими, доброкачественную, пред-злокачественную и злокачественную клеточную пролиферацию, включая, но не ограничиваясь этим, неоплазмы и опухоли (например, гистiocитому, глиому, астроцитому, остеому), рак (например, рак легких, мелкоклеточный рак легких, желудочно-кишечный рак, рак кишечника, рак толстой кишки, карцинома молочной железы, карцинома яичника, рак предстательной железы, рак яичек, рак печени, рак почек, рак молочного пузыря, рак поджелудочной железы, рак головного мозга, саркома, остеосаркома, саркома Капоши, меланома), лейкозы, псориаз, болезни костей, фибропролиферативные расстройства (например, соединительных тканей) и атеросклероз. Другие раковые заболевания, представляющие интерес, включают, но не ограничиваются ими, гематологические заболевания; злокачественные заболевания, такие как лейкозы и лимфомы, такие как неходжкинская лимфома и подтипы, такие как DLBCL, лимфома из клеток маргинальной зоны, из клеток мантийной зоны и фолликулярная лимфома, лимфома Ходжкина, AML и другие раковые заболевания из В- или Т-клеток.

Примеры аутоиммунного заболевания включают следующие: ревматоидный артрит, аутоиммунные демиелинизирующие заболевания (например, рассеянный склероз, аллергический энцефаломиелит), псориаз, псориатический артрит, эндокринная офтальмопатия, увеоретинит, системная красная волчанка, миастения гравис, болезнь Грейса, гломерулонефрит, аутоиммунное гепатологическое расстройство, воспалительная болезнь кишечника (например, болезнь Крона), анафилаксия, аллергическая реакция, синдром Шегрена, сахарный диабет I типа, первичный билиарный цирроз, гранулематоз Вегенера, фибромиалгия, полимиозит, дерматомиозит, множественная эндокринная недостаточность, синдром Шмидта, аутоиммунный увеит, болезнь Аддисона, адреналит, тиреоидит, тиреоидит Хашимото, аутоиммунная болезнь щитовидной железы, пернициозная анемия, желудочная атрофия, хронический гепатит, волчаночный гепатит, атеросклероз, подострая кожная красная волчанка, гипопаратиреоз, синдром Дресслера, аутоиммунная тромбоцитопения, идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура, гемолитическая анемия, обыкновенная пузырчатка, пузырчатка, герпетический дерматит, очаговая алопеция, пемфигоид, склеродермия, прогрессирующий системный склероз, CREST-синдром (кальциноз, феномен Рейно, пищеводная дискинезия, склеродактилия и телеангиэктазия), аутоиммунное бесплодие мужчин и женщин, анкилозирующий спондилит, язвенный колит, смешанная болезнь соединительной ткани, нодозный полиартериит, системный некротизирующий васкулит, атопический дерматит, атопический ринит, синдром Гудпасчера, болезнь Шагаса, саркоидоз, ревматическая лихорадка, астма, привычный выкидыш, антифосфолипидный синдром, аллергический альвеолит фермеров, мультиформная эритема, посткардиотомный синдром, синдром Кушинга, аутоиммунный хронический активный гепатит, легочная аллергия птиц, токсический эпидермальный некролиз, синдром Альпорта, альвеолит, аллергический альвеолит, фиброзирующий альвеолит, интерстициальная болезнь легких, нодозная эритема, гангренозная пиодермия, трансфузионная реакция, артериит Такаясу, ревматическая полимиалгия, височный артериит, шистозомоз, гигантоклеточный артериит, аскаридоз, аспергиллоз, синдром Самптера, экзема, лимфоматоидный гранулематоз, болезнь Бехчета, синдром Каплана, болезнь Кавасаки, денге, энцефаломиелит, эндокардит, эдомиокардиальный фиброз, эндофтальмит, стойко возвышающаяся эритема, псориаз, эритробластоз плода, эозинофильный фасциит, синдром Шульмана, синдром Фелти, филяриоз, циклит, хронический циклит, гетерохронический циклит, циклит Фукса, нефроматия IgA, пурпура Геноха-Шонлейна, болезнь "трансплантат против хозяина", отторжение трансплантата, кардиомиопатия, синдром Итона-Ламберта, рецидивирующий полихондрит, криоглобулинемия, макроглобулинемия Вальденстрема, синдром Эванса и аутоиммунная гонадная недостаточность.

В некоторых вариантах реализации аутоиммунное заболевание представляет собой расстройство В-лимфоцитов (например, системная красная волчанка, синдром Гудпасчера, ревматоидный артрит и диабет I типа), Th1-лимфоцитов (например, ревматоидный артрит, рассеянный склероз, псориаз, синдром Шегрена, тиреоидит Хашимото, болезнь Грейса, первичный билиарный цирроз, гранулематоз Вегенера, туберкулез или болезнь "трансплантат против хозяина") или Th2-лимфоцитов (например, атопический дерматит, системная красная волчанка, атопическая астма, риноконъюнктивит, аллергический ринит, синдром Оменна, системный склероз или хроническая болезнь "трансплантат против хозяина"). В целом, расстройства, затрагивающие дендритные клетки, включают расстройства Th1-лимфоцитов или Th2-лимфоцитов. В некоторых вариантах реализации аутоиммунное расстройство представляет собой иммунологическое расстройство, опосредованное Т-клетками.

В некоторых вариантах реализации количество введенного конъюгата составляет от около 0,01 до около 10 мг/кг на одну дозу. В некоторых вариантах реализации количество введенного конъюгата составляет от около 0,01 до около 5 мг/кг на одну дозу. В некоторых вариантах реализации количество введенного конъюгата составляет от около 0,05 до около 5 мг/кг на одну дозу. В некоторых вариантах реализации количество введенного конъюгата составляет от около 0,1 до около 5 мг/кг на одну дозу. В некоторых вариантах реализации количество введенного конъюгата составляет от около 0,1 до около 4 мг/кг на одну дозу. В некоторых вариантах реализации количество введенного конъюгата составляет от около

0,05 до около 3 мг/кг на одну дозу. В некоторых вариантах реализации количество введенного конъюгата составляет от около 0,1 до около 3 мг/кг на одну дозу. В некоторых вариантах реализации количество введенного конъюгата составляет от около 0,1 до около 2 мг/кг на одну дозу.

Содержание лекарственного вещества

Содержание лекарственного вещества (p) представляет собой среднее количество ABD лекарств на один клеточносвязывающий агент, например, антитело. Если соединения по данному изобретению связаны с цистеинами, то содержание лекарственного вещества может составлять от 1 до 8 единиц лекарства (D) на один клеточносвязывающий агент, т.е. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 и 8 фрагментов лекарства ковалентно связаны с клеточносвязывающим агентом. Композиции конъюгатов включают совокупности клеточносвязывающих агентов, например, антител, конъюгированных с лекарством в количестве от 1 до 8. Если соединения по данному изобретению связаны с лизинами, то содержание лекарственного вещества может составлять от 1 до 80 единиц лекарства (D) на один клеточносвязывающий агент, хотя предпочтительным может быть верхний предел 40, 20, 10 или 8. Композиции конъюгатов включают совокупности клеточносвязывающих агентов, например, антител, конъюгированных с лекарством в количестве от 1 до 80, от 1 до 40, от 1 до 20, от 1 до 10 или от 1 до 8.

Среднее количество лекарств на одно антитело в препаратах ADC, полученных в результате реакций конъюгации, можно определить стандартными способами, такими как УФ, обращенно-фазовая ВЭЖХ, ГИХ, масс-спектрометрия, твердофазный иммуноферментный анализ и электрофорез. Также можно определить количественное распределение ADC с точки зрения p. С помощью твердофазного иммуноферментного анализа можно определить среднее значение p в конкретном препарате ADC (Hamblett et al. (2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070; Sanderson et al. (2005) Clin. Cancer Res. 11:843-852). Однако распределение значений p (лекарства) нельзя определить по связыванию антитело-антиген и по пределу обнаружения твердофазного иммуноферментного анализа. Кроме того, твердофазный иммуноферментный анализ для обнаружения конъюгатов антитело-лекарство не обеспечивает определение положений, в которых фрагменты лекарства присоединены к антителу, такому как фрагменты тяжелой цепи или легкой цепи, конкретных аминокислотных остатков. В некоторых случаях разделение, очистку и определение характеристик гомогенного ADC, в котором p представляет собой определенное значение, полученное на основании ADC с другим содержанием лекарства, можно осуществлять с помощью, например, обратно-фазовой ВЭЖХ или электрофореза. Такие технологии также применимы к другим типам конъюгатов.

Для некоторых конъюгатов антитело-лекарство, p может быть ограничен количеством центров присоединения в антителе. Например, антитело может иметь только одну или несколько тиольных групп цистеина, или может иметь только одну или несколько достаточно реакционноспособных тиольных групп, к которым может быть присоединен линкер. Более высокое содержание лекарства, например, $p > 5$, может приводить к агрегации, нестабильности, токсичности или снижению клеточной проницаемости некоторых конъюгатов антитело-лекарство.

Как правило, в реакции конъюгации с антителом конъюгируется меньшее количество лекарственных фрагментов, чем теоретически возможное максимальное количество. Антитело может содержать, например, множество лизиновых остатков, которые не взаимодействуют с лекарственным линкером. Только самые реакционноспособные лизиновые группы могут взаимодействовать с амин-реакционным линкерным реагентом. Также, только самые реакционноспособные цистеиновые тиольные группы могут взаимодействовать с тиол-реакционным линкерным реагентом. В целом, антитела не содержат много, если вообще содержат, свободных и реакционноспособных цистеиновых тиольных групп, которые можно связывать с лекарственным фрагментом. Большинство цистеиновых тиольных остатков в антителах указанных соединений существуют в виде дисульфидных мостиков, и их необходимо восстанавливать восстановительным агентом, таким как дитиотреитол (DTT) или TCEP, в условиях частичного или полного восстановления. Содержание лекарства (отношение лекарство/антитело) в ADC можно регулировать несколькими различными способами, включая: (i) ограничение молярного избытка лекарственного линкера относительно антитела, (ii) ограничение времени или температуры реакции конъюгации, и (iii) условия частичного или ограниченного восстановления для модификации цистеинового тиола.

Некоторые антитела содержат способные к восстановлению межцепочечные дисульфиды, т.е. цистеиновые мостики. Антителам можно придавать реакционную способность для конъюгации с линкерными реагентами посредством их обработки восстановительным агентом, таким как DTT (дитиотреитол). Каждый цистеиновый мостик теоретически будет образовывать два реакционноспособных тиольных нуклеофила. Дополнительные нуклеофильные группы можно внедрять в антитело посредством реакции лизинов с 2-иминотиолоаном (реагент Траута), в результате чего амин превращается в тиол. Реакционноспособные тиольные группы можно внедрять в антитело (или его фрагмент) посредством конструирования одного, двух, трех, четырех или более цистеиновых остатков (например, получения мутантных антител, содержащих один или более неприродных цистеиновых аминокислотных остатков). В US 7521541 описано конструирование антител посредством внедрения реакционноспособных цистеиновых аминокислот.

Цистеиновые аминокислоты можно конструировать по реакционноспособным сайтам антитела, ко-

торые не образуют внутривещечные или межмолекулярные дисульфидные связи (Junutula, et al., 2008b Nature Biotech., 26(8):925-932; Dornan et al. (2009) Blood 114(13):2721-2729; US 7521541; US 7723485; WO2009/052249). Сконструированные цистеиновые тиолы могут взаимодействовать с линкерными реагентами или с реагентами лекарство-линкер по данному изобретению, которые содержат тиол-реакционные электрофильные группы, такие как малеимид или альфа-галоамиды, с образованием ADC с цистеин-сконструированными антителами и ABD лекарственными фрагментами. Таким образом, положение лекарственного фрагмента можно проектировать, контролировать и знать. Можно контролировать содержание лекарства, поскольку тиольные группы сконструированного цистеина обычно взаимодействуют с тиол-реакционными линкерными реагентами или реагентами лекарство-линкер с высоким выходом. Конструирование IgG антитела для внедрения цистеиновой аминокислоты посредством замещения в одном сайте тяжелой или легкой цепи обеспечивает два новых цистеина в симметричном антителе. Содержание лекарства около 2 может быть обеспечено с почти полной гомогенностью продукта конъюгации ADC.

Если более одной нуклеофильной или электрофильной группы антитела взаимодействует с промежуточным лекарством-линкером, или с линкерным реагентом, а затем с фрагментом лекарства, то полученный продукт представляет собой смесь ADC соединений с распределением лекарственных фрагментов, присоединенных к антителу, например, 1,2, 3 и т.д. Методы жидкостной хроматографии, такие как полимерная обращенно-фазовая (ПОФ) хроматография и хроматография гидрофобного взаимодействия (ГИХ), могут обеспечивать разделение соединений в смеси по значению содержания лекарства. Можно выделять препараты ADC с одним значением содержания лекарства (ρ), однако такое единственное значение содержания ADC все еще может означать гетерогенную смесь, поскольку лекарственные фрагменты могут быть присоединены через линкер в разных сайтах антитела.

Таким образом, композиции конъюгатов антитело-лекарство по данному изобретению включают смеси соединений-конъюгатов антитело-лекарство, в которых антитело имеет один или более фрагментов ABD лекарства и в которых лекарственные фрагменты могут быть присоединены к антителу у различных аминокислотных остатков.

В одном варианте реализации среднее количество димерных азетидобензодиазепиновых групп на один клеточносвязывающий агент составляет от 1 до 20. В некоторых вариантах реализации указанный диапазон выбран из диапазонов от 1 до 8, от 2 до 8, от 2 до 6, от 2 до 4 и от 4 до 8.

В некоторых вариантах реализации присутствует одна димерная азетидобензодиазепиновая группа на один клеточносвязывающий агент.

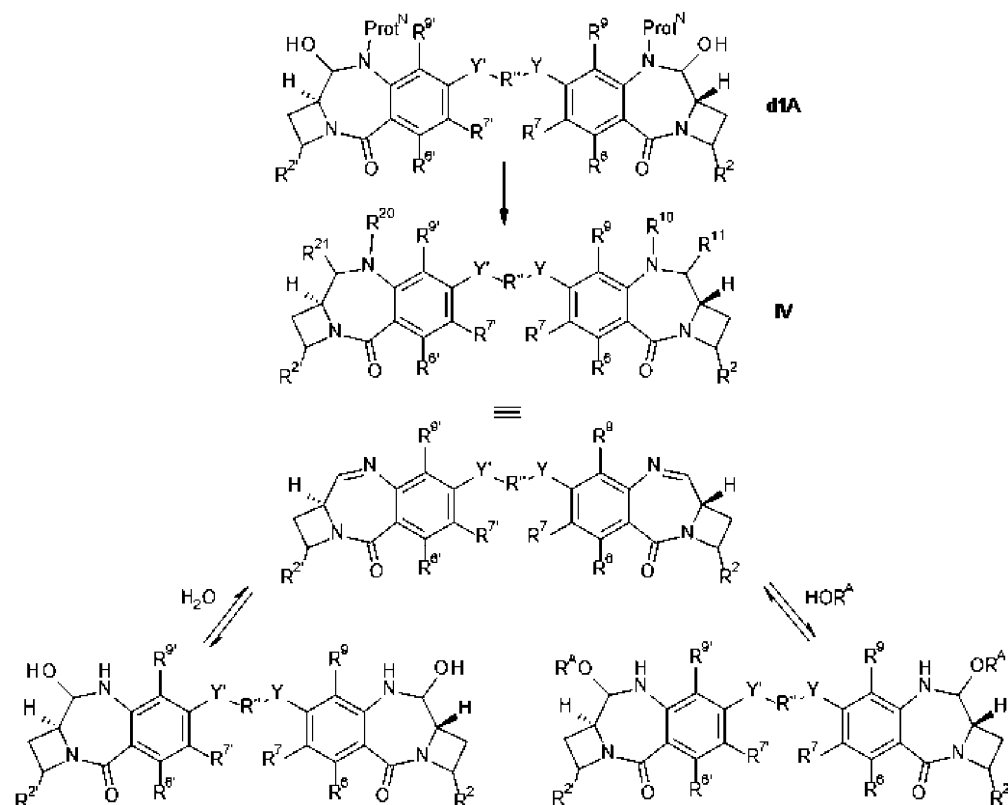
Общие способы синтеза

Большое количество подходящих N-Prot^N, O-Prot^O и Y-Prot^Y защитных групп описано в публикации Greene, T.W. and Wuts, G.M., Protective Groups in Organic Synthesis, 3^e издание, John Wiley & Sons, Inc., 1999, включенной в данный документ посредством ссылки.

Синтез соединений формулы IV

Возможная стадия синтеза соединений по первому аспекту данного изобретения, в частности, соединения формулы IV, представлена на схеме 1. Она начинается с N10-защищенного димера ABD (d1A).

Схема 1

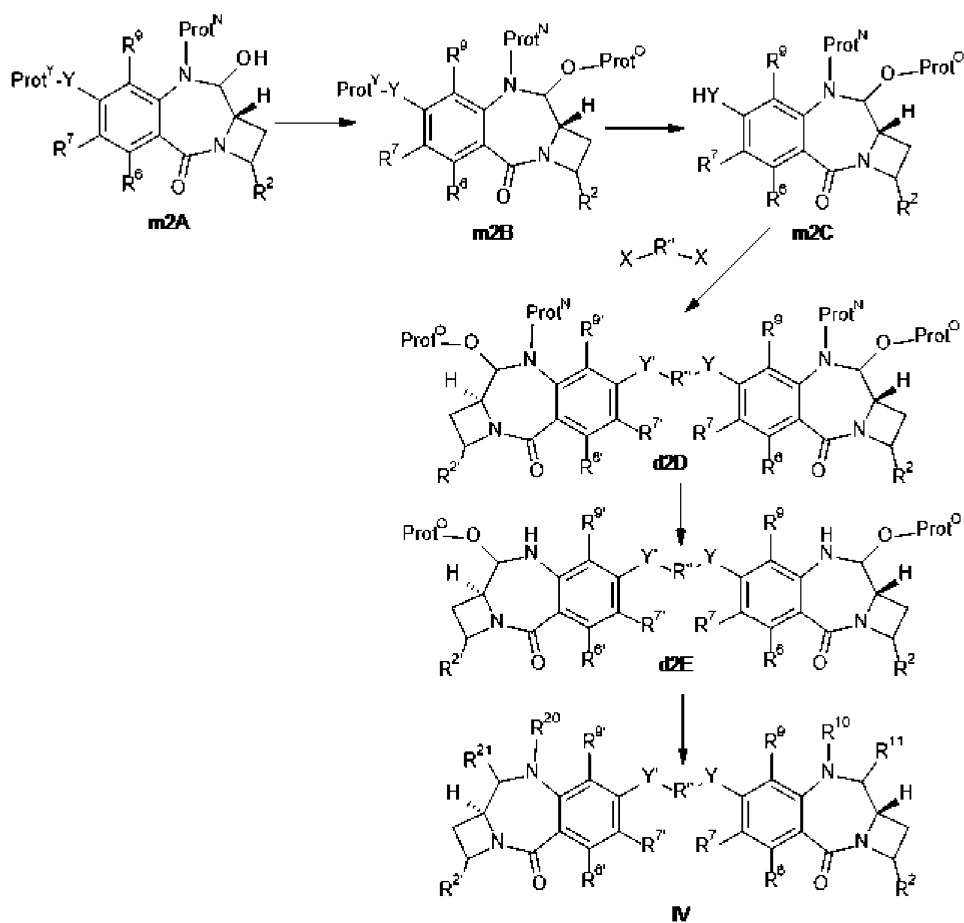


Димер d1A защищают в положении N10 стандартными способами с получением соединения формулы IV. В том случае, если Prot^N представляет собой Allos, то снятие защиты осуществляют с использованием палладия. Полученное соединение может быть в форме его карбиноламина или простого эфира карбиноламина, в зависимости от используемых растворителей, в равновесии с имином.

В случае ABD ringовое напряжение четырехчленного азетидинового кольца означает, что карбиноламинная форма является преобладающей в состоянии равновесия.

Альтернативная стадия синтеза соединений формулы IV представлена на схеме 2. Она начинается с мономера ABD, защищенного по азоту N10 (m2A).

Схема 2



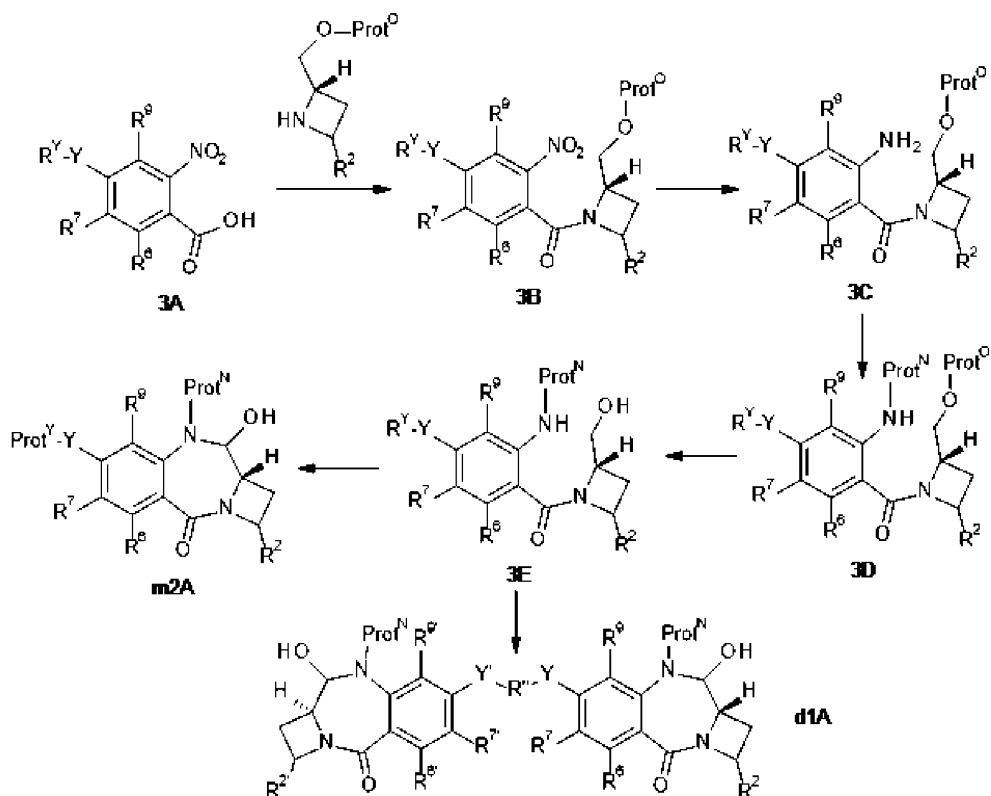
Мономер ABD m2A, защищенный в положении N10 и Y8, защищают по спиртовой группе в положении C11 с получением m2B. Предпочтительно, Prot^O представляет собой TBS, и такую защиту осуществляют посредством добавления избытка TBS-Cl. Последующее снятие защитной группы Prot^Y-Y приводит к получению димеризуемых частиц (m2C). Если Prot^Y представляет собой TIPS, то снятие защиты может быть осуществлено с использованием LiOAc в ДМФА и воде.

m2C приводят во взаимодействие с димерным линкером R'(X)₂ с получением димера d2D. Обычно Y представляет собой O, и X представляет собой галоген (предпочтительно Br). В данном случае в результате двойного синтеза простого эфира Вильямсона получают димер, с использованием TBAI в качестве добавки.

Из димерного продукта удаляют N10-защитную группу с получением d2E. Например, если Prot^N представляет собой Alloc, и Prot^O представляет собой защитную группу кислорода для осуществления синтеза, то снятие защиты осуществляют с использованием палладия для удаления N10-защитной группы, с последующим отщеплением защитной группы кислорода для осуществления синтеза. Если Prot^N представляет собой Troc, и Prot^O представляет собой защитную группу кислорода для осуществления синтеза, то снятие защиты осуществляют с использованием пары Cd/Pb. Если Prot^N представляет собой SEM или аналогичную группу, и Prot^O представляет собой оксо-группу, то оксогруппа может быть удалена восстановлением, которое приводит к получению защищенного промежуточного карбиноламина, который затем можно обрабатывать для удаления защитной группы SEM с последующим отщеплением воды. Удаление защитной группы спирта в положении C11 обеспечивает получение соединения формулы IV. Если Prot^O представляет собой TBS, то снятие защиты со спирта может протекать одновременно с вышеупомянутым снятием N-защиты Alloc с использованием палладия и пирролидина в ДХМ.

Димер d1A и мономер m2A, необходимые для схем 1 и 2, соответственно, могут быть синтезированы несколькими способами. Один возможный способ, через окислительное замыкание кольца, представлен на схеме 3.

Схема 3



Соединения 3A, 3B, 3C, 3D и 3E могут быть димерными (если группа R^Y представляет собой Rⁿ, связанный с таким же предшественником ABD) или мономерными (если группа R^Y представляет собой пригодную защитную группу).

Мономерное соединение 3A представляет собой производное нитробензойной кислоты. Многие такие производные доступны в продаже, а другие могут быть синтезированы обычными способами (например, Althuis, T. H. and Hess, H. J., *J Medicinal Chem.*, 20(1), 146-266 (1977)). Часто нитробензойную кислоту получают из сложного эфира, посредством гидролиза сложного эфира в мягких условиях (таких как с LiOH). Димерное соединение 3A может быть получено различными способами, известными из уровня техники (например, на схеме 3 публикации WO 00/12508). Например, соответствующие сложные эфиры бензойной кислоты могут быть димеризованы по подходящему диолу по реакции этерификации Мицунобо, с последующим нитрованием и гидролизом. Альтернативно, сложные эфиры бензойной кислоты могут быть димеризованы по подходящему дигалогениду по реакции синтеза простых эфиров Вильямсона. Дополнительные преобразования, необходимые для получения мономерных и димерных соединений 3A, доступны в литературе.

Азетидиновое исходное вещество может быть синтезировано модификацией похожего синтеза пролина, описанного в известном уровне техники (например, на схеме 4 публикации WO 00/12508). Стратегии, касающиеся конкретно азитидина, также известны в литературных источниках (например, Bose, D.S., et al., *Tetrahedron Letters*, 38(33), 5839-5842, 1997; doi: 10.1016/S0040-4039(97)01297-5). Например, доступная в продаже азетидин-2-карбоновую кислоту может быть защищена по азетидиновому азоту подходящей защитной группой, такой как Cbz, с последующей кислотной этерификацией для получения метилового эфира. Сложный эфир может быть восстановлен с помощью LiBH₄ в ТГФ с получением Cbz-защищенного 2-(гидроксиметил)азетидина. В некоторых подходах соответствующая защитная группа (Prot^O), такая как TBS, может быть присоединена к спирту по реакции с TBS-Cl. В других подходах спирт оставляют без защитной группы. На схеме 3 Prot^O может представлять собой либо подходящую защитную группу, либо H, подходящая группа Prot^O должна быть способна выдерживать условия восстановления NO₂. Затем удаляют защитную группу азота, обычно посредством восстановления в газообразном H₂, с получением азетидинового исходного вещества, необходимого на схеме 3.

Соединения 3A конденсируют с азетидиновым исходным веществом с получением 3B. Часто конденсацию проводят посредством связывания с DCC или через хлорангидрид кислоты (полученный из карбоновой кислоты с оксалилхлоридом или SOCl₂), или с HOBT в ДХМ при низкой температуре.

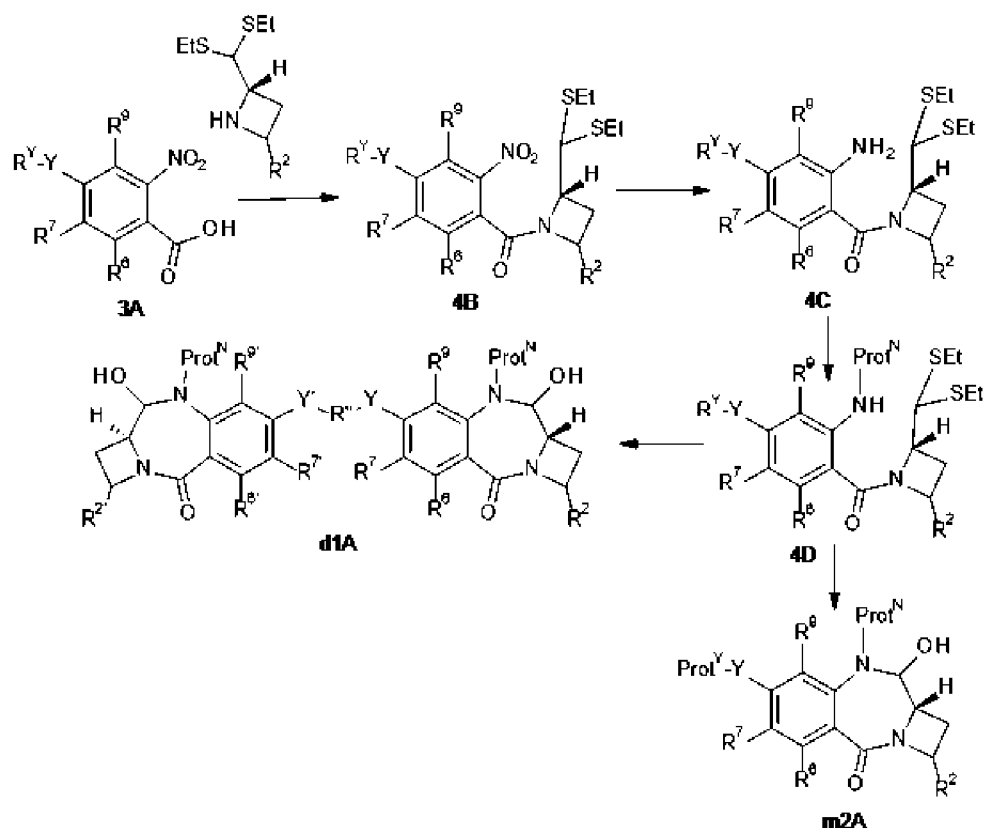
Нитрогруппу соединения 3B восстанавливают до амина (3C), используя стандартный способ, такой как SnCl₂ в MeOH или цинк в смеси MeOH/H₂O/муравьиная кислота (90:5:5), или дитионит натрия, или никель Ренея и гидразин, или каталитическое гидрирование на палладии на древесном угле. Выбранный способ зависит от требований защитной группы гидроксила.

Полученный амин однократно защищают подходящей защитной группой с получением 3D. Группа N-Prot^N предпочтительно представляет собой карбамат, такой как N-Alloc. Нуклеофильность амина уменьшается при защите с использованием Alloc, поэтому предпочтительной является однократная защита. Обычно это осуществляют посредством взаимодействия с пиридином и одним эквивалентом аллилхлорформиата. Если Prot^O представляет собой H, то соединение 3D эквивалентно 3E. Если Prot^O представляет собой защитную группу, то ее удаляют в стандартных условиях с получением спирта 3E. Если Prot^O представляет собой ацетатную защитную группу, она может быть удалена в слабощелочных условиях (например, K₂CO₃), или если Prot^O представляет собой защитную группу силильного простого эфира, такую как TBS, она может быть удалена с использованием TBAF или слабой кислоты.

Окислительное замыкание цикла через альдегид или функциональный эквивалент из димерного 3E приводит к получению d1A (для дальнейшей реакции по схеме 1), а из мономерного 3E приводит к получению m2A (для дальнейшей реакции по схеме 2). Селективное окисление спирта до альдегида может быть осуществлено посредством обработки перрутеном тетрапропиламмония (TPAP) в N-метилморфолин-N-оксиде (NMO) на молекулярных ситах или посредством окисления Сверна (с ДМСО и оксалилхлоридом), или окислением Десс-Мартина (с DMP), или предпочтительно посредством радикального окисления Cu(I)/TEMPO (с трифлатом тетраацетонитрила меди (I), 1-гидрокси-2,2,6,6-тетраметилпиперидином (TEMPO), 1-метилимидазолом и 2-(2-пиридил)пиридином). Последнее является предпочтительным, поскольку не требует строго безводных условий, и нет данных об избыточном окислении до дилактамных частиц ABD. Альдегидные частицы подвергаются самопроизвольному замыканию В-кольца, в котором происходит его атака у однократно защищенного положения N10.

Альтернативный способ получения димера d1A и мономера m2A представлен на схеме 4. В данном способе используют демаскирование альдегида для опосредования замыкания кольца.

Схема 4



Соединения 3A, 4B, 4C и 4D могут быть димерными (если группа R^Y представляет собой Rⁿ, связанный с таким же предшественником ABD) или мономерными (если группа R^Y представляет собой пригодную защитную группу).

Мономерные и димерные варианты 3A могут быть получены способами, рассмотренными выше в отношении схемы 3. Азетидиновое исходное вещество характеризуется наличием тиацетала в 2-положении (несмотря на то, что могут быть использованы другие замаскированные эквиваленты альдегида). Диэтилтиоацеталь-азетидин может быть получен модификацией похожего способа синтеза пролина (например, Langley, D.R. & Thurston, D. E., *J Organic Chemistry*, 52, 91-97 (1987)). Способы, касающиеся конкретно азетидина, также известны в литературных источниках (например, Bose, D.S., et al., *Tetrahedron Letters*, 38(33), 5839-5842, 1997; doi: 10.1016/S0040-4039(97)01297-5). Например, Cbz-защищенный 2-(гидроксиметил)азетидин может быть получен так, как описано выше (для схемы 3). За-

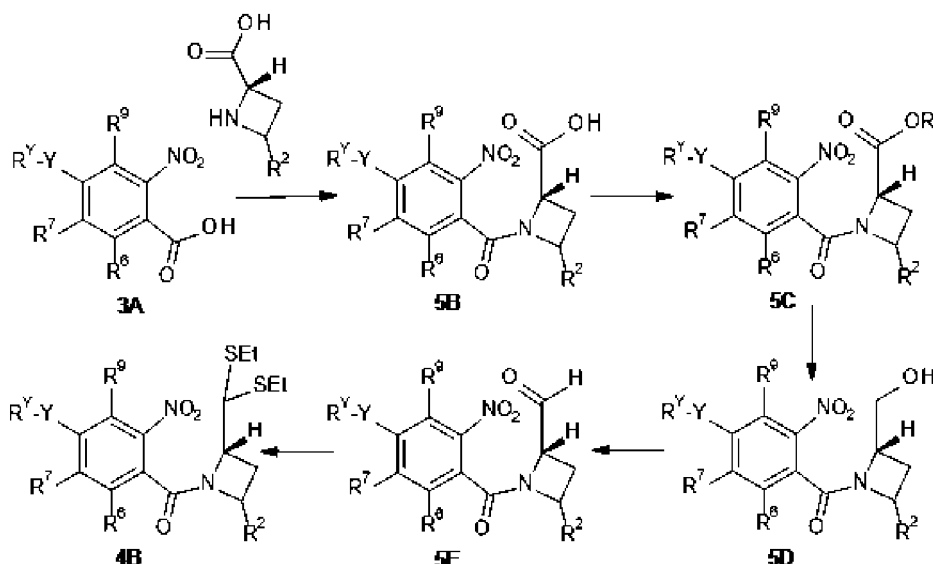
тем полученный спирт обычно повторно окисляют до альдегида посредством окисления Десс-Мартина (с DMP) или с помощью IBX в ДМСО. Полученный альдегид предпочтительно конденсируют с тиолом, таким как EtSH, со слабокислотным катализатором, таким как TMSCl, в протонном растворителе с получением тиоацетала. Тиоацеталь несовместим с восстановлением с использованием газообразного H₂, поэтому N-защитную группу (например, Cbz) часто удаляют с помощью TMS-I в ДХМ. В результате получают исходное вещество, диэтилтиоацеталь-азетидин.

Прямая конденсация 3A с тиоацеталь-азетидиновым исходным веществом приводит к получению 4B. Нитрогруппа соединения 4B может быть восстановлена до амина (4C) способами, рассмотренными выше в отношении схемы 3, предпочтительно способом с применением хлорида олова (II) (SnCl₂ в MeOH) или цинка в смеси MeOH/H₂O/муравьиная кислота (90:5:5). Восстановление предпочтительно не проводят непосредственным гидрированием вследствие несовместимости тиоацетальной группы. Амино однократно защищают подходящей защитной группой амина, такой как Alloc, посредством взаимодействия с соответствующим хлорформиатом или хлорангидридом кислоты. Группа N-Prot^N соединения 4D предпочтительно представляет собой карбамат, такой как N-Alloc, поскольку указанные частицы способствуют однократной защите.

Селективное демаскирование тиоацетала до альдегида приводит к самопроизвольной циклизации В-кольца в результате его атаки у однократно защищенного положения N10. Обычно демаскирование опосредовано ртутью (II), например, HgCl₂ с CaCO₃ в смеси ацетонитрил:вода. Для димерного 4D это приводит к образованию d1A (для дальнейшей реакции по схеме 1), а для мономерного 4D это приводит к образованию m2A (для дальнейшей реакции по схеме 2).

Димерный или мономерный тиоацеталь 4B (по схеме 4) может быть синтезирован альтернативным способом, показанным на схеме 5. Такой способ приводит к получению тиоацетала in situ.

Схема 5



Стратегии синтеза для получения мономерных и димерных соединений 3A рассмотрены выше для схемы 3. Соединение 3A конденсируют с доступной в продаже азетидин-2-карбоновой кислотой с получением 5B. Способ превращения 5B в 4B аналогичен способу синтеза тиоацеталь-азетидинового исходного вещества из азетидин-2-карбоновой кислоты (описанному для схемы 4).

Соединение 5C восстанавливают гидридным восстановительным агентом, обычно LiBH₄, до вторичного спирта 5D. Затем 5D повторно окисляют до альдегида (5E), часто с помощью гипервалентных соединений йода (например, IBX или DMP). Тиоацеталь получают in situ, предпочтительно с использованием EtSH в кислотных условиях, с получением соединения 4B. Его можно затем использовать для реакций по схеме 4 для получения требуемых соединений ABD.

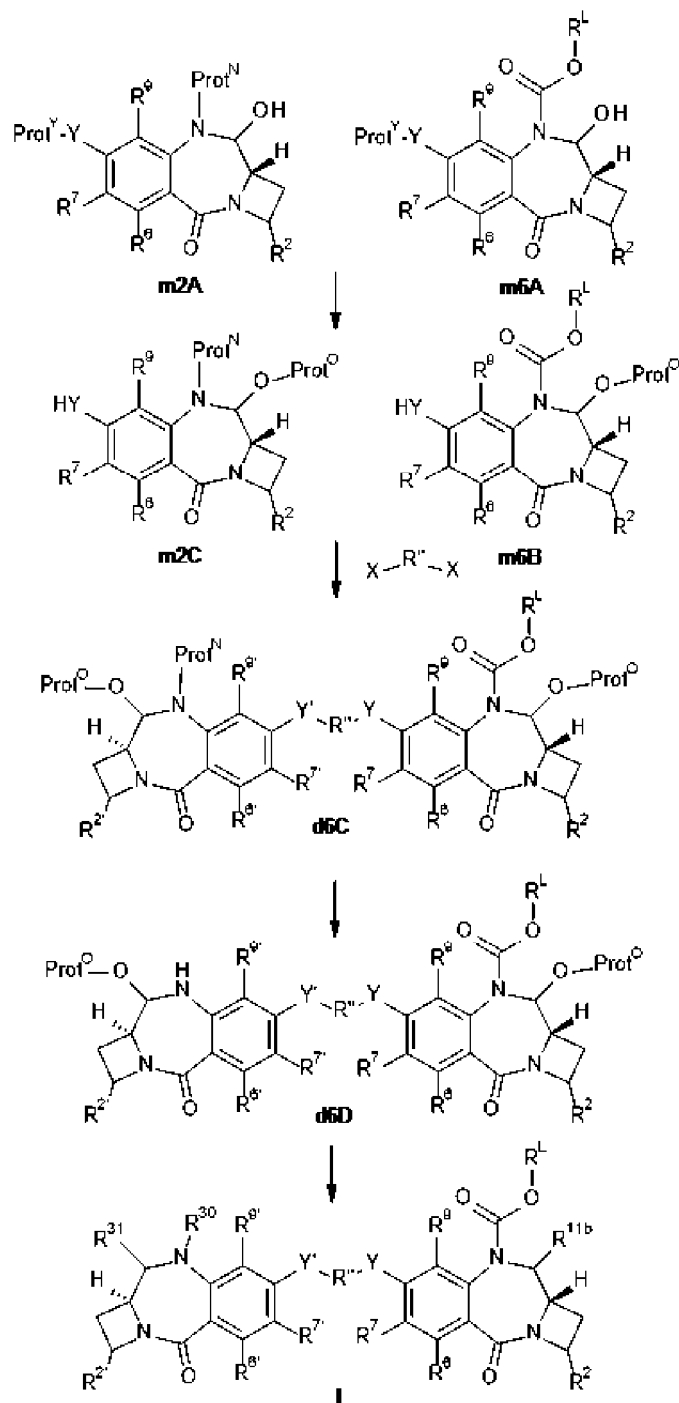
Синтез соединений формулы I

Возможная стадия синтеза соединений по второму аспекту данного изобретения, в частности, соединения формулы I, представлена на схеме 6. Она начинается с двух циклизированных мономеров ABD: m2A с Prot^N-защищенным положением N10 и m6A с R^L, присоединенным к азоту N10.

Соединение формулы I может существовать в равновесии между имином и карбиноламинной или карбиноламинэфирной формой, в зависимости от используемого растворителя (аналогично равновесию, показанному на схеме 1 для формулы IV).

В некоторых вариантах реализации Prot^N может быть эквивалентом заместителя R³⁰ формулы I (описанным вариантом (d) i, ii и iii второго аспекта данного изобретения).

Схема 6



Исходное вещество m2A может быть получено в соответствии со схемами 3, 4 и 5. Для тех соединений, в которых Prot^N является эквивалентом карбаматных линкерных групп R³⁰, соединение m2A получают через изоцианат (т.е. таким же способом, как m6A - рассмотрено ниже).

m2A и m6A могут быть димеризованы в положении Y8 с помощью димерного линкера R'' с использованием такой же стратегии, как описана для схемы 2. Спирт в положении C11 защищают группой Prot^O, причем Prot^O предпочтительно представляет собой RBS, и внедряют по реакции с TBS-Cl. Последующее удаление группы Prot^Y, где Prot^Y представляет собой TIPS, можно осуществлять с LiOAc в ДМФА и воде с получением m2C и m6B, соответственно.

Затем m2C и m6B приводят во взаимодействие с R''(X)₂ с получением димера d6C. Обычно Y представляет собой O, и X представляет собой галоген (предпочтительно Br). В таком случае добавка TBAI может обуславливать двойной синтез простого эфира Вильямсона с образованием димера. Альтернативные стратегии димеризации также известны в данной области техники, например, этерификация Мицунобу.

В некоторых вариантах реализации N10-защитную группу удаляют из не-линкерного ABD с получением асимметричного димера d6D. Для схем 1 и 2 описаны различные стратегии снятия защиты. В тех

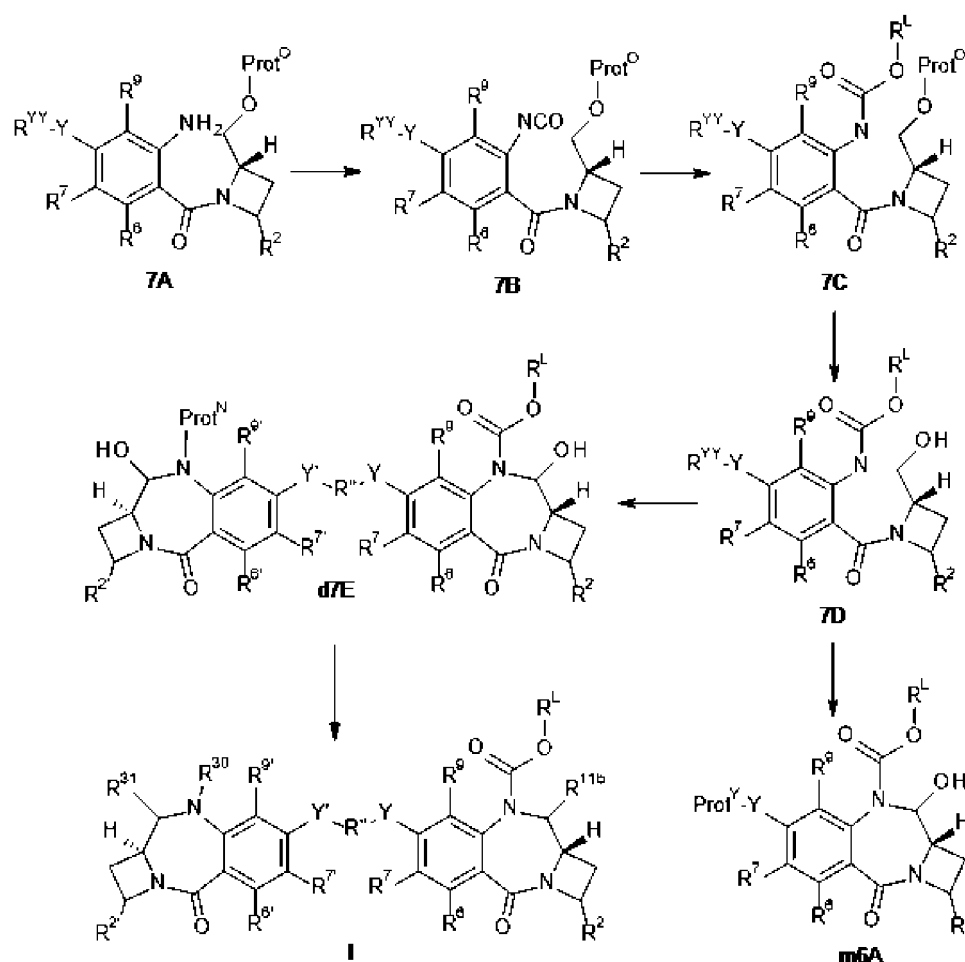
случаях, где Prot^N представляет собой Alloc, снятие защиты можно осуществлять с палладием.

В других вариантах реализации N10-защитную группу не удаляют. d6C превращают непосредственно в соединение формулы I посредством удаления Prot^O .

Удаление защитных групп спирта в положении C11 обеспечивает получение асимметричного соединения формулы I. Если Prot^O представляет собой TBS, то снятие защиты спирта можно осуществлять одновременно со снятием защиты Alloc в положении N10 с использованием палладия и пирролидина в ДХМ.

Возможный синтез мономера m6A (необходимого для схемы 6) и альтернативный способ получения соединений формулы I представлены на схеме 7.

Схема 7



Соединения 7A, 7B, 7C и 7D могут быть димерными (если группа R^{YY} представляет собой R'' , связанный с предшественником ABD, защищенным в положении N10) или мономерными (если группа R^{YY} представляет собой пригодную защитную группу). Мономерное соединение 7A является эквивалентом мономерного 3C и может быть синтезировано таким же способом (как показано на схеме 3).

Амин 7A превращают в изоцианат 7B. Стратегии получения изоцианата подробно описаны в известном уровне техники (например, WO 2005/023814). Обычно используют фосген, предпочтительно трифосген в щелочных условиях; безопаснее и проще использовать твердые кристаллы трифосгена, чем токсичный газообразный фосген. Реакцию следует осуществлять в безводном и негидроксильном органическом растворителе, который предпочтительно является неполярным. Подходящие растворители включают безводный ДХМ и безводный толуол. Реакцию можно осуществлять при комнатной температуре, и за ходом реакции удобно следить с помощью инфракрасной спектроскопии при около 2265 см^{-1} .

Карбамат 7C получают из изоцианата при атаке на него $R^L\text{-OH}$. Образование карбамата часто осуществляют способом в одном реакторе, в котором изоцианат получают под действием трифосгена с ТЭА в ДХМ, и $R^L\text{-OH}$ добавляют непосредственно в реакционную смесь. Такой подход сокращает время присутствия изоцианата до образования карбамата, что снижает вероятность побочных реакций.

Защитную группу Prot^O удаляют подходящим способом с получением вторичного спирта 7D, обычно в кислотных условиях (например, уксусная кислота в растворителе из смеси ТГФ:вода).

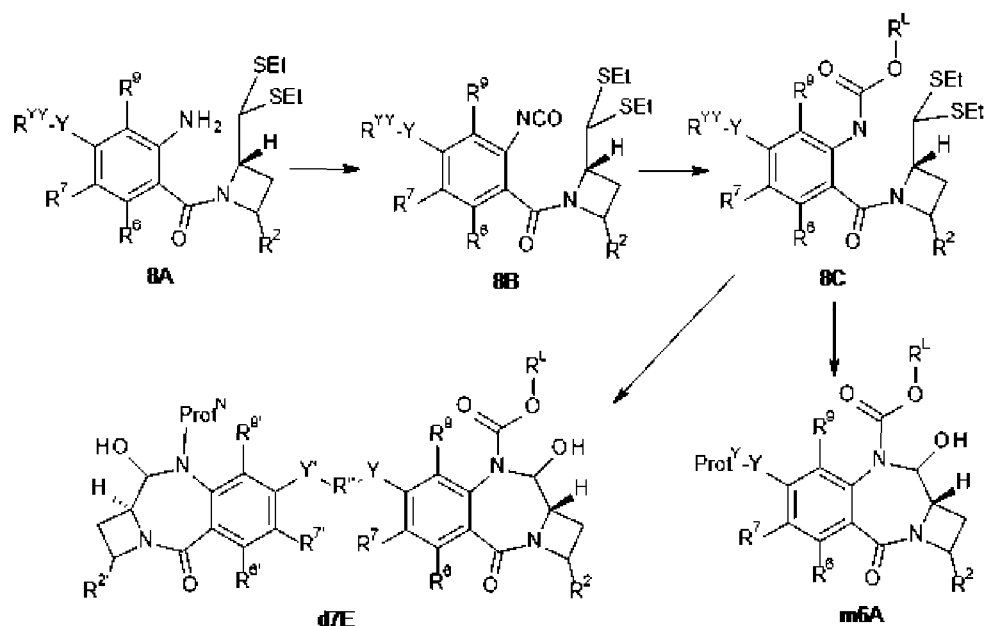
Окислительное замыкание кольца 7D через альдегид или функциональный эквивалент может быть осуществлено посредством обработки перрутеном тетрапропиламония (ТРАР) в N-метилморфолин-

N-оксиде (NMO) на молекулярных ситах или посредством окисления Сверна (ДМСО и оксалилхлорид), или предпочтительно посредством радикального окисления Cu(I)/TEMPO (трифлат тетраацетонитрила меди (I), 1-гидрокси-2,2,6,6-тетраметилпиперидин (TEMPO), 1-метилимидазол и 2-(2-пиридил) пиридин). В результате получают m6A (для следующей реакции на схеме 6) для мономерного варианта 7D (т.е. если $R^{YY} = \text{Prot}^Y$), или получают d7E для димерного варианта 7D (т.е. если $R^{YY} = R''$, связанный с N10-защищенным ABD).

Удаление защитной группы азота (Prot^N), обычно Alloc удаляют с использованием палладия, приводит к получению асимметричного соединения формулы I.

Альтернативный способ получения мономера m6A (схема 6) и димера d7E (схема 7) представлен на схеме 8.

Схема 8



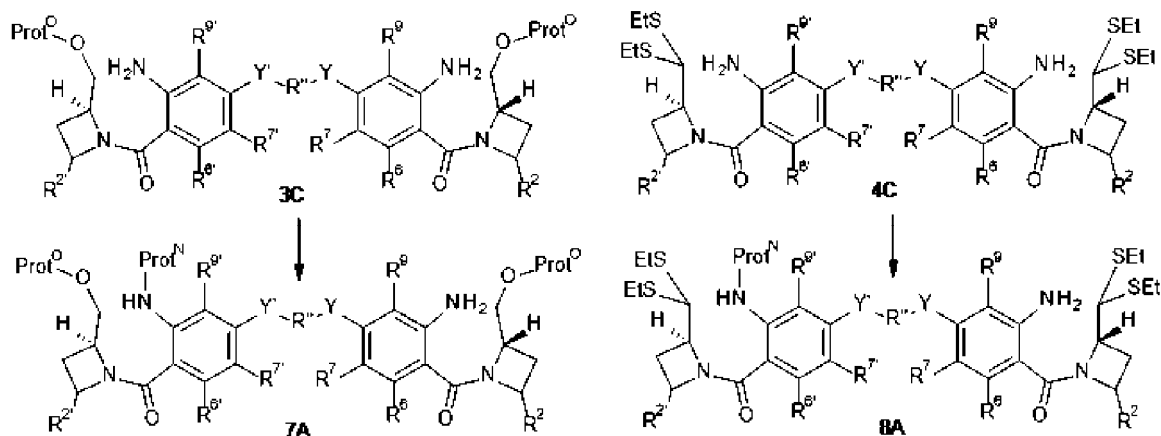
Соединения 8A, 8B и 8C могут быть димерными (если группа R^{YY} представляет собой R'' , связанный с предшественником ABD, защищенным в положении N10) или мономерными (если группа R^{YY} представляет собой пригодную защитную группу, Prot^Y). 8A превращают в изоцианат 8B, который, в свою очередь, приводят во взаимодействие с $R^L\text{-OH}$ для присоединения R^L через карбамат. Предпочтительная стратегия аналогична способу, описанному для схемы 7.

Селективное демаскирование тиацеталя 8C до альдегида приводит к самопроизвольной циклизации В-кольца в результате его атаки у однократно защищенного положения N10. Обычно демаскирование опосредовано ртутью (II), например, HgCl_2 с CaCO_3 в смеси ацетонитрил:вода. Циклизация приводит к образованию мономерного m6A (из мономерного 8C) и димерного d7E (из димерного 8C). Соединение m6A можно приводить во взаимодействие по схеме 6, и d7E - по схеме 7 с получением соединений формулы I.

Исходные материалы для схемы 7 могут быть получены таким же способом, как показано на схеме 3 (превращение мономерного 3A в 3C) для мономерного 7A (т.е. если R^{YY} представляет собой Prot^Y). Аналогично, исходные материалы для схемы 8 могут быть получены таким же способом, как показано на схеме 4 (превращение мономерного 3A в 4C) для мономерного 8A (т.е. если R^{YY} представляет собой Prot^Y).

Способ получения димерного 7A и 8A (т.е. если R^{YY} представляет собой R'' , связанный с предшественником ABD, однократно защищенным в положении N10) представлен на схеме 9.

Схема 9



Димерные варианты 3С и 4С получают способами, описанными на схемах 3, 4 и 5. 3С и 4С защищают только в одном положении N10 с получением асимметричных димеров ABD 7А и 8А, соответственно. Этого достигают посредством добавления одного эквивалента защитного реагента, обычно аллилхлорформиата, если Prot^{N} представляет собой Аллос, с последующей очисткой для удаления незащищенных или дважды защищенных продуктов.

Синтез конъюгатов формулы II

Возможная стадия синтеза конъюгатов по третьему аспекту данного изобретения, в частности, составного звена линкера лекарственного соединения (D^{L}) формулы II, включает связывание линкера со звеном лиганда, что приводит к превращению группы R^{L} (для соединений формулы I) в группу R^{LL} (для соединений формулы I').

Конъюгаты можно получать так, как описано ранее. Антитела можно конъюгировать с лекарственным линкерным соединением, как описано в публикации Doronina et al., Nature Biotechnology, 2003, 21, 778-784). Вкратце, антитела (4-5 мг/мл) в PBS, содержащем 50 мМ бората натрия при pH 7,4, восстанавливают гидрохлоридом трис(карбоксиил)фосфина (ТСЕР) при 37°C. Ход реакции, в которой восстанавливают межцепочечные дисульфиды, контролируют по реакции с 5,5'-дителиобис(2-нитробензойной кислотой) и продолжают реакцию до достижения требуемого значения отношения тиола/mAb. Затем восстановленное антитело охлаждают до 0°C и алкилируют, используя 1,5 эквивалента малеимидного лекарственного линкера на один тиол антитела. Через 1 ч реакцию гасят добавлением 5 эквивалентов N-ацетилцистеина. Погашенный лекарственный линкер удаляют гелевой фильтрацией на колонке PD-10. Затем ADC стерильно фильтруют через шприц-фильтр 0,22 мкм. Концентрацию белка можно определять спектральным анализом при 280 нм и 329 нм, соответственно, с поправкой на вклад поглощения лекарства при 280 нм. Можно использовать эксклюзионную хроматографию для определения степени агрегации антитела, и можно использовать ОФ-ВЭЖХ для определения содержания остаточного НАС-погашенного лекарственного линкера.

Синтез макроциклических вариантов реализации

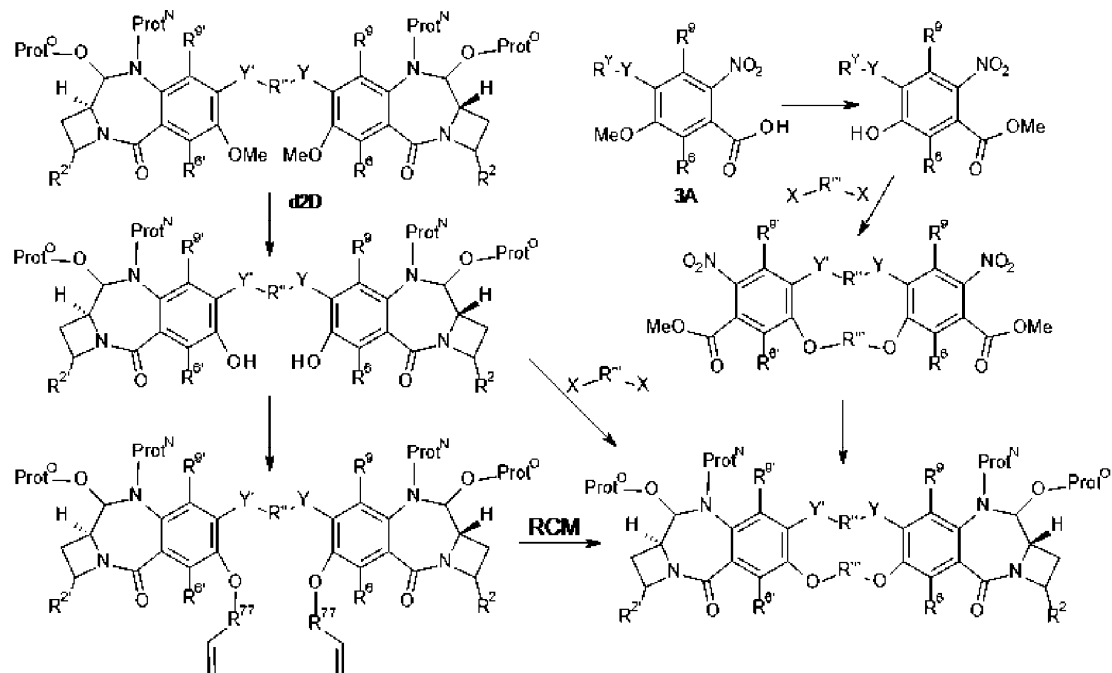
В некоторых вариантах реализации первого, второго и третьего аспектов данного изобретения заместители R^7 и R^7 вместе могут образовывать группу, которая представляет собой: (i) $-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{O}-$, где n равен от 7 до 16, или (ii) $-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_m-$, где m равен от 2 до 5, с получением макроциклического димера ABD.

Можно использовать различные стратегии для внедрения линкера R^7-R^7 , как показано ниже на схеме 10. Исходя из d2D, где оба R^7 и R^7 представляют собой $-\text{OR}$, группу R можно удалять посредством добавления VBr_3 в ДХМ для обнажения спирта. Реакция замещения дибромалкана в основании, такая как реакция замещения 1,7-дибромгептана в K_2CO_3 , приводит к образованию макроциклического продукта в результате его атаки по обеим спиртовым группам в положении С7.

Альтернативный способ, начинающийся с d2D, включает замещение спирта в положении С7 н-бромалк-1-еном. В результате получают две алкиенильные цепи с концевой ненасыщенностью, которые могут без труда подвергаться метатезису с замыканием цикла (RCM). Например, замещение можно осуществлять с использованием 5-бромпент-1-ена, а RCM - с катализатором Граббса-II. Макроциклизация через RCM обычно имеет высокий выход.

Предпочтительный способ получения макроцикла начинают с димерного 3А или сложноэфирного предшественника, где оба R^7 и R^7 представляют собой $-\text{OR}$. Удаление группы R и замещение дибромалканом (с использованием таких же условий, как указано выше) приводит к образованию макроциклического соединения. Затем по схемам 3 или 4 может быть получен ABD.

Схема 10



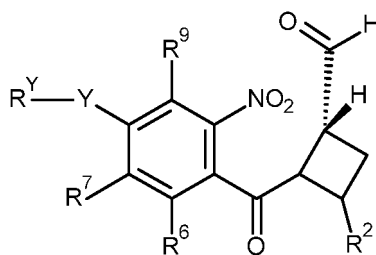
Полученный продукт можно использовать для реакций по схеме 2 или схеме 6 для получения соединений формулы IV и I, соответственно.

Дополнительная информация о превращениях, необходимая для получения таких макроциклических продуктов, доступна в литературных источниках (Donnell, A.F., Zhang, Y., Stang, E.M., Wei, D.D., Tebben, A.J., Perez, H.L., Schroeder, G.M., Pan, C, Rao, C, Borzilleri, R.M., Vite, G.D., Gangwar, S., Macrocyclic pyrrolobenzodiazepine dimers as antibody-drug conjugate payloads, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* (2017), doi: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.10.028> и WO 2016/209951).

Синтез вариантов реализации вторичных аминов

Соединения, в которых группа N10-C11 представляет собой -NH-CH₂- (т.е. вторичные амины), могут быть синтезированы посредством модификации описанных выше способов.

В частности, восстановительное аминирование соединения 3B* может обеспечивать получение модифицированной версии m2A или d1A для применения на следующих стадиях:



3B*

Соединения 3B* могут быть синтезированы из спирта-предшественника посредством окисления, а спирт-предшественник может быть получен посредством проведения стадий, аналогичных стадиям, используемым для синтеза 3B.

Синтез лекарственных конъюгатов

Конъюгаты можно получать так, как описано ранее. Антитела можно конъюгировать с лекарственным линкерным соединением, как описано в публикации Doronina et al., *Nature Biotechnology*, 2003, 21, 778-784. Вкратце, антитела (4-5 мг/мл) в PBS, содержащем 50 мМ бора натрия при pH 7,4, восстанавливают гидрохлоридом трис(карбоксиэтил)фосфина (ТСЕФ) при 37°C. Ход реакции, в которой восстанавливают межцепочечные дисульфиды, контролируют по реакции с 5,5'-дитиобис(2-нитробензойной кислотой) и продолжают реакцию до достижения требуемого значения отношения тиолы/mAb. Затем восстановленное антитело охлаждают до 0°C и алкилируют, используя 1,5 эквивалента малеимидного лекарственного линкера на один тиол антитела. Через 1 ч реакцию гасят добавлением 5 эквивалентов N-ацетилцистеина. Погашенный лекарственный линкер удаляют гель-фильтрацией на колонке PD-10. Затем ADC стерильно фильтруют через шприц-фильтр 0,22 мкм. Концентрацию белка можно определять спектральным анализом при 280 нм и 329 нм, соответственно, с поправкой на вклад поглощения лекар-

ства при 280 нм. Можно использовать эксклюзионную хроматографию для определения степени агрегации антитела, и можно использовать ОФ-ВЭЖХ для определения содержания остаточного НАС-погашенного лекарственного линкера.

Краткое описание графических материалов

На фигуре показано влияние на рост опухолевой клеточной линии при обработке контрольным препаратом или конъюгатом по данному изобретению.

Дополнительные предпочтения

Следующие предпочтения можно применять в отношении всех аспектов данного изобретения, описанных выше, или можно они могут относиться к одному аспекту. Предпочтения можно комбинировать друг с другом в любом сочетании.

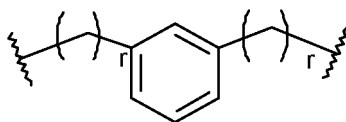
R^6 и R^9 выбраны из таких же групп, как R^6 и R^9 , соответственно. В некоторых вариантах реализации R^6 , R^7 , R^9 и Y' являются такими же, как R^6 , R^7 , R^9 и Y , соответственно.

Димерная связь

В некоторых вариантах реализации оба Y и Y' представляют собой O .

В некоторых вариантах реализации R'' представляет собой C_{3-7} алкиленовую группу без заместителей. В некоторых из таких вариантов реализации R'' представляет собой C_3 , C_5 или C_7 алкилен. В частности, R'' может представлять собой C_3 или C_5 алкилен.

В других вариантах реализации R'' представляет собой группу формулы:



где r равен 1 или 2.

Фениленовая группа может быть заменена пиридиленовой группой.

R^6 - R^9

В некоторых вариантах реализации R^9 представляет собой H .

В некоторых вариантах реализации R^6 выбран из H , OH , OR , SH , NH_2 , нитро и галогена, и может быть выбран из H или галогена. В некоторых из таких вариантов реализации R^6 представляет собой H .

В некоторых вариантах реализации R^7 выбран из H , OH , OR , SH , SR , NH_2 , NHR , NRR' и галогена. В некоторых из таких вариантов реализации R^7 выбран из H , OH и OR , где R выбран из необязательно замещенных C_{1-7} алкильных, C_{3-10} гетероциклических и C_{5-10} арильных групп. Более предпочтительно, R может представлять собой C_{1-4} алкильную группу, которая может быть или не быть замещенной. Пригодный заместитель представляет собой C_{5-6} арильную группу (например, фенил). Особенно предпочтительные заместители в 7-положениях представляют собой OMe и OCH_2Ph . Другие особенно пригодные заместители представляют собой диметиламино (т.е. $-NMe_2$); $-(OC_2H_4)OMe$, где q равен от 0 до 2; азотсодержащие C_6 гетероциклы, включая морфолино, пиперидинил и N -метилпиперазинил.

Указанные варианты реализации и предпочтения относятся к R^9 , R^6 и R^7 , соответственно.

В других вариантах реализации R^7 и R^7 вместе образуют группу $-O-(CH_2)_n-O-$, где n равен от 7 до 16. Значение n может составлять по меньшей мере 7, 8, 9, 10 или 11. Значение n может составлять не более 16, 15, 14 или 13.

В других вариантах реализации R^7 и R^7 вместе образуют группу $-O-(CH_2CH_2O)_m-$, где m равен от 2 до 5. Значение m может составлять по меньшей мере 2, 3 или 4. Значение m может составлять не более 5, 4 или 3.

R^{10} , R^{11} , R^{20} , R^{21} (формула IV)

В некоторых вариантах реализации R^{10} и R^{11} вместе образуют двойную связь между атомами N и C , с которыми они связаны. В некоторых таких вариантах реализации R^{20} и R^{21} вместе образуют двойную связь между атомами N и C , с которыми они связаны. В других таких вариантах реализации оба R^{20} и R^{21} представляют собой H .

В некоторых вариантах реализации R^{10} представляет собой H , и R^{11} выбран из OH и OR^A , где R^A представляет собой C_{1-4} алкил. В некоторых таких вариантах реализации R^{20} представляет собой H , и R^{21} выбран из OH и OR^B , где R^B представляет собой C_{1-4} алкил. В других таких вариантах реализации оба R^{20} и R^{21} представляют собой H .

В некоторых таких вариантах реализации оба R^{10} и R^{11} представляют собой H . В некоторых таких вариантах реализации R^{20} и R^{21} вместе образуют двойную связь между атомами N и C , с которыми они связаны. В других таких вариантах реализации R^{20} представляет собой H , и R^{21} выбран из OH и OR^B , где R^B представляет собой C_{1-4} алкил.

В некоторых вариантах реализации R^A представляет собой метил. В некоторых вариантах реализации R^B представляет собой метил.

В некоторых вариантах реализации только в одной из пар R^{10} и R^{11} , и R^{20} и R^{21} обе группы представляют собой H . В других вариантах реализации ни в одной из пар R^{10} и R^{11} , и R^{20} и R^{21} обе группы не представляют собой H .

В некоторых вариантах реализации все R^{10} , R^{11} , R^{20} и R^{21} представляют собой H.

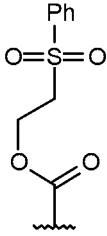
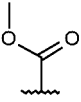
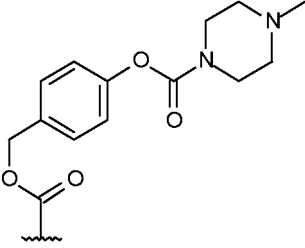
$N10'$ - $C11'$ (формулы I и I*)

В некоторых вариантах реализации R^{30} и R^{31} вместе образуют двойную связь между атомами N и C, с которыми они связаны.

В некоторых вариантах реализации R^{30} представляет собой H, и R^{31} выбран из OH и OR^B , где R^B представляет собой C_{1-4} алкил. В некоторых из таких вариантов реализации R^B представляет собой метил.

В некоторых вариантах реализации R^{30} представляет собой H, и R^{31} представляет собой H.

В некоторых вариантах реализации R^{31} представляет собой OH или OR^B , где R^B представляет собой C_{1-4} алкил, и R^{30} выбран из:

R^{30a}	
R^{30b}	
R^{30c}	

R ^{30d}	
R ^{30e}	
R ^{30f}	
R ^{30g}	
R ^{30h}	

$-C(=O)-X_1-NHC(=O)X_2-NH-$ означает дипептид. Аминокислоты в дипептиде могут представлять собой любую комбинацию природных аминокислот. Дипептид может представлять собой сайт действия катепсин-опосредованного расщепления.

В одном варианте реализации дипептид $-C(=O)-X_1-NHC(=O)X_2-NH-$ выбран из: -Phe-Lys-, -Val-Ala-, -Val-Lys-, -Ala-Lys-, -Val-Cit-, -Phe-Cit-, -Leu-Cit-, -Ile-Cit-, -Phe-Arg-, -Trp-Cit-, где Cit представляет собой цитруллин.

Предпочтительно, дипептид $-C(=O)-X_1-NHC(=O)X_2-NH-$ выбран из: -Phe-Lys-, -Val-Ala-, -Val-Lys-, -Ala-Lys-, -Val-Cit-.

Наиболее предпочтительно, дипептид $-C(=O)-X_1-NHC(=O)X_2-NH-$ представляет собой -Phe-Lys- или -Val-Ala-.

Можно использовать другие дипептидные комбинации, включая комбинации, описанные в публикации DubowCHik et al., Bioconjugate Chemistry, 2002, 13,855-869, включенной в данный документ посредством ссылки.

В одном варианте реализации боковая цепь аминокислоты является дериватизованной, если это не-

обходимо. Например, аминогруппа или карбоксигруппа аминокислотной боковой цепи может быть дериватизованной.

В одном варианте реализации аминогруппа NH_2 боковой цепи аминокислоты, такой как лизин, представляет собой дериватизованную форму, выбранную из группы, состоящей из NHR и NRR' .

В одном варианте реализации карбоксигруппа COOH боковой цепи аминокислоты, такой как аспарагиновая кислота, представляет собой дериватизованную форму, выбранную из группы, состоящей из COOR , CONH_2 , CONHR и CONRR' .

В одном варианте реализации боковая цепь аминокислоты является химически защищенной, если это необходимо. Защитная группа боковой цепи может представлять собой группу, описанную выше. Авторами данного изобретения установлено, что защищенные аминокислотные последовательности могут расщепляться ферментами. Например, установлено, что дипептидная последовательность, содержащая остаток Lys с Boc-защищенной боковой цепью, расщепляется катепсином.

Защитные группы для боковых цепей аминокислот хорошо известны в данной области техники и описаны в каталоге Novabiochem. Дополнительные стратегии защитных групп изложены в публикации Protective Groups in Organic Synthesis, Greene and Wuts.

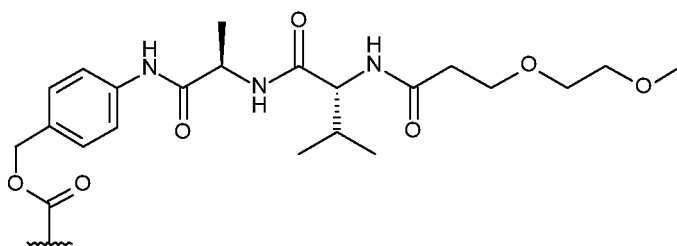
Ниже представлены возможные защитные группы боковой цепи для тех аминокислот, которые содержат реакционноспособную функциональную группу в боковой цепи:

Arg: Z, Mtr, Tos;
 Asn: Trt, Xan;
 Asp: Bzl, t-Bu;
 Cys: Acn, Bzl, Bzl-OMe, Bzl-Me, Trt;
 Glu: Bzl, t-Bu;
 Gln: Trt, Xan;
 His: Boc, Dnp, Tos, Trt;
 Lys: Boc, Z-Cl, Fmoc, Z, Alloc;
 Ser: Bzl, TBDMS, TBDPS;
 Thr: Bz;
 Trp: Boc;
 Tyr: Bzl, Z, Z-Br.

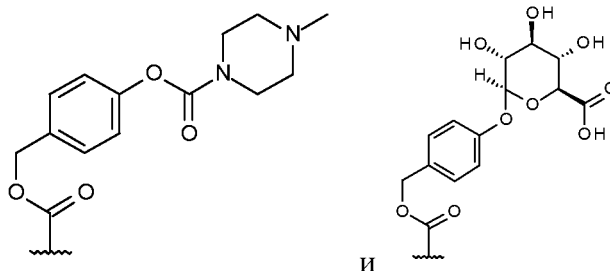
В одном варианте реализации выбрана такая защита боковой цепи, которая является ортогональной к группе, представленной в качестве или как часть кэп-группы, при ее наличии. Таким образом, удаление защитной группы боковой цепи не приводит к удалению кэп-группы или какой-либо функциональной защитной группы, которая является частью кэп-группы.

В других вариантах реализации данного изобретения выбраны такие аминокислоты, которые не имеют реакционноспособных функциональных боковых групп. Например, аминокислоты могут быть выбраны из: Ala, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro и Val.

В данном изобретении особенно предпочтительно, что если Q содержит дипептид, то $-\text{C}(=\text{O})-\text{X}_1-\text{NHC}(=\text{O})\text{X}_2-\text{NH}-$ является тем же дипептидом. Примером предпочтительной группы является:



Другие предпочтительные группы R^{30} включают:



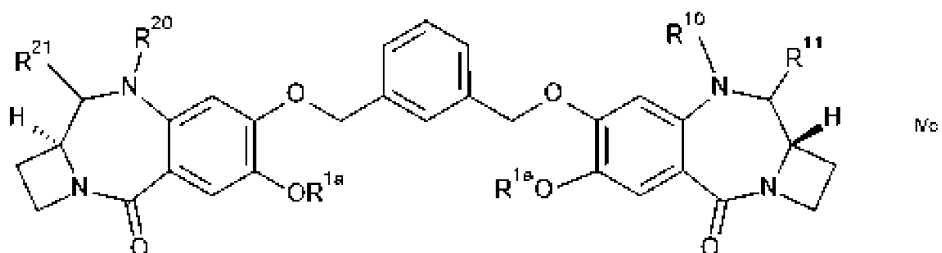
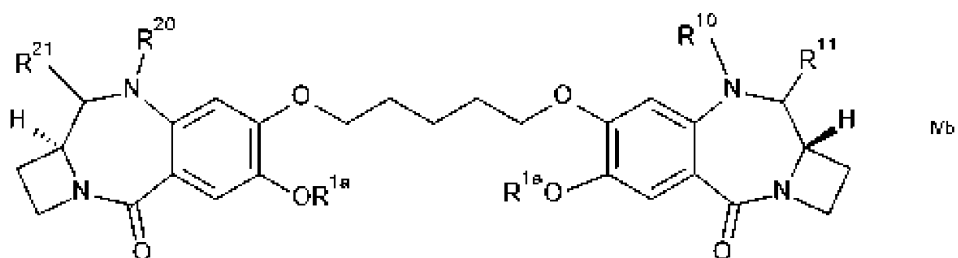
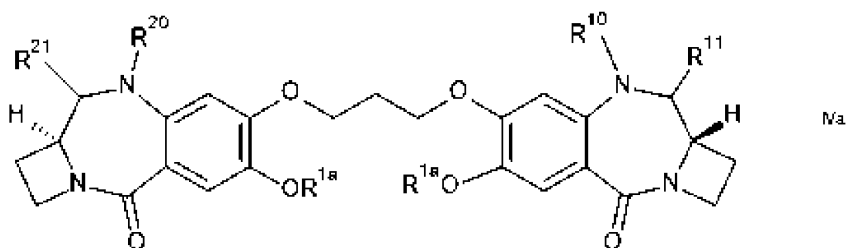
R^{11b} (формулы I и I*)

В некоторых вариантах реализации R^{11b} представляет собой OH.

В некоторых вариантах реализации R^{11b} представляет собой OR^A , где R^A представляет собой C_{1-4} алкил. В некоторых из таких вариантов реализации R^A представляет собой метил.

Дополнительные формулы

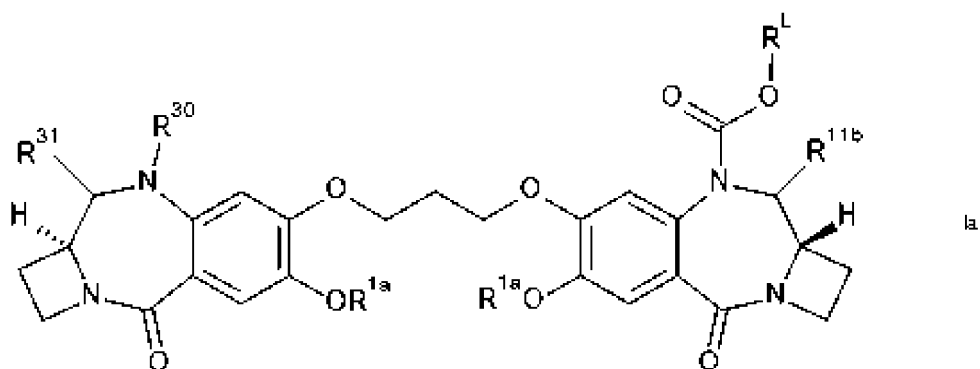
В некоторых вариантах реализации первого аспекта данного изобретения представлены формулы IVa, IVb или IVc:

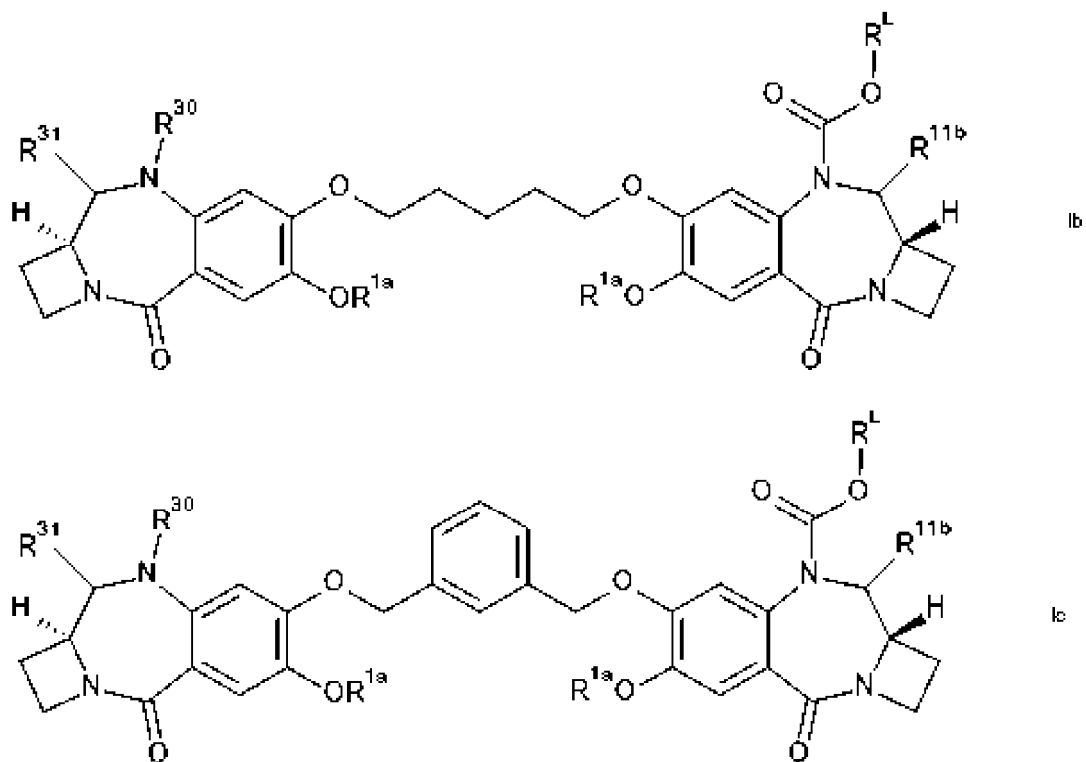


где R^{1a} выбран из метила и бензила;

R¹⁰, R¹¹, R²⁰ и R²¹ являются такими, как определено выше.

В некоторых вариантах реализации второго аспекта данного изобретения представлены формулы Ia, Ib или Ic:





где R^{1a} выбран из метила и бензила;

R^{30} , R^{31} , R^L и R^{11b} являются такими, как определено выше.

Указанные варианты реализации и предпочтения также относятся к третьему аспекту данного изобретения.

Линкер (R^L)

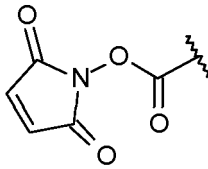
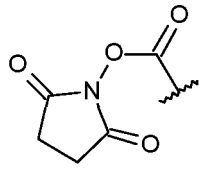
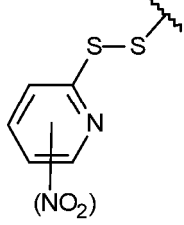
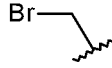
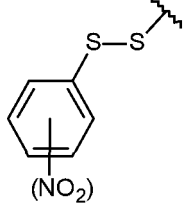

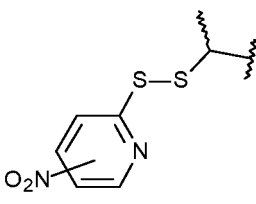

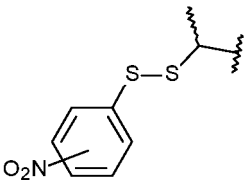
В некоторых вариантах реализации R^L имеет формулу IIIa.

В некоторых вариантах реализации R^{LL} имеет формулу IIIa'.

G^L

G^L может быть выбран из

(G^{L1-1})		(G^{L4})	<p>где Hal = I, Br, Cl</p>
(G^{L1-2})		(G^{L5})	

(G ^{L2})		(G ^{L6})	
(G ^{L3-1})	 <p>где группа NO₂ является необязательной</p>	(G ^{L7})	
(G ^{L3-2})	 <p>где группа NO₂ является необязательной</p>	(G ^{L8})	
(G ^{L3-3})	 <p>где группа NO₂ является необязательной</p>	(G ^{L9})	
(G ^{L3-4})	 <p>где группа NO₂ является необязательной</p>		

где Ar представляет собой C₅₋₆ ариленовую группу, например, фенилен.

В некоторых вариантах реализации G^L выбран из G^{L1-1} и G^{L1-2}. В некоторых из таких вариантов реализации G^L представляет собой G^{Lb1}.

G^{LL}

G^{LL} может быть выбран из:

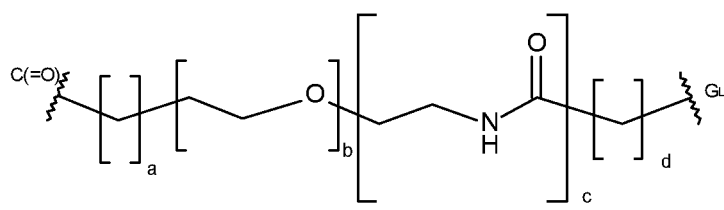
(G ^{LL1-1})		(G ^{LL6})	
(G ^{LL1-2})		(G ^{LL7})	
(G ^{LL2})		(G ^{LL8-1})	
(G ^{LL3-1})		(G ^{LL8-2})	
(G ^{LL3-2})		(G ^{LL9-1})	
(G ^{LL4})		(G ^{LL9-2})	
(G ^{LL5})			

где Ar представляет собой C5-6 ариленовую группу, например, фенилен.

В некоторых вариантах реализации G^{LL} выбран из G^{LL1-1} и G^{LL1-2}. В некоторых из таких вариантов реализации G^{LL} представляет собой G^{LL1-1}.

X

X представляет собой:



где a=от 0 до 5, b=от 0 до 16, c=0 или 1, d=от 0 до 5.

a может быть равен 0, 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых вариантах реализации a равен от 0 до 3. В некоторых из таких вариантов реализации a равен 0 или 1. В дополнительных вариантах реализации a равен 0.

b может быть равен 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16. В некоторых вариантах реализации b равен от 0 до 12. В некоторых из таких вариантов реализации b равен от 0 до 8, и может быть равен 0, 2, 4 или 8.

c может быть равен 0 или 1.

d может быть равен 0, 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых вариантах реализации d равен от 0 до 3. В некоторых из таких вариантов реализации d равен 1 или 2. В дополнительных вариантах реализации d равен 2.

В некоторых вариантах реализации группы X, a равен 0, c равен 1, и d равен 2, и b может быть равен от 0 до 8. В некоторых из таких вариантов реализации b равен 0, 4 или 8.

Q

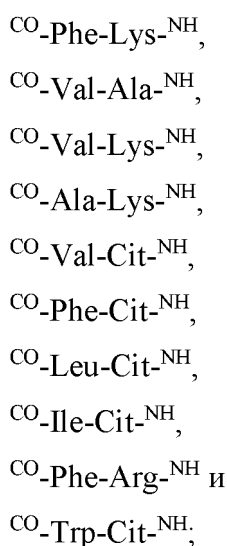
В одном варианте реализации Q представляет собой остаток аминокислоты. Аминокислота может быть природной аминокислотой или неприродной аминокислотой.

В одном варианте реализации Q выбран из: Phe, Lys, Val, Ala, Cit, Leu, Ile, Arg и Trp, где Cit представляет собой цитруллин.

В одном варианте реализации Q содержит дипептидный остаток. Аминокислоты в дипептиде могут представлять собой любую комбинацию природных аминокислот и неприродных аминокислот. В некоторых вариантах реализации дипептид содержит природные аминокислоты. Если линкер представляет собой катепсин-подвижный линкер,

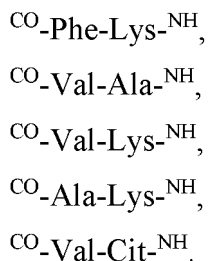
то дипептид представляет собой место действия катепсин-опосредованного расщепления. В таком случае дипептид представляет собой сайт распознавания для катепсина.

В одном варианте реализации Q выбран из:



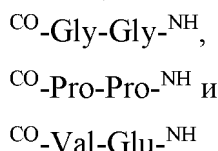
где Cit представляет собой цитруллин.

Предпочтительно, Q выбран из:



Наиболее предпочтительно, Q выбран из CO-Phe-Lys-NH , CO-Val-Cit-NH и CO-Val-Ala-NH .

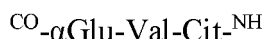
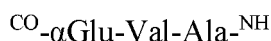
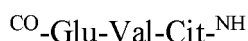
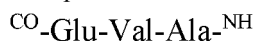
Другие перспективные дипептидные комбинации включают:



Можно использовать другие дипептидные комбинации, включая комбинации, описанные в публикации DubowCHik et al., Bioconjugate Chemistry, 2002, 13,855-869, включенной в данный документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах реализации Q^x представляет собой трипептидный остаток. Аминокислоты в трипептиде могут представлять собой любую комбинацию природных аминокислот и неприродных аминокислот. В некоторых вариантах реализации трипептид содержит природные аминокислоты. Если линкер представляет собой катепсин-подвижный линкер, то трипептид представляет собой место действия катепсин-опосредованного расщепления. В таком случае трипептид представляет собой сайт распознава-

ния для катепсина. Особенно перспективные трипептидные линкеры представляют собой:



В одном варианте реализации боковая цепь аминокислоты является химически защищенной, если это необходимо. Защитная группа боковой цепи может представлять собой группу, описанную ниже. Защищенные аминокислотные последовательности могут расщепляться ферментами. Например, дипептидная последовательность, содержащая остаток Lys с Вос-защищенной боковой цепью, расщепляется катепсином.

Защитные группы для боковых цепей аминокислот хорошо известны в данной области техники и описаны в каталоге Novabiochem, а также описаны выше в данном документе.

В некоторых вариантах реализации R^L имеет формулу IIIb. В некоторых вариантах реализации R^{L1} имеет формулу IIIb'.

R^{L1} и R^{L2} независимо выбраны из H и метила, или вместе с атомом углерода, с которым они связаны, образуют циклопропиленовую или циклобутиленовую группу.

В некоторых вариантах реализации оба R^{L1} и R^{L2} представляют собой H.

В некоторых вариантах реализации R^{L1} представляет собой H, и R^{L2} представляет собой метил.

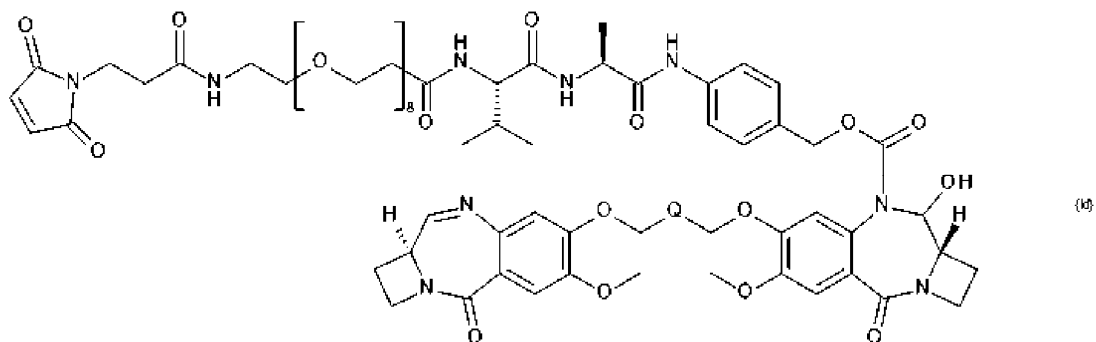
В некоторых вариантах реализации оба R^{L1} и R^{L2} представляют собой метил.

В некоторых вариантах реализации R^{L1} и R^{L2} вместе с атомом углерода, с которым они связаны, образуют циклопропиленовую группу.

В некоторых вариантах реализации R^{L1} и R^{L2} вместе с атомом углерода, с которым они связаны, образуют циклобутиленовую группу.

В некоторых вариантах реализации в группе IIIb ϵ равен 0. В других вариантах реализации ϵ равен 1, и нитрогруппа может быть в любом доступном положении кольца. В некоторых из таких вариантов реализации она находится в орто-положении. В других из таких вариантов реализации она находится в пара-положении.

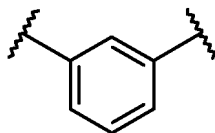
В одном конкретном варианте реализации второй аспект данного изобретения включает соединение формулы Id:



где Q выбран из:

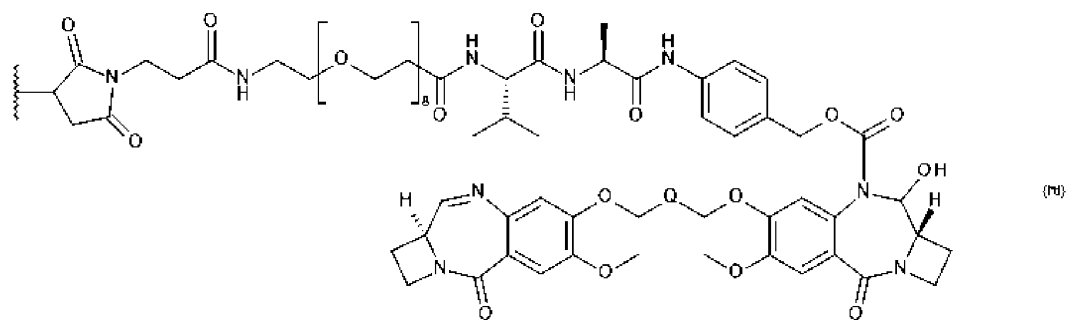
(a) $-\text{CH}_2-$;

(b) $-\text{C}_3\text{H}_6-$; и



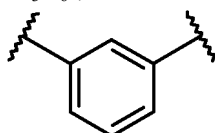
(c)

В одном конкретном варианте реализации третьего аспекта данного изобретения линкер лекарственного соединения (D^L) имеет формулу (Id'):



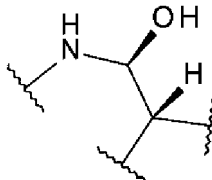
где Q выбран из:

- (a) $-\text{CH}_2-$;
 (b) $-\text{C}_3\text{H}_6-$; и

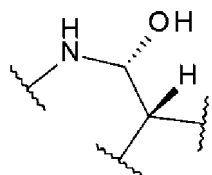


(c)

В некоторых вариантах реализации данного изобретения заместитель C11 может быть в следующем стереохимическом положении относительно соседних групп:



В других вариантах реализации заместитель C11 может быть в следующем стереохимическом положении относительно соседних групп:



Примеры

Общая информация

Флэш-хроматографию вручную проводили с применением силикагеля Merck Kieselgel 60 F254. Растворители для экстракции и хроматографии приобретали и использовали без дополнительной очистки у компании Fisher Scientific, Великобритания. Все химические реактивы приобретали у компании Aldrich, Lancaster или BDH. Автоматизированную флэш-хроматографию проводили на приборе Biotage Isolera 1™, используя градиентное элюирование, начиная с 88% смеси гексана в EtOAc или 99,9% смеси ДХМ в MeOH, до полного элюирования из колонки всех УФ-активных компонентов (обнаружение при 214 и 254 нм). Когда наблюдали значительное элюирование УФ-активного материала, градиент выдерживали вручную. Чистоту фракций проверяли с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ), используя силикагель Merck Kieselgel 60 F254, с флуоресцентным индикатором на алюминиевых пластинах. Визуализацию ТСХ осуществляли с помощью УФ света или паров йода, если не указано иное. Растворители для экстракции и хроматографии приобретали и использовали без дополнительной очистки у компании VWR, Великобритания. Все химические реактивы приобретали у компании Sigma-Aldrich или TCI Europe, если не указано иное. Пэгелированные реагенты приобретали у компании Quanta Biodesign, США, через компанию Stratech, Великобритания.

Ниже представлены условия ЖХ/МС:

Масс-спектрометрию с электрораспылительной ионизацией в положительном режиме проводили на приборе Waters Acquity H-class. В качестве подвижных фаз использовали растворитель А (вода с 0,1% муравьиной кислоты) и растворитель В (ацетонитрил с 0,1% муравьиной кислоты).

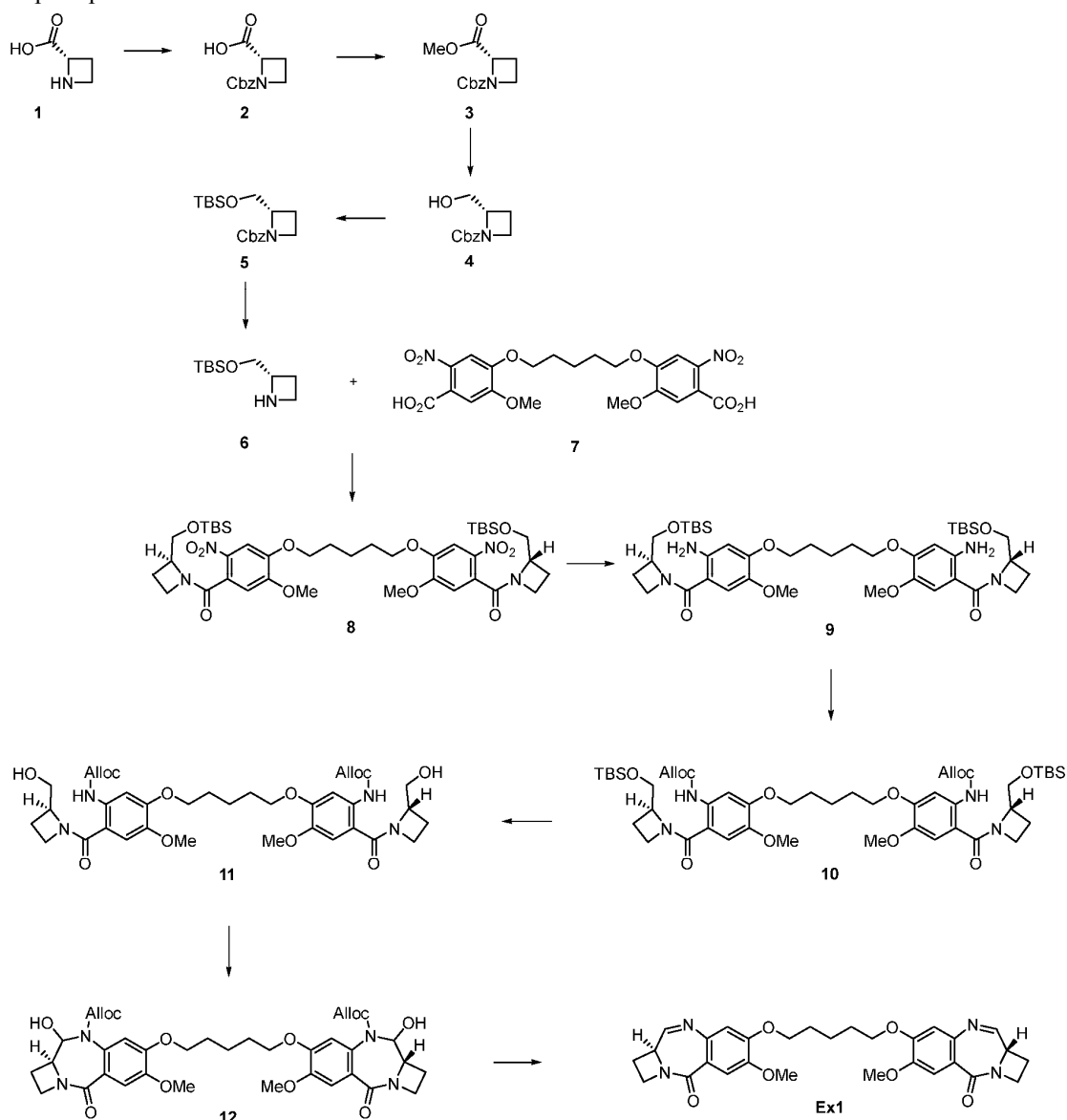
ЖХМС за 3 мин: первоначальный состав 5% В выдерживали в течение 0,25 мин, затем повышали от 5% В до 100% В за 2 мин. Указанный состав выдерживали в течение 0,50 мин. при 100% В, затем возвращали к 5% В за 0,05 мин. и выдерживали в течение 0,05 мин. Общее время пропускания градиента составляло 3 мин. Скорость потока 0,8 мл/мин. Обнаружение при 254 нм. Колонки: Waters Acquity UPLC® BEH Shield RP18 1,7 мкм 2,1×50 мм при 50°C, оснащенная предколонкой Waters Acquity UPLC® BEH Shield RP18 VanGuard, 130A, 1,7 мкм, 2,1 мм×5 мм.

ЖХМС за 15 мин: первоначальный состав 5% В выдерживали в течение 1 мин, затем повышали от 5% В до 100% В за 9 мин. Указанный состав выдерживали в течение 2 мин при 100% В, затем возвращали к 5% В за 0,10 мин и выдерживали в течение 3 мин. Общее время пропускания градиента составляло 15 мин. Скорость потока 0,6 мл/мин. Диапазон длины волны обнаружения: 190-800 нм. Температура печи: 50°C. Колонка: ACE Excel 2 C18-AR, 2 мкм, 3,0×100 мм.

Препаративная ВЭЖХ:

Обращенно-фазовую сверхскоростную высокоэффективную жидкостную хроматографию (СВЭЖХ) проводили на приборе Shimadzu Prominence®, используя колонку Phenomenex® Gemini NX, 5 мкм, C18 (при 50 °С), размеры: 150×21,2 мм. В качестве элюентов использовали растворитель А (H₂O с 0,1% муравьиной кислоты) и растворитель В (CH₃CN с 0,1% муравьиной кислоты). Все эксперименты СВЭЖХ проводили, используя следующие условия градиента: первоначальное содержание 13% В увеличивали до 60% В за 15 мин, затем увеличивали до 100% В за 2 мин. Такой состав выдерживали в течение 1 мин при 100% В, затем возвращали к 13% В за 0,1 мин и выдерживали в течение 1,9 мин. Общая продолжительность градиентного цикла составляла 20,0 минуты. Скорость потока составляла 20,0 мл/мин, и обнаружение проводили при 254 и 280 нм.

Пример 1



а) 1-((бензилокси)карбонил)азетидин-2-карбоновая кислота (2)

(2S)-Азетидин-2-карбоновую кислоту 1 (3 г, 29,674 ммоль) и бикарбонат натрия (6,3 г, 75 ммоль) солюбилизировали в H₂O (25 мл, 1387,75 ммоль) и по каплям добавляли N-(бензилоксикарбонил)сукцинимид (8,5 г, 34 ммоль) в ТГФ (25 мл, 307 ммоль, 100; мас.%). После перемешивания при комнатной температуре в течение 12 ч оставляли смесь для разделения двух фаз. Водную фазу промывали диэтиловым эфиром (50 мл), охлаждали на ледяной бане и затем подкисляли до pH 2 концентрированной HCl. Водный слой экстрагировали этилацетатом (2×50 мл) и сушили объединенные органические экс-

тракты (MgSO_4), и выпаривали избыток растворителя *in vacuo* с получением неочищенного продукта в виде прозрачного маслянистого вещества. Неочищенный материал использовали без очистки на следующей стадии. ЖХМС за 3 мин: $\text{ЭР}^+=1,34$ мин, m/z 258,2 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$

b) (1-бензил-2-метил-(S)-азетидин-1,2-дикарбоксилат (3)

В сухой круглодонной колбе солюбилизировали (2S)-1-бензилоксикарбонилазетидин-2-карбоновую кислоту 2 (6,98 г, 29,7 ммоль) в MeOH (65 мл) и добавляли серную кислоту (3 мл). Смесь нагревали до кипения с обратным холодильником и оставляли перемешиваться в течение ночи. Смесь оставляли остывать до комнатной температуры и гасили Net_3 (до pH 7), затем перемешивали в течение 1 ч. Метанол удаляли в вакууме. Остаток растворяли в EtOAc , промывали H_2O и насыщенным солевым раствором, затем сушили с помощью MgSO_4 и фильтровали. Органические вещества удаляли в вакууме с получением неочищенного продукта 3 (8,004 г, 32,11 ммоль) в виде прозрачного маслянистого вещества. ЖХМС за 3 мин: $\text{ЭР}^+=1,53$ мин, m/z без ионизации.

c) Бензил-(S)-2-((гидроксиметил)азетидин-1-карбоксилат (4)

O1-бензил-O2-метил-(2S)-азетидин-1,2-дикарбоксилат 3 (7,6 г, 30 ммоль) солюбилизировали в ТГФ (75 мл, 922 ммоль), охлаждали до 0°C и добавляли LiBH_4 (1 г, 45 ммоль). Смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали еще один час, после чего реакция была завершена. Реакционную смесь охлаждали до 0°C , затем гасили H_2O и 1 М HCl . Летучие вещества удаляли в вакууме. Остаток растворяли в EtOAc и промывали насыщенным солевым раствором (2×50 мл), сушили с помощью MgSO_4 , фильтровали и удаляли растворитель на ротационном испарителе при пониженном давлении. После очистки колоночной хроматографией на силикагеле (Hex/EtOAc , от 100% до 1:2) получали продукт 4 в виде прозрачного маслянистого вещества (4,076 г, выход 60% за 3 стадии). ЖХМС за 3 мин: $\text{ЭР}^+=1,36$ мин, m/z 222,3 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$.

d) Бензил-(S)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилат (5)

Бензил-(2S)-2-((гидроксиметил)азетидин-1-карбоксилат 4 (4,0766 г, 18,425 ммоль) солюбилизировали в сухом CH_2Cl_2 (20 мл, 312,0 ммоль) и охлаждали смесь до 0°C , затем добавляли имидазол (2,508 г, 36,84 ммоль) и TBS-Cl (4,16 г, 27,6 ммоль). Смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и оставляли перемешиваться. ЖХМС показала, что реакция завершена за 5 мин. Органические вещества промывали насыщенным раствором NH_4Cl , водой, насыщенным солевым раствором, сушили с помощью MgSO_4 , фильтровали и удаляли летучие вещества в вакууме. После очистки колоночной хроматографией на силикагеле (Hex/EtOAc , от 100% до 9:1) получали продукт 5 (6,90 г, не совсем сухой, количественно). ЖХМС за 3 мин: $\text{ЭР}^+=2,15$ мин, m/z 336,9 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$.

e) (S)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)азетидин (6)

Палладий на углероде (10%) (100 мг, 0,93 ммоль) по каплям обрабатывали EtOAc (5 мл) и добавляли полученную взвесь к суспензии соединения 5 (6,9027 г, 20,57 ммоль) в EtOH (100 мл) при комнатной температуре в реакторе гидрирования Парра. Реакционную смесь обрабатывали газообразным H_2 при 20 фунт/кв.дюйм (138 кПа), затем реактор опустошали под вакуумом (повторяли 3 раза). Затем реактор доводили до 38 фунт/кв.дюйм (262 кПа) H_2 и встряхивали в течение 1 ч. За это время давление падало до ~30 фунт/кв.дюйм (207 кПа), и реактор снова доводили до 40 фунт/кв.дюйм (276 кПа) и встряхивали еще один час. Не наблюдали дальнейшего снижения давления, и реакцию считали завершенной. Завершение реакции подтверждали с помощью ЖХ-МС. Смесь фильтровали через целит и выпаривали фильтрат в вакууме с получением неочищенного продукта 6 в виде коричневого маслянистого вещества (3,761 г, выход 90%). ЖХМС за 3 мин: $\text{ЭР}^+=1,70$ мин, m/z без ионизации.

f) ((S)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)азетидин-1-ил)(4-(6-(4-((2R)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)циклобутан-1-карбонил)-2-метокси-5-нитрофенокси)гексил)-5-метокси-2-нитрофенил)метанон (8)

DCC (3,8 г, 18 ммоль) добавляли к раствору соединения 7 (3,9 г, 7,9 ммоль) и NOBt (2,3 г, 17 ммоль) в CH_2Cl_2 (200 мл) при 0°C . Холодную баню убирали и оставляли реакцию для продолжения на 30 мин при комнатной температуре, после чего быстро добавляли раствор соединения 6 (3,65 г, 18 ммоль) и триэтиламина (3,2 мл, 23 ммоль) в CH_2Cl_2 (200 мл) при -10°C в атмосфере аргона. Реакционную смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре и контролировали по ЖХ/МС. Через 2 мин реакция была завершена. Твердое вещество удаляли фильтрованием через целит и промывали органическую фазу холодным 0,1 М водным раствором HCl до измеренного значения pH 2. Затем промывали органическую фазу водой, затем насыщенным водным раствором бикарбоната натрия, насыщенным солевым раствором, сушили с помощью MgSO_4 , фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. После очистки колоночной хроматографией на силикагеле ($\text{Hex/EtOAc/CH}_2\text{Cl}_2$, от 100% до 1:2:1) получали продукт 8 (5,9 г, выход 87%). Продукт содержал небольшое количество примеси, моно-связанного продукта (примесь не отделялась при хроматографии). ЖХМС за 3 мин: $\text{ЭР}^+=2,35$ мин, m/z 862,2 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$.

g) ((Пентан-1,5-диилбис(окси))бис(2-амино-5-метокси-4,1-фенилен))бис(((S)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)азетидин-1-ил)метанон (9)

Цинк (4,65 г, 71,1 ммоль) медленно добавляли к раствору соединения 8 (2,45 г, 2,85 ммоль) в смеси $\text{MeOH/H}_2\text{O}$ /муравьиная кислота 90:5:5 (66 мл). Экзотерму сдерживали с помощью ледяной бани для поддержания температуры реакционной смеси ниже 40°C . После завершения удаляли твердые вещества

фильтрованием через целит и промывали органическую фазу водой и насыщенным соевым раствором, затем сушили с помощью $MgSO_4$, фильтровали и удаляли летучие вещества при пониженном давлении. Неочищенное вещество 9 (2,28 г, количественно) использовали в таком виде на следующей стадии. ЖХМС за 3 мин: $\text{ЭР}^+=2,32$ мин, m/z 802,3 $[M+H]^+$.

h) Диаллил-((пентан-1,5-диилбис(окси))бис(6-((S)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)азетидин-1-карбонил)-4-метокси-3,1-фенилен))дикарбамат (10)

Соединение 9 (2,23 г, 2,78 ммоль) солюбилизировали в CH_2Cl_2 (50 мл) в атмосфере аргона. Смесь охлаждали до $-78^\circ C$, затем добавляли пиридин (0,99 мл, 12,3 ммоль) и аллилхлорформиат (0,738 мл, 2,49 ммоль). Реакционную смесь оставляли перемешиваться при $-78^\circ C$ на 10 мин, затем оставляли смесь нагреваться до комнатной температуры. Через 15 мин реакция была завершена. Органические вещества промывали насыщенным раствором $CuSO_4$, H_2O , насыщенным соевым раствором, затем сушили с помощью $MgSO_4$, фильтровали и удаляли летучие вещества при пониженном давлении. Неочищенный продукт 10 (1,47 г, 1,52 ммоль, количественно) использовали в таком виде на следующей стадии. ЖХМС за 3 мин: $\text{ЭР}^+=2,53$ мин, m/z 970,3 $[M+H]^+$.

i) Диаллил-((пентан-1,5-диилбис(окси))бис(6-((S)-2-(гидроксиметил)азетидин-1-карбонил)-4-метокси-3,1-фенилен))дикарбамат (11)

Соединение 10 (1,47 г, 1,52 ммоль) солюбилизировали в 3:1:1 смеси H_2O /ТГФ/уксусная кислота (16 мл) и оставляли реакционную смесь перемешиваться в течение выходных дней. Смесь экстрагировали CH_2Cl_2 и промывали насыщенным раствором $NaHCO_3$, H_2O и насыщенным соевым раствором, затем сушили с помощью $MgSO_4$, фильтровали и удаляли летучие вещества при пониженном давлении. После очистки колоночной хроматографией на силикагеле (Hex/EtOAc, от 100% до 1:1) получали продукт 11 (859 мг, выход 76,5%) в виде прозрачного маслянистого вещества. ЖХМС за 3 мин: $\text{ЭР}^+=1,75$ мин, m/z 742,0 $[M+H]^+$.

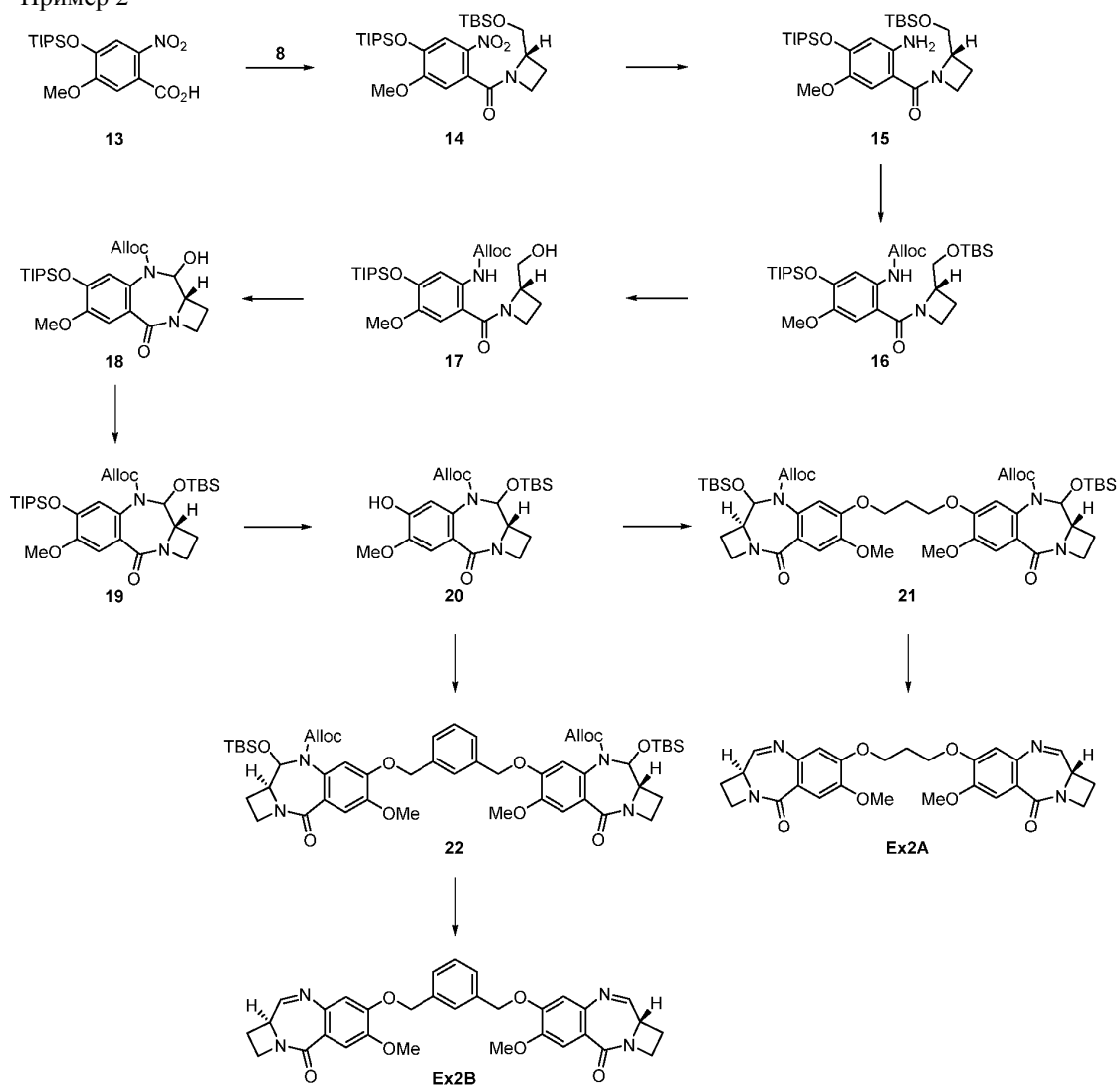
j) Диаллил-7,7'-(пентан-1,5-диилбис(окси))(10aS,10a'S)-бис(10-гидрокси-6-метокси-4-оксо-1,2,10,10a-тетрагидроазето[1,2-a]бензо[e][1,4]дiazепин-9(4H)-карбоксилат) (12)

Соединение 11 (850 мг, 1,14 ммоль) солюбилизировали в CH_2Cl_2 (60 мл). Последовательно добавляли 1-гидрокси-2,2,6,6-тетраметилпиперидин; 1-метилимидазол; 2-(2-пиридил)пиридин (0,7 мл, 1140 ммоль, 0,2 моль/L) и трифлат тетрааксационитрила меди (I) (55 мг, 0,145 ммоль) и перемешивали смесь при $35^\circ C$ под давлением из 2 баллонов с воздухом. Реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение ночи, затем вакуумировали досуха на ротационном испарителе. После очистки колоночной хроматографией на силикагеле ($CHCl_3$ /MeOH, от 100% до 95:5) получали продукт 12 (346 г, 0,47 ммоль, выход 41%). ЖХМС за 3 мин: $\text{ЭР}^+=1,48$ мин, m/z 737,9 $[M+H]^+$.

k) (10aS,10a'S)-7,7'-(пентан-1,5-диилбис(окси))бис(6-метокси-1,10a-дигидроазето[1,2-a]бензо[e][1,4]diazепин-4(2H)-он) (Ex1)

Соединение 12 (335 мг, 0,45 ммоль) солюбилизировали в CH_2Cl_2 (20 мл) в колбе в атмосфере аргона. Последовательно добавляли пирролидин (650 мкл, 7,8 ммоль) и $Pd(PPh_3)_4$ (50 мг, 0,004 ммоль) и оставляли смесь перемешиваться при комнатной температуре до завершения реакции. Органические вещества промывали насыщенным раствором NH_4Cl , H_2O и насыщенным соевым раствором, затем сушили с помощью $MgSO_4$, фильтровали и удаляли летучие вещества при пониженном давлении. Затем очищали хроматографией на системе Isolera (CH_2Cl_2 /(CH_2Cl_2 +10%MeOH), от 92:7 до 10:90). Выделяли две фракции, содержащие продукт, но они были недостаточно чистыми. Фракции объединяли и повторно очищали хроматографией вручную, и выделяли чистый продукт Ex1 (146 мг, 0,27 ммоль, выход 24%). ЖХМС за 3 мин: $\text{ЭР}^+=1,32$ мин, m/z 533,8 $[M+H]^+$. ЖХМС за 15 мин: $\text{ЭР}^+=4,83$ мин, m/z 533,9 $[M+H]^+$.

Пример 2



а) ((S)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)азетидин-1-ил)(5-метокси-2-нитро-4-((триизопропилсилил)окси)фенил)метанон (13)

DCC (4,021 г, 19,49 ммоль) добавляли к раствору 5-метокси-2-нитро-4-триизопропилсилилоксибензойной кислоты 13 (6 г, 16,24 ммоль) и HOPO (1,984 г, 17,86 ммоль) в CH_2Cl_2 (100 мл) при 0°C . Холодную баню убирали и оставляли реакцию для продолжения на 30 мин при комнатной температуре, после чего быстро добавляли раствор [(2S)-азетидин-2-ил]метокси-трет-бутилдиметилсилана 6 (3,761 г, 18,68 ммоль) и триэтиламина (3,39 мл, 33,5 ммоль) в CH_2Cl_2 (100 мл) при -10°C в атмосфере аргона. Реакционную смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре и контролировали по ЖХ/МС. Через 2 мин реакция была завершена. Твердое вещество удаляли фильтрованием через целит и промывали органическую фазу холодным 0,1 М водным раствором HCl до измеренного значения pH 2. Затем промывали органическую фазу водой, затем насыщенным водным раствором бикарбоната натрия, насыщенным соевым раствором, сушили с помощью MgSO_4 , фильтровали и выпаривали при пониженном давлении.

После очистки колоночной хроматографией на силикагеле (Hex/EtOAc, от 100% до 1:1) получали продукт 14 (8,6737 г, выход 96,63%). ЖХМС за 3 мин: $\text{ЭР}^+ = 2,44$ мин, m/z 554,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

б) (S)-2-амино-5-метокси-4-((триизопропилсилил)окси)фенил(2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)азетидин-1-ил)метанон (15)

Цинк (10 г, 152,9 ммоль) медленно добавляли к раствору соединения 14 (8,6737 г, 15,69 ммоль) в смеси MeOH/ H_2O /муравьиная кислота, 90:5:5 (200 мл). Экзотерму сдерживали, используя ледяную баню для поддержания температуры реакционной смеси ниже 40°C . После завершения удаляли твердые вещества фильтрованием через целит и промывали органическую фазу водой и насыщенным соевым раствором, затем сушили с помощью MgSO_4 , фильтровали и удаляли летучие вещества при пониженном давлении. Неочищенное вещество 15 (7,6343 г, 14,6 ммоль, выход 93,05%) использовали в таком виде на следующей стадии. ЖХМС за 3 мин: $\text{ЭР}^+ = 2,42$ мин, m/z 524,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

в) аллил-(S)-2-(2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)азетидин-1-карбонил)-4-метокси-5-((три

изопропилсилил)окси)фенил)карбамат (16)

Соединение 15 (7,6343 г, 14,60 ммоль) солибилизировали в CH_2Cl_2 (100 мл) в атмосфере аргона. Смесь охлаждали до -78°C , затем добавляли пиридин (2,6 мл, 32 ммоль) и аллилхлорформиат (1,7 мл, 16 ммоль). Реакционную смесь оставляли перемешиваться при -78°C на 10 мин, после чего оставляли нагреваться до комнатной температуры. Через 15 мин реакция была завершена. Органические вещества промывали насыщенным раствором CuSO_4 , H_2O , насыщенным соевым раствором, затем сушили с помощью MgSO_4 , фильтровали и удаляли летучие вещества при пониженном давлении.

Неочищенный продукт 16 (8,9129 г, 14,69 ммоль, количественно) использовали в таком виде на следующей стадии. ЖХМС за 3 мин: $\text{ЭР}^+=2,53$ мин, m/z 608,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

d) Аллил-(S)-(2-(2-(гидрокси-метил)азетидин-1-карбонил)-4-метокси-5-((триизопропилсилил)окси)фенил)карбамат (17)

Соединение 16 (8,9129 г, 14,69 ммоль) солибилизировали в 3:1:1 смеси $\text{H}_2\text{O}/\text{TГФ}/\text{уксусная кислота}$ (80 мл) и оставляли реакционную смесь перемешиваться в течение выходных дней. Смесь экстрагировали CH_2Cl_2 и промывали насыщенным раствором NaHCO_3 , H_2O и насыщенным соевым раствором, затем сушили с помощью MgSO_4 , фильтровали и удаляли летучие вещества при пониженном давлении. После очистки колоночной хроматографией на силикагеле (Hex/EtOAc , от 100% до 1:1) получали продукт 17 (5,5572 г, выход 76,80%) в виде прозрачного маслянистого вещества. ЖХМС за 3 мин: $\text{ЭР}^+=1,97$ мин, m/z 494,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

e) Аллил-(10aS)-10-гидрокси-6-метокси-4-оксо-7-((триизопропилсилил)окси)-1,2,10,10a-тетрагидроазето[1,2-a]бензо[e][1,4] diaзепин-9(4H)-карбоксилат (18).

Соединение 17 (5,5572 г, 11,28 ммоль) солибилизировали в CH_2Cl_2 (40 мл). Последовательно добавляли 1-гидрокси-2,2,6,6-тетраметилпиперидин; 1-метилимидазол; 2-(2-пиридил)пиридин (6 мл, 1 ммоль) и трифлат тетрааксациетонитрила меди (I) (425 мг, 1,1279 ммоль) и перемешивали смесь при 35°C под давлением воздуха из 2 баллонов. Реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение ночи, затем вакуумировали досуха на ротационном испарителе. После очистки колоночной хроматографией на силикагеле ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, от 100% до 97:3) получали продукт 18 (5,3835 г, 10,97 ммоль, выход 97,27%) в виде светло-оранжевого пенящегося вещества. ЖХМС за 3 мин: $\text{ЭР}^+=2,00$ мин, m/z 491,8 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

f) Аллил-(10aS)-10-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-6-метокси-4-оксо-7-((триизопропилсилил)окси)-1,2,10,10a-тетрагидроазето[1,2-a]бензо[e][1,4] diaзепин-9(4H)-карбоксилат (19)

Соединение 18 (5,3835 г, 10,97 ммоль) солибилизировали в CH_2Cl_2 (50 мл) и охлаждали смесь до -78°C . Затем добавляли 2,6-лутидин (2,55 мл, 21,9 ммоль) и TBS-OTf (3,78 мл, 16,4 ммоль). Смесь оставляли на 10 мин, затем убрали охлаждающую баню и оставляли смесь нагреваться до комнатной температуры. Органические вещества промывали H_2O и насыщенным соевым раствором, затем сушили с помощью MgSO_4 , фильтровали и удаляли летучие вещества при пониженном давлении. После очистки колоночной хроматографией на силикагеле ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, от 100% до 95:5) получали продукт 19 (6,8532 г, количественно). ЖХМС за 3 мин: $\text{ЭР}^+=2,47$ мин, m/z 606,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

g) Аллил-(10aS)-10-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-7-гидрокси-6-метокси-4-оксо-1,2,10,10a-тетрагидроазето[1,2-a]бензо[e][1,4] diaзепин-9(4H)-карбоксилат (20) Соединение 19 (6,8 г, 14 ммоль) солибилизировали в ДМФА (10 мл). Добавляли $\text{LiOAc}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1,4 г, 14 ммоль) и H_2O (3 мл или как можно больше). Когда раствор снова стал прозрачным, добавляли несколько капель воды. Повторяли описанный процесс до завершения реакции. Органические вещества разбавляли CHCl_3 и промывали раствором лимонной кислоты (pH 3), H_2O и насыщенным соевым раствором, затем сушили с помощью MgSO_4 , фильтровали и удаляли летучие вещества при пониженном давлении. После очистки колоночной хроматографией на силикагеле ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, от 100% до 95:5) получали продукт 20 (5,2885 г, 11,79 ммоль, выход 85%) в виде желтого маслянистого вещества. ЖХМС за 3 мин: $\text{ЭР}^+=1,86$ мин, m/z 449,8 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

h) Диаллил-7,7'-(пропан-1,3-диилбис(окси))(10aS,10a'S)-бис(10-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-6-метокси-4-оксо-1,2,10,10a-тетрагидроазето[1,2-a]бензо[e][1,4] diaзепин-9(4H)-карбоксилат) (21)

1,3-Дибромпропан (204,9 мг, 1,015 ммоль) и соединение 20 (1 г, 2,030 ммоль) солибилизировали в CH_2Cl_2 (50 мл) в атмосфере аргона. Последовательно добавляли K_2CO_3 (280 мг, 2,026 ммоль) и TBAI (149 мг, 0,2 ммоль) и оставляли смесь перемешиваться при 40°C до завершения реакции. Смесь оставляли перемешиваться в течение ночи, но реакция не была завершена, и образовалась примесь. Органические вещества промывали H_2O и насыщенным соевым раствором, затем сушили с помощью MgSO_4 , фильтровали и удаляли летучие вещества при пониженном давлении. После очистки колоночной хроматографией на силикагеле ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, от 100% до 97:3) получали продукт 21 (482 мг, 0,471 ммоль, выход 46,50%), загрязненный неотделимой примесью ($R_f=9,95$ мин при ЖХМС за 15 мин). ЖХМС за 15 мин: $\text{ЭР}^+=9,86$ мин, m/z 938,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

i) (10aS,10a'S)-7,7'-(пропан-1,3-диилбис(окси))бис(6-метокси-1,10a-дигидроазето[1,2-a]бензо[e][1,4] diaзепин-4(2H)-он) (Ex2A)

Соединение 21 (482 мг, 0,5143 ммоль) солибилизировали в CH_2Cl_2 (20 мл) в колбе в атмосфере аргона. Последовательно добавляли пирролидин (786 мкл, 9,44 ммоль) и $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (54 мг, 0,046 ммоль) и оставляли смесь перемешиваться при комнатной температуре до завершения. Органические вещества промывали насыщенным раствором NH_4Cl , H_2O и насыщенным соевым раствором, затем сушили с по-

мощью $MgSO_4$, фильтровали и удаляли летучие вещества при пониженном давлении. Затем очищали хроматографией на системе Isolera ($CH_2Cl_2/(CH_2Cl_2+10\%MeOH)$), от 98:2 до 30:70. Выделяли две фракции, содержащие продукт, но с недостаточной чистотой. Фракции объединяли и снова очищали хроматографией на системе Isolera (та же система растворителей) и выделяли чистый продукт Ex2A (35,1 мг, 0,135 ммоль, выход 13,5%). ЖХМС за 3 мин: ЭР⁺=1,23 мин, m/z 505,8 [M+H]⁺.

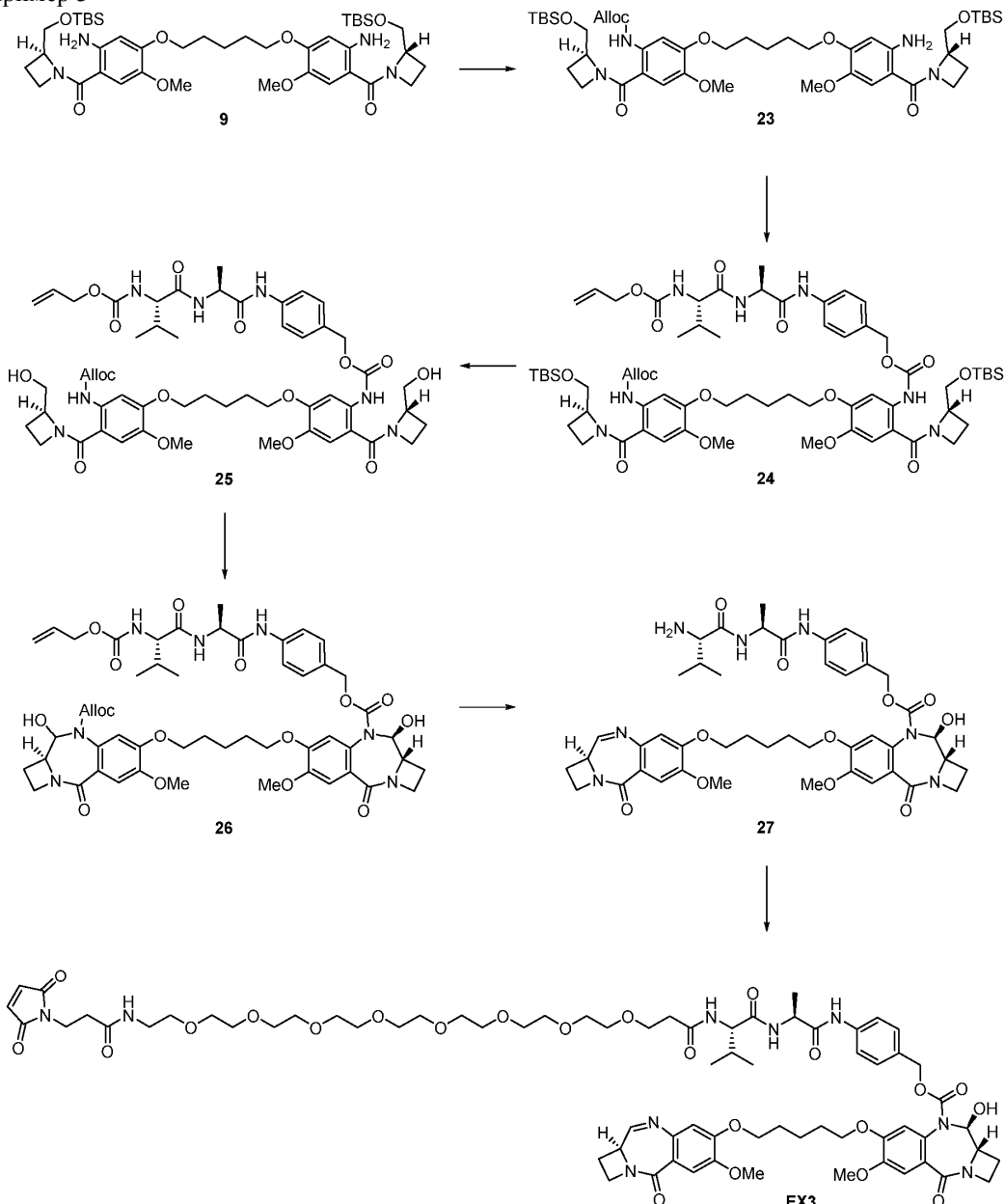
ж) Диаллил-7,7'-((1,3-фениленбис(метилен))бис(окси))(10aS,10a'S)-бис(10-((трет-бутилдиметилсил)окси)-6-метокси-4-оксо-1,2,10,10a-тетрагидроазето[1,2-a]бензо[e][1,4]дiazепин-9(4H)-карбоксилат) (22)

1,3-Бис(бромметил)бензол (267,9 мг, 1,011 ммоль) и соединение 20 (1 г, 2,030 ммоль) солюбилизировали в ДМФА (5 мл) в атмосфере аргона. Последовательно добавляли K_2CO_3 (280 мг, 2,026 ммоль) и ТВАИ (749 мг, 2,027 ммоль) и оставляли смесь перемешиваться при 40°C до завершения. Смесь оставляли перемешиваться в течение ночи, но реакция не была завершена, и образовалась примесь. Смесь разбавляли CH_2Cl_2 и промывали H_2O и насыщенным соевым раствором, затем сушили с помощью $MgSO_4$, фильтровали и удаляли летучие вещества при пониженном давлении. После очистки колоночной хроматографией на силикагеле ($CHCl_3/MeOH$, от 100% до 97:3) получали продукт 22 (467 мг, 0,43 ммоль, выход 42,47%) + 398 мг смешанных фракций. ЖХМС за 3 мин: ЭР⁺=2,30 мин, m/z 1000,5 [M+H]⁺.

к) (10aS,10a'S)-7,7'-((1,3-фениленбис(метилен))бис(окси))бис(6-метокси-1,10a-дигидроазето[1,2-a]бензо[e][1,4]diazепин-4(2H)-он) (Ex2B)

Соединение 22 (455 мг, 0,419 ммоль) солюбилизировали в CH_2Cl_2 (20 мл) в колбе в атмосфере аргона. Последовательно добавляли пирролидин (600 мкл, 7,2 ммоль) и $Pd(PPh_3)_4$ (48 мг, 0,041 ммоль) и оставляли смесь перемешиваться при комнатной температуре до завершения. Органические вещества промывали насыщенным раствором NH_4Cl , H_2O и насыщенным соевым раствором, затем сушили с помощью $MgSO_4$, фильтровали и удаляли летучие вещества при пониженном давлении. Очищали хроматографией на системе Isolera ($CH_2Cl_2/(CH_2Cl_2+10\%MeOH)$), от 98:2 до 30:70. Выделяли две фракции, содержащие продукт, но с недостаточной чистотой. Фракции объединяли и снова очищали хроматографией на системе Isolera (та же система растворителей) и выделяли чистый продукт Ex2B (214,5 мг, 0,378 ммоль, выход 90,5%) в виде белого твердого вещества. ЖХМС за 3 мин: ЭР⁺=1,38 мин, m/z 567,8 [M+H]⁺.

Пример 3



а) Аллил-5-((5-(5-амино-4-((S)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)азетидин-1-карбонил)-2-метоксифенокси)пентил)окси)-2-((S)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)азетидин-1-карбонил)-4-метоксифенил)карбамат (23)

Соединение 9 (1,192 г, 1,488 ммоль) солибулизировали в CH_2Cl_2 (250 мл) в атмосфере аргона. Смесь охлаждали до -78°C , затем добавляли пиридин (0,241 мл, 2,98 ммоль) и аллилхлорформат (0,158 мл, 1,484 ммоль). Реакционную смесь оставляли перемешиваться при -78°C на 10 мин, затем оставляли нагреваться до комнатной температуры. Через 15 мин реакция была завершена. Органические вещества промывали насыщенным раствором CuSO_4 , H_2O , насыщенным солевым раствором, затем сушили с помощью MgSO_4 , фильтровали и удаляли летучие вещества при пониженном давлении. После очистки колоночной хроматографией на силикагеле ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$) получали смесь моно- и бис-Аллос, которую дополнительно очищали на второй колонке (Hex/EtOAc) с получением чистого продукта 23 (499,2 г, выход 37,9% из 50% возможных). ЖХМС за 3 мин: ЭР⁺=2,41 мин, m/z 886,6 [M+H]⁺.

б) Аллил-5-((5-(5-(((4-((S)-2-((S)-2-(((алилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил)окси)карбонил)амино)-4-((S)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)азетидин-1-карбонил)-2-метоксифенокси)пентил)окси)-2-((S)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)азетидин-1-карбонил)-4-метоксифенил)карбамат (24)

Трифосфен (68,8 мг, 0,232 ммоль) одной порцией добавляли к смеси соединения 23 (620 мг, 0,7 ммоль) и ТЭА (203 мкл, 1,46 ммоль) в CH_2Cl_2 (50 мл) при 0°C . Убирали ледяную баню и через 15 мин одной порцией добавляли Alloc-Val-Ala-PAB-OH (275 мг, 0,728 ммоль) в виде тонкодисперсного порошка, затем добавляли дополнительное количество ТЭА (73 мкл, 0,524 ммоль) и дилаурат дибутилолова

(39,6 мкл, 0,07 ммоль). Реакционную смесь оставляли перемешиваться при 37°C на 4 ч, затем перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Органические вещества промывали H₂O, насыщенным раствором NH₄Cl и насыщенным соевым раствором, затем сушили с помощью MgSO₄, фильтровали и удаляли летучие вещества при пониженном давлении. После очистки колоночной хроматографией на силикагеле (CHCl₃/MeOH) получали чистый продукт 24 (414 г, выход 45,9%). ЖХМС за 3 мин: ЭР⁺=2,43 мин, m/z 1289,5 [M+H]⁺.

с) Аллил-5-((5-((4-((S)-2-((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил)окси)карбонил)амино)-4-((S)-2-(гидроксиметил)азетидин-1-карбонил)-2-метоксифенокси)пентил)окси)-2-((S)-2-(гидроксиметил)азетидин-1-карбонил)-4-метоксифенил)карбамат (25)

Соединение 24 (414 мг, 0,32 ммоль) солубилизировали в 3:1:1 смеси H₂O/ТГФ/уксусная кислота (10 мл) и оставляли реакционную смесь перемешиваться в течение выходных дней. Смесь экстрагировали CH₂Cl₂ и промывали насыщенным раствором NaHCO₃, H₂O и насыщенным соевым раствором, затем сушили с помощью MgSO₄, фильтровали и удаляли летучие вещества при пониженном давлении. После очистки колоночной хроматографией на силикагеле (CHCl₃/MeOH, от 100% до 94:6) получали продукт 25 (326 мг, выход 95,7%). ЖХМС за 3 мин: ЭР⁺=1,80 мин, m/z 1060,1 [M+H]⁺.

d) Аллил-(10aS)-7-((5-((10S,10aS)-9-((4-((S)-2-((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил)окси)карбонил)-10-гидрокси-6-метокси-4-оксо-1,2,4,9,10,10a-гексагидроазето[1,2-а]бензо[е][1,4] diaзепин-7-ил)окси)пентил)окси)-10-гидрокси-6-метокси-4-оксо-1,2,10,10a-тетрагидроазето[1,2-а]бензо[е][1,4] diaзепин-9(4H)-карбоксилат (26)

Соединение 25 (202,4 мг, 0,3 ммоль) солубилизировали в CH₂Cl₂ (20 мл). Последовательно добавляли 1-гидрокси-2,2,6,6-тетраметилпиперидин; 1-метилимидазол; 2-(2-пиридил)пиридин (0,4 мл, 0,03 ммоль) и трифлат тетрааксационитрила меди (I) (11 мг, 0,03 ммоль) и перемешивали смесь при 35°C под давлением воздуха из 2 баллонов. Реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение ночи, затем выпаривали досуха на ротационном испарителе. После очистки колоночной хроматографией на силикагеле (CHCl₃/MeOH, от 100% до 97:3) получали продукт 26 (313 мг, 0,19 ммоль, выход 64,5%). ЖХМС за 3 мин: ЭР⁺=1,59 мин, m/z 1057,1 [M+H]⁺.

e) 4-((S)-2-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил-(10S,10aS)-10-гидрокси-6-метокси-7-((5-((S)-6-метокси-4-оксо-1,2,4,10a-тетрагидроазето[1,2-а]бензо[е][1,4] diaзепин-7-ил)окси)пентил)окси)-4-оксо-1,2,10,10a-тетрагидроазето[1,2-а]бензо[е][1,4] diaзепин-9(4H)-карбоксилат (27)

Соединение 26 (195 мг, 0,184 ммоль) солубилизировали в CH₂Cl₂ (10 мл) в колбе в атмосфере аргона. Последовательно добавляли пирролидин (262 мкл, 3,15 ммоль) и Pd(PPh₃)₄ (21 мг, 0,018 ммоль) и оставляли смесь перемешиваться при комнатной температуре до завершения. Органические вещества промывали насыщенным раствором NH₄Cl, H₂O и насыщенным соевым раствором, затем сушили с помощью MgSO₄, фильтровали и удаляли летучие вещества при пониженном давлении. После очистки хроматографией на системе Isolera (CH₂Cl₂/(CH₂Cl₂+10%MeOH), от 98:2 до 30:70, получали продукт 27 (141 мг, 0,16 ммоль, выход 87,7%). ЖХМС за 3 мин: ЭР⁺=1,23 мин, m/z 870,9 [M+H]⁺.

f) 4-((2S,5S)-37-(2,5-Диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-5-изопропил-2-метил-4,7,35-триоксо-10,13,16,19,22,25,28,31-октаокса-3,6,34-триазагептатриаконтанамидо)бензил-(10S,10aS)-10-гидрокси-6-метокси-7-((5-((S)-6-метокси-4-оксо-1,2,4,10a-тетрагидроазето[1,2-а]бензо[е][1,4] diaзепин-7-ил)окси)пентил)окси)-4-оксо-1,2,10,10a-тетрагидроазето[1,2-а]бензо[е][1,4] diaзепин-9(4H)-карбоксилат (Ex3)

Реакцию проводили в перчаточном боксе. Соединение 27 (70 мг, 0,080 ммоль) солубилизировали в CH₂Cl₂ (10 мл) в колбе в атмосфере аргона при комнатной температуре. Добавляли Mal-dPEG₈-OH (50 мг, 0,084 ммоль) и EDCI·HCl (15,4 мг, 0,080 ммоль) и перемешивали смесь до завершения. Органические вещества промывали H₂O и насыщенным соевым раствором, затем сушили с помощью MgSO₄, фильтровали и удаляли летучие вещества при пониженном давлении. После очистки хроматографией на системе Isolera (CH₂Cl₂/(CH₂Cl₂+10%MeOH), от 98:2 до 30:70, получали продукт с примесями. После дополнительной очистки на обращенно-фазовой системе Isolera получали чистое соединение Ex3 (4 мг, 0,027 ммоль, выход 3,4%) и несколько фракций с примесями (22 мг). ЖХМС за 3 мин: ЭР⁺=1,51 мин, m/z 1445,6 [M+H]⁺.

Пример 4

ConjA (Her2-Ex3)

10 mM раствор трис(2-карбоксиил)фосфина (ТСЕР) в фосфатно-солевом буферном растворе при pH 7,4 (PBS) добавляли (50 молярных эквивалентов/антитело, 7,6 микромоляр, 762,7 мкл) к 20,8 мл раствора тратузумаба (22,9 мг, 153 наномоль) в восстановительном буфере, содержащем 30 mM смеси гистидин/гистидин·HCl, 30 mM аргинина, pH 6,8, и 1 mM этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТК), с конечной концентрацией антитела 1,1 мг/мл. Восстановительную смесь оставляли взаимодействовать при 37°C на 2 ч (или до полного восстановления, по данным СВЭЖХ) на орбитальном шейкере при слабом (60 об/мин) встряхивании. В растворе восстановленного антитела меняли буфер (для полного удаления избытка восстановительного агента) посредством центрифугирования на центробежном фильтре, на буфер для конъюгации, содержащий 30 mM смеси гистидин/гистидин·HCl, 30 mM аргинина и 1 mM ЭДТК, до конечной концентрации антитела 1,1 мг/мл. Добавляли Ex3 в виде раствора в ДМСО (12,5 мо-

лярных эквивалентов/антитело, 1,9 микромоляр, в 2,1 мл ДМСО) к 18,6 мл полученного раствора восстановленного антитела (20,5 мг, 136 наномоль) до конечной концентрации ДМСО 10% (об./об.). Раствор перемешивали в течение 17 ч при комнатной температуре, затем конъюгацию гасили посредством добавления N-ацетилцистеина (8,5 микромоляр, 68 мкл при 100 мМ), затем очищали посредством центрифугирования на центробежном фильтре, используя центробежный фильтр с НОММ 30 кДа Amicon Ultracell объемом 15 мл, подвергали стерилизующей фильтрации и анализировали.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Thermo Scientific MAbPac 50 мм×2,1 мм, элюируя градиентом воды и ацетонитрила на восстановленном образце ConjA при 214 нм и 330 нм (специфического в отношении соединения SG3931), показал смесь неконъюгированных легких цепей, легких цепей, присоединенных к одной молекуле SG3931, неконъюгированных тяжелых цепей и тяжелых цепей, присоединенных к молекулам SG3931, количество которых равно до трех, что согласуется с отношением лекарственного соединения к антителу (DAR), составляющим 7,32 молекулы SG3931 на одно антитело.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb НТР 4 мкм 4,6×150 мм (с защитной колонкой 4 мкм 3,0×20 мм), элюируя со скоростью 0,3 мл/мин, отфильтрованного через стерилизующий фильтр буфера SEC, содержащего 200 мМ фосфата калия с рН 6,95, 250 мМ хлорида калия и 10% изопропанола (об./об.), на образце ConjA при 280 нм, показал чистоту мономера 94,2%. SEC анализ СВЭЖХ показал концентрацию конечного ConjA 1,29 мг/мл в 5,8 мл, полученная масса ConjA составила 7,5 мг (выход 37%).

Пример 5. Анализ цитотоксичности

Эффективность полученных молекул измеряли в *in vitro* анализе цитотоксичности в клеточной линии карциномы NCI-N87.

Твердый материал растворяли в ДМСО до 2 мМ исходного раствора, из которого получали восемь серийных разбавлений в соотношении 1:10 в ДМСО и хранили при -20°C до использования.

Адгезивные клетки NCI-N87 промывали D-PBS и отделяли с помощью трипсин-ЭДТК, затем измеряли плотность и жизнеспособность клеток в двух повторениях, используя эксклюзионный анализ с трипановым синим и автоматический счетчик клеток (LUNA-II™). Клеточную суспензию разбавляли до 1×10^5 клеток/мл в питательной среде (RPMI 1640 с Glutamax + 10% (об./об.) эмбриональной бычьей сыворотки NuClone™) и перемешивали на вортексе, затем распределяли по 2 мл на лунку в стерильные полипропиленовые планшеты объемом 3 мл. Затем в соответствующие лунки вводили разбавленные растворы активного агента в количестве 10 мкл/лунка и несколько раз перемешивали в пипетке. В контрольных лунках наносили 10 мкл ДМСО на 2 мл клеточной суспензии и тщательно перемешивали. Затем брали аликвоту 100 мкл каждого образца в 2 повторяющихся лунках стерильного плоского 96-луночного микропланшета и инкубировали в инкубаторе при 37°C с газообразным CO₂ (5%). По окончании периода инкубации (7 дней) измеряли жизнеспособность клеток анализом CellTiter 96 Aqueous One (MTS), для чего распределяли по 20 мкл на лунку и инкубировали в течение 4 часов при 37°C, 5% CO₂. Затем считывали планшеты на многоканальном планшетридере EnVision (Perkin Elmer), используя поглощение при 490 нм.

Процент выживания клеток рассчитывали по среднему поглощению 2 повторяющихся лунок для каждого образца, сравнивали со средним поглощением в двух контрольных лунках, обработанных только ДМСО (100%). Значение IC₅₀ определяли подгонкой каждого набора данных к сигмоидальным кривым зависимости ответа от дозы с переменным углом наклона, используя алгоритм сглаживания нелинейных кривых в программном обеспечении GraphPad Prism (Сан-Диего, штат Калифорния).

Все эксперименты в данном отчете проводили и испытывали в трех независимых повторениях. Данные записаны как среднее значение из трех независимых повторений.

	IC ₅₀ (нМ)
Ex2A	70,11
Ex1	2,202
Ex2B	4,035

Пример 6. Анализ цитотоксичности ADC

Концентрацию и жизнеспособность клеток из субконфлюентной (конфлюентность 80-90%) клеточной культуры в колбе T75 измеряли посредством окрашивания трипановым синим и подсчитывали с помощью автоматического счетчика клеток LUNA-II™. Клетки разбавляли до 2×10^5 /мл, распределяли (50 мкл на лунку) в 96-луночные плоскодонные планшеты.

Исходный раствор (1 мл) экспериментального конъюгата антитело-лекарство (ADC) (20 мкг/мл) получали разбавлением стерилизованного через фильтр ADC в среде для клеточных культур. Серию из 8×10-кратных разбавлений исходного ADC проводили в 24-луночном планшете посредством серийного переноса 100 мкл в 900 мкл среды для клеточных культур. Разбавленный ADC распределяли (50 мкл на лунку) в 4 повторениях в лунки 96-луночного планшета, содержащие 50 мкл клеточной суспензии, высе-

янной ранее. В контрольные лунки помещали 50 мкл среды для клеточных культур. 96-луночный планшет, содержащий клетки и ADC, инкубировали при 37°C в насыщенном CO₂ инкубаторе в течение времени воздействия.

По окончании периода инкубации измеряли жизнеспособность клеток с помощью анализа MTS. MTS (Promega) помещали (20 мкл на лунку) в каждую лунку и инкубировали в течение 4 ч при 37°C в инкубаторе с CO₂. Поглощение в лунках измеряли при 490 нм. Процентное выживание клеток рассчитывали по среднему поглощению в 4 лунках, обработанных ADC, в сравнении со средним поглощением в 4 контрольных, необработанных лунках (100%). IC₅₀ определяли по данным зависимости ответа от дозы с помощью GraphPad Prism, используя алгоритм нелинейного сглаживания кривой: сигмоидальную кривую зависимости ответа от дозы с переменным углом наклона.

Время инкубации ADC составляло 4 дня для MDA-MB-468 и 7 дней для NCI-N87. MDA-MB-468 и NCI-N87 выращивали в среде RPMI 1640 с Glutamax + 10% (об./об.) эмбриональной бычьей сыворотки HyClone™.

Значения EC₅₀ определяли подгонкой данных к сигмоидальной кривой зависимости ответа от дозы с переменным углом наклона, используя программное обеспечение GraphPad Prism v6.05 (GraphPad, Сан-Диего, штат Калифорния).

	EC ₅₀ (мкг/мл)	
	NCI-N87	MDA-MB-468
ConjA	0,002285	15,71

Пример 7. Испытание ксенотрансплантата

Мыши с ксенотрансплантатом NCI-N87

Возраст самок мышей с тяжелым комбинированным иммунодефицитом (Fox Chase SCID®, C.B-17/1c-Prkdescid, Charles River) составлял восемь недель, диапазон массы тела (BW) от 16,5 до 21,6 г на 1 день исследования. Животных обеспечивали водой ad libitum (обратный осмос, 1 м.д. Cl) и модифицированным кормом NIH 31, а также облученным кормом Lab Diet®, состоящим из 18,0% неочищенного белка, 5,0% неочищенного жира и 5,0% неочищенного волокна. Мышей содержали на подстилке для лабораторных животных Enricho'cobs™ в статических микроизоляторах с 12-часовым циклом освещения при 20-22°C (68-72°F) и влажности 40-60%. Компания CR Discovery Services, в частности, действует в соответствии с рекомендациями Руководства по содержанию и использованию лабораторных животных в отношении обездвиживания, содержания, хирургических операций и регуляции обеспечения корма и жидкости, а также ветеринарного ухода. Программа по содержанию и использованию животных в компании CR Discovery Services аккредитована Международной ассоциацией по аттестации и аккредитации содержания лабораторных животных (AAALAC), что гарантирует соблюдение принятых стандартов по содержанию и использованию лабораторных животных.

Культура опухолевых клеток

Клетки карциномы-лимфомы желудка человека NCI-N87 выращивали в среде RPMI-1640 с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки, 2 мМ глутамин, 100 единиц/мл пенициллина натрия G, 100 мкг/мл сульфата стрептомицина и 25 мкг/мл гентамицина. Клетки выращивали в колбах для тканевых культур в увлажненном инкубаторе при 37°C в атмосфере 5% CO₂ и 95% воздуха.

In Vivo имплантация и рост опухоли

Клетки NCI-N87, использованные для имплантации, собирали на логарифмической фазе роста и повторно суспендировали в фосфатно-солевом буферном растворе (PBS), содержащем 50% Matrigel™ (BD Biosciences). В день имплантации опухоли каждой экспериментальной мыши в правый бок вводили подкожную инъекцию 1×10⁷ клеток (0,1 мл клеточной суспензии) и контролировали рост опухоли по среднему размеру, приближающемуся к требуемому диапазону от 100 до 150 мм³. Через четырнадцать дней, в день, обозначенный как 1 день исследования, мышей разделяли на группы в соответствии с рассчитанным размером опухоли, и каждая группа состояла из десяти животных с размером опухоли у каждой из них от 108 до 144 мм³, и средний объем опухоли в группе составлял 115 мм³.

Опухоли измеряли в двух направлениях с помощью штангенциркуля и рассчитывали объем по формуле:

$$\text{Объем опухоли (мм}^3\text{)} = \frac{w^2 \times l}{2}$$

где w=ширина и l=длина опухоли в мм. Массу опухоли можно оценить, если принять, что 1 мг эквивалентен объему опухоли 1 мм³.

Лечение

Лечение начинали на 1 день в группах по 10 мышей (n=10) с развившимися подкожными опухолями NCI-N87 (108-144 мм³). ConjA (4 мг/кг) вводили внутривенно однократно на 1 день (qd×1). Группу, которую лечили носителем, использовали в качестве контрольной группы для анализа эффективности. Опухоли измеряли два раза в неделю до окончания исследования на 79 день. Каждую мышь усыпляли по

достижении конечного объема опухоли 800 мм³ или до последнего дня, в зависимости от того, что наступит раньше. Для каждой мыши рассчитывали время до конечной точки (TTE).

Результаты представлены на фиг. 1, где показано изменение нормализованного роста опухоли (■ - контроль; ♦ - ConjA).

Анализ конечной точки и задержки роста опухоли (TGD)

Опухоли измеряли штангенциркулем дважды в неделю, и каждое животное усыпляли по достижении объема его опухоли конечного значения 800 мм³ или по окончании исследования (79 день), в зависимости от того, что случится первым. Животных, выбывших из исследования по признаку конечного объема опухоли, записывали как усыпленных вследствие прогрессирования опухоли (TP), с указанием даты усыпления. Время до конечной точки (TTE) для анализа для каждой мыши рассчитывали по следующему уравнению:

$$TTE = \frac{\log_{10}(\text{объем в конечной точке}) - b}{m}$$

где TTE выражен в днях, объем в конечной точке выражен в мм³, b представляет собой интерсепт, и m представляет собой наклон линии, полученной методом линейной регрессии log-трансформированного набора данных роста опухоли. Набор данных состоял из первого наблюдения, которое превышало объем в конечной точке, использованной для анализа, и трех последовательных наблюдений, непосредственно предшествующих достижению данного объема в конечной точке. Рассчитанное значение TTE обычно меньше даты TP, дня усыпления животного по признаку размера опухоли. Животным с опухолью, не достигшей объема в конечной точке, присваивали значение TTE, равное последнему дню исследования (79 день). В тех случаях, в которых log-трансформированное расчетное значение TTE предшествовало дню достижения конечной точки или превышало день достижения конечной точки по объему опухоли, осуществляли линейную интерполяцию для аппроксимации TTE. Животных, которых классифицировали как погибших по причинам NTR (не связанным с лечением) вследствие несчастного случая (NTRa) или неизвестной этиологии (NTRu), исключали из расчетов TTE (и всех дальнейших анализов). Животным, гибель которых классифицировали как TR (связанная с лечением) или NTRm (не связанная с лечением, вследствие метастаза), присваивали значение TTE, равное дню гибели. Результат лечения оценивали по задержке роста опухоли (TGD), которую определяли как увеличение медианного времени до конечной точки (TTE) в экспериментальной группе, по сравнению с контрольной группой:

$$TGD = T - C,$$

выраженной в днях, или как процент от медианного TTE в контрольной группе:

$$\%TGD = \frac{T - C}{C} \times 100$$

где T=медианное TTE для экспериментальной группы, и

C=медианное TTE для указанной контрольной группы.

Ингибирование роста опухоли

В анализе ингибирования роста опухоли (TGI) оценивают разность между медианными объемами опухоли (MTV) экспериментальных и контрольных мышей. Для данного исследования конечной точкой для определения TGI был 19 день, который был последним днем, в котором в исследовании оставались все пригодные для оценки контрольные мыши. Для каждой группы определяли значение MTV (n), медианный объем опухоли для определенного количества животных, n, в день анализа TGI. Процентное ингибирование роста опухоли (%TGI) определяли как разность между MTV в указанной контрольной группе и MTV в группе, которую лечили лекарством, выраженную в процентах от MTV в контрольной группе:

$$\%TGI = \left(\frac{MTV_{\text{контроль}} - MTV_{\text{лекарство}}}{MTV_{\text{контроль}}} \right) \times 100 = [1 - (MTV_{\text{лекарство}} / MTV_{\text{контроль}})] \times 100$$

Набор данных для анализа TGI включал всех животных в группе, за исключением тех, которые погибли по причинам, связанным с лечением (TR) или не связанным с лечением (NTR) раньше дня анализа TGI.

MTV и критерии регрессионного ответа

Эффективность лечения может быть определена по объему опухоли животных, оставшихся в исследовании в последний день. Значение MTV (n) определяли как медианный объем опухоли в последний день исследования у определенного количества оставшихся животных (n), опухоли которых не достигли объема конечной точки. Эффективность лечения также можно определить по частоте и степени регрессионного ответа, наблюдаемого во время исследования. Лечение может вызывать частичную регрессию (PR) или полную регрессию (CR) опухоли у животного. При PR ответе объем опухоли составлял 50% или менее от объема на 1 день для трех последовательных измерений на протяжении исследования, и

составлял ровно или более 13,5 мм³ для одного или более из указанных трех измерений. При CR ответе объем опухоли составлял менее 13,5 мм³ для трех последовательных измерений на протяжении исследования. На протяжении исследования событие PR или CR у животных оценивали только один раз, и ставили только оценку CR, если были удовлетворены оба критерия PR и CR. Животных с CR ответом в конце исследования дополнительно классифицировали как животных с безопухолевой выживаемостью (TFS). Наблюдали животных на предмет регрессионного ответа.

Токсичность

Животных ежедневно взвешивали на 1-5 день, затем два раза в неделю до завершения исследования. Мышей часто наблюдали на предмет явных признаков каких-либо неблагоприятных побочных эффектов, связанных с лечением (TR), и при наблюдении регистрировали клинические признаки. Индивидуальную массу тела контролировали в соответствии с протоколом, и любое животное с потерей массы более 30% для одного измерения или более 25% для трех последовательных измерений усыпляли, записывая гибель как TR. Также отслеживали среднюю потерю массы тела в группе в соответствии с протоколом CR Discovery Services. Приемлемую токсичность определяли как среднюю потерю массы тела (BW) в группе менее 20% во время исследования и не более 10% смертей TR. Введение доз приостанавливали в любой группе, где средняя потеря массы превышала допустимые пределы. Если средняя масса тела в группе восстанавливалась до приемлемого уровня, то введение доз изменяли на более низкие уровни и/или уменьшали частоту, а затем возобновляли. Гибель классифицировали как TR, если она была связана с побочными эффектами лечения, по данным клинических признаков и/или вскрытия. Классификацию TR также присваивали гибели по неизвестным причинам во время периода введения доз или в течение 14 дней после последней дозы. Смерть классифицировали как не связанную с лечением (NTR), если не было данных о том, что гибель связана с побочными эффектами лечения. Гибель NTR дополнительно классифицировали следующим образом: NTRa описывает гибель вследствие несчастного случая или ошибки человека; NTRm описывает гибель, предположительно обусловленную распространением опухоли посредством инвазии и/или метастаза, по результатам вскрытия; NTRu описывает гибель по неизвестным причинам, когда отсутствуют доступные доказательства смерти, связанной с метастазом, прогрессированием опухоли, несчастным случаем или ошибкой человека. Следует отметить, что побочные эффекты лечения нельзя исключать из случаев гибели, классифицированных как NTRu.

Статистический и графический анализ

Для всех статистических анализов и графических презентаций использовали GraphPad Prism 8.0 для Windows. Экспериментальные группы, в которых наблюдали токсичность, превышающую допустимые пределы (средняя потеря массы тела в группе >20% или более 10% смертей, связанных с лечением), или имеющие менее пяти пригодных для оценки наблюдений, не были включены в статистический анализ. Использовали логранговый критерий для оценки значимости разницы между общим опытом выживаемости двух групп. Логранговый критерий позволяет анализировать отдельные TTE для всех животных в группе, кроме исключенных из исследования вследствие гибели NTR. Статистический анализ различий между медианными объемами опухолей (MTV) на 19 день в контрольной и экспериментальной группах проводили с использованием U-критерия Манна-Уитни. Для статистического анализа проводили двусторонние тесты при уровне значимости P=0,05. Программа Prism обобщает результаты теста как незначимые (ns) при P>0,05, значимые (обозначенные знаком "**") при 0,01<P≤0,05, очень значимые ("**") при 0,001<P≤0,01 и чрезвычайно значимые ("****") при P≤0,001.

Поскольку испытания статистической значимости не позволяют оценить величину различий между группами, все уровни значимости описаны в тексте данного отчета как значимые или незначимые.

		n	Медианное TTE	T-C	%TGD	MTV (n), 79 день	
Носитель	-	10	24,8	--	-	466(10)	
ConjA	4 мг/кг	10	79,0	54,2	219	32 (9)	
	PR	CR	TFS	Нижний предел BW	TR	NTRm	NTR
Носитель	0	0	0	-2,0 (2)	0	0	0
ConjA	6	4	0	-1,9 (2)	0	0	0

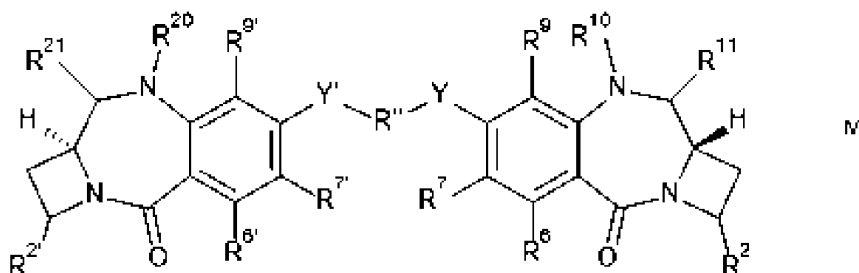
На 19 день значение MTV(10) для животных, которым вводили ConjA, составило 32 мм³, или значимое TGI 93% (P<0,001, критерий Манна-Уитни). В исследовании выжили девять животных, и установленное медианное TTE составило 79,0 дней; это демонстрирует максимально возможное, значимое значение TGD 219% (P<0,001, логранговый критерий). Значение MTV(9) на 79 день составило 320 мм³, и наблюдали шесть PR и четыре CR.

Все документы и другие ссылки, упомянутые выше, включены в данный документ посредством

ССЫЛКИ.

Изложение сущности изобретения

1. Соединение формулы IV:



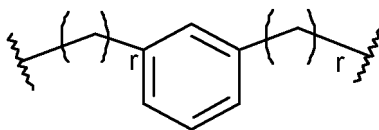
и его соли и сольваты, где:

 R^2 и R^2 представляют собой H; R^6 и R^9 независимо выбраны из H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2 , NHR, NRR', нитро, Me_3Sn и галогена;где R и R' независимо выбраны из необязательно замещенных C_{1-12} алкильных, C_{3-20} гетероциклических и C_{6-20} арильных групп; либо(a) R^7 выбран из H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2 , NHR, NRR', нитро, Me_3Sn и галогена; $R^{7'}$ выбран из H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2 , NHR, NRR', нитро, Me_3Sn и галогена; либо(b) R^7 и $R^{7'}$ вместе образуют группу, которая представляет собой:(i) $-O-(CH_2)_n-O-$, где n равен от 7 до 16; или(ii) $-O-(CH_2CH_2O)_m-$, где m равен от 2 до 5; R'' представляет собой C_{3-12} алкиленовую группу, цепь которой может прерываться одним или более гетероатомами, например, O, S, NR^{N2} (где R^{N2} представляет собой H или C_{1-4} алкил), и/или ароматические кольца, например, бензол или пиридин;

Y и Y' выбраны из O, S или NH;

 R^6 и R^9 выбраны из тех же групп, что и R^6 и R^9 , соответственно; либо(i-a) R^{10} и R^{11} вместе образуют двойную связь между атомами N и C, с которыми они связаны; или(i-b) R^{10} представляет собой H, и R^{11} выбран из OH и OR^A , причем R^A представляет собой C_{1-4} алкил; или(i-c) оба R^{10} и R^{11} представляют собой H; либо(ii-a) R^{20} и R^{21} вместе образуют двойную связь между атомами N и C, с которыми они связаны; или(ii-b) R^{20} представляет собой H, и R^{21} выбран из OH и OR^B , причем R^B представляет собой C_{1-4} алкил; или(ii-c) оба R^{20} и R^{21} представляют собой H.

2. Соединение по п.1, отличающееся тем, что оба Y и Y' представляют собой O.

3. Соединение по п.1 или 2, отличающееся тем, что R'' представляет собой C_{3-7} алкилен.4. Соединение по п.1 или 2, отличающееся тем, что R'' представляет собой группу формулы:

где r равен 1 или 2.

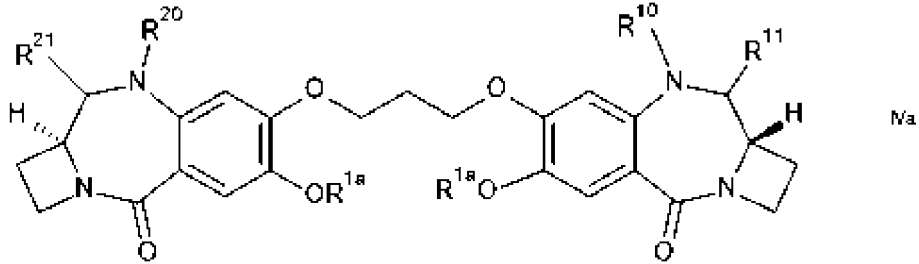
5. Соединение по любому из пп.1-4, отличающееся тем, что R^9 представляет собой H.6. Соединение по любому из пп.1-5, отличающееся тем, что R^6 представляет собой H.7. Соединение по любому из пп.1-6, отличающееся тем, что R^7 выбран из H, OH и OR, и $R^{7'}$ выбран из H, OH и OR.8. Соединение по п.7, отличающееся тем, что R^7 представляет собой C_{1-4} алкилокси группу, и $R^{7'}$ представляет собой C_{1-4} алкилокси группу.9. Соединение по любому из пп.1-8, отличающееся тем, что R^2 является такой же группой, как R^2 , R^6 является такой же группой, как R^6 , R^7 является такой же группой, как R^7 , R^9 является такой же группой, как R^9 , и Y' является такой же группой, как Y.10. Соединение по любому из пп.1-9, отличающееся тем, что R^{10} и R^{11} вместе образуют двойную связь между атомами N и C, с которыми они связаны.11. Соединение по любому из пп.1-9, отличающееся тем, что R^{10} представляет собой H, и R^{11} выбран из OH и OR^A .12. Соединение по п.11, отличающееся тем, что R^A представляет собой метил.13. Соединение по любому из пп.1-9, отличающееся тем, что оба R^{10} и R^{11} представляют собой H.14. Соединение по любому из пп.1-13, отличающееся тем, что R^{20} и R^{21} вместе образуют двойную связь между атомами N и C, с которыми они связаны.

15. Соединение по любому из пп.1-13, отличающееся тем, что R^{20} представляет собой H, и R^{21} выбран из OH и OR^B .

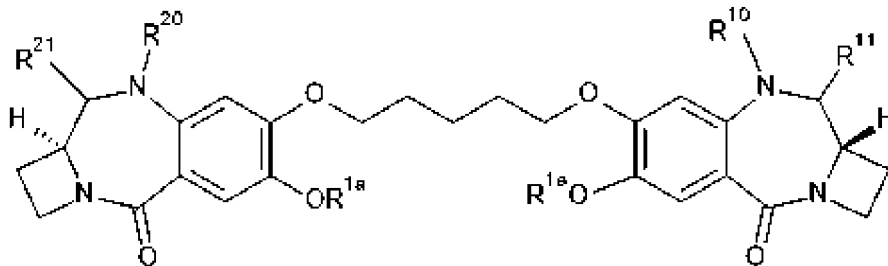
16. Соединение по п.14, отличающееся тем, что R^B представляет собой метил.

17. Соединение по любому из пп.1-13, отличающееся тем, что оба R^{20} и R^{21} представляют собой H.

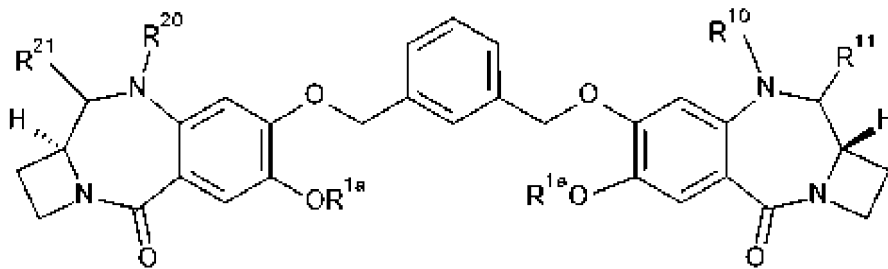
18. Соединение по п.1, имеющее формулу IVa, IVb или IVc:



IVa



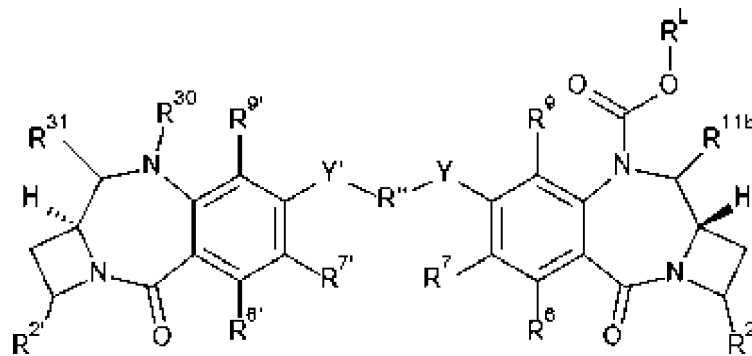
IVb



IVc

где R^{1a} выбран из метила и бензила.

19. Соединение формулы I:



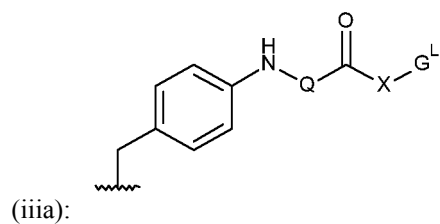
и его соли и сольваты, где:

$Y, Y', R'', R^2, R^{2'}, R^6, R^{6'}, R^7, R^{7'}, R^9$ и $R^{9'}$ являются такими, как определено в любом из пп.1-18;

R^{11b} выбран из OH, OR^A , где R^A представляет собой C_{1-4} алкил; и

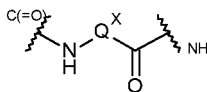
R^L представляет собой линкер для связывания с клеточносвязывающим агентом, который выбран

из:

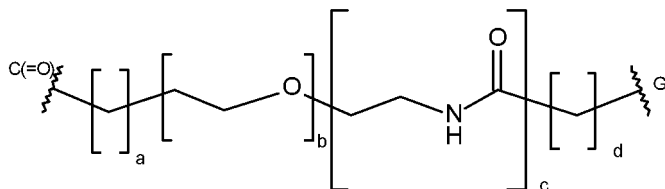


IIIa

(iii):



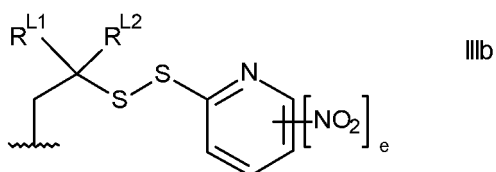
где Q представляет собой:
 где Q^X является таким, что Q представляет собой аминокислотный остаток, дипептидный остаток или трипептидный остаток;



X представляет собой:

где a=0-5, b=0-16, c=0 или 1, d=0-5;

G¹ представляет собой линкер для связывания со звеном лиганда; и



(iiib):

где R^{L1} и R^{L2} независимо выбраны из H и метила, или вместе с атомом углерода, с которым они связаны, образуют циклопропиленовую или циклобутиленовую группу; и e равен 0 или 1; либо:

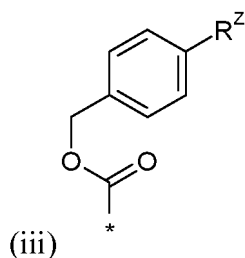
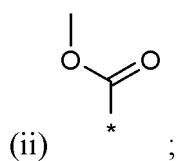
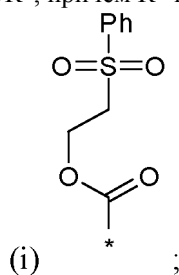
(a) R³⁰ и R³¹ вместе образуют двойную связь между атомами N и C, с которыми они связаны; или

(b) R³⁰ представляет собой H, и R³¹ выбран из OH и OR^B, причем R^B представляет собой C₁₋₄ алкил;

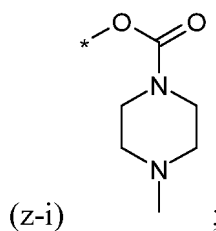
или

(c) оба R³⁰ и R³¹ представляют собой H; или

(d) R³¹ представляет собой OH или OR^B, причем R^B представляет собой C₁₋₄ алкил, и R³⁰ выбран из:



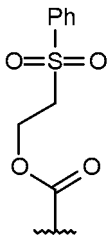
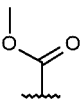
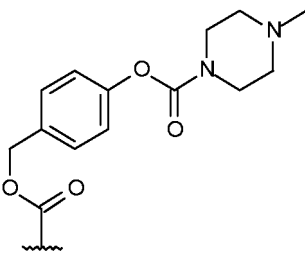
где R^Z выбран из:

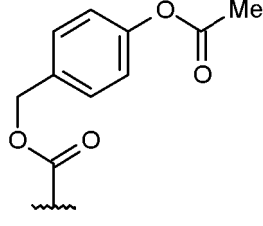
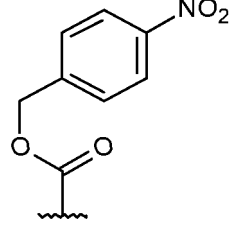
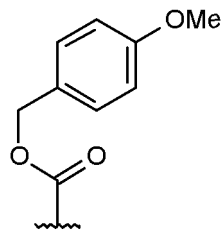
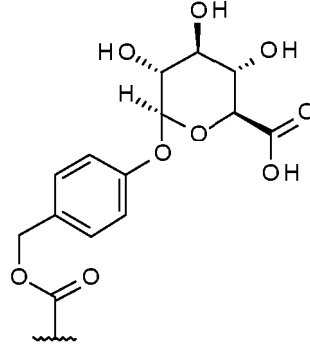
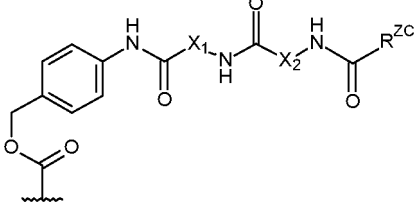


(z-ii) $\text{OC}(=\text{O})\text{CH}_3$;(z-iii) NO_2 ;(z-iv) OMe ;

(z-v) глюкуронида;

(z-vi) $\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{X}_1-\text{NHC}(=\text{O})\text{X}_2-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^{\text{zc}}$, где $-\text{C}(=\text{O})-\text{X}_1-\text{NH}-$ и $-\text{C}(=\text{O})-\text{X}_2-\text{NH}-$ представляют собой остатки природных аминокислот, и R^{zc} выбран из Me , OMe , $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OMe}$ и $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2\text{Me}$.20. Соединение по п.19, отличающееся тем, что R^{30} и R^{31} вместе образуют двойную связь между атомами N и C, с которыми они связаны.21. Соединение по п.19, отличающееся тем, что R^{30} представляет собой H, и R^{31} выбран из OH и OR^{B} , где R^{B} представляет собой C_{1-4} алкил.22. Соединение по п.19, отличающееся тем, что оба R^{30} и R^{31} представляют собой H.23. Соединение по п.19, отличающееся тем, что R^{31} представляет собой OH или OR^{A} , и R^{30} выбран из:

$\text{R}^{30\text{a}}$	
$\text{R}^{30\text{b}}$	
$\text{R}^{30\text{c}}$	

R^{30d}	
R^{30e}	
R^{30f}	
R^{30g}	
R^{30h}	

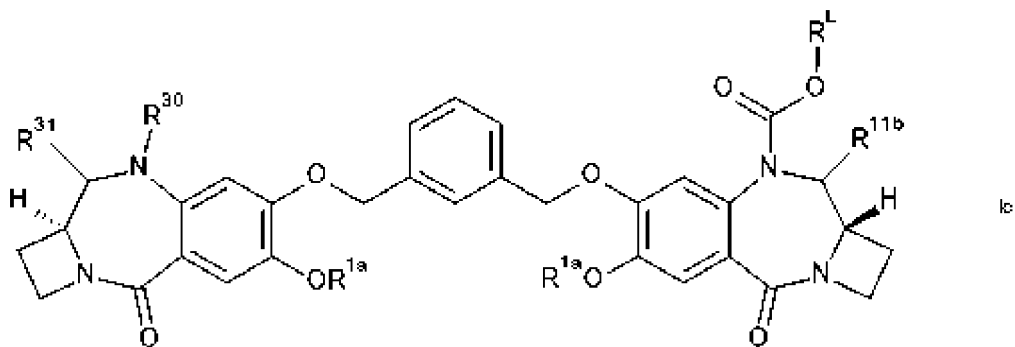
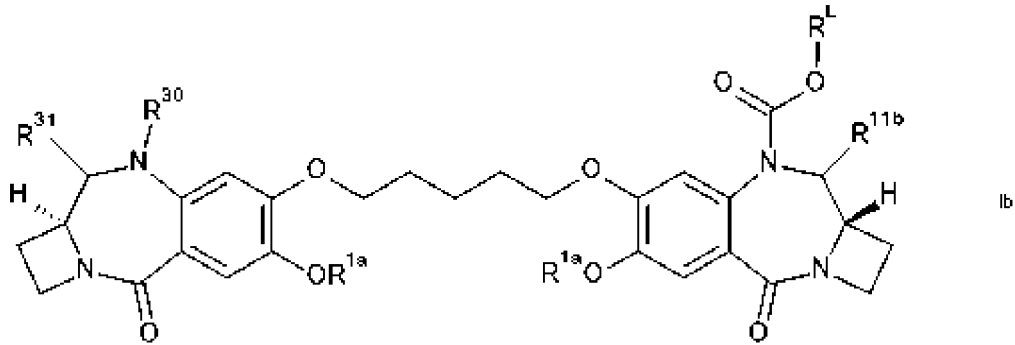
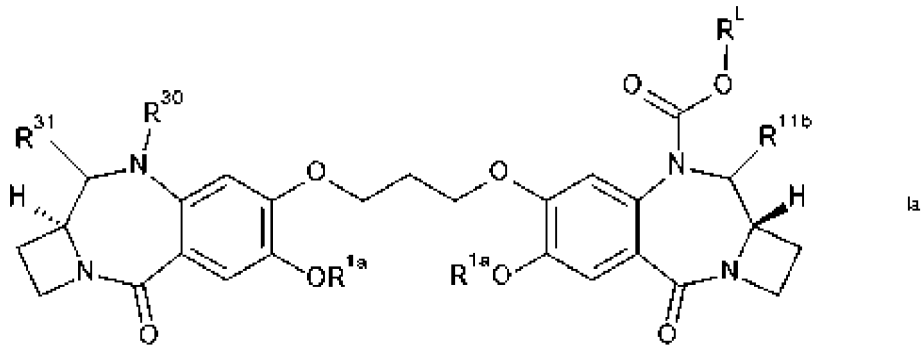
24. Соединение по п.23, отличающееся тем, что $-C(=O)-X_1-NHC(=O)X_2-NH-$ выбран из: -Phe-Lys-, -Val-Ala-, -Val-Lys-, -Ala-Lys- и -Val-Cit-.

25. Соединение по п.23, отличающееся тем, что $-C(=O)-X_1-NHC(=O)X_2-NH-$ выбран из: -Phe-Lys- и -Val-Ala-.

26. Соединение по любому из пп.23-25, отличающееся тем, что R^{ZC} выбран из CH_2CH_2OMe и $(CH_2CH_2O)_2Me$.

27. Соединение по п.26, отличающееся тем, что R^{ZC} представляет собой $(CH_2CH_2O)_2Me$.

28. Соединение по п.19, имеющее формулу Ia, Ib или Ic:



где R^{1a} выбран из метила и бензила.

29. Соединение по любому из пп.19-28, отличающееся тем, что R^{11b} представляет собой OH.

30. Соединение по любому из пп.19-29, отличающееся тем, что R^{11b} представляет собой OR^A , где R^A представляет собой C_{1-4} алкил.

31. Соединение по п.30, отличающееся тем, что R^A представляет собой метил.

32. Соединение по любому из пп.19-31, отличающееся тем, что R^L имеет формулу IIIa, и Q представляет собой аминокислотный остаток, выбранный из Phe, Lys, Val, Ala, Cit, Leu, Ile, Arg и Trp.

33. Соединение по любому из пп.19-31, отличающееся тем, что R^L имеет формулу IIIa, и Q представляет собой дипептидный остаток, выбранный из:

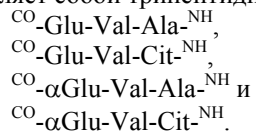
CO-Phe-Lys-NH,
 CO-Val-Ala-NH,
 CO-Val-Lys-NH,
 CO-Ala-Lys-NH,
 CO-Val-Cit-NH,
 CO-Phe-Cit-NH,
 CO-Leu-Cit-NH,
 CO-Ile-Cit-NH,
 CO-Phe-Arg-NH и
 CO-Trp-Cit-NH.

34. Соединение по п.33, отличающееся тем, что Q выбран из

CO-Phe-Lys-NH,
 CO-Val-Cit-NH и
 CO-Val-Ala-NH.

35. Соединение по любому из пп.19-31, отличающееся тем, что R^L имеет формулу IIIa, и Q пред-

ставляет собой трипептидный остаток, выбранный из:



36. Соединение по любому из пп.19-35, отличающееся тем, что R^L имеет формулу IIIa, и a равен от 0 до 3.

37. Соединение по п.36, отличающееся тем, что a равен 0.

38. Соединение по любому из пп.19-37, отличающееся тем, что R^L имеет формулу IIIa, и b равен от 0 до 12.

39. Соединение по п.38, отличающееся тем, что b равен от 0 до 8.

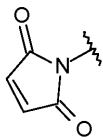
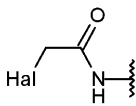
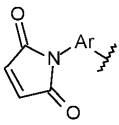
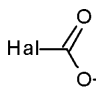
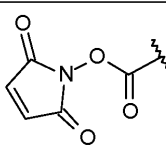
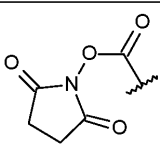
40. Соединение по любому из пп.19-39, отличающееся тем, что R^L имеет формулу IIIa, и d равен от 0 до 3.

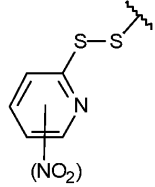

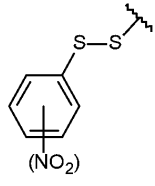

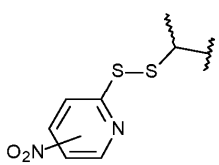

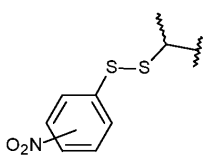
41. Соединение по п.38, отличающееся тем, что d равен 2.

42. Соединение по любому из пп.19-35, отличающееся тем, что R^L имеет формулу IIIa, и a равен 0, c равен 1, и d равен 2, и b равен от 0 до 8.

43. Соединение по п.42, отличающееся тем, что b равен 0, 4 или 8.

44. Соединение по любому из пп.19-43, отличающееся тем, что R^L имеет формулу IIIa, и G^L выбран из:

(G ^{L1-1})		(G ^{L4})	 где Hal = I, Br, Cl
(G ^{L1-2})		(G ^{L5})	
(G ^{L2})		(G ^{L6})	

(G ^{L3-1})	 <p>где группа NO₂ является необязательной</p>	(G ^{L7})	
(G ^{L3-2})	 <p>где группа NO₂ является необязательной</p>	(G ^{L8})	
(G ^{L3-3})	 <p>где группа NO₂ является необязательной</p>	(G ^{L9})	
(G ^{L3-4})	 <p>где группа NO₂ является необязательной</p>		

где Ag представляет собой C₅₋₆ ариленовую группу.

45. Соединение по п.44, отличающееся тем, что Ag представляет собой фениле новую группу.

46. Соединение по п.44 или 45, отличающееся тем, что G^L выбран из G^{L1-1} и G^{L1-2}.

47. Соединение по п.46, отличающееся тем, что G^L представляет собой G^{L1-1}.

48. Соединение по любому из пп.19-31, отличающееся тем, что R^L имеет формулу IIIб, и оба R^{L1} и R^{L2} представляют собой H.

49. Соединение по любому из пп.19-31, отличающееся тем, что R^L имеет формулу IIIб, R^{L1} представляет собой H, и R^{L2} представляет собой метил.

50. Соединение по любому из пп.19-31, отличающееся тем, что R^L имеет формулу IIIб, и оба R^{L1} и R^{L2} представляют собой метил.

51. Соединение по любому из пп.19-31, отличающееся тем, что R^L имеет формулу IIIб, и R^{L1} и R^{L2} вместе с атомом углерода, с которым они связаны, образуют циклопропиленовую группу.

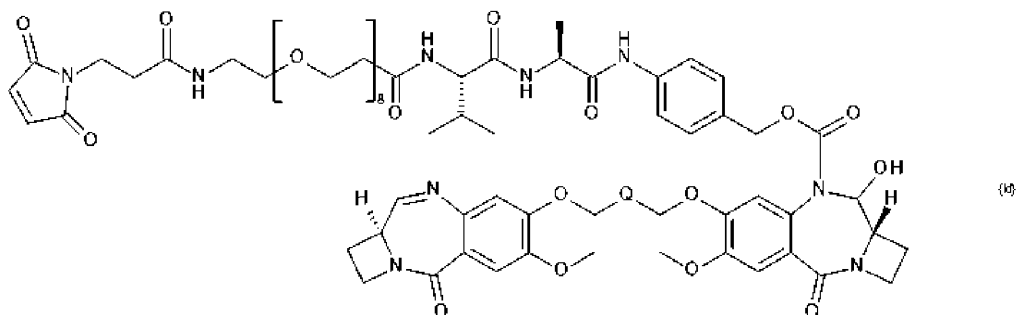
52. Соединение по любому из пп.19-31, отличающееся тем, что R^L имеет формулу IIIб, и R^{L1} и R^{L2} вместе с атомом углерода, с которым они связаны, образуют циклобутиленовую группу.

53. Соединение по любому из пп.19-31 и 48-52, отличающееся тем, что R^L имеет формулу IIIб, и e равен 0.

54. Соединение по любому из пп.19-31 и 48-52, отличающееся тем, что R^L имеет формулу IIIб, и e равен 1.

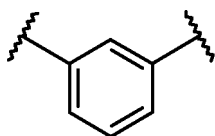
55. Соединение по п.54, отличающееся тем, что нитрогруппа находится в пара-положении.

56. Соединение по п.19, отличающееся тем, что указанное соединение имеет формулу Id:



где Q выбран из:

- (a) $-\text{CH}_2-$;
 (b) $-\text{C}_3\text{H}_6-$; и

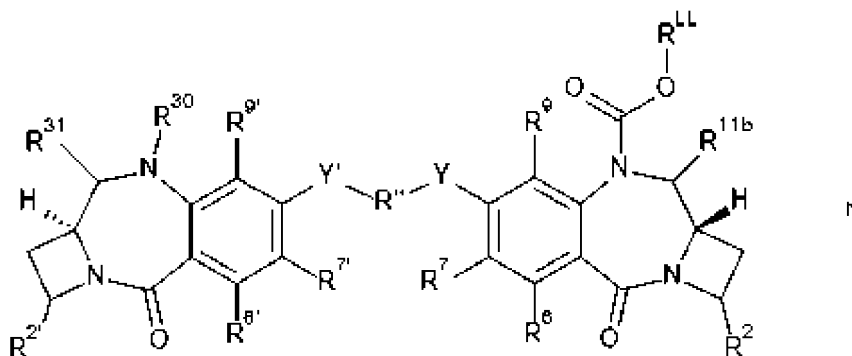


(c)

57. Конъюгат формулы II:



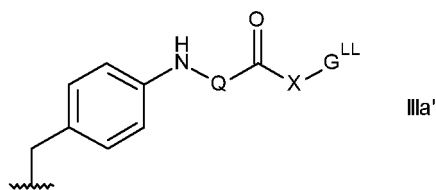
где L представляет собой звено лиганда (т.е. нацеливающий агент), D^{L} представляет собой звено линкера лекарственного соединения формулы I':



где Y, Y' , R'' , R^2 , R^6 , R^7 , R^8 и R^9 являются такими, как определено в любом из пп.1-18;

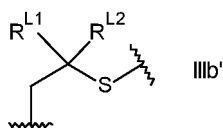
R^{11b} , R^{30} и R^{31} являются такими, как определено в любом из пп.19-27 и 29-31;

R^{LL} представляет собой линкер для связывания с клеточносвязывающим агентом, который выбран из:



(iii a):

где Q и X являются такими, как определено в любом из пп.19 и 32-43, и G^{LL} представляет собой линкер, связанный со звеном лиганда; и



(iii b):

где R^{L1} и R^{L2} являются такими, как определено в любом из пп.19 и 48-52; где p представляет собой целое число от 1 до 20.

58. Конъюгат по п.57, отличающийся тем, что G^{LL} выбран из:

(G ^{LL1-1})		(G ^{LL6})	
(G ^{LL1-2})		(G ^{LL7})	
(G ^{LL2})		(G ^{LL8-1})	
(G ^{LL3-1})		(G ^{LL8-2})	
(G ^{LL3-2})		(G ^{LL9-1})	
(G ^{LL4})		(G ^{LL9-2})	
(G ^{LL5})			

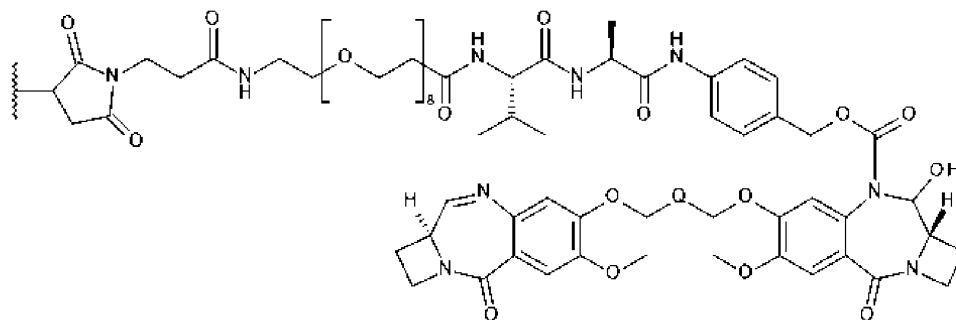
где Arg представляет собой C₅₋₆ ариленовую группу.

59. Конъюгат по п.58, отличающийся тем, что Arg представляет собой феноленовую группу.

60. Конъюгат по п.58 или 59, отличающийся тем, что G^{LL} выбран из G^{LL1-1} и G^{LL1-2}.

61. Конъюгат по п.60, отличающийся тем, что G^{LL} представляет собой G^{LL-1}.

62. Конъюгат по п.57, отличающийся тем, что D^L имеет формулу (Id):

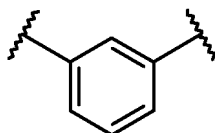


(Id)

где Q выбран из:

(a) -CH₂-;

(b) -C₃H₆-; и



(c)

63. Конъюгат по любому из пп.57-62, отличающийся тем, что звено лиганда представляет собой антитело или его активный фрагмент.

64. Конъюгат по п.63, отличающийся тем, что антитело или фрагмент антитела представляет собой антитело или фрагмент антитела к опухолеассоциированному антигену.

65. Конъюгат по п.64, отличающийся тем, что антитело или фрагмент антитела представляет собой антитело, которое связывается с одним или более опухолеассоциированными антигенами или рецепторами клеточной поверхности, выбранными из (1)-(88):

- (1) BMPR1B;
- (2) E16;
- (3) STEAP1;
- (4) 0772P;
- (5) MPF;
- (6) Napi3b;
- (7) Sema 5b;
- (8) PSCA hlg;
- (9) ETBR;
- (10) MSG783;
- (11) STEAP2;
- (12) TrpM4;
- (13) CRIPTO;
- (14) CD21;
- (15) CD79b;
- (16) FcRH2;
- (17) HER2;
- (18) NCA;
- (19) MDP;
- (20) IL20R-альфа;
- (21) Бревикан;
- (22) EphB2R;
- (23) ASLG659;
- (24) PSCA;
- (25) GEDA;
- (26) BAFF-R;
- (27) CD22;
- (28) CD79a;
- (29) CXCR5;
- (30) HLA-DOB;
- (31) P2X5;
- (32) CD72;
- (33) LY64;
- (34) FcRH1;
- (35) IRTA2;
- (36) TENB2;
- (37) PSMA-FOLH1;
- (38) SST;
- (38.1) SSTR2;
- (38.2) SSTR5;
- (38.3) SSTR1;
- (38.4) SSTR3;
- (38.5) SSTR4;
- (39) ITGAV;
- (40) ITGB6;
- (41) CEACAM5;
- (42) MET;
- (43) MUC1;
- (44) CA9;
- (45) EGFRvIII;
- (46) CD33;
- (47) CD19;
- (48) IL2RA;
- (49) AXL;
- (50) CD30-TNFRSF8;

- (51) BCMA-TNFRSF17;
- (52) CT Ags-CTA;
- (53) CD174 (Льюис Y) - FUT3;
- (54) CLEC14A;
- (55) GRP78-HSPA5;
- (56) CD70;
- (57) Антигены, специфические для стволовых клеток;
- (58) ASG-5;
- (59) ENPP3;
- (60) PRR4;
- (61) GCC - GUCY2C;
- (62) Liv-1-SLC39A6;
- (63) 5T4;
- (64) CD56-NCMA1;
- (65) CanAg;
- (66) FOLR1;
- (67) GPNMB;
- (68) TIM-1-HAVCR1;
- (69) RG-1/мишень опухоли предстательной железы Mindin - Mindin/RG-1;
- (70) B7-H4-VTCN1;
- (71) PTK7;
- (72) CD37;
- (73) CD138-SDC1;
- (74) CD74;
- (75) Клаудины - CLs;
- (76) EGFR;
- (77) Her3;
- (78) RON-MST1R;
- (79) EPHA2;
- (80) CD20-MS4A1;
- (81) Тенасцин С - TNC;
- (82) FAP;
- (83) DKK-1;
- (84) CD52;
- (85) CS1-SLAMF7;
- (86) Эндоглин - ENG;
- (87) Аннексии A1-ANXA1;
- (88) V-CAM (CD106) - VCAM1;
- (89) ASCT2(SLC1A5).

66. Конъюгат по любому из пп.63-65, отличающийся тем, что антитело или фрагмент антитела представляет собой сконструированное антитело с цистеиновыми заменами.

67. Конъюгат по любому из пп.57-66, отличающийся тем, что r представляет собой целое число от 1 до 8.

68. Конъюгат по п.67, отличающийся тем, что r равен 1, 2, 3 или 4.

69. Композиция, содержащая смесь конъюгатов по любому из пп.57-68, отличающаяся тем, что среднее значение r в указанной смеси конъюгатных соединений составляет от около 1 до около 8.

70. Конъюгат по любому из пп.57-68 для применения в терапии.

71. Фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат по любому из пп.57-68 и фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель или вспомогательное вещество.

72. Конъюгат по любому из пп.57-68 или фармацевтическая композиция по п.71 для применения для лечения пролиферативного заболевания у субъекта.

73. Конъюгат для применения по п.72, отличающийся тем, что заболевание, подлежащее лечению, представляет собой рак.

74. Применение конъюгата по любому из пп.57-68 или фармацевтической композиции по п.71 в способе медицинского лечения.

75. Способ медицинского лечения, включающий введение пациенту фармацевтической композиции по п.71.

76. Способ по п.75, отличающийся тем, что способ медицинского лечения предназначен для лечения рака.

77. Способ по п.76, отличающийся тем, что пациенту вводят химиотерапевтический агент в комбинации с указанным конъюгатом.

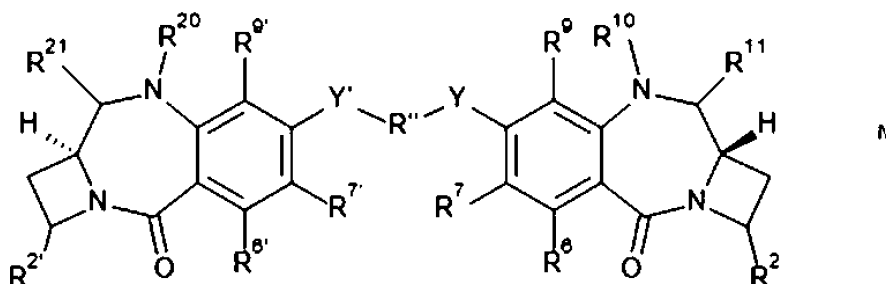
78. Применение конъюгата по любому из пп.57-68 в способе производства лекарственного средства

для лечения пролиферативного заболевания.

79. Способ лечения млекопитающего, имеющего пролиферативное заболевание, включающий введение эффективного количества конъюгата по любому из пп.57-68 или фармацевтической композиции по п.71.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы IV:



и его соли или сольваты, где:

R^2 и R^{21} представляют собой H;

R^6 и R^9 независимо выбраны из H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', нитро, Me₃Sn и галогена;

где R и R' независимо выбраны из C₁₋₁₂ алкильных групп, C₃₋₂₀ гетероциклических групп, содержащих от 1 до 4 гетероатомов, выбранных из O, N и S, C₆₋₁₆ карбоарильных групп и C₅₋₁₄ гетероарильных групп; либо

(a) R^7 выбран из H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', нитро, Me₃Sn и галогена; $R^{7'}$ выбран из H, R, OH, OR, SH, SR, NH₂, NHR, NRR', нитро, Me₃Sn и галогена; либо

(b) R^7 и $R^{7'}$ вместе образуют группу, которая представляет собой: (i) -O-(CH₂)_n-O-, где n равен от 7 до 16; или (ii) -O-(CH₂CH₂O)_m-, где m равен от 2 до 5;

R'' представляет собой C₃₋₁₂ алкиленовую группу, цепь которой может прерываться одним или более гетероатомами, выбранными из O, S, NR^{N2} (где R^{N2} представляет собой H или C₁₋₄ алкил), и/или ароматическими кольцами, выбранными из бензола или пиридина;

Y и Y' выбраны из O, S или NH;

$R^{6'}$ и $R^{9'}$ выбраны из тех же групп, что и R^6 и R^9 , соответственно; либо

(i-a) R^{10} и R^{11} вместе образуют двойную связь между атомами N и C, с которыми они связаны; или

(i-b) R^{10} представляет собой H, и R^{11} выбран из OH и OR^A, причем R^A представляет собой C₁₋₄ алкил;

или

(i-c) оба R^{10} и R^{11} представляют собой H; либо

(ii-a) R^{20} и R^{21} вместе образуют двойную связь между атомами N и C, с которыми они связаны; или

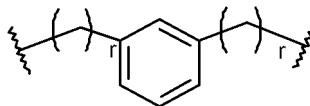
(ii-b) R^{20} представляет собой H, и R^{21} выбран из OH и OR^B, причем R^B представляет собой C₁₋₄ алкил; или

(ii-c) оба R^{20} и R^{21} представляют собой H.

2. Соединение по п.1, отличающееся тем, что

а) оба Y и Y' представляют собой O; и/или

б) R'' представляет собой C₃₋₇ алкилен; или



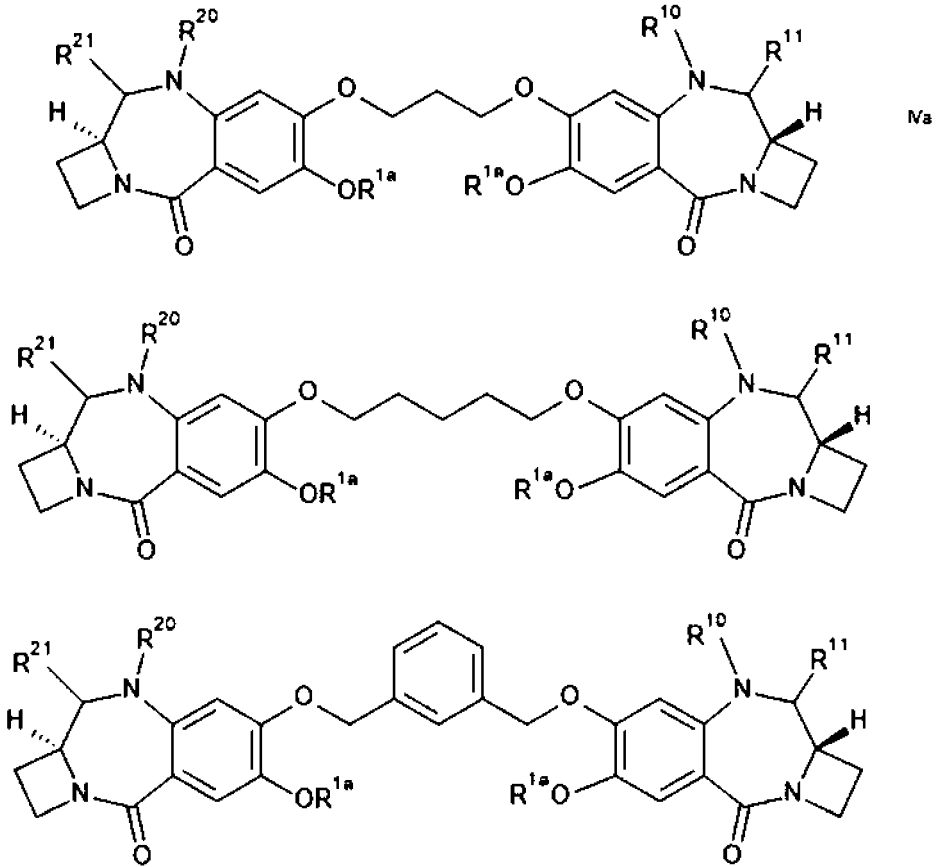
с) R'' представляет собой группу формулы:

где r равен 1 или 2; и/или

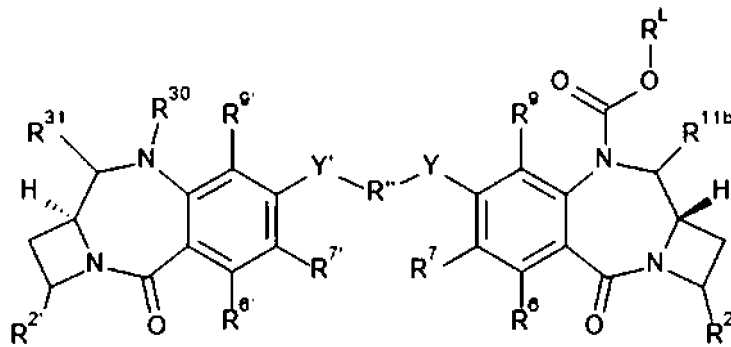
д) R^9 представляет собой H, R^6 представляет собой H, R^7 и $R^{7'}$ независимо представляют собой C₁₋₄ алкилосигруппу; или

е) $R^{6'}$ является такой же группой, как R^6 , $R^{7'}$ является такой же группой, как R^7 , $R^{9'}$ является такой же группой, как R^9 , и Y' является такой же группой, как Y.

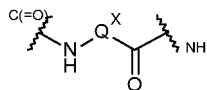
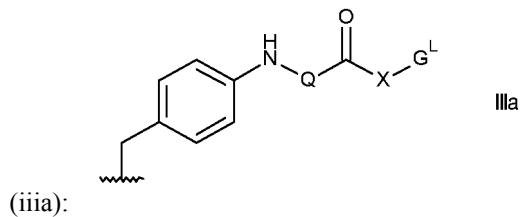
3. Соединение по п.1, имеющее формулу IVa, IVb или IVc:



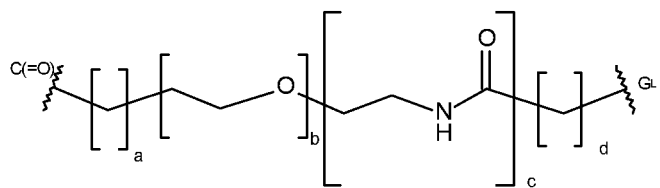
где R^{1a} выбран из метила и бензила
4. Соединение формулы I:



и его соли или сольваты, где:
Y, Y', R'', R², R^{2'}, R⁶, R^{6'}, R⁷, R^{7'}, R⁹ и R^{9'} являются такими, как определено по любому из пп. 1-3;
R^{11b} выбран из OH, OR^A, где R^A представляет собой C₁₋₄ алкил; и
R^L представляет собой линкер для связывания с антителом или антигенсвязывающим фрагментом антитела, которые выбраны из:



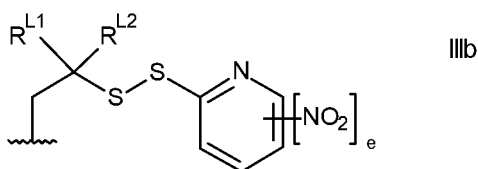
где Q представляет собой:
где Q^X является таким, что Q представляет собой аминокислотный остаток, дипептидный остаток или трипептидный остаток;



X представляет собой:

где $a=0-5$, $b=0-16$, $c=0$ или 1 , $d=0-5$;

G^L представляет собой линкер для связывания с антителом или антигенсвязывающим фрагментом антитела; и



(iiib):

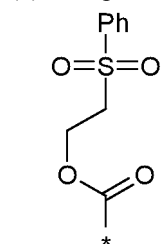
где R^{L1} и R^{L2} независимо выбраны из H и метила, или вместе с атомом углерода, с которым они связаны, образуют циклопропиленовую или циклобутиленовую группу; и e равен 0 или 1; либо:

(a) R^{30} и R^{31} вместе образуют двойную связь между атомами N и C, с которыми они связаны; или

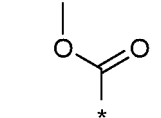
(b) R^{30} представляет собой H, и R^{31} выбран из OH и OR^B , причем R^B представляет собой C_{1-4} алкил;

(c) оба R^{30} и R^{31} представляют собой H; или

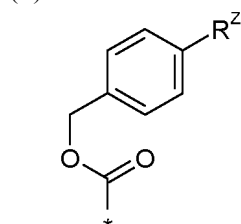
(d) R^{31} представляет собой OH или OR^B , причем R^B представляет собой C_{1-4} алкил, и R^{30} выбран из:



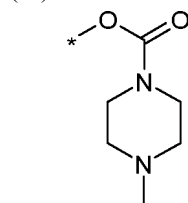
(i) ;



(ii) ;



(iii) , где R^Z выбран из:



(z-i) ;

(z-ii) $OC(=O)CH_3$;

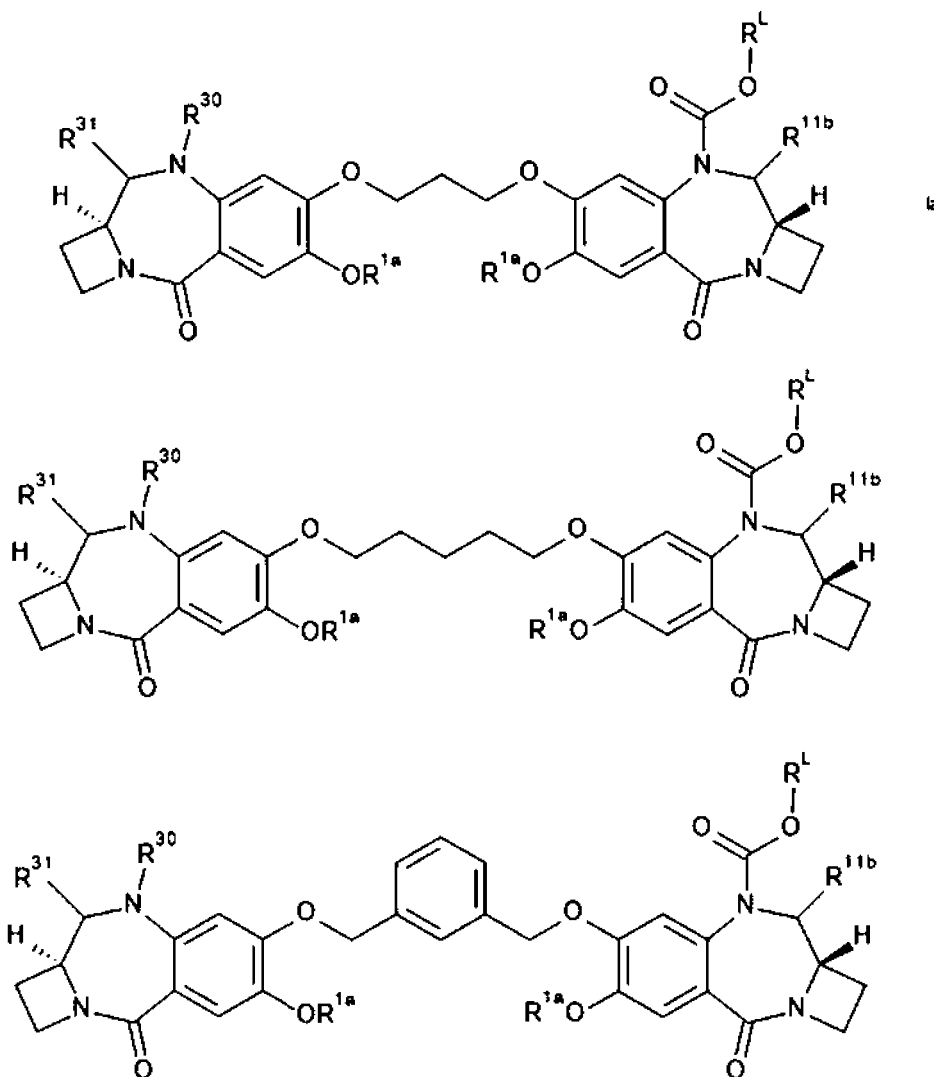
(z-iii) NO_2 ;

(z-iv) OMe ;

(z-v) глюкуронида;

(z-vi) $NH-C(=O)-X_1-NHC(=O)X_2-NH-C(=O)-R^{ZC}$, где $-C(=O)-X_1-NH-$ и $-C(=O)-X_2-NH-$ представляют собой остатки природных аминокислот, и R^{ZC} выбран из Me, OMe, CH_2CH_2OMe и $(CH_2CH_2O)_2Me$.

5. Соединение по п.4, имеющее формулу Ia, Ib или Ic:



где R^{1a} выбран из метила и бензила.

6. Соединение по п.4 или 5, отличающееся тем, что R^L имеет формулу IIIa, и:

а) Q представляет собой дипептидный остаток, выбранный из:

CO-Phe-Lys-NH₂,

CO-Val-Ala-NH₂,

CO-Val-Lys-NH₂,

CO-Ala-Lys-NH₂,

CO-Val-Cit-NH₂,

CO-Phe-Cit-NH₂,

CO-Leu-Cit-NH₂,

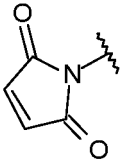
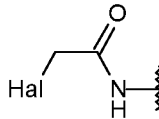
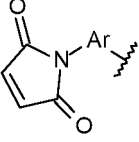
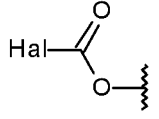
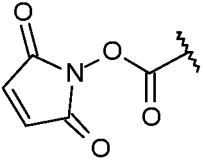
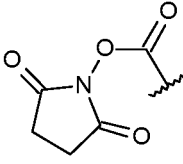
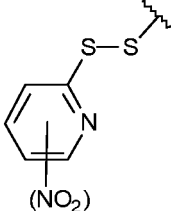
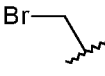
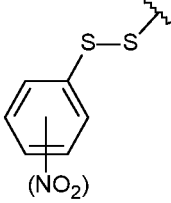

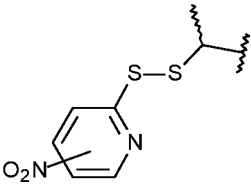

CO-Ile-Cit-NH₂ и

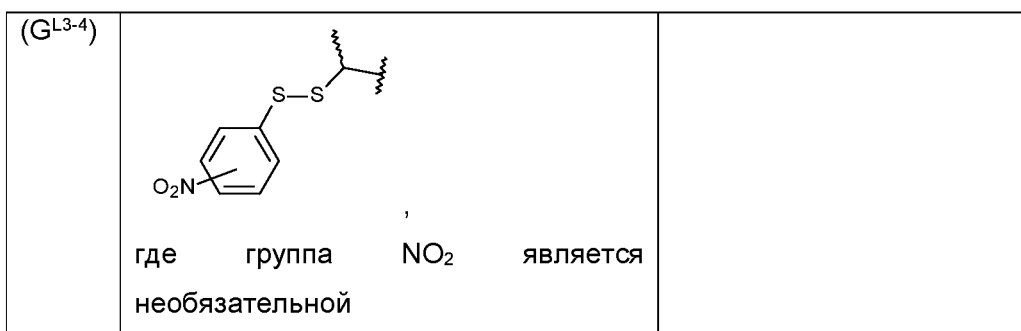
CO-Phe-Arg-NH₂ и

CO-Trp-Cit-NH₂; и/или

б) R^L имеет формулу IIIa, и а равен 0, с равен 1, и d равен 2, и b равен от 0 до 8, при этом предпочтительно b равен 0, 4 или 8.

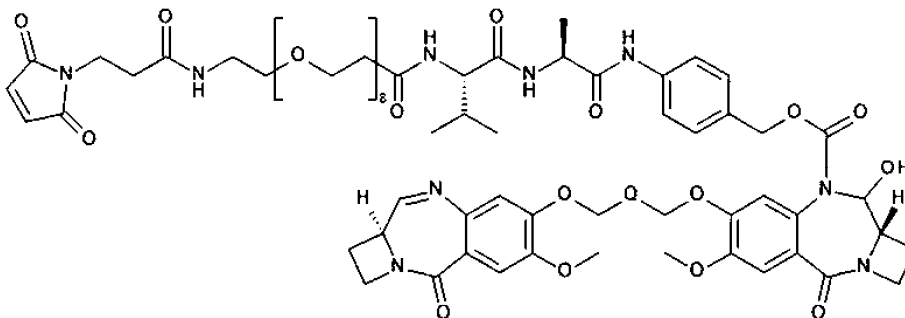
7. Соединение по любому из пп.4-6, отличающееся тем, что R^L имеет формулу IIIa, и G^L выбран из:

(GL ^{L1-1})		(GL ^{L4})	 где Hal = I, Br, Cl
(GL ^{L1-2})		(GL ^{L5})	
(GL ^{L2})		(GL ^{L6})	
(GL ^{L3-1})	 где группа NO ₂ является необязательной	(GL ^{L7})	
(GL ^{L3-2})	 где группа NO ₂ является необязательной	(GL ^{L8})	
(GL ^{L3-3})	 где группа NO ₂ является необязательной	(GL ^{L9})	



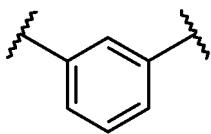
где Ar представляет собой C₅₋₆ ариленовую группу.

8. Соединение по п.4, отличающееся тем, что указанное соединение имеет формулу Id:



где Q выбран из:

- (a) -CH₂-;
- (b) -C₃H₆-; и

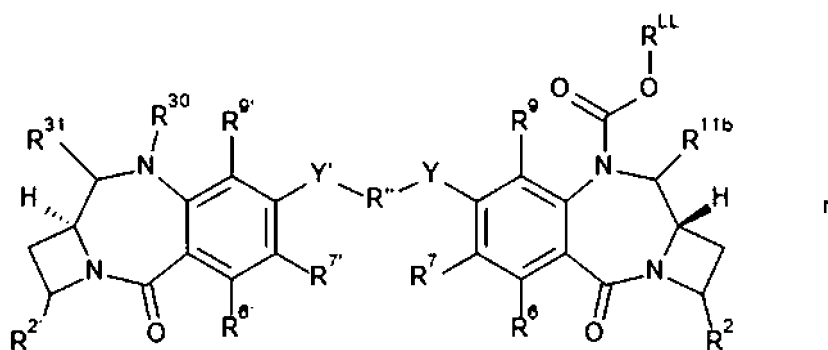


(c)

9. Конъюгат формулы II:

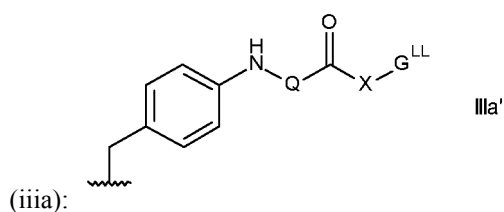


где L представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела, D^L представляет собой звено линкера лекарственного соединения формулы I':

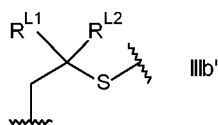


где Y, Y', Rⁿ, R², R^{2'}, R⁶, R^{6'}, R⁷, R^{7'}, R⁹ и R^{9'} являются такими, как определено по любому из пп.1, 2; R^{11b}, R³⁰ и R³¹ являются такими, как определено по п.4;

R^{LL} представляет собой линкер для связывания с антителом или антигенсвязывающим фрагментом антитела, которые выбраны из:



где Q и X являются такими, как определено по пп.4 и 6, и G^{LL} представляет собой линкер, связанный с антителом или антигенсвязывающим фрагментом антитела; и



(iib):

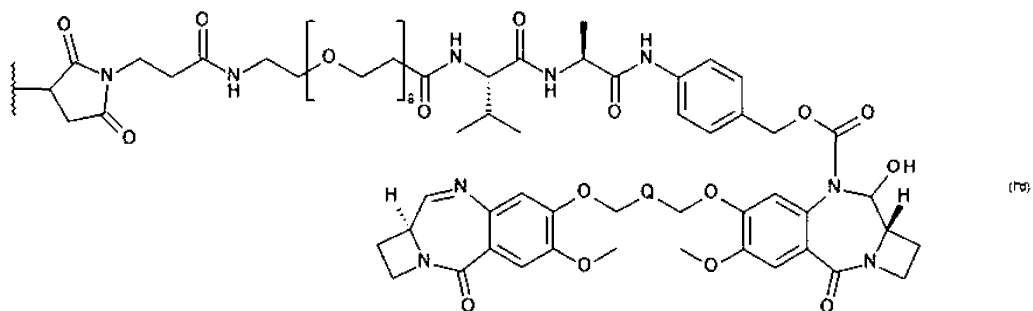
где R^{L1} и R^{L2} являются такими, как определено по п.4; где p представляет собой целое число от 1 до 20.

10. Конъюгат по п.9, отличающийся тем, что G^{LL} выбран из:

(G^{LL1-1})		(G^{LL6})	
(G^{LL1-2})		(G^{LL7})	
(G^{LL2})		(G^{LL8-1})	
(G^{LL3-1})		(G^{LL8-2})	
(G^{LL3-2})		(G^{LL9-1})	
(G^{LL4})		(G^{LL9-2})	
(G^{LL5})			

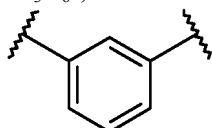
где Ar представляет собой C_{5-6} ариленовую группу.

11. Конъюгат по п.9, отличающийся тем, что D^L имеет формулу (Id^1):



где Q выбран из:

- (a) $-\text{CH}_2-$;
 (b) $-\text{C}_3\text{H}_6-$; и



(c)

12. Смесь конъюгатов по любому из пп.9-11, отличающаяся тем, что среднее значение p в указанной смеси конъюгатных соединений составляет от примерно 1 до примерно 8.

13. Применение конъюгата по любому из пп.9-11 в терапии.

14. Фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат по любому из пп.9-11 и фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель или вспомогательное вещество.

15. Применение конъюгата по любому из пп.9-11 или фармацевтической композиции по п.14 для лечения пролиферативного заболевания у субъекта.

